



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

MICHAEL DOUGLAS SANTOS MONTEIRO

**DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO MODIFICADO COM
ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO PARA DETERMINAÇÃO DE
17 α -ETINILESTRADIOL**

***DEVELOPMENT OF MODIFIED ELECTRODE WITH REDUCED
GRAPHENE OXIDE FOR DETERMINATION OF
17 α -ETHYNYLESTRADIOL***





**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

MICHAEL DOUGLAS SANTOS MONTEIRO

**DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO MODIFICADO COM
ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO PARA DETERMINAÇÃO DE
17 α -ETINILESTRADIOL**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Sergipe, para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eliana Midori Sussuchi

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Iara de Fátima Gimenez

***DEVELOPMENT OF MODIFIED ELECTRODE WITH REDUCED
GRAPHENE OXIDE FOR DETERMINATION OF
17 α -ETHYNYLESTRADIOL***

Master dissertation presented to the Graduate Program in Chemistry of the Federal University of Sergipe to obtain MSc. in Chemistry.





SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
Programa de Pós-Graduação em Química
PPGQ



FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de Michael Douglas Santos Monteiro apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe em 17/02/2021.

Eliana Midori Sussuchi

Prof.^a Dr.^a Eliana Midori Sussuchi
Departamento de Química - UFS

Fátima Gimenez

Prof.^a Dr.^a Fátima Gimenez
Departamento de Química - UFS

Alberto Wisniewski Junior

Prof. Dr. Alberto Wisniewski Junior
Departamento de Química - UFS

Márcio F. Bergamini

Prof. Dr. Márcio Fernando Bergamini
Departamento de Química - Universidade Federal do Paraná

RESUMO

O 17 α -etinilestradiol (EE2) é um estrogênio sintético e micropoluinte emergente que, mesmo em baixas concentrações (ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1}), proporciona altos riscos à saúde humana e ao meio ambiente. No presente trabalho, estudos eletroquímicos foram realizados com eletrodos de pasta de carbono modificados com óxido de grafeno reduzido (ErGO) para a determinação voltamétrica de EE2. As caracterizações estruturais e morfológicas do rGO foram realizadas por FTIR, Raman, UV-VIS, MET e MEV, e evidenciaram a formação característica do nanomaterial, quando empregado ácido ascórbico como agente redutor (rGOA). Os eletrodos modificados com óxido de grafeno reduzido seco (ErGOAs) apresentaram uma sensibilidade superior ao eletrodo de pasta de carbono sem modificação (EPC). As análises eletroquímicas foram realizadas através da técnica de Voltametria de Pulso Diferencial (VPD), associada a técnica de acumulação, denominada de *Adsorptive stripping voltammetry (AdSV)*. Onde os parâmetros otimizados foram tampão B-R pH 8,00, velocidade de varredura de $20,0 \text{ mV s}^{-1}$, amplitude de pulso de 100 mV, tempo de pulso de 10,0 ms, tempo de acumulação de 5 minutos, célula de leitura *in situ*. Após as otimizações dos parâmetros de análise, uma curva analítica foi gerada para o sensor, a qual apresentou faixa linear de 0,04 a $8,28 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9997$), com baixos limites de detecção ($6,79 \text{ nmol L}^{-1}$) e quantificação ($22,60 \text{ nmol L}^{-1}$). As análises de reprodutibilidade e repetibilidade apresentaram desvios padrão relativos (DPR/%) de 2,31% e 5,23%, respectivamente. O sensor foi aplicado para a determinação do EE2 em amostras de urina sintética, comprimido anticoncepcional e água residual. Excelentes valores de recuperação foram obtidos para amostras de urina sintética (94,80; 98,73; 104,00%) e comprimido anticoncepcional (102,86%), através do método de interpolação na curva analítica e para água residuária, os valores (95,00; 103,80; 110,10%) foram obtidos pelo método de adição padrão. Os resultados obtidos mostram que o sensor desenvolvido pode ser empregado para a identificação e quantificação em baixas concentrações de EE2, visto o excelente desempenho analítico apresentado.

Palavras-chave: Sensor eletroquímico, Poluente emergente, Hormônio, Anticoncepcional, Estrogênio, Desregulador endócrino.

ABSTRACT

17 α -ethinylestradiol (EE2) is a synthetic and emerging micropolluting estrogen which, even at low concentrations (order of $\mu\text{g L}^{-1}$ and ng L^{-1}), provides high risks to human health and the environment. In the present work, electrochemical studies were performed with carbon paste electrodes modified with reduced graphene oxide (ErGO) for the voltammetric determination of EE2. The structural and morphological characterizations of rGO were carried out by FTIR, Raman, UV-VIS, MET and MEV, and showed the characteristic formation of nanomaterial, when used ascorbic acid as a reducing agent (rGOA). The electrodes modified with dry reduced graphene oxide (ErGOAs) showed a higher sensitivity than the carbon paste electrode without modification (EPC). Electrochemical analyzes were performed using the Differential Pulse Voltammetry (VPD) technique, associated with the accumulation technique, called Adsorptive stripping voltammetry (AdSV). Where the optimized parameters were BR pH 8.00 buffer, scan rate of 20.0 mV s^{-1} , pulse amplitude of 100 mV, pulse time of 10.0 ms, accumulation time of 5 minutes, reading cell *in situ*. After the optimization of the analysis parameters, an analytical curve was generated for the sensor, which presented a linear range from 0.04 to $8.28 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.9997$), with low detection limits (6.79 nmol L^{-1}) and quantification ($22.60 \text{ nmol L}^{-1}$). The reproducibility and repeatability analyzes showed relative standard deviations (DPR/%) of 2.31% and 5.23%, respectively. The sensor was applied for the determination of EE2 in samples of synthetic urine, contraceptive pills and residual water. Excellent recovery values were obtained for urine samples (94.80; 98.73; 104.00%) and contraceptive pills (102.86%), using the interpolation method on the analytical curve and for wastewater the values (95.00; 103.80; 110.10%) were obtained by the standard addition method. The results obtained show that the developed sensor can be used for the identification and quantification in low concentrations of EE2, given the excellent analytical performance presented.

Keywords: Electrochemical sensor, Emerging pollutant, Hormone, Contraceptive, Estrogen, Endocrine disruptor.

Lista de Figuras

- Figura 1.** A) Fórmula estrutural do 17 α -etinilestradiol (C₂₀H₂₄O₂); B) Fórmula estrutural do 17 β -estradiol (C₁₈H₂₄O₂). **Fonte:** A) [32,33]; B) [32,33]..... 3
- Figura 2.** Representação A) do átomo de carbono no estado fundamental; B) dos orbitais híbridos dos carbonos presentes no grafeno; C) nuvem eletrônica formada por elétrons livres; D) da folha de grafeno. **Fonte:** Adaptado de [59]. . 6
- Figura 3.** Representação das múltiplas aplicações do grafeno funcionalizado. **Fonte:** Adaptado de [56]. 7
- Figura 4.** Representação da disposição das folhas do grafeno que compõem o grafite, do óxido de grafite após o processo de oxidação, do óxido de grafeno obtido pelo processo de esfoliação e do óxido de grafeno reduzido. **Fonte:** Adaptado de [51]. 8
- Figura 5.** Diagramas de níveis de energia para o grafite, GO e rGO. **Fonte:** Adaptado de [20,60,71]. 11
- Figura 6.** Crescimento do número de artigos sobre óxido de grafeno reduzido, pesquisado na base de dados *Science direct* (verde) em <https://bit.ly/39drOKS>, *Web of Science* (azul) em <http://bit.ly/35gKrMQ> e *Scopus* (amarelo) em <https://bit.ly/2MKLA99>, com o termo “*Reduced graphene oxide*”. **Fonte:** Autoria própria. 12
- Figura 7.** Ilustração das prováveis interações do óxido de grafeno reduzido com o 17 α -etinilestradiol. **Fonte:** Autoria própria. 14
- Figura 8.** A) Fluxograma das sínteses do óxido de grafeno, e ilustração molecular dos processos de oxidação e B) esfoliação para obtenção do óxido de grafeno. **Fonte:** Autoria própria. 18
- Figura 9.** A) Fluxograma do processo de redução do óxido de grafeno com ácido ascórbico (AA) e cafeína e B) ilustração molecular da redução do óxido de grafeno. **Fonte:** Autoria própria. 19

Figura 10. Esquema de preparo e montagem do eletrodo. Fonte: Autoria própria.	26
Figura 11. Espectros de absorção na região do Infravermelho das amostras de GR, GO, rGOA e rGOAs, em pastilha de KBr.	29
Figura 12. Espectros Raman das amostras (GR, GO, rGOA e rGOAs).	31
Figura 13. Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível da água ultrapura, GR (0,10 mg mL ⁻¹), GO (0,10 mg mL ⁻¹), rGOA(1,00 mg mL ⁻¹) e rGOAs (0,01 mg mL ⁻¹).	33
Figura 14. Imagens de MET (500 e 200 nm) do GO (A – B) e rGOA (C – D)..	35
Figura 15. Micrografias obtidas por MEV do (A – B) Grafite (x2000 e x4000); (C – D) GO; (E – F) rGOA; (G – H) rGOAs.	37
Figura 16. Difratogramas de Raios X: A) GR; B) GO; C) rGOA.....	39
Figura 17. A) Voltamogramas cíclicos para o ErGOAs15% na presença de 0,10 mmol L ⁻¹ de EE2 em tampão BR (pH 8,00) em velocidades de varredura na faixa de 20,0 mV s ⁻¹ ; B) Relação linear entre corrente de pico anódico (μA) e a velocidade de varredura (20,0 – 200,0 mV s ⁻¹).	41
Figura 18. Sugestão para o mecanismo de oxidação do EE2, onde há o transporte de um H ⁺ e transferência de um e ⁻ [19,49]. Fonte: Autoria própria.	42
Figura 19. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o EPC, ErGOA5% e ErGOAs5% em tampão B-R pH 7,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, amplitude de pulso (AP) de 50 mV, tempo de pulso (t) de 50,0 ms, tempo de acumulação (TA) de 3 min. na presença de 10,00 μmol L ⁻¹ de EE2.	43
Figura 20. Etapas de acumulação e leitura voltamétrica realizadas: (A) <i>in situ</i> e B) <i>ex situ</i> . Fonte: Autoria própria.	45
Figura 21. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs5% em tampão B-R pH 7,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 50 mV, t = 50,0 ms, TA = 3 min para detecção de 10,00 μmol L ⁻¹ de EE2.....	46

Figura 22. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs5% em tampão B-R e fosfato pH 7,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 50 mV, t = 50,0 ms, TA = 3 min na presença de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2. 47

Figura 23. Espécies do 17α -etinilestradiol referentes a diferentes pH. **Fonte:** Disponível em: <<https://chemicalize.com>>. 48

Figura 24. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs5% em tampão B-R pH 2,00 - 10,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 50 mV, t = 50,0 ms, TA = 3 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} e E_{pa} em função do pH. 49

Figura 25. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs5% em tampão B-R pH 8,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 50 mV, t = 50,0 ms, TA = 30 s a 30 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} em função do tempo de acumulação. 51

Figura 26. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando diferentes proporções do modificante ErGOAs (2,5; 5,0, 7,5; 10,0; 15,0; 20,0; 30,0%) em tampão B-R pH 8,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 50 mV, t = 50,0 ms, TA = 5 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} em função do teor de modificante. 53

Figura 27. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs15% em tampão B-R pH 8,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125 e 150 mV, t = 50,0 ms, TA = 5 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} e $W_{1/2}$ em função da amplitude de pulso. 56

Figura 28. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs15% em tampão B-R pH 8,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 100 mV, t = 2,5, 5,0, 7,5, 10,0, 25,0 e 50,0 ms, TA = 5 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} e $W_{1/2}$ em função do t. 58

Figura 29. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs15% em tampão B-R pH 8,00, $\nu = 5,0, 10,0, 15,0, 20,0$ e $30,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP

= 100 mV, $t = 10,0$ ms, $TA = 5$ min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} e $W_{1/2}$ em função do teor de modificante. 60

Figura 30. Voltamogramas comparativos com as intensidades de pico anódico obtidos na detecção do EE2 com os eletrodos EPC e ErGOAs15% em condições iniciais e otimizadas. 62

Figura 31. Voltamogramas de Pulso Diferencial obtidos para o eletrodo ErGOAs15% na faixa de concentração Curva $0,04$ a $8,28 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão B-R (pH $8,00$), $TA = 5$ min, $AP = 100$ mV, $t = 10$ ms, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$. Curva analítica obtidos das correntes de pico anódico do EE2. O a e o l representam a menor até a maior concentração adicionada. 63

Figura 32. Estudo de repetibilidade do ErGOAs15% em condições otimizadas na presença de EE2 ($n = 7$). A linha tracejada azul representa a média dos i_{pa} medidos nas análises. 65

Figura 33. Estudo de reprodutibilidade do ErGOAs15% em condições otimizadas na presença de EE2 ($n = 7$). A linha tracejada azul representa a média dos i_{pa} medidos nas análises. 66

Figura 34. Variação das correntes de pico anódico obtidas para $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2 ao adicionar interferentes na proporção: A) 1:10 (analito:concomitante); B) (1:100 analito:concomitante). A linha pontilhada azul representa o i_{pa} obtido para a detecção do EE2 sem as espécies concomitantes. 68

Figura 35. Recuperações referentes às concentrações nas amostras de água residual: A) Voltamogramas de Pulso Diferencial obtidos para o eletrodo ErGOAs15% na faixa de concentração Curva $190,00$ a $800,00 \text{ nmol L}^{-1}$ em tampão B-R (pH $8,00$), $TA = 5$ min, $AP = 100$ mV, $t = 10$ ms, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$; B) Correlação linear. 71

Figura A1.1. Representação dos processos de Difusão, Migração e Convecção. **Fonte:** Adaptado de [1]. 95

Figura A1.2. Representação da dupla camada elétrica. **Fonte:** Adaptado de [2]. 97

Figura A1.3. Sistema com três eletrodos em um sistema de análise eletroquímica. Fonte: Adaptado de [3].....	98
Figura A1.4. Esquema dos métodos eletroanalíticos mais comuns. Fonte: Adaptado de [4].....	100
Figura A1.5. Sinais de excitação de potencial <i>versus</i> tempo empregado nas técnicas voltametrias A) Varredura linear; B) Onda quadrada; C) Pulso diferencial; D –E) Triangular; F) Voltamograma cíclico. Fonte: Adaptado de [5].	101
Figura A1.6. Representação ilustrativa de um voltamograma cíclico. Fonte: Adaptado de [6].....	102
Figura A1.7. A) Representações de sinais de excitação para voltametria de pulso diferencial; B) Representação de um voltamograma de pulso diferencial. Fonte: Pacheco et. Al. 2013 [2].....	104
Figura A2.1. Esquema da síntese comercial da vitamina C. Fonte: Adaptado de [7].....	105
Figura A2.2. Esquema da oxidação do ácido ascórbico ao ácido dehidroascórbico. Fonte: Adaptado de [7].....	106
Figura A2.3. Proposta do mecanismo de reação do mecanismo de redução do GO. Fonte: [8].....	107
Figura P1.1. Micrografias obtidas por MEV do (A – B) rGOC (x2000 e x4000).	111
Figura P1.2. Difratoograma do rGOC.....	112
Figura P1.3. Espectros de absorção na região do Infravermelho do rGOC, em pastilha de KBr.....	113
Figura P2.1. Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (1,00 mmol L ⁻¹ e 1,00 mol L ⁻¹ de KCl), em diferentes velocidades de varredura para: A) EPC; B) ErGOA2,5%; C) ErGOA5%; D) ErGOA7,5%; E) ErGOA10%; F) ErGOC10%.....	115

Figura P2.2. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o EPC, EIT2,5%, EIT5% e EIT10% em tampão B-R pH 7,00, $v = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, amplitude de pulso (AP) de 50 mV, tempo de pulso (t) de 50,0 ms, tempo de acumulação (TA) de 3 min na presença de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2.....120

Figura P2.3. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o EPC, EIT2,5%rGOAs5%, EIT5%rGOAs5% e EIT10%rGOAs5% em tampão B-R pH 7,00, $v = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP de 50 mV, t de 50,0 ms, TA de 3 min na presença de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2..... 121

Figura P2.4. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o EPC, ErGOA5%, ErGOAs5%, EIT5%, EIT5%rGOA5% e EIT5%rGOAs5% em tampão B-R pH 7,00, $v = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP de 50 mV, t de 50,0 ms, TA de 3 min na presença de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2..... 122

Lista de Tabelas

Tabela 1. Alguns métodos de síntese do Óxido de Grafeno. Fonte: Adaptado de [62].	9
Tabela 2. Vantagens e desvantagens dos processos de redução do óxido de grafeno. Fonte: Adaptado de [58].	10
Tabela 3. Reagentes utilizados e suas respectivas procedências e purezas. .	16
Tabela 4. Relação das proporções utilizadas na obtenção dos eletrodos modificados.	25
Tabela 5. Condições avaliadas para a detecção do 17 α -etinilestradiol.	28
Tabela 6. Atribuições de bandas de vibração e deformações angulares presentes nos espectros de infravermelho para grafite, GO, rGOA e rGOAs. .	29
Tabela 7. Condições avaliadas para detecção do 17 α -etinilestradiol.	61
Tabela 8. Comparação entre os resultados obtidos na aplicação de diferentes eletrodos para a detecção do EE2.	64
Tabela 9. Variações das correntes de pico anódico para o ErGOAs15% quando avaliado na presença de interferentes em concentração em proporção 1:10 e 1:100.	69
Tabela 10. Resultados das recuperações referentes as concentrações e seus respectivos desvios padrões relativos às análises das amostras de água residual.....	72
Tabela 11. Resultados das recuperações referentes às concentrações nas amostras de urina sintética e seus respectivos desvios padrão relativos.	73
Tabela 12. Resultados das recuperações referentes à concentração em amostra de anticoncepcional comercial e seu respectivo desvio padrão relativo (n=3). 74	

Tabela A3.1. Trabalhos que utilizam o ITO associado a outras espécies químicas para determinações eletroquímicas. Fonte: Autoria própria.....	109
Tabela P1.1. Atribuições de bandas de vibração e deformações angulares presentes nos espectros de infravermelho para o GO e o rGOC.....	113
Tabela P2.1. Resultados para os valores de variação (ΔE_p) dos potenciais de oxidação e redução, e razão i_{pa}/i_{pc}	117
Tabela P2.2. Valores das áreas efetivas calculadas para o EPC e para os EPCM.	118

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	17 α -etinilestradiol (EE2).....	2
1.2	Grafeno e seus derivados	5
1.3	Eletrodos de pasta de carbono modificados com óxido de grafeno reduzido (rGO)	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivos Específicos	15
3	MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1	Reagentes.....	16
3.2	Síntese dos Materiais.....	17
3.2.1	Síntese do Óxido de Grafeno	17
3.2.2	Síntese do Óxido de grafeno reduzido (rGO)	19
3.3	Caracterizações dos materiais sintetizados	20
3.3.1	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	20
3.3.2	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	21
3.3.3	Difração de Raios X (DRX).....	21
3.3.4	Espectroscopia de Absorção Eletrônica na Região do UV-Vísivel	21
3.3.5	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FTIR) ..	22
3.3.6	Espectroscopia Raman.....	22
3.4	Preparo de soluções	22
3.4.1	Soluções eletrolíticas.....	22
	Solução estoque de 17 α -etinilestradiol	23
3.4.2	Amostras Complexas.....	23
	Comprimido anticoncepcional.....	24

Soluções de substâncias concomitantes	24
3.5 Obtenção dos eletrodos de pasta de carbono modificados.....	25
3.6 Detecção eletroquímica.....	26
3.6.1 Caracterização eletroquímica dos eletrodos.....	27
3.6.2 Análise do comportamento redox do EE2 por meio da Voltametria Cíclica	27
3.6.3 Otimização dos parâmetros de análise para a detecção do 17 α -etinilestradiol.....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Caracterização das propriedades eletrônicas e estruturais do Óxido de Grafeno (GO) e Óxidos de Grafeno Reduzidos (rGOA e rGOAs).....	28
4.1.1 Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho (FTIR)	28
4.1.2 Espectroscopia Raman.....	30
4.1.3 Espectroscopia de Absorção no ultravioleta e visível (UV-VIS)....	32
4.2 Caracterização morfológica do Óxido de Grafeno, Óxidos de Grafeno Reduzidos (rGOA e rGOAs).....	34
4.2.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	34
4.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	36
4.2.3 Difração de Raios X (DRX).....	38
4.3 Caracterização Eletroquímica e Otimização dos Parâmetros Analíticos	40
4.3.1 Estudo do comportamento redox do EE2.....	40
4.3.2 Otimização dos parâmetros de operação da célula de leitura	44
4.3.3 Otimização dos Parâmetros da Metodologia Analítica	50
4.3.4 Otimização dos parâmetros da técnica.....	54
4.3.5 Curva Analítica	62
4.3.6 Repetibilidade e Reprodutibilidade	65
4.3.7 Interferentes.....	66

4.3.8	Amostra complexa	70
5	CONCLUSÕES.....	74
6	PERSPECTIVAS DO TRABALHO.....	75
7	TRABALHOS	75
8	REFERÊNCIAS	77
	ANEXO 1.....	97
	A1. Análises eletroquímicas.....	97
	A1.2 Técnicas voltamétricas	102
	ANEXO 2.....	108
	A2 Ácido ascórbico	108
	ANEXO 3.....	111
	A3 Óxido de Índio dopado com Estanho (ITO)	111
	ANEXO 4.....	113
	APÊNDICE 1	114
	P1 Caracterizações morfológicas, estruturais e eletrônicas do Óxido de Grafeno Reduzido com Cafeína (rGOC).....	114
	P1.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	114
	P1.2 Difração de Raios X (DRX).....	114
	P1.3 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (FTIR)	115
	APÊNDICE 2	117
	P2 Caracterização Eletroquímica dos Eletrodos.....	117
	P2.1 Comportamento Eletroquímico dos Eletrodos Modificados	117
	P2.2 Análise dos eletrodos com ITO (EIT), rGOA (ErGOA), rGOAs (ErGOAs) e híbrido (EITrGO).....	122

“Gatinho de Cheshire” começou um pouco tímida, pois não sabia se ele gostaria do nome, mas ele abriu ainda mais o sorriso. “Vamos, parece ter gostado até agora”, pensou Alice, e continuou: “Poderia me dizer, por favor, que caminho devo tomar para sair daqui?” “Isso depende bastante de onde você quer chegar”, disse o Gato. “O lugar não importa muito...”, disse Alice. “Então não importa o caminho que você vai tomar”, disse o Gato.

(Aventuras de Alice no país das Maravilhas - Lewis Carroll)

“A escolha é possível, em certo sentido, porém o que não é possível é não escolher. Eu posso sempre escolher, mas devo estar ciente de que, se não escolher, assim mesmo estarei escolhendo”.

(Jean-Paul Sartre)

“Age de tal modo que a máxima de tua vontade possa valer-te sempre como princípio de uma legislação universal”.

(Immanuel Kant – Crítica da Razão Prática)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Sergipe (UFS) pela oportunidade de realizar o mestrado e ao IFS pela oportunidade da graduação. Às agências de fomento, CNPq e CAPES, pelo auxílio financeiro. Ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) e a todos os professores por possibilitaram o aprendizado e a formação profissional.

Ao Centro de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM) e ao Departamento de Física (DFI) da Universidade Federal de Sergipe pelo suporte para a execução das análises.

Ao Núcleo Regional de Competência em Petróleo, Gás e Biocombustíveis de Sergipe (NUPEG), à PETROBRAS e ao Laboratório de Corrosão e Nanotecnologia pela infraestrutura fornecida. A todos do LCNT pela cooperação e amizade.

À Prof.^a Dr.^a Eliana Midori e Prof.^a Dr.^a Iara Gimenez pela orientação, pelo incentivo, pela paciência e por todos os momentos de aprendizado que foram proporcionados.

Aos colaboradores do projeto por toda atenção, ajuda, dicas e contribuições valiosas. Aos amigos que foram de fundamental importância intelectual e emocional.

Aos professores, Prof. Dr. Márcio Fernando Bergamini e Prof. Dr. Alberto Wisniewski Junior, que compõem a banca avaliadora pelas contribuições construtivas à melhoria do trabalho.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho. À minha mãe, Maria Nildes dos Santos, por ter me oferecido a oportunidade de me desenvolver e viver, por ter me apresentado o mundo e o prazer nas obras literárias.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- μ – Força Iônica
- AA** – Ácido Ascórbico
- ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- AP** – Amplitude de pulso
- B-R** – Tampão Britton-Robinson
- CO_n** – Contraceptivo oral
- DP** – Desvio Padrão
- DPR/%** – Desvio Padrão Relativo
- DPV** – Voltametria de pulso diferencial, do termo em inglês *Differential Pulse Voltammetry*
- DRX** – Difração de Raios X
- E** – Potencial
- e⁻** – Elétron
- E1** – Estrona
- EE2** – 17 α -etinilestradiol
- EIT** – Eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com ITO
- EITrGO** – Eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com ITO e óxido de grafeno reduzido
- E_{pa}** – Potencial de pico anódico
- E_{pc}** – Potencial de pico catódico
- EPC** – Eletrodos de pasta de carbono
- EPCM** – Eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados
- EQM** – Eletrodos Quimicamente Modificados

- ErGOA** – Eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com Óxido de Grafeno Reduzido por Ácido Ascórbico
- ErGOAs** – Eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com Óxido de Grafeno Reduzido por Ácido Ascórbico após tratamento térmico
- ErGOC** – Eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com Óxido de Grafeno Reduzido por Cafeína
- FTIR** – Tradução do inglês *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* como Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier
- GO** – Óxido de Grafeno, do termo em inglês *Graphene Oxide*.
- GR** – Grafite
- H⁺** – Próton ácido
- i_{pa}** – Corrente de pico anódico
- i_{pc}** – Corrente de pico catódico
- ITO** – Óxido de Índio dopado com Estanho
- LD** – Limite de detecção
- LQ** – Limite de quantificação
- MEV** – Microscopia Eletrônica de Varredura
- MET** – Microscopia Eletrônica de Transmissão
- R²** – Coeficiente de determinação
- rGO** – Óxido de Grafeno Reduzido, do termo em inglês *Reduced Graphene Oxide*.
- rGOA** – Óxido de Grafeno Reduzido com Ácido Ascórbico
- rGOAs** – Óxido de Grafeno Reduzido com Ácido Ascórbico após tratamento térmico

rGOC – Óxido de Grafeno Reduzido com Cafeína

pH – Potencial hidrogeniônico

TA – Tempo de acumulação

t – Tempo de pulso

V – Volt (Unidade SI para potência elétrica)

VC – Voltametria Cíclica

v – Velocidade de varredura

VPD – Voltametria de Pulso Diferencial

W_{1/2} – Largura a meia altura do pico

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento científico gerou diversas mudanças sociais, educacionais e econômicas, o que permitiu alterações significativas na qualidade de vida da população. Partir do avanço das pesquisas nos processos industriais, nos equipamentos de saúde, nos produtos alimentícios e entre outros [9,10]. O aumento pela busca de novos materiais que apresentem propriedades que concedam resultados nas análises, menores índices de rejeitos ao serem descartados, e maior facilidade de produção, manutenção e durabilidade. Compostos como biomateriais [11] e materiais carbonáceos [12–14] podem ser utilizados no desenvolvimento de fonte de energias [15,16], para adsorção [17] e detecção de contaminantes em diversas matrizes [18,19].

Os nanomateriais são materiais com partículas cujo tamanho está na faixa de 1 a 100 nm e permitem novas possibilidades de estruturas, propriedades e aplicações. O óxido de grafeno reduzido (rGO) é um exemplo de nanomaterial que pode ser utilizado em fotodetectores [20], em processos adsorptivos de poluentes [21], eletrocatalisadores para aplicações em células de combustível [22], e outros [23–25]. As propriedades do rGO podem potencializar a capacidade quantitativa e qualitativa eletroanalítica para a identificação de espécies biológicas e ambientais. Além de permitir o monitoramento das condições de qualidade de medicamentos, produtos alimentícios, farmacológicos [2] e em determinações de diversos contaminantes através da eletroanalítica [26] (ANEXO 1, item 1.1 e 1.2).

A Lei nº 6.938/1981 define poluição como a degradação da qualidade ambiental, o prejuízo à qualidade de vida da população, às atividades econômicas e entre outras [27]. A poluição pode ser causada por compostos contaminantes que afetam os seres humanos, os animais, o ecossistema, devido as suas propriedades mutagênicas, tóxicas e carcinogênicas [28]. Dessa forma, este trabalho objetiva desenvolver um eletrodo quimicamente modificado com rGO para detecção de um contaminante dos seres vivos e do meio ambiente, denominado de 17 α -etinilestradiol.

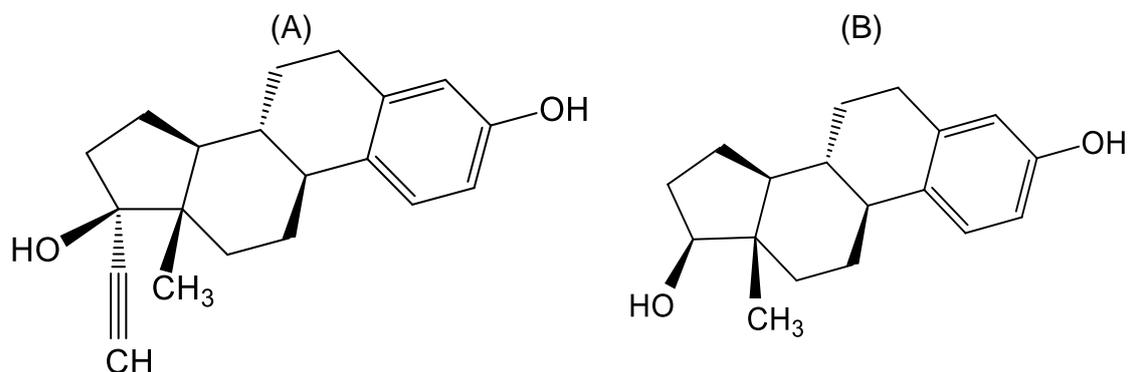
1.1 17 α -etinilestradiol (EE2)

O crescente processo de urbanização e industrialização nas últimas décadas, intensificaram a exposição dos micropoluentes emergentes aos seres vivos e ao meio ambiente. Esses compostos podem ser de origem orgânica ou inorgânica, naturais ou sintéticos, que mesmo em baixas concentrações (ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1}) proporcionam alto risco à saúde humana e ao meio ambiente. Tais compostos químicos podem ser encontrados em produtos de higiene pessoal, surfactantes, agrotóxicos, nanopartículas, fármacos, hormônios e outros [29,30].

Dentre esses micropoluentes, os compostos desreguladores endócrinos são substâncias que têm a capacidade de alterar as funções do sistema endócrino dos seres humanos e de outros organismos. Esses compostos podem causar alterações ao meio ambiente e à saúde naqueles que são expostos, como infertilidade, aumento de incidência de tumores, feminização de organismos aquáticos, modificações no processo de desenvolvimento, alterações bioquímicas e histopatológicas e mudanças comportamentais [29–31].

Os estrogênios são hormônios biologicamente ativos, derivados do colesterol e liberados pelo córtex adrenal, testículos, ovários e placenta em humanos e animais, além de poder ser encontrado em plantas [30,32]. Dentre esses compostos, o 17 α -etinilestradiol (EE2) (Figura 1A) é um estrogênio sintético, muito usado na composição de contraceptivos orais (CO_n) derivado do 17 β -estradiol (Figura 7B), que é um hormônio natural feminino. Onde o α e β são originados da posição do grupo hidroxila do C17 sobre ou abaixo do plano molecular [32,33]. Os contraceptivos orais (CO_n), conhecidos como pílulas anticoncepcionais, são compostos por hormônios sintéticos, que possuem elevada importância nas políticas de saúde pública e controle de natalidade, com a prevenção da gravidez indesejada, auxilia em tratamentos médicos de síndrome dos ovários policísticos, endometriose, amenorréia e dismenorria [34–36].

Figura 1. A) Fórmula estrutural do 17 α -etinilestradiol (C₂₀H₂₄O₂); B) Fórmula estrutural do 17 β -estradiol (C₁₈H₂₄O₂). **Fonte:** A) [32,33]; B) [32,33].



O EE2 é um dos medicamentos mais consumidos no mundo [30,31,35,37,38], comumente utilizado em terapia de reposição hormonal, para interromper a lactação, combater a síndrome pré-menstrual e cistos ovarianos. Estudos indicam que o EE2 pode estar vinculado a vários outros riscos à saúde, como o aumento da pressão arterial. Tais riscos decorrem do fato do EE2 possuir uma maior estabilidade e interagir da mesma forma que o estradiol nos receptores celulares, o que intensifica a produção de angiotensinogênio hepático, além do desenvolvimento de diabetes *melittus* II, acidente vascular cerebral (AVC), infarto do miocárdio, coagulação acelerada, fibrinólise e trombose venenosa [36,39,40].

Os contraceptivos orais podem ser compostos unicamente com o progestagênio isolado, ou com a combinação do progestagênio e estrogênio. Os compostos contidos nos CON previnem a gravidez, pois inibem a liberação do hormônio folículo estimulante e do hormônio luteinizante, responsável pelo estímulo da glândula pituitária. Esses processos evitam a ovulação, inibem a implantação do óvulo, por alterarem o revestimento do útero, além de alterar o muco cervical para impedir a entrada dos espermatozoides. Desde 1960, os CON combinados são os métodos contraceptivos mais utilizados, e foram aprovados primeiramente nos Estados Unidos, com adesão de aproximadamente 80% das mulheres [36,40,41].

O consumo de pílulas anticoncepcionais orais compõe o método de contracepção mais acessíveis às mulheres no Brasil, onde esse medicamento é disponibilizado gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Estima-se que, em países mais industrializados, 26 % das mulheres em idade reprodutiva

utilizam esses hormônios ou que, de modo geral, 82% já utilizaram em algum momento da vida [42]. Apesar disso, 21% das mulheres apresentam alguma contraindicação ao uso de anticoncepcionais orais devido a problemáticas de saúde como diabetes, pressão arterial, trombose, e esses medicamentos podem agravar os sintomas [36,43].

O EE2 presente em diversos contraceptivos orais pode ser aportado no meio hídrico através da excreção de urina e fezes, sendo geralmente encontrado em sua fase conjugada (sulfatos e glicuronídeos). Ao serem descartados nos esgotos, esses compostos vão para os ambientes aquáticos *in natura* ou na forma de efluentes. Além desse fator, o 17 α -etinilestradiol é o mais persistente dos estrogênios, o menos solúvel em água em pH 4,00 e 7,00, enquanto que a solubilidade de estrogênios é aumentada em pH 10,00. Além disso, possui um tempo de meia-vida em água de aproximadamente 17 dias e uma baixa taxa de fotodegradação [30,32].

Em relação aos efeitos ecotoxicológicos em corpos hídricos, os estudos realizados demonstram um limite de 35,00 pg L⁻¹ para o EE2 em corpos hídricos [30]. Para a União Europeia, esse composto é caracterizado como carcinogênico, mutagênico e tóxico para a reprodução, de acordo com a Agência Europeia ECHA (*European Chemicals Agency*) [44]. Nos EUA, as instituições responsáveis já classificaram o EE2 como uma espécie tóxica para o ser humano, mas não a incluíram na lista de parâmetros de controle da qualidade dos corpos hídricos. Enquanto isso, no Brasil, tanto a legislação para consumo humano, quanto à qualidade dos corpos hídricos não contemplam esse estrogênio sintético [30].

A determinação desse composto em amostras biológicas, farmacêuticas e ambientais pode ser realizada por diversas técnicas analíticas, tais como, eletroforese [45], imunoenensaio [46], cromatografia líquida [47] e gasosa [48]. Entretanto, essas análises apresentam procedimentos exaustivos, dificuldades de realizar medições *in situ*, reagentes e equipamentos de alto custo, a necessidade de operadores qualificados, e a exigência frequente de várias amostras preparadas com etapas como extração, limpeza e pré-concentração [38].

O estudo de Nodehi *et al.* [49] foi o desenvolvimento de um sensor eletroquímico composto por nanotubos de carbono multifoliados e

nanopartículas magnéticas funcionalizadas com ácido tânico e nanopartículas de ouro para detecção do EE2, onde obtiveram o LD de $3,30 \text{ nmol L}^{-1}$. Os compostos que constituíram o sensor foram escolhidos, pois, os nanotubos de carbono apresentarem uma elevada capacidade de transferências de elétrons, as nanopartículas de ouro, devido as propriedades físicas e químicas, as nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 para estabilização e suporte dos compostos constituintes do sensor.

Pavinatto *et al* [81] produziram um eletrodo suportado em óxido de estanho dopado com flúor (FTO) revestido com filmes nanoestruturados de quitosana, nanotubos de carbono de paredes múltiplas, o LD obtido foi de $0,09 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Segundo o trabalho, os constituintes do FTO foram escolhidos devido a elevada área superficial, o baixo custo sintético e elevada capacidade para condutividade elétrica.

O sensor do trabalho de Prado *et al.* [50] foi composto por nanopartículas de rutênio em óxido de grafeno reduzido (rGO) para a determinação simultânea de EE2 e amoxicilina, onde obtiveram LD de $2,04 \text{ nmol L}^{-1}$ e $1,63 \text{ nmol L}^{-1}$, respectivamente. O rGO foi escolhido devido a elevada capacidade condutora e a morfologia, enquanto as nanopartículas de rutênio aprimoraram a capacidade eletrocatalítica.

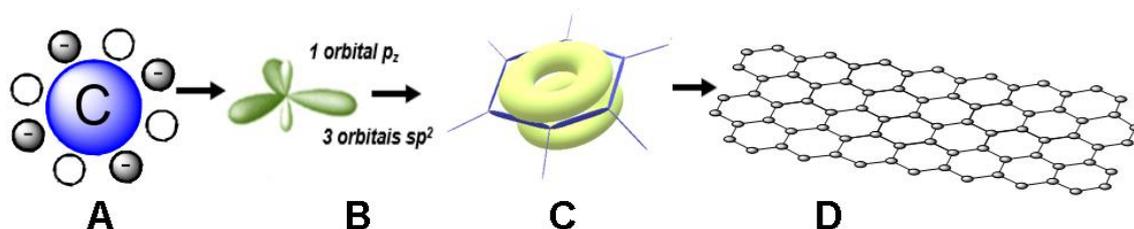
As análises eletroquímicas permitem a investigação de espécies com análises com menor custo de operação, a especificidade e seletividade das substâncias estudadas, além de procedimentos mais rápidos, o que favorecem sua escolha. Devido às elevadas problemáticas ambientais e sanitárias que o descarte do 17α -etinilestradiol apresenta, este trabalho objetiva o estudo e a aplicação de eletrodos de pasta de carbono modificados para a determinação do EE2 em níveis traços em matrizes, tais como urina, comprimido anticoncepcional e águas residuais.

1.2 Grafeno e seus derivados

O carbono é o principal elemento constituinte dos compostos orgânicos e as propriedades dos materiais carbonáceos permitem sua utilização na produção de novas tecnologias com diversas aplicações em escala nanoestruturada.

Dentre estes nanomateriais, o grafeno é uma forma alotrópica do carbono, assim como o fulereno, diamante, C_{60} e os nanotubos de carbono [13,51–53]. O grafeno possui estrutura hexagonal repetitiva como em um favo de mel, disposta em uma monocamada plana de átomos de carbono com hibridização sp^2 e empacotada em um retículo bidimensional (2D) [54–58]. A hibridização sp^2 é a combinação dos orbitais s , p_x e p_y , referentes às três ligações internucleares (σ), fortemente covalentes, que cada átomo de carbono possui com outros três átomos de carbonos. Além disso, a presença de um elétron livre no orbital p_z , localizado acima do plano, é responsável pela formação da ligação π e da rede π - π conjugada (Figura 2) [59].

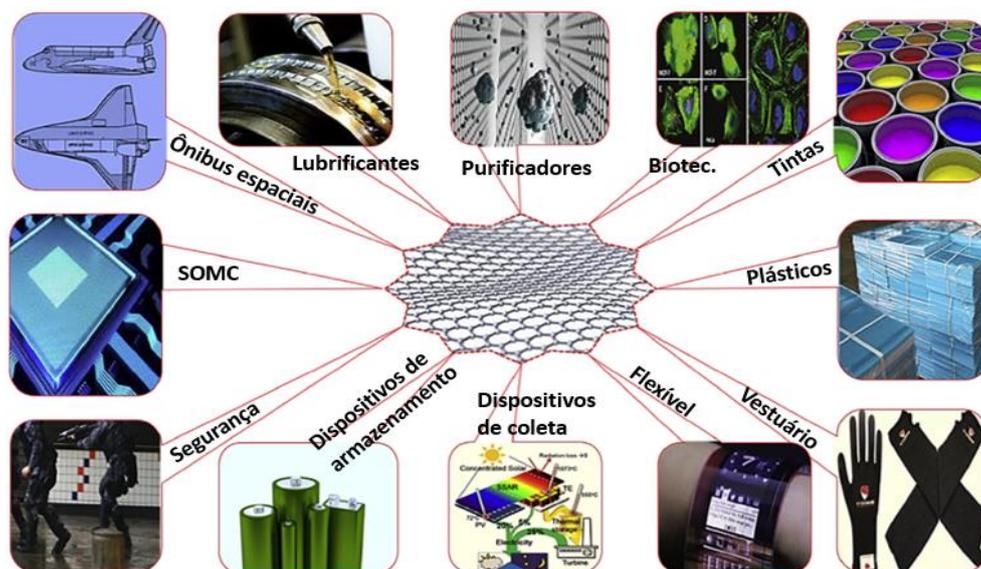
Figura 2. Representação A) do átomo de carbono no estado fundamental; B) dos orbitais híbridos dos carbonos presentes no grafeno; C) nuvem eletrônica formada por elétrons livres; D) da folha de grafeno. **Fonte:** Adaptado de [59].



O grafeno é um material com propriedades eletroquímicas e elevado desempenho capacitivo de dupla camada, devido à sua morfologia em forma de folhas, possui características de material semimetálico, por causa da estrutura especial da banda π - π^* [60]. Apresenta excelente condutividade elétrica ($1,00 \cdot 10^8 \text{ S m}^{-1}$), originada da rede π - π conjugada, alta área superficial, em torno de $2630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, alta resistência mecânica (aproximadamente 1100 Gpa, módulo de Young, propriedade mecânica que mede a rigidez de um material sólido), tem elevada condutividade térmica (aproximadamente $5000 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$) e outras propriedades importantes para suas aplicações [58,60–62]. Suas especificidades geram aplicações mecânicas [57], anticorrosivas [63], magnéticas [64], elétricas [65] entre outras [24,66,67], apresentadas na Figura 3.

Figura 3. Representação das múltiplas aplicações do grafeno funcionalizado.

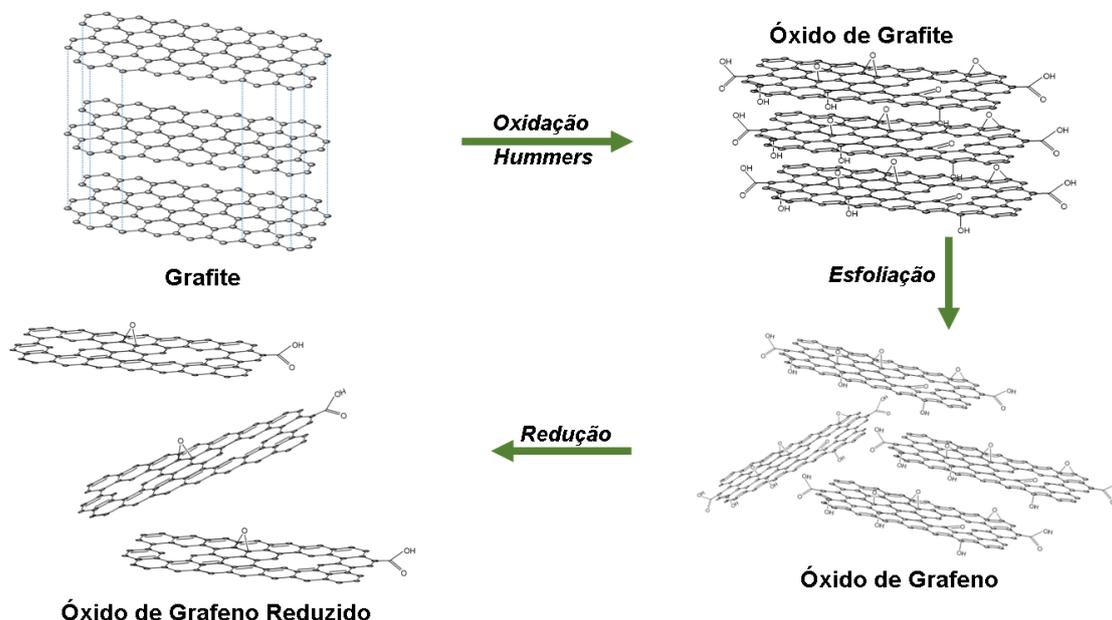
Fonte: Adaptado de [56].



* SOMC: Semicondutor de óxido metálico complementar.

Entretanto, todas essas aplicações do grafeno advêm de processos sintéticos caros e com baixo rendimento, o que inviabiliza a sua utilização. Além disso, o grafeno puro é quimicamente inerte e possui baixa dispersão em água, tornando sua aplicação limitada em algumas áreas [13,59]. Uma alternativa para atenuar essas desvantagens são os processos de síntese de derivados do grafeno, como o óxido de grafeno (GO) e o óxido de grafeno reduzido (rGO) (Figura 4) [23,51,57].

Figura 4. Representação da disposição das folhas do grafeno que compõem o grafite, do óxido de grafite após o processo de oxidação, do óxido de grafeno obtido pelo processo de esfoliação e do óxido de grafeno reduzido. **Fonte:** Adaptado de [51].



O óxido de grafeno (GO) têm sido sintetizado desde o século XIX, através dos métodos de Brodie em 1859, Staundenmaier em 1898, Offeman e Hummers em 1958 [68]. Esses processos são baseados na oxidação das folhas do grafeno, que se encontram empilhadas através de força de Van der Waals, compondo o grafite, o que gerou diversas outras metodologias para obtenção do material (Tabela 1) [69]. O GO é obtido pela funcionalização das folhas de grafeno, onde esse apresenta maior reatividade devido à presença de grupos oxigenados em sua estrutura [51,60]. Esse material apresenta regiões aromáticas (carbono sp^2) e regiões oxigenadas (carbono sp^3), contendo grupos carboxílicos (COOH), carbonila (C=O), epóxido (C-O-C) e hidroxila (O-H). Como ilustrado na Figura 4, os grupos carboxílicos situam-se nas bordas das camadas, enquanto acima e abaixo de cada camada do GO estão os grupos epóxi e hidroxila. Esses grupos funcionais conferem características hidrofílicas e dispersivas, diferentemente do grafite e do grafeno, que são hidrofóbicos [23,57,69].

Tabela 1. Alguns métodos de síntese do Óxido de Grafeno. **Fonte:** Adaptado de [62].

Método	Agentes oxidantes	Vantagens	Desvantagens
<i>Brodies</i>	KClO ₃ , HNO ₃	Método mais antigo	Longo tempo de síntese (3-4 dias) Perigoso devido à emissão de gases tóxicos
<i>Staudenmaier</i>	KClO ₃ , H ₂ SO ₄ , HNO ₃	Método mais rápido que o de Brodies e com maior rendimento	Perigoso e longo tempo de síntese
<i>Hummers</i>	KMnO ₄ , H ₂ SO ₄ , NaNO ₃	Requer menos tempo (<2 h) Não necessita de água	Emissão de gases tóxicos com o NaNO ₃
<i>Oxidação líquida baseada no método de Hummers</i>	KMnO ₄ , NaNO ₃ , H ₂ SO ₄	Validou que o NaNO ₃ é desnecessário Menor tempo de reação (<2 h)	–
<i>Método eletroquímico</i>	H ₂ SO ₄	Características de suporte eletroquímico Alta eficiência e rendimento Menor tempo (<5 min)	–

O óxido de grafeno (rGO) pode ser obtido através de processos térmicos, eletroquímicos, foto-redutores e outros (Tabela 2). Segundo Jimenez-Cervantes *et al.* [51], o método químico demonstra ser o mais promissor, por apresentar rotas sintéticas mais fáceis, que podem ser alteradas mediante o objetivo da pesquisa. Além disso, por meio do método químico, pode-se utilizar diferentes agentes redutores, tais como a hidroquinona, borohidreto de sódio, ácido ascórbico (ANEXO 2, item 2.1), cafeína e outros, podem gerar diferentes propriedades [69–71].

Tabela 2. Vantagens e desvantagens dos processos de redução do óxido de grafeno. **Fonte:** Adaptado de [58].

Método de Redução	Vantagens	Desvantagens
Química	Método econômico, fácil e aplicável	Agentes redutores tóxicos Baixa relação C/O Baixa qualidade
Térmica	Redução mais efetiva que a Química Maior restauração de domínios sp^2	Inadequado para produção em massa Geralmente necessita de altas temperaturas Não é eficiente economicamente Muito tóxico
Microondas	Ampla área superficial Elevada condutividade elétrica Capacidade de descarga e carga	Reoxidação da estrutura do grafite causada pela extensa exposição às radiações no ar
Foto-redução	Menos impurezas Produção em larga escala Aumento da razão C/O Melhor condução elétrica	Baixo grau de redução Alta citotoxicidade Requer o auxílio de processos de redução Química

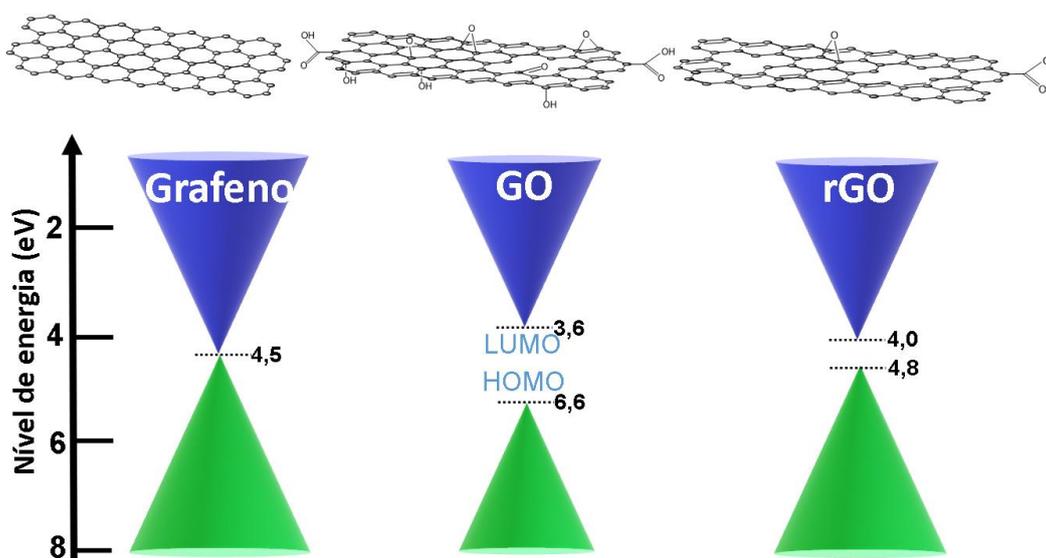
O processo de síntese do rGO permite a reorganização da rede π -conjugada, devido a diminuição dos grupos oxigenados, o que o assemelha às propriedades e à estrutura do grafeno. Porém, esse não possui arranjo específico para a distribuição dos domínios aromáticos, alifáticos e para os grupos funcionais oxigenados. Mesmo assim, após o processo de redução, o composto apresenta grupos carbonilas e éteres estáveis que não são removidos sem danificar o plano basal. O óxido de grafeno reduzido apresenta defeitos em suas folhas, chamados de defeitos de Stone-Wales, que são caracterizados por buracos na estrutura causados pela perda de carbono durante o processo de redução, na forma de CO e CO₂, onde a proposta desse mecanismo é demonstrada no Anexo 2 [51,69–71].

A funcionalização não-covalente é outra ocorrência verificada durante o processo de redução e obtenção do rGO. A conformação da rede de carbono pode promover interações atrativas, possibilitando a imobilização de moléculas em ambos os planos basais do rGO por meio de interações π , efeitos hidrofóbicos, forças de van der Waals, interações eletrostáticas e ligações de

hidrogênio [51,69–71]. Essas características permitem maior sensibilidade a campos magnéticos externos em comparação ao grafeno, por causa das vacâncias e dos defeitos estruturais que podem ser gerados durante o processo de redução [72].

Os átomos presentes nos compostos sólidos de GR, GO e rGO podem possuir um grande número de orbitais atômicos sobrepostos (Figura 5). O método de Combinação Linear de Orbitais Atômicos (CLOA) demonstra que os orbitais atômicos geram orbitais moleculares ou bandas, que podem ser separadas por regiões onde não há orbitais moleculares, denominadas de falhas ou *band gap*. Quanto maior a sobreposição entre esses orbitais, menores são os *band gap*. Assim, uma maior condutividade elétrica é gerada, por ser necessária uma menor quantidade de energia para promover os elétrons entre os orbitais moleculares presentes. Os elétrons desses orbitais, de acordo com o princípio do preenchimento de elétrons, podem estar presentes no orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO), e o orbital molecular vazio de mais baixa energia (LUMO), o próximo a ser ocupado [73].

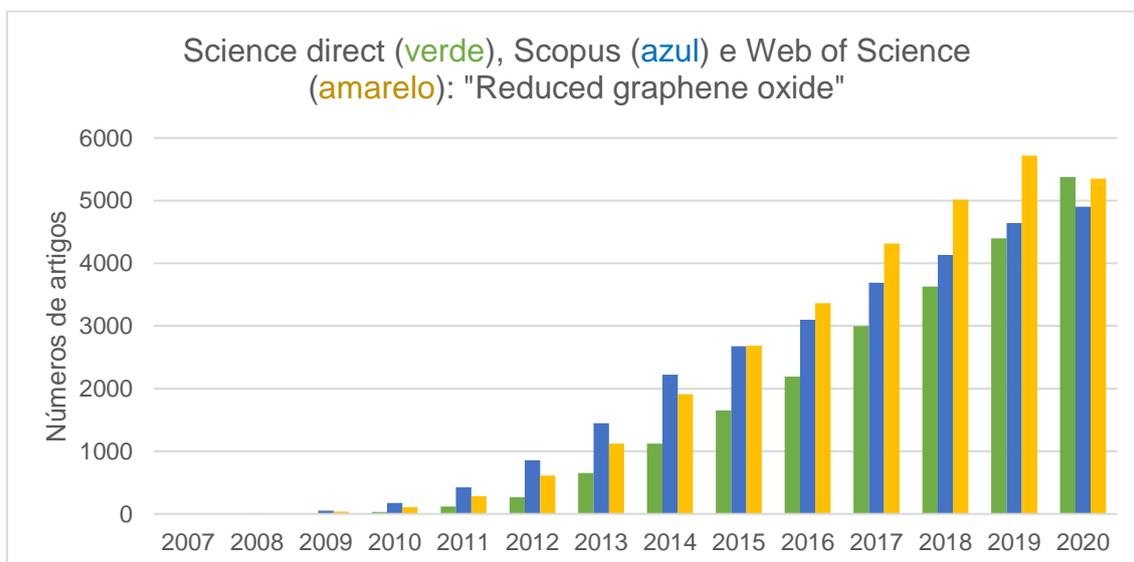
Figura 5. Diagramas de níveis de energia para o grafeno, GO e rGO. **Fonte:** Adaptado de [20,60,71].



Enquanto que o grafeno possui *band gap* de 0,00 eV, o GO possui a energia de *band gap* superior ao do GR, aproximadamente 2,20 eV, devido à diminuição da quantidade de carbonos sp^2 , substituídos por grupos oxigenados

no proceso de oxidação das folhas de grafeno, gerando carbonos sp^3 . O proceso de redução para a obtenção do rGO garante características de um semiconductor com *band gap* com valores entre 1,00 a 1,69 eV, pelo aumento de carbonos sp^2 (Figura 5) [20,60,71]. Essas propriedades permitem que o rGO possa ser aplicado em células solares [74,75], em processos catalíticos [22,26,76], em estudos de atividades biológicas [77–79] e eletroquímicas [80–82], o que reflete no crescente número de artigos publicados referentes ao rGO (Figura 6).

Figura 6. Crescimento do número de artigos sobre óxido de grafeno reduzido, pesquisado na base de dados *Science direct* (verde) em <https://bit.ly/39drOKS>, *Web of Science* (azul) em <http://bit.ly/35gKrMQ> e *Scopus* (amarelo) em <https://bit.ly/2MKLA99>, com o termo “*Reduced graphene oxide*”. **Fonte:** Autoria própria.



A partir de 2011, percebe-se que o número de publicações sobre o rGO aumentou consideravelmente as publicações científicas sobre suas propriedades de adsorção, aplicações como capacitores e sensores eletroquímicos. Oghli e Soleymanpour [80] desenvolveram um sensor de grafite extraído de lápis modificado com polioxometalato e rGO para a determinação de paroxetina em meios biológicos e farmacêuticos; Moreira e colaboradores [81] determinaram D-xilose através de eletrodos quimicamente modificados (EQM) com rGO e poli(fenol) molecularmente impresso; Sheikh-Mohseni e colaboradores [22] estudaram eletrodos modificados com nanopartículas

bimetálicas Ni-Co suportadas por óxido de grafeno para oxidação de metanol. O rGO também pode ser facilmente incorporado em eletrodos de pasta de carbono, uma plataforma bastante versátil que pode ser facilmente modificada e empregada como sensor eletroquímico para a detecção de diversos analitos [12,83–85].

1.3 Eletrodos de pasta de carbono modificados com óxido de grafeno reduzido (rGO)

Os eletrodos de pasta de carbono (EPC) surgiram na década de 1950 [86]. Suas diversas aplicações são devidas ao baixo custo, grandes janelas de potenciais, modificação simples, fácil renovação da superfície, boa sensibilidade, além de baixa corrente de fundo (corrente capacitiva, Anexo 1, item 1.1) e rápida resposta. O EPC é formado por uma mistura de pó de grafite, que possui alta condutividade elétrica e baixo custo, e um material aglutinante hidrofóbico e inerte, com a finalidade de manter a coesão da pasta em soluções aquosas e pode ser modificado com a inserção de diversos compostos [87–90].

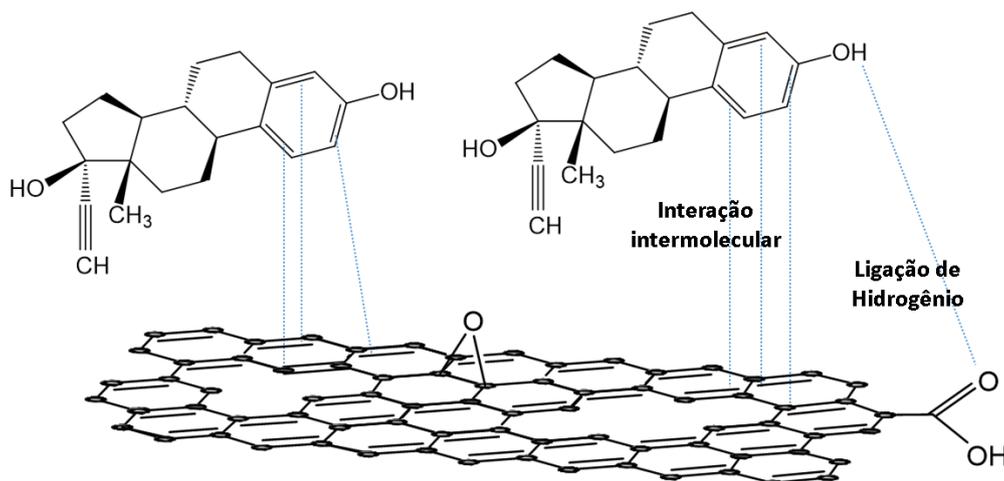
A inserção de espécies quimicamente ativas na superfície dos eletrodos pode ampliar a seletividade, sensibilidade, estabilidade química e eletroquímica. O que pode proporcionar uma rápida transferência de elétrons e maior estabilidade nas faixas de potenciais necessários para ocorrer o processo de oxidação e redução da espécie de interesse [87,88,91,92] (ANEXO 1, item 1.1 e 1.2; ANEXO 3).

Os compostos utilizados como modificadores nos eletrodos podem ser condutores ou semicondutores [91], tais como, polímero [93], moléculas orgânicas [94], líquido iônico [95], nanomateriais [96], dentre outros [91,97,98] (APÊNDICE 1 e 2). Onde esse pode ser denominado de eletrodo quimicamente modificado (EQM). A inserção dessas espécies podem ser realizadas através de eletrodeposição [97], produção de eletrodos impressos [99], mistura física dos componentes (pasta de carbono) [100] e outros métodos [91].

O óxido de grafeno reduzido é um nanomaterial que pode proporcionar maior condutividade aos eletrodos, devido ao reduzido *band gap* e à elevada quantidade de carbonos sp^2 . Além disso, o rGO apresenta uma excelente

flexibilidade mecânica, elevada estabilidade térmica, morfologia laminar (material 2D), onde a menor proporção de grupos funcionais presentes na estrutura, permitem maiores áreas de superfície para interações eletrodo-analito e uma maior capacidade de aplicações eletroanalíticas, como também a modificação da sua superfície com a inserção de outras espécies [80,88,101–104]. O biosensor desenvolvido por Pavinatto *et. al.*[19] foi composto por nanofibras eletrofiadas de polivinilpirrolidona (PVP), quitosana e rGO, funcionalizado com enzima lacase, para detecção do 17 α -etinilestradiol (EE2). O EE2 é uma substância tóxica a qual pode ser estudada por meio de análises eletroanalíticas. Devido as características do rGO, as interações não covalentes rGO-EE2 podem ser mais efetivas, como apresentado na Figura 7.

Figura 7. Ilustração das prováveis interações do óxido de grafeno reduzido com o 17 α -etinilestradiol. **Fonte:** Autoria própria.



As vantagens que o rGO oferece estão refletidas nos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) obtidos para diversos compostos em análises eletroquímicas [19,104,105]. O LD é a menor quantidade de analito que pode ser detectada em uma amostra, e o LQ é a menor quantidade que pode ser medida em uma amostra com precisão sob condições experimentais específicas [106].

Dentre os descritos na Figura 6, o desenvolvimento de sensores à base de polivinilpirrolidona, quitosana e nanofibras eletromagnéticas com óxido de grafeno reduzido para a detecção eletroquímica de 17 α -etinilestradiol, apresentou um baixo limite de detecção (0,15 pmol L⁻¹) [19]. Outro estudo [107]

obteve LD de 0,39 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LQ de 1,32 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para determinação direta de L-triptofano, utilizando *E. tereticornis leave* como agente redutor ecológico para a síntese de nanopartículas de rGO e ouro. O estudo de Dong e colaboradores [108] demonstrou o desenvolvimento de filmes flexíveis de rGO dopado com nitrogênio e enxofre, pelo mecanismo respiratório de bactérias redutoras de sulfato, para a detecção de biomarcadores de câncer, resultando em um limite de detecção de 50,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Esses estudos demonstram a relevância devido a identificação e quantificação de espécies que podem comprometer o desenvolvimento e a segurança sanitária dos seres vivos e do meio ambiente. O rGO pode contribuir para análises dessas espécies devido as suas diversas características apresentadas, como a elevada capacidade de condutividade elétrica, a elevada área superficial e as interações não-covalentes entre analito/modificante. Sendo assim, objetiva-se desenvolver um EQM com rGO que seja capaz de identificar e determinar quantidades traço do EE2. Hormônio esse que é subestimado pela legislação brasileira, mas que pode ser altamente danoso à diversos organismos e meios aquáticos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e avaliar o desempenho dos eletrodos de pasta de carbono modificados com óxido de grafeno reduzido para a detecção eletroquímica do 17 α -etinilestradiol.

2.2 Objetivos Específicos

Sintetizar o óxido de grafeno reduzido utilizando ácido ascórbico como agentes redutores;

Estudar o comportamento eletroquímico dos eletrodos de pasta de carbono modificados com óxido de grafeno reduzido;

Otimizar as condições de análise do eletrodo modificado obtido e construir um método analítico para a determinação do 17 α -etinilestradiol; e

Aplicar o sensor eletroquímico na determinação de 17 α -etinilestradiol em amostras de água residuária, comprimido anticoncepcional e urina sintética.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Os reagentes utilizados nas sínteses do óxido de grafeno, óxido de grafeno reduzido e para o preparo das soluções usadas nas análises, estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Reagentes utilizados e suas respectivas procedências e purezas.

Reagente	Fórmula Molecular	Fabricante	Grau de Pureza
17 α -etinilestradiol	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	Sigma-Aldrich	98,00%
Acetato de sódio trihidratado	CH ₃ COONa.3H ₂ O	Dinâmica	PA
Ácido acético	CH ₃ COOH	Vetec	99,70%
Ácido ascórbico	C ₆ H ₈ O ₆	IMPEX	99,00%
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	Reagen	99,90%
Ácido ortofosfórico	H ₃ PO ₄	Synth	85,00%
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄	CRQ	98,10%
Álcool isopropílico	C ₂ H ₈ O	Dinâmica	99,50%
Brometo de potássio	KBr	Merck	99,50%
Cafeína	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	Sigma-Aldrich	99,90%
Cloreto de Cálcio dihidratado	CaCl ₂ .2H ₂ O	Dinâmica	99,00%
Cloreto de Amônio	NH ₄ Cl	Dinâmica	99,50%
Cloreto de Potássio	KCl	Dinâmica	99,50%

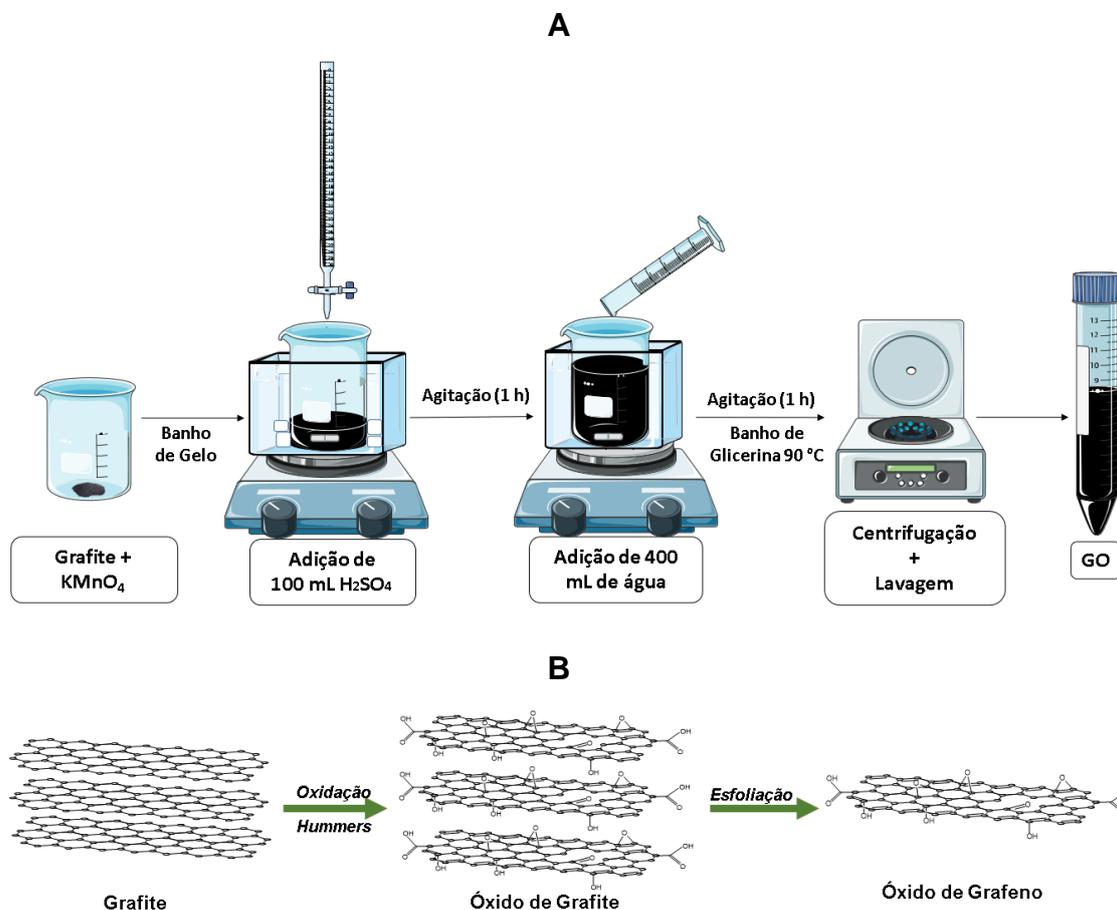
Cloreto de Magnésio hexahidratado	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	Dinâmica	99,00%
Etanol	C_2H_5OH	NEON	99,80%
Estrona	$C_{18}H_{22}O_2$	Sigma-Aldrich	99,00%
Ferricianeto de potássio	$K_3Fe(CN)_6$	J.T. Barker	99,50%
Ferrocianeto de potássio trihidratado	$K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$	Carlos Erba	99,00%
Fosfato de sódio bibásico anidro	Na_2HPO_4	Neon	PA
Fosfato de sódio monobásico anidro	NaH_2PO_4	Synth	PA
Grafite em pó	C	Sigma-Aldrich	99,90%
Hidróxido de sódio	NaOH	IMPEX	99,00%
Nitrato de Chumbo	$Pb(NO_3)_2$	Dinâmica	99,00%
Óxido de Índio dopado com Estanho	$In_2O_3:Sn$	Sigma-Aldrich	99,90%
Permanganato de potássio	$KMnO_4$	Sigma-Aldrich	97,00%
Sulfato de Sódio	Na_2SO_4	Dinâmica	99,00%
Ureia	CH_4N_2O	Vetec	P.A.

3.2 Síntese dos Materiais

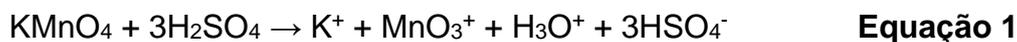
3.2.1 Síntese do Óxido de Grafeno

A obtenção do óxido de grafeno baseou-se no método de Hummers com as devidas modificações, o qual utiliza o permanganato de potássio ($KMnO_4$) como agente oxidante do grafite e ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado [12,25,69,109], como demonstrado na Figura 8.

Figura 8. A) Fluxograma das sínteses do óxido de grafeno, e ilustração molecular dos processos de oxidação e B) esfoliação para obtenção do óxido de grafeno. **Fonte:** Autoria própria.



Para a síntese, em um béquer de 500,00 mL, foram misturados 5,0000 g de grafite em pó e 15,0000 g de permanganato de potássio. As reações que ocorrem com o permanganato que resultaram na formação do heptóxido de dimagnésio (Mn_2O_7) estão apresentadas nas Equação 1 e 2 [51].



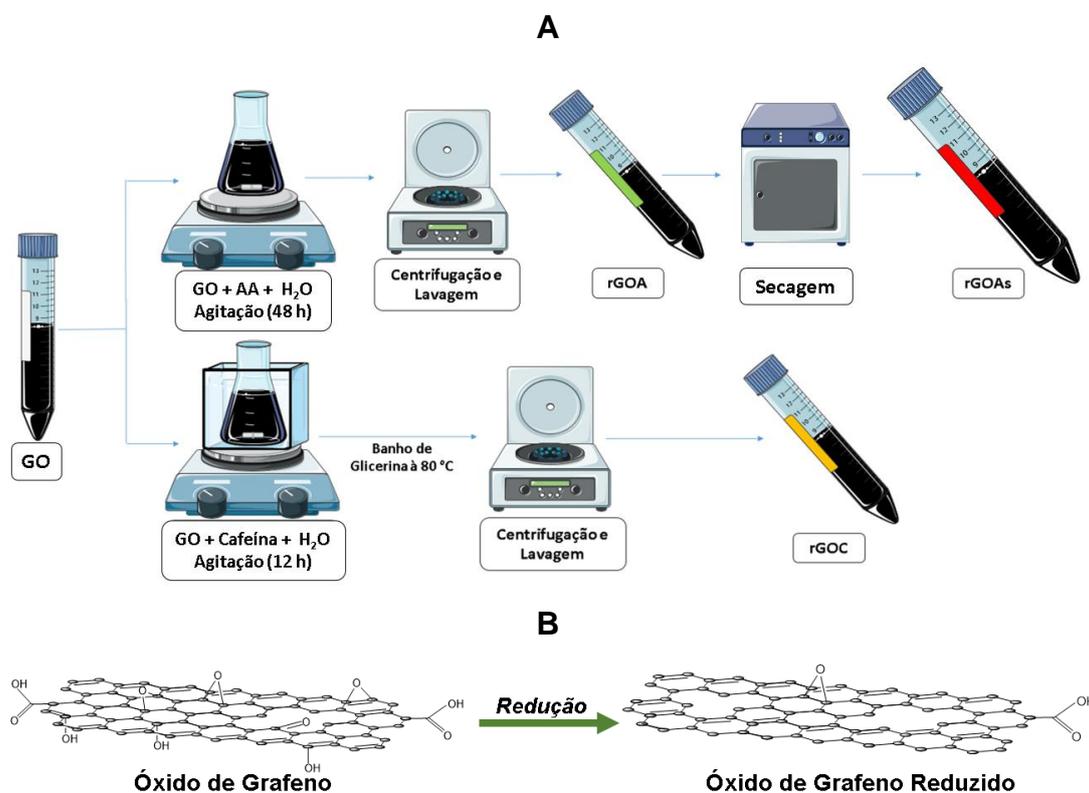
O recipiente com a mistura foi colocado em um banho de gelo. Foram adicionados 100,00 mL de ácido sulfúrico concentrado (98,1%), gota a gota, sob agitação constante por 1 hora. Durante o processo, ocorreu a formação de uma pasta de cor amarronzada. Em seguida, retirou-se o béquer do banho de gelo e foram adicionados, rapidamente, 400,00 mL de água ultrapura, sob agitação

vigorosa. Depois, o recipiente foi levado ao banho de glicerina a 90 °C por 1 hora sob constante agitação. Foi observado, ao final desse período, a formação de um material de coloração marrom escuro. Em seguida, o produto obtido foi lavado com água ultrapura por 3 vezes e centrifugado por 5 minutos a 4000 rpm.

3.2.2 Síntese do Óxido de grafeno reduzido (rGO)

A redução do óxido de grafeno foi realizada por meio de dois métodos, utilizando como agentes redutores o ácido ascórbico (AA) [12,25] e a cafeína [110], como demonstrado na Figura 9.

Figura 9. A) Fluxograma do processo de redução do óxido de grafeno com ácido ascórbico (AA) e cafeína e B) ilustração molecular da redução do óxido de grafeno. **Fonte:** Autoria própria.



A redução do óxido de grafeno com ácido ascórbico (AA) foi realizada adicionando em um erlenmeyer, 1,0000 g do óxido de grafeno e 10,0000 g de ácido ascórbico em 50,00 mL de água ultrapura. O AA foi escolhido por esse

composto apresentar uma baixa citotoxicidade, baixo nível de contaminação, baixo custo e uma elevada capacidade de reduzir outros compostos. A suspensão obtida ficou em agitação constante por 48 h à temperatura ambiente. Ao final da síntese, centrifugou-se a suspensão por 5 minutos a 4000 rpm e lavou o material obtido para garantir a mínima permanência de AA. Em seguida, parte do material obtido, denominado de rGOA, foi armazenado sob refrigeração a aproximadamente 4 °C, outra parte foi seca em estufa à 60°C por 11 horas, obtendo o rGOAs.

A redução do óxido de grafeno utilizando a cafeína foi realizada empregando o método de Vu *et al.* [110], onde essa caracteriza-se como um composto de fácil obtenção e capacidade de reduzir outros compostos. Para a síntese, foi utilizada a proporção 10:300 (mg:mg) de GO:cafeína em 100,00 mL de água ultrapura. O sistema foi colocado em banho de glicerina a 80 ± 1 °C, sob agitação constante por 12 horas. Após esse período, o produto foi lavado com água ultrapura e etanol 1:1 (v/v) por 3 vezes, para garantir a mínima permanência da cafeína, seguidas de centrifugação a 4000 rpm durante 5 minutos. Parte do material obtido, denominado de rGOC, foi armazenado sob refrigeração a aproximadamente 4 °C.

3.3 Caracterizações dos materiais sintetizados

3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Através da microscopia eletrônica de varredura buscou-se analisar a morfologia do grafite, GO, rGOA, rGOAs e rGOC. As metalizações das amostras foram realizadas com prata para obter uma maior resolução da morfologia da superfície. Para isso, foi utilizado uma metalizadora Cressington do fabricante Kurt J. Lesker 108. As imagens de MEV foram obtidas por meio de um microscópio de marca HITACHI, modelo TM 3000, no Centro de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM-UFS). O equipamento foi operado sob vácuo e com aceleração do feixe de elétrons de 15 kV.

3.3.2 *Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)*

A análise da microscopia eletrônica de transmissão foi realizada no Centro de Multiusuário de Nanotecnologia da Universidade Federal do Sergipe (CM-NANO-UFS). O equipamento utilizado foi um microscópio JEOL JEM 1400Plus, que foi operado em 120 kV. As amostras foram dispersas em álcool isopropílico e submetidas a banho de ultrassom por 8 minutos. Utilizou-se 5,00 μ L dessas dispersões que foram adicionadas sobre telas de cobre recobertas com filme de carbono.

3.3.3 *Difração de Raios X (DRX)*

Para a identificação das fases do grafite, GO e rGO foram analisados por difração de raios X de pó, em um difratômetro de raios X do Departamento de Física da UFS (DFI – UFS/Campus Itabaiana). O aparelho é da marca Rigaku RINT PC DMAX Ultima+, com radiação Cu K α (0,15 nm) e 2θ , variando de 8 a 70, o passo da medida foi de 0,026 graus e o tempo de aquisição foi de 70 segundos, com varredura de 5 graus/min.

3.3.4 *Espectroscopia de Absorção Eletrônica na Região do UV-Vísivel*

O equipamento utilizado para realizar as medidas de espectroscopia de absorção eletrônica foi o UV-Visible Spectrophotometer CARY 100 Scan, com feixe duplo. Com o objetivo de averiguar o comportamento do material na faixa de comprimentos de onda de 200 nm a 800 nm. As cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,00 cm e duas faces polidas foram utilizadas. O solvente de referência foi água ultrapura. Para as análises, foram preparadas as dispersões com as massas do GR, GO rGOA e rGOAs em água ultrapura, a dispersão preparada foi depositada nas cubetas e foram realizadas as medidas.

3.3.5 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FTIR)

Foram obtidos espectros de absorção na região do infravermelho (entre 4000 e 500 cm^{-1} , *scan* de 64 s^{-1}) com o intuito de averiguar a presença de grupos funcionais do óxido de grafeno e do óxido de grafeno reduzido. O aparelho utilizado foi um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), modelo IRPrestige-21, da Shimadzu, do Centro de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM-UFS). O agente dispersante empregado para a formação da pastilha foi o brometo de potássio (KBr).

3.3.6 Espectroscopia Raman

Os espectros Raman do grafite, GO, rGOA, rGOAs e rGOC foram obtidos com o equipamento Espectrômetro Raman Dispersivo Senterra, fabricado pela Bruker Optik GmbH. As análises foram realizadas sem necessidade de preparo de amostras sólidas, onde foram depositadas sobre lâminas de vidro e realizados os estudos. As varreduras foram feitas na região de 1000 a 1800 cm^{-1} , empregando um laser de iodo com comprimento de onda de 785 nm.

3.4 Preparo de soluções

3.4.1 Soluções eletrolíticas

Solução de Ferrocianeto de potássio/Ferricianeto de potássio

Para o preparo da solução, foram medidas as massas de 0,0422 g de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 0,0329 g de $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e 7,4550 g de KCl, em seguida, as massas foram dissolvidas e transferidas para um balão, previamente calibrado, de 100,00 mL e o volume foi aferido com água ultrapura.

Tampão Fosfato (pH 7,00 e $\mu = 0,20 \text{ mol L}^{-1}$)

Para preparar a solução fosfato foram medidos 0,0805 g de fosfato de sódio bibásico, 0,0384 g de fosfato de sódio monobásico e 1,0535 g de cloreto de sódio e transferidos para um balão, previamente calibrado, de 100,00 mL com água ultrapura até completar o volume. O ajuste de pH foi realizado pela adição de NaOH 3,00 mol L⁻¹.

Tampão B-R (Britton-Robinson) ($\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$)

Foi preparado através da dissolução de 4,6400 g de ácido bórico, diluição de 4,35 mL de ácido acético e 5,05 mL de ácido ortofosfórico em um balão de 500,00 mL com água ultrapura até completar o volume. A solução teve o pH ajustado na faixa de 2,00 a 10,00, com uma solução de NaOH 3,00 mol L⁻¹.

Solução estoque de 17 α -etinilestradiol

Para o preparo de uma solução estoque de 10,00 mmol L⁻¹, foram dissolvidos 0,0296 g de 17 α -etinilestradiol, em um balão, previamente calibrado, de 10,00 mL com etanol até completar o volume [31]. Dessa solução, foram retirados os volumes para diluições diretas na célula eletroquímica.

3.4.2 Amostras Complexas

Urina sintética

A amostra de urina sintética foi preparada em 50,00 mL, previamente calibrado, de água ultrapura. Para a composição desta, foram dissolvidos: 0,1500 g de NaCl, 0,0800 g de KCl, 0,0600 g de CaCl₂.2H₂O, 0,0700 g de NH₄Cl e 1,2500 g de Na₂SO₄ [19,49,50].

Água residual

A água residual foi coletada na Companhia Sanitária do Estado de Sergipe/Brasil – DESO, na Estação de Tratamento de Esgoto do bairro Jabotiana. A coleta foi realizada com um recipiente de vidro previamente esterilizado e após a coleta o recipiente foi mantida em refrigeração. Para a análise, a amostra foi descongelada e em seguida, uma alíquota foi filtrada com filtro de seringa com diâmetro de poro igual a 0,45 μm .

Comprimido anticoncepcional

O anticoncepcional comercial usado como amostra foi adquirido em uma farmácia local e de acordo com o indicado no rótulo, contém 0,0350 mg de EE2 por comprimido. A amostra do CON foi preparada a partir de uma pílula, a sua massa foi quantificada e triturou-se o medicamento em almofariz e pistilo. Em seguida, a massa foi transferida para um tubo de ensaio e foram adicionados 3,00 mL de etanol. Posteriormente, o material foi centrifugado a 4000 rpm durante 10 min. Após essas etapas, o sobrenadante foi filtrado através de membrana de 0,45 μm , transferido para um balão volumétrico de 10,00 mL, previamente calibrado, e o volume foi completado com etanol [111].

Soluções de substâncias concomitantes

As soluções dos concomitantes ou interferentes foram preparadas com o objetivo de obter a concentração 0,10 mol L⁻¹, a partir de reagentes certificados. Onde as escolhas das espécies foram realizadas em outros estudos com analito analisado nesse trabalho. As massas de ácido ascórbico, nitrato de chumbo, sulfato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de magnésio, hexacianoferrato de potássio (III), cafeína, ureia e estrona foram quantificadas. As soluções foram preparadas em balões, previamente calibrados, de 10,00 mL, onde os volumes necessários foram adicionados com água ultrapura [19,49,111–113].

3.5 Obtenção dos eletrodos de pasta de carbono modificados

Os eletrodos de pasta de carbono sem modificação (EPC) foram constituídos por grafite em pó e o óleo mineral, na proporção de 65,0 e 35,0% respectivamente. Enquanto os eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados (EPCM) foram compostos por grafite em pó, óleo mineral e o modificante (APÊNDICE 2): óxido de grafeno reduzido com ácido ascórbico (ErGOA), rGO com ácido ascórbico seco (ErGOAs) e rGO com cafeína (rGOC) em diferentes proporções (2,5%, 5,0%, 7,5%, 10,0, 15,0, 20,0, 30,0%), como demonstrado na Tabela 4.

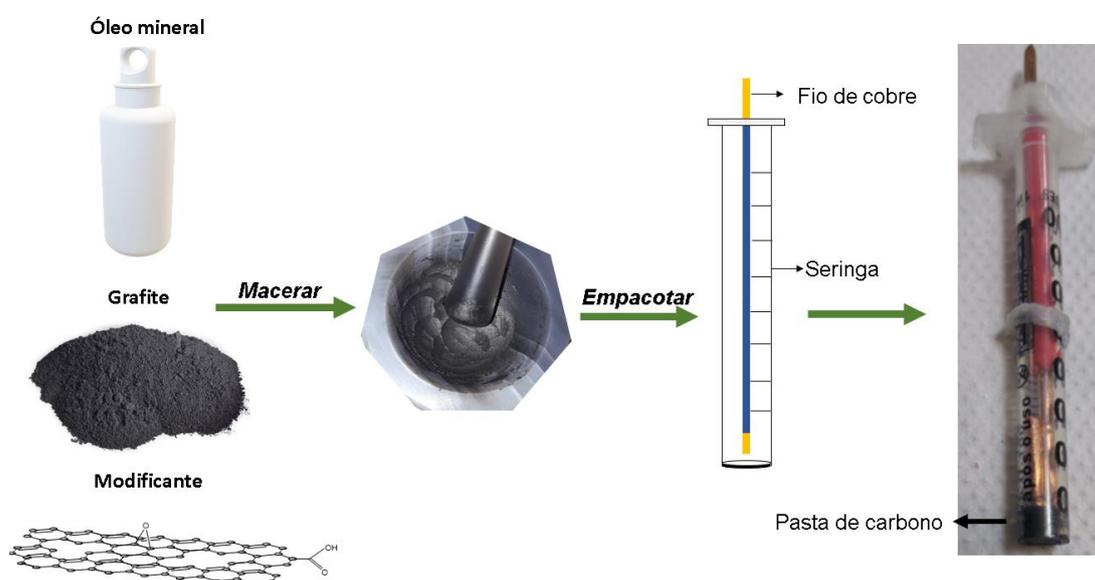
Tabela 4. Relação das proporções utilizadas na obtenção dos eletrodos modificados.

Eletrodos	GR %	Óleo mineral %	Modificante %		
			rGOA	rGOAs	rGOC
EPC	65,0	35,0	-	-	-
ErGOA2,5%	62,5	35,0	2,5	-	-
ErGOA5,0%	60,0	35,0	5,0	-	-
ErGOA7,5%	57,5	35,0	7,5	-	-
ErGOA10,0%	55,0	35,0	10,0	-	-
ErGOAs2,5%	62,5	35,0	-	2,5	-
ErGOAs5,0%	60,0	35,0	-	5,0	-
ErGOAs7,5%	57,5	35,0	-	7,50	-
ErGOAs10,0%	55,0	35,0	-	10,0	-
ErGOAs15,0%	50,0	35,0	-	15,0	-
ErGOAs20,0%	45,0	35,0	-	20,0	-
ErGOAs30,0%	40,0	35,0	-	30,0	-
ErGOC10,0%	55,0	35,0	-	-	10,0

As massas dos constituintes dos eletrodos foram medidas em uma balança de marca NEOBIO FA2004. Onde a massa total da pasta de carbono empacotada em cada eletrodo totalizava 0,1000 g. Em seguida, foram macerados por 20 minutos, com o auxílio de almofariz e pistilo de ágata. O objetivo da maceração é obter, após esse processo, uma pasta homogênea com

os constituintes presentes. Depois, da pasta obtida, essa foi inserida e compactada com auxílio de um êmbolo em uma seringa de polipropileno de 1 mL, com área geométrica de $0,18 \text{ cm}^2$. Após o empacotamento, um fio de cobre foi inserido na pasta para estabelecer o contato elétrico. Onde o material de cobre foi escolhido devido o custo e a facilidade de transporte de elétrons (bom condutor). A área superficial do fio em contato com a pasta foi igual à $0,06 \text{ cm}^2$, o fio de cobre utilizado, foi previamente desencapado e polido (Figura 10).

Figura 10. Esquema ilustrativo do preparo e montagem do eletrodo. **Fonte:** Autoria própria.



Sempre que necessário, as superfícies foram renovadas mecanicamente em papel filtro, para retirar parte da pasta que esteve em contato com a solução durante a análise. Esse procedimento mantém a superfície do eletrodo limpa e homogênea, com o objetivo de evitar defeitos físicos, como rachaduras, pois a reprodução dos processos de oxidação e redução é afetada pela homogeneidade da superfície do eletrodo, assim como da pasta [114].

3.6 Detecção eletroquímica

As análises eletroquímicas foram realizadas em um Potentiostato/Galvanostato Autolab PGSTAT 100N, monitorado por meio do software NOVA 2.1.4. A célula eletroquímica tem a capacidade de 15,00 mL e

foi composta por: eletrodo de referência (Ag/AgCl em KCl 3,00 mol L⁻¹), um fio de platina como eletrodo auxiliar e o eletrodo de trabalho (EPC ou EPCM).

3.6.1 Caracterização eletroquímica dos eletrodos

Para as caracterizações eletroquímicas dos eletrodos (EPC e EPCM), foram realizadas análises de voltametria cíclica (VC) em solução de [Fe(CN)₆]³⁻/[Fe(CN)₆]⁴⁻ (1,00 mmol L⁻¹) em KCl nas velocidades de varreduras de 10,0, 20,0, 50,0, 100,0, 200,0 e 300,0 mV s⁻¹.

3.6.2 Análise do comportamento redox do EE2 por meio da Voltametria Cíclica

Com o objetivo de analisar o comportamento de oxidação/redução do EE2 na superfície do eletrodo frente às variações progressivas da velocidade de varredura, realizou-se os experimentos de voltametria cíclica (VC). A célula eletroquímica foi composta por tampão B-R (pH 8,00) e concentração de 0,10 mmol L⁻¹ de EE2. As velocidades de varredura utilizadas foram 20,0, 30,0, 50,0, 100,0, 120,0, 150,0, 170,0 e 200,0 mV s⁻¹.

As leituras foram realizadas com tempo de acumulação de 5 minutos e as velocidades de varredura foram aplicadas sequencialmente, sem renovação da superfície. Os experimentos foram realizados em triplicada, com o objetivo de obter os valores de desvios padrão (DP) e os desvios padrão relativos (DPR/%) (ANEXO 4).

3.6.3 Otimização dos parâmetros de análise para a detecção do 17 α -etinilestradiol

As otimizações dos parâmetros das análises permitem o aumento do sinal analítico do eletrodo em estudo. Esses podem ser parâmetros de cela de leitura (cela de leitura, meio eletrolítico, pH), parâmetros da metodologia analítica

(tempo de acumulação e proporção de modificante) e parâmetros da técnica (velocidade de varredura, tempo de pulso e amplitude de pulso). As condições experimentais analisadas foram o meio eletrolítico, a proporção do modificante, o pH, célula de leitura, tempo de acumulação, tempo de pulso, amplitude de pulso e velocidade de varredura, como listados na Tabela 5.

Tabela 5. Condições avaliadas para a detecção do 17 α -etinilestradiol.

Parâmetros	Variáveis
Amplitude de pulso	5,0 – 150,0 mV
Célula	<i>in situ e ex situ</i>
Meio eletrolítico (tampão)	B-R e fosfato
pH	2,00 – 10,00
Proporção dos modificantes	2,5 – 30,0%
Tempo de acumulação	0 – 30 minutos
Tempo de pulso	2,5 – 50,0 ms
Velocidade de varredura	5,0 – 30,0 mV s ⁻¹

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das propriedades eletrônicas e estruturais do Óxido de Grafeno (GO) e Óxidos de Grafeno Reduzidos (rGOA e rGOAs)

4.1.1 Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho (FTIR)

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho é uma técnica óptica para identificação de diversos grupamentos funcionais. A energia dos fótons na região do infravermelho não permite transições eletrônicas, porém, promove as vibrações e as rotações específicas das moléculas [115,116]. Os espectros de FTIR para as amostras de grafite, óxido de grafeno (GO), óxido de grafeno reduzido com ácido ascórbico (rGOA e rGOAs) estão apresentados na Figura 11, enquanto a correlação dos principais grupos funcionais presentes nos compostos sintetizados e suas atribuições estão na Tabela 6.

Figura 11. Espectros de absorção na região do Infravermelho das amostras de GR, GO, rGOA e rGOAs, em pastilha de KBr.

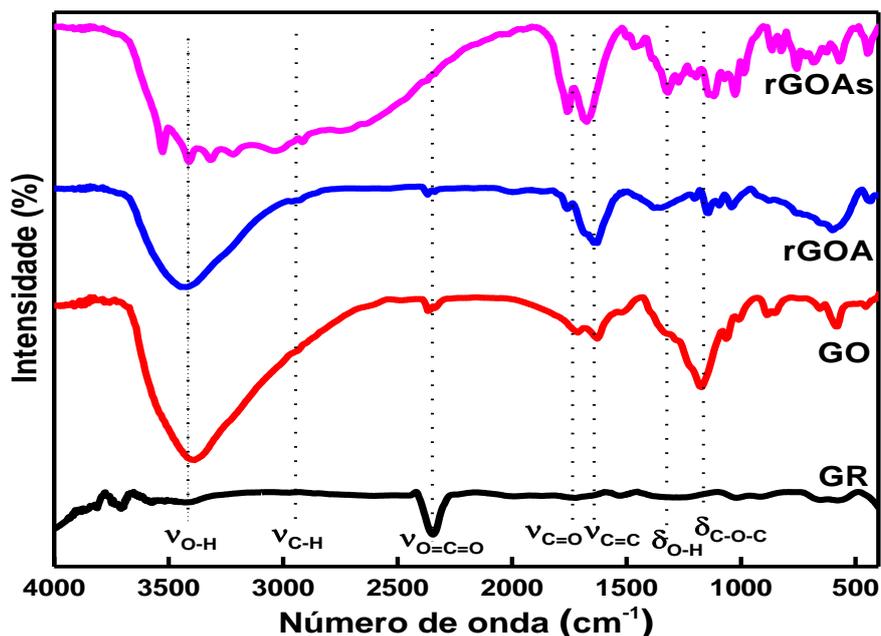


Tabela 6. Atribuições de bandas de vibração e deformações angulares presentes nos espectros de infravermelho para grafite, GO, rGOA e rGOAs.

Atribuição	Classes químicas	Número de onda (cm ⁻¹)			
		[117]	[118]	[119]	Experimental
ν _{O-H}	Álcool Água	3223	3400	3400	3382
ν _{C-H}	Alcano	-	2927	2854	2950
ν _{C=O}	Carbonila	1727	1720	1622	1758
ν _{C=C}	Alceno	1620	1619	-	1627
δ _{O-H}	Álcool	1368	1224	1431	1320
δ _{C-O-C}	Éter	1046	1080	1078	1100

ν = estiramento; δ = deformação.

A partir dos resultados obtidos nos espectros (Figura 11), foi possível observar a semelhança dos materiais sintetizados com os trabalhos apresentados na literatura [92-94]. Em relação ao grafite (GR), observou-se a ausência de bandas de grupos funcionais por este ser um composto que possui ligações simétricas, com um momento de dipolo que não se altera em função do

tempo. Dessa forma, a técnica de espectroscopia vibracional na região do infravermelho não foi capaz de determinar bandas vibracionais desse material [115].

A Figura 11 apresenta as vibrações intensas de estiramento de O-H em 3382 cm^{-1} para as amostras de GO, rGOA e rGOAs e deformação da ligação de O-H em 1350 cm^{-1} para GO e rGOA e rGOAs foram identificados nos espectros. Onde no GO e rGOA apresentam uma banda com maior característica de água e álcool. Enquanto para o rGOAs, observa-se uma maior característica de carbonila de ácido carboxílico, tal resultado pode ser relacionado ao processo de secagem do material. Essas informações sugerem que o processo de oxidação do material foi efetivo, e a diminuição da intensidade das bandas no rGOA e rGOAs corroboram para a eficácia da redução. As vibrações de estiramentos de CH_2 em 2950 cm^{-1} , para o rGOA e rGOAs, apontam para a formação de carbonos com hibridização sp^2 na rede basal, enquanto que o GO não apresenta bandas nessa região. A banda em 1758 cm^{-1} caracteriza a presença do estiramento da ligação C=O de carboxila para o GO, rGOA e rGOAs [117–120].

Em 1627 cm^{-1} o estiramento C=C para os materiais de GO, rGOA e rGOAs, sendo que o rGOAs apresentou maior intensidade dessa banda em relação aos outros compostos. Tal resultado gera maior domínio de carbonos sp^2 (C=C). Foi observada uma deformação característica de C-O-C em 1100 cm^{-1} para GO e rGOA. Com isso, tais informações sugerem a presença destes grupos funcionais na estrutura dos compostos sintetizados (GO, rGOA e rGOAs) [117–120].

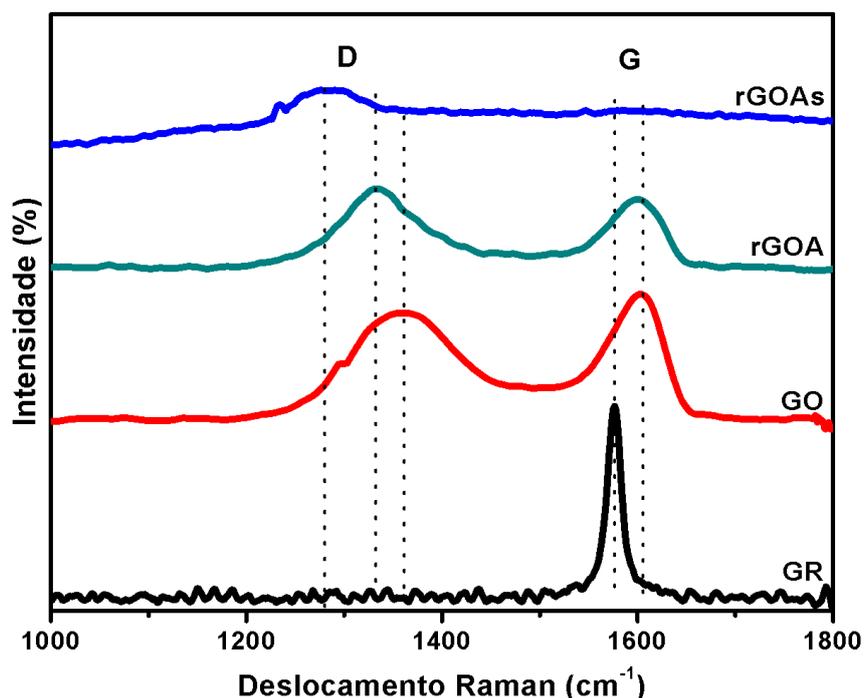
4.1.2 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é utilizada para analisar as vibrações moleculares, sendo a resposta gerada em função da interação dos fótons com as espécies da amostra. Essa interação resulta em dois tipos de luz dispersa: a elástica, que ocorre sem alteração na frequência dos fótons, e a inelástica, onde a energia da fração dos fótons dispersos pode ser perdida. O fóton incidente distorce as nuvens eletrônicas da molécula, elevando o estado de energia mais

baixa para o estado vibracional mais excitado. O espectro Raman é gerado pela diferença de energia entre o fóton incidente e o fóton disperso, correspondentes à energia necessária para excitar uma vibração molecular específica [116,121].

Os espectros de Raman do grafite e dos compostos derivados de grafeno que foram sintetizados (GO, rGOA e rGOAs) estão apresentados na Figura 12. O objetivo das análises da espectroscopia Raman foi analisar a desordem das estruturas formadas pelos processos de oxidação e redução, através da razão das intensidades das bandas D e G (I_D/I_G). A banda D é característica dos defeitos na estrutura gráfica, enquanto a banda G corresponde ao alongamento da ligação de primeira ordem dos átomos de carbono sp^2 . Assim, resultados superiores a 1, configuram uma maior desordem estrutural das folhas, enquanto que, valores inferiores a 1, representa uma estrutura mais organizada [85,122,123].

Figura 12. Espectros Raman das amostras (GR, GO, rGOA e rGOAs).



O espectro do grafite apresentou uma banda G bem definida e característica em 1576 cm^{-1} , em virtude do grande número de camadas organizadas na estrutura gráfica. Para o óxido de grafeno, a presença da banda D em 1359 cm^{-1} , caracteriza uma maior desorganização estrutural devido ao processo de esfoliação ocorrido a síntese. Tal resultado é devido aos grupos

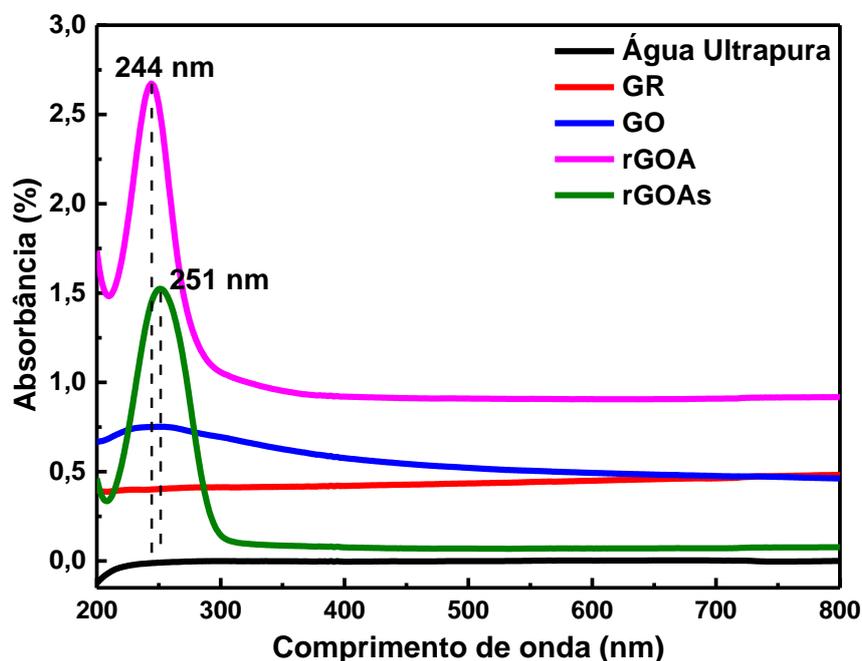
oxigenados presentes na estrutura do GO, assim como nos rGO. O grau de desordem para a estrutura do GO foi de 0,86, indicando a prevalência de estruturas mais ordenadas [85,122,123].

O espectro do rGOA apresentou um aumento de intensidade da banda D em 1334 cm^{-1} , em relação à banda G em 1598 cm^{-1} . A desordem calculada (I_D/I_G) foi de 1,15. O rGOAs demonstrou uma banda D em 1279 cm^{-1} , onde obteve-se uma relação I_D/I_G com o valor de 1,05. Tal resultado está associado à perda de carbonos presentes nas folhas, na forma de CO e CO₂, que promovem e intensificam os defeitos e a desordem do sistema provocada pela presença de vacâncias nas folhas de rGO. A presença da banda G no rGOA e rGOAs demonstraram-se menos pronunciada que a banda D, tais características referem-se à degradação dos grupos funcionais oxigenados presentes no plano e à reorganização de redes de carbonos com hibridização sp^2 , como pode-se observar nas análises realizadas no FTIR. Tais características permitem maior interação não-covalente e maior transferência de carga [85,122,123].

4.1.3 Espectroscopia de Absorção no ultravioleta e visível (UV-VIS)

A espectroscopia UV-VIS é utilizada para medir a absorção do material, onde observa-se as transições eletrônicas que ocorrem do estado fundamental para o estado excitado [116]. Assim, utilizou-se dessa técnica com o objetivo de analisar o comportamento do GR, GO, rGOA e rGOAs em função das transições das bandas $\pi-\pi^*$ presentes nesses materiais (Figura 13).

Figura 13. Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível da água ultrapura, GR (0,10 mg mL⁻¹), GO (0,10 mg mL⁻¹), rGOA(1,00 mg mL⁻¹) e rGOAs (0,01 mg mL⁻¹).



Os espectros da Figura 13 apresentam bandas de absorção em 244 nm para o GO e rGOA, em 251 nm para o rGOAs e são atribuídas às transições eletrônicas π - π^* [124]. No grafite, essas transições não ocorrem devido à estrutura hexagonal empilhada de forma ordenada das folhas de grafeno presentes no GR, estando assim, interconectadas por forças de Van der Waals [13,51].

O espectro de absorção do GO apresentou uma intensidade característica dos processos de oxidação e exfoliação que podem ter gerado deformações e afastamento das folhas de grafeno devido a presença dos grupos oxigenados no plano basal, o que reduziram as interações de Van der Waals entre as camadas. Segundo Jimenez-Cervantes e colaboradores [51] a oxidação do GR pode formar até 60,0% de carbonos com hibridização sp^3 conectados por ligações sigma com átomos de oxigênio. Esses processos resultam em menos ligações π entre os carbonos, conseqüentemente, menor é o número de carbonos com hibridização sp^2 . Isso implica em um maior *band gap*, gerando características de um isolante eletrônico, além de poucas e eletrônicas, que podem causar amplas

bandas de absorção ou emissão, resultando em menores intensidades de bandas [20,51,60].

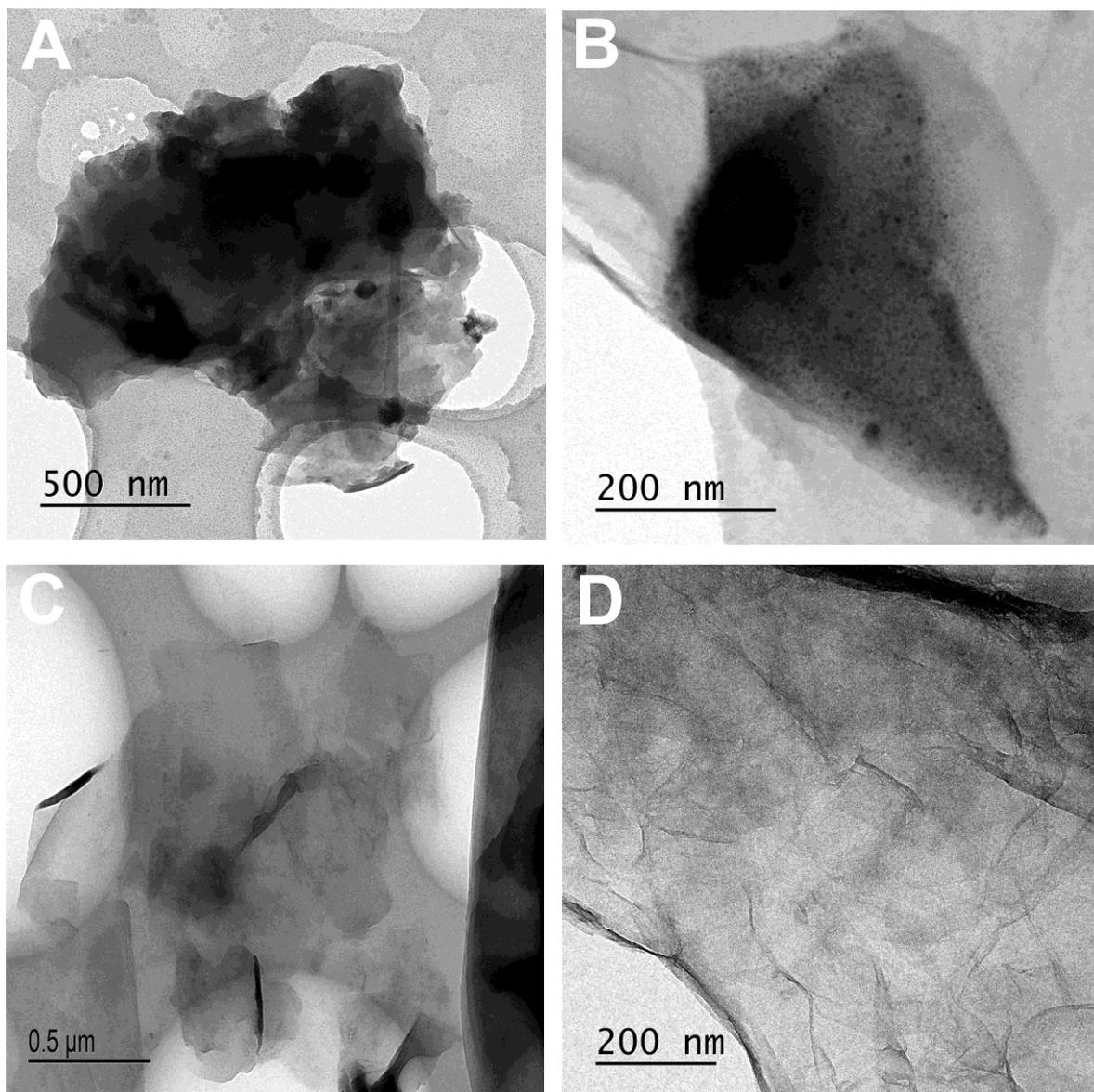
O resultado obtido para o GO é justificado por Abid. *et. al.* [60] através da presença das transições $\pi-\pi^*$ de ligações C-C de carbono aromático. O processo de redução do GO promove a diminuição de grupos funcionais oxigenados e a recuperação gradual das conjugações $\pi-\pi^*$ e domínios sp^2 (C=C) entre os átomos de carbono. O que corrobora com os resultados obtidos nas análises de FTIR, referentes as maiores intensidades das bandas de carbonos sp^2 . Essa conformação mais aromática do rGO facilita o processo de transferência de carga, o que promove uma maior absorção e intervalo de banda ajustável, tais características intensificam as aplicações eletroanalíticas para a detecção de compostos eletroativos. O rGOAs apresentou uma banda mais intensa, em relação ao rGOA, o que configura mais transições eletrônicas de carbonos sp^2 , confirmando a banda mais intensa observada no FTIR [20,51,60]. O resultado obtido para o rGOAs pode ser explicado devido a menor quantidade de água e grupos oxigenados, após o processo de secagem, aumentando assim a intensidade da absorção da radiação. O deslocamento da banda de transição de 251 para 244 nm, pode ser atribuída à diminuição da contribuição da transição $\pi-\pi^*$ característica de C=O, segundo Jimenez-Cervantes *et al.* [51].

4.2 Caracterização morfológica do Óxido de Grafeno, Óxidos de Grafeno Reduzidos (rGOA e rGOAs)

4.2.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

O MET é utilizado para obter informações da morfologia, da estrutura cristalina de materiais em alta resolução. Os elétrons são emitidos por um canhão de elétrons em uma câmara à vácuo e direcionados por lentes eletrostáticas para a amostra. As interações dependem da densidade do material, da dispersão ou absorção e a passagem dos elétrons pela amostra [116]. Na Figura 14 encontram-se os resultados das análises para o GO, rGOA e rGOAs obtidos por microscopia eletrônica de transmissão.

Figura 14. Imagens de MET (x2500 e x12000) do GO (A – B) e rGOA (C – D).



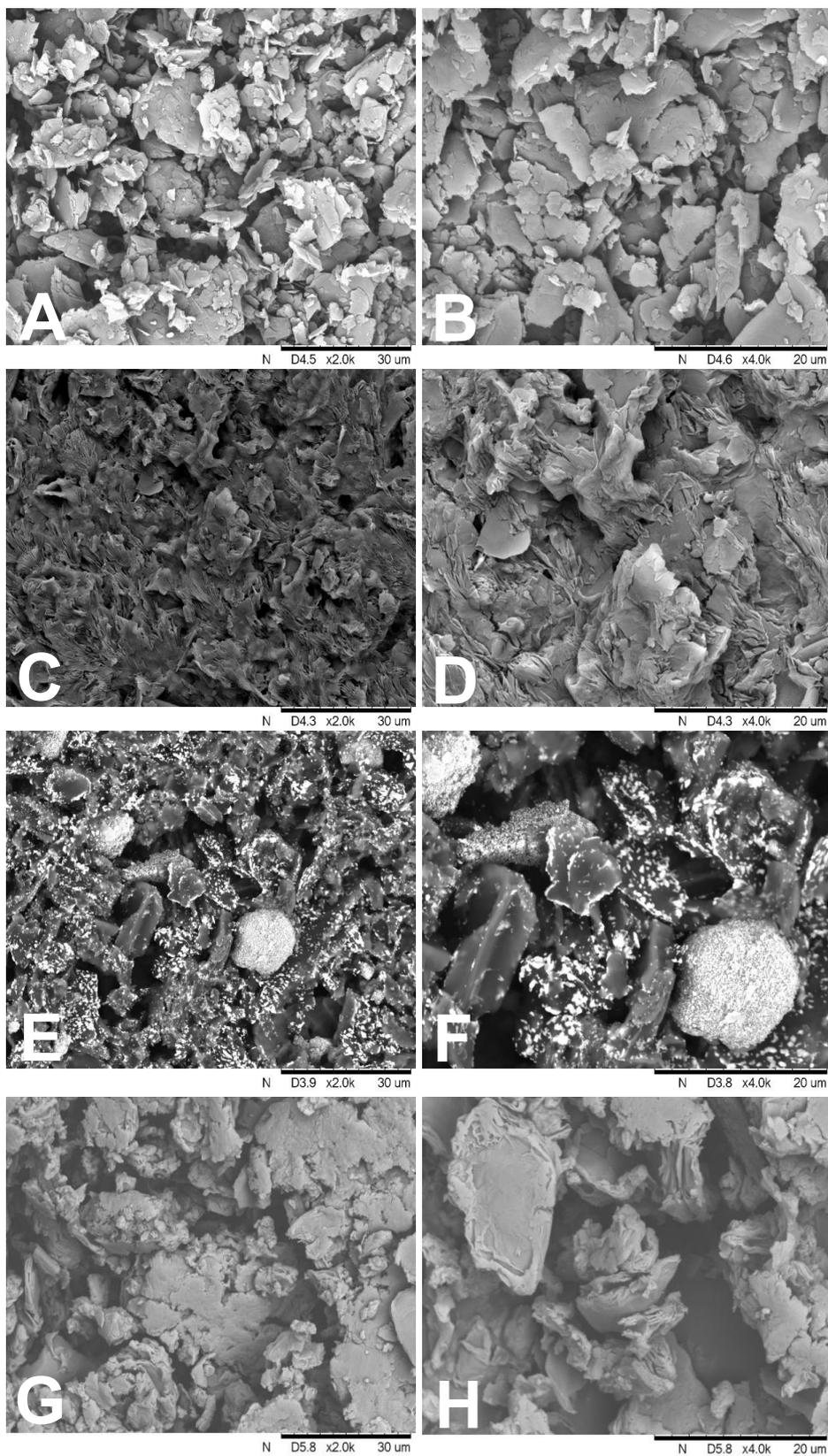
As imagens obtidas do óxido de grafeno (Figura 14A – B) apresentam uma maior sobreposição das folhas. Tal resultado corrobora com a presença de uma maior quantidade de grupos funcionais hidroxilas e epóxidos nos planos basais, carbonilas e carboxilas em torno das folhas, os quais possibilitam uma atração intermolecular mais intensa, em comparação às folhas do rGOA [51,53]. As imagens obtidas para o rGOA (Figura 14C – D) demonstram folhas menos sobrepostas, mais transparentes e rugosas. O processo de redução diminuiu a porcentagem de grupos oxigenados, proporcionando uma maior distância entre as estruturas, o que gera a obtenção de uma maior área superficial, e maior domínios de carbonos sp^2 (C=C) [68]. Assim, assegurando uma melhor interação

entre modificante-analito, devido as interações não-covalentes e ligações de hidrogênio, além de oferecer vantagens para as análises eletroanalíticas, por causa de um menor *band gap*, o que facilita o processo de transferência de carga, como observado nos resultados das análises de UV-VIS.

4.2.2 *Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*

A microscopia eletrônica de varredura é um método de obtenção de imagens da microestrutura e morfologia dos materiais. Um feixe de elétrons de alta energia é incidido sobre o material e varre a superfície, onde ocorrem diferentes interações entre o feixe de elétrons e o material, que leva a emissão de fótons e elétrons da superfície [116]. As imagens de microscopia eletrônica de varredura (Figura 15A – G) foram obtidas para as amostras de grafite, óxido de grafeno (GO), óxido de grafeno reduzido com ácido ascórbico (rGOA e rGOAs).

Figura 15. Micrografias obtidas por MEV do (A – B) Grafite (x2000 e x4000); (C – D) GO; (E – F) rGOA; (G – H) rGOAs.



As imagens obtidas para o grafite (Figura 15A – B) apresentaram uma morfologia de superfície achatada e com camadas pequenas e finas, sobrepostas umas às outras [125]. Essa disposição se deve à sobreposição e organização da estrutura do material, que é composto por folhas de grafeno sobrepostas por interações de Van der Waals. As imagens referentes ao GO (Figura 15C – D) revelaram a formação de um sólido com maior união entre as folhas. Tal morfologia corrobora com a maior interação dos grupos funcionais oxigenados presentes no composto, advindos do processo de oxidação, o que se pode observar nos resultados obtidos na análise de MET [126].

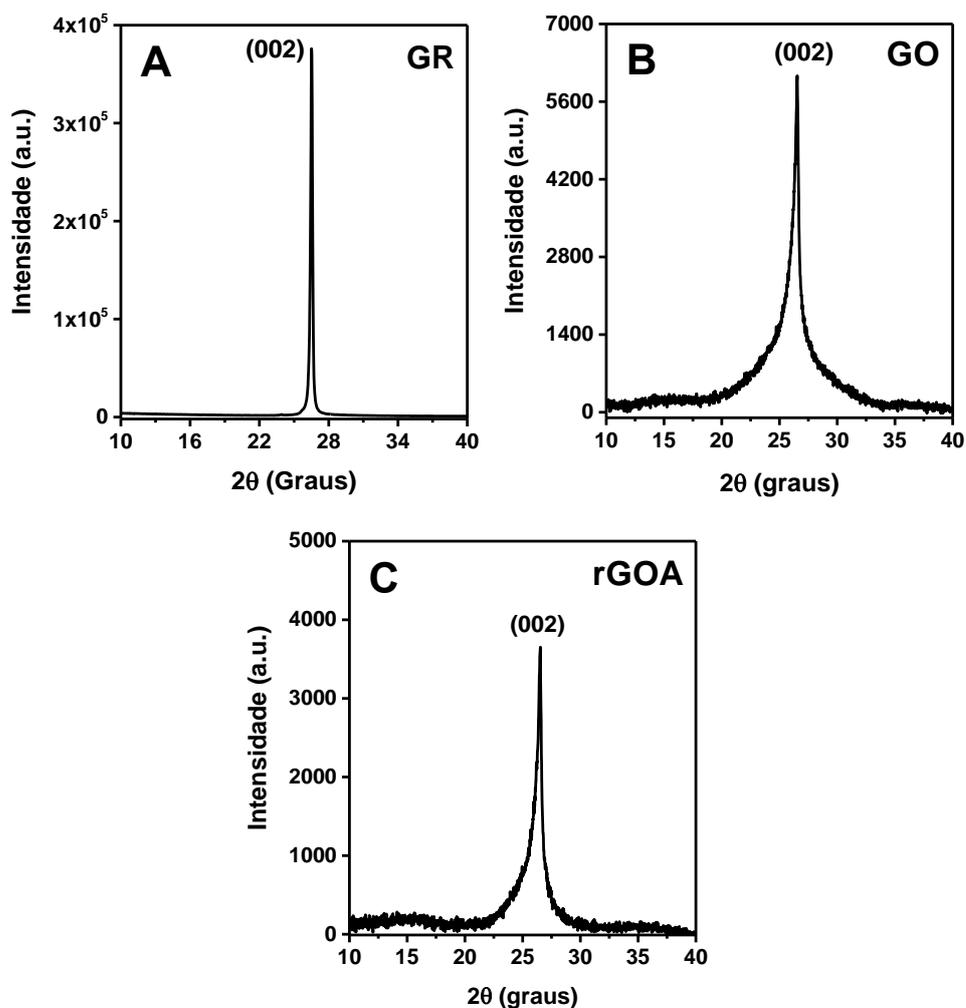
As micrografias do rGOA (Figura 15E – F) apresentaram estruturas mais espaçadas em comparação aos outros materiais, similar aos resultados obtidos com as topografias do rGOAs (Figura 15G – H). O processo de secagem do rGOA, apresentou além disso, estruturas menores e aspecto menos agregado, podendo ser explicado devido a menor quantidade de água e interações entre as folhas, como observado nas análises de MET. Isso é consequência da diminuição da presença de grupos funcionais gerada a partir do processo de redução, resultando em interações intermoleculares mais fracas, o que confere ao óxido de grafeno reduzido folhas mais separadas que as presentes no GO, o que foi possível observar nas imagens do MET [123]. Tais resultados apontam uma maior área superficial em relação ao GO, devido às menores estruturas e maior espaços entre elas [127], o que permite uma maior área de contato do modificante com o analito nas análises eletroquímicas. Foram realizadas as análises de MEV para as superfícies dos eletrodos (EPC, ErGOA, ErGOAs, ErGOC) porém, não foram observadas diferenças em suas topografias, demonstrando a homogeneização da pasta de carbono através da maceração.

4.2.3 Difração de Raios X (DRX)

A difratometria de raios X é uma técnica de caracterização da composição e estrutura dos materiais. Um feixe de raios X monocromático é irradiado em direção ao material analisado e a intensidade do feixe difratado é medida em função do ângulo de incidência do gerador, o que permite a obtenção de várias informações como os tamanhos de cristalitos, tensão residual, etc [116]. Para

comparar as mudanças ocorridas durante os processos de oxidação e posterior redução, foram realizadas análises de DRX com as amostras de grafite, óxido de grafeno e óxido de grafeno reduzido. Os resultados estão expressos na Figura 16.

Figura 16. Difratomogramas de Raios X: A) GR; B) GO; C) rGOA.



O difratograma do grafite (Figura 16A) caracteriza-se por um pico em 2θ próximo a 27° . Tal intensidade de pico é correspondente ao empacotamento das folhas de grafeno devido às interações por forças de Van der Waals. O GO (Figura 16B) apresentou uma redução considerável na intensidade do pico de difração (002), ocorrendo o alargamento desse. Tais resultados apontam a inserção dos grupos oxigenados na folha de grafeno. O processo de oxidação aumenta a distância entre as folhas e ocasiona maior desordem no sistema, causadas pelos grupos oxigenados e o processo de exfoliação [51,120].

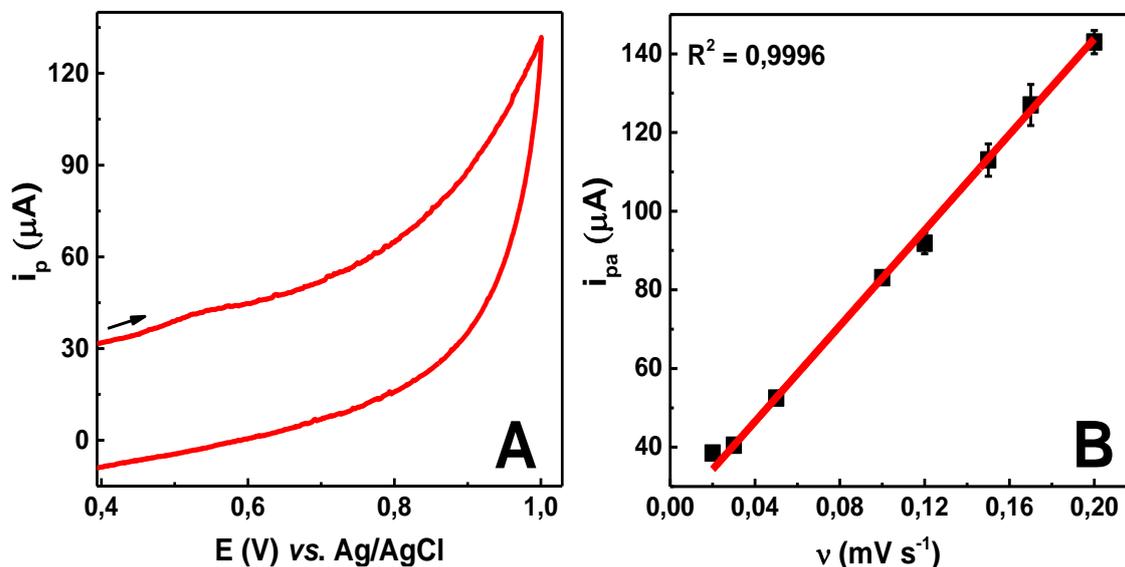
A maior desordem apresentada na análise do rGOA (Figura 16C) é comprovada com o alargamento e a diminuição da intensidade do pico (002) em relação ao GR. O processo de redução diminuiu a quantidade de grupos oxigenados, o que gera uma menor interação entre as folhas e uma menor cristalinidade, como pode-se observar nas análises microscópicas (MEV e MET). Os resultados obtidos nas análises de DRX corroboram com os expressos na literatura para esses compostos [51,120].

4.3 Caracterização Eletroquímica e Otimização dos Parâmetros Analíticos

4.3.1 Estudo do comportamento redox do EE2

A análise de voltametria cíclica é de fundamental importância para compreensão dos processos de oxidação e redução e como esses ocorrem entre a superfície do eletrodo e o analito. Portanto, o experimento realizado objetivou estudar o comportamento e o processo eletroquímico do EE2. A Figura 17A mostra os voltamogramas referentes às análises de EE2 em diferentes velocidades de varredura (20,0 – 200,0 mV s⁻¹), enquanto a Figura 17B apresenta a relação linear entre corrente de pico anódica (i_{pa}) e velocidade de varredura.

Figura 17. A) Voltamogramas cíclicos para o ErGOAs15% na presença de 0,10 mmol L⁻¹ de EE2 em tampão BR (pH 8,00) em velocidades de varredura na faixa de 20,0 mV s⁻¹; B) Relação linear entre corrente de pico anódico (μA) e a velocidade de varredura (20,0 – 200,0 mV s⁻¹).

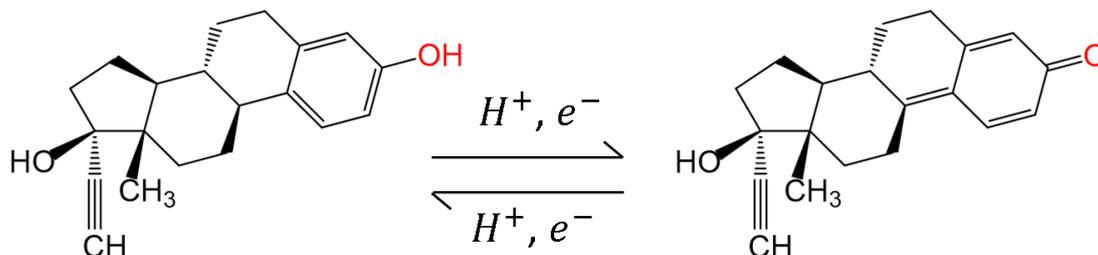


Através da Figura 17A observa-se a presença de um pico de oxidação em 0,55 V (Ag/AgCl) referente a espécie do EE2. Os dados apontam para um sistema classificado como irreversível, pois não observa-se a presença de um sinal de redução na faixa de potencial analisada. É observado o deslocamento do pico de oxidação com o aumento da velocidade de varredura (v), a qual controla quão rápido o potencial é aplicado durante a leitura voltamétrica. As altas velocidades reduzem o tamanho da camada difusa, consequentemente, aumentam as intensidades de corrente observadas e o potencial necessário para que o processo ocorra (Anexo 1, item 1.1 e 1.2) [3,49].

Na Figura 17B pode-se observar a relação linear entre as intensidades dos picos anódicos e as velocidades de varredura, esse comportamento aponta para um processo adsorptivo entre a superfície do eletrodo e o EE2 [3,49]. Tais resultados podem ser explicados devido a morfologia do rGOAs, que foram observadas nas caracterizações desse material e a proporção de carbonos sp^2 , concedendo, assim, processos de interações eletrostáticas entre analito/eletrodo. Na literatura, observa-se uma proposta de mecanismo para o processo de oxidação e redução da espécie EE2, onde sugere observa-se o transporte de um próton (H^+) e a transferência de um elétron (e^-) (Figura 18),

Onde o rGO pode interação com o analito através das interações não-covalentes e catalisar a saída de um próton, gerando assim o processo de oxidação e ou redução da molécula [19,49].

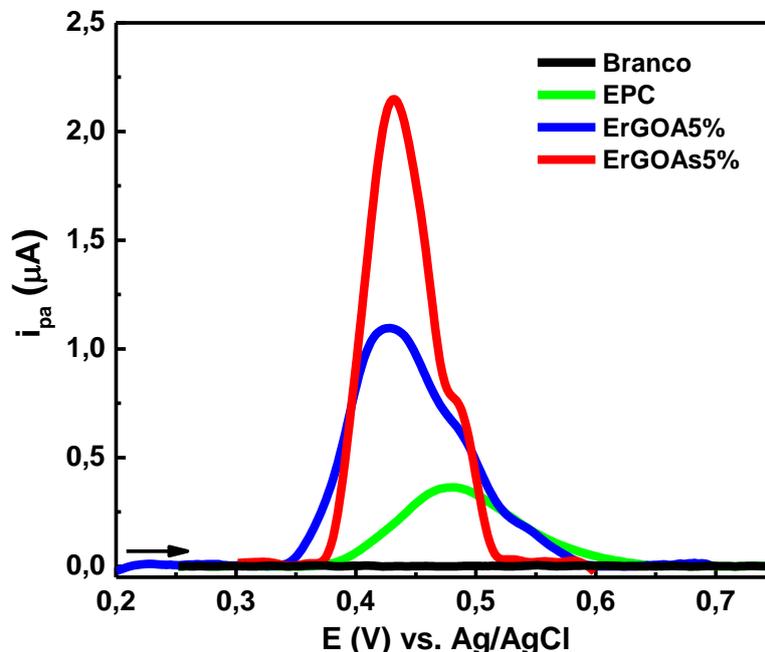
Figura 18. Sugestão para o mecanismo de oxidação do EE2, onde há o transporte de um H^+ e transferência de um e^- [19,49]. **Fonte:** Autoria própria.



Para iniciar o estudo de detecção do EE2, foram realizadas análises eletroquímicas prévias e um levantamento das condições experimentais relatadas pela literatura, para estabelecer os parâmetros iniciais de análise [31,35,38,39,49]. Devido os resultados obtidos com a VC não apresentarem picos de oxidação nítidos, optou-se utilizar a voltametria de pulso diferencial (VPD) para avaliar o comportamento do eletrodo de pasta de carbono sem modificação e eletrodos de pasta de carbono modificados com óxido de grafeno reduzido com ácido ascórbico (ErGOA) e o seco (ErGOAs) frente ao EE2. Devido a VPD apresentar uma maior contribuição da corrente faradaica em comparação com a corrente capacitiva, como demonstrado no Apêndice 1.2.

Assim, foi inicialmente utilizada velocidade de varredura (v) de 20,0 mV s^{-1} , com tempo de pulso (t) de 10,0 ms e amplitude de pulso (AP) de 0,02 V. Uma solução tampão Britton-Robinson (B-R) (pH 8,00) foi usada como eletrólito suporte contendo uma concentração de 10,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2 e tempo de acumulação (TA) de 3 minutos. Realizou-se um estudo inicial para avaliar e comparar a variação da intensidade de corrente do pico de oxidação utilizando diferentes eletrodos de trabalho (Figura 19). Onde o branco representa a leitura realizada no sistema com a presença do eletrólito suporte unicamente e foi escolhida a proporção de 5% dos modificantes presentes nos EPCM.

Figura 19. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o EPC, ErGOA5% e ErGOAs5% em tampão B-R pH 7,00, $v = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, amplitude de pulso (AP) de 50 mV, tempo de pulso (t) de 50,0 ms, tempo de acumulação (TA) de 3 min. na presença de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2.



Os resultados apresentados na Figura 19, obtidos através do estudo voltamétrico demonstram a existência de um pico de oxidação com máximo de intensidade de corrente na região entre 0,40 e 0,50 V (Ag/AgCl). Pode-se notar que há o deslocamento do pico de oxidação para potenciais menos positivos para os eletrodos modificados, em relação ao EPC. O ErGOAs obteve uma maior intensidade de corrente de pico anódico, que pode estar relacionada com uma melhor interação eletrodo-analito e uma maior capacidade para transferência de elétrons do EE2 em relação aos demais eletrodos estudados.

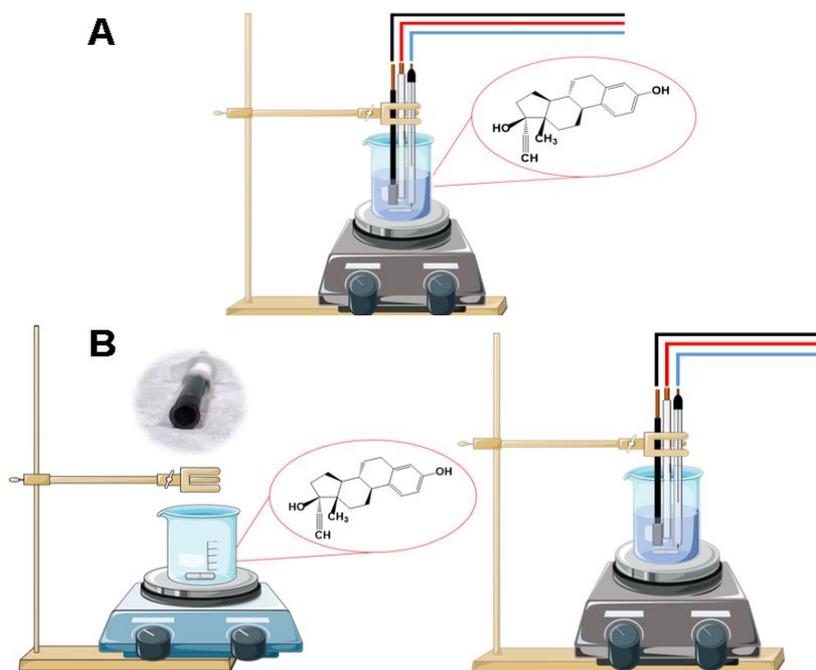
O eletrodo ErGOAs apresentou uma maior intensidade das bandas referentes a carbono sp^2 e grupo carbonila, além de uma menor intensidade da banda de água na análise do FTIR e a banda observada na análise do UV-VIS. Tais fatores apontam para um composto com maior funcionalização covalente, maior área superficial como demonstrado nos resultados obtidos por MET e MEV. O que permite imobilização de moléculas em ambos os lados do plano basal, intensificando processos de interações eletrostáticas e não covalentes. Onde o resultado desse processo adsorptivo é observado nas análises de

voltametria cíclica e com esse eletrodo (Figura 17) [51]. Dessa forma, as otimizações foram realizadas com o rGOAs, por esse apresentar melhores intensidades de sinais eletroquímicos.

4.3.2 Otimização dos parâmetros de operação da célula de leitura

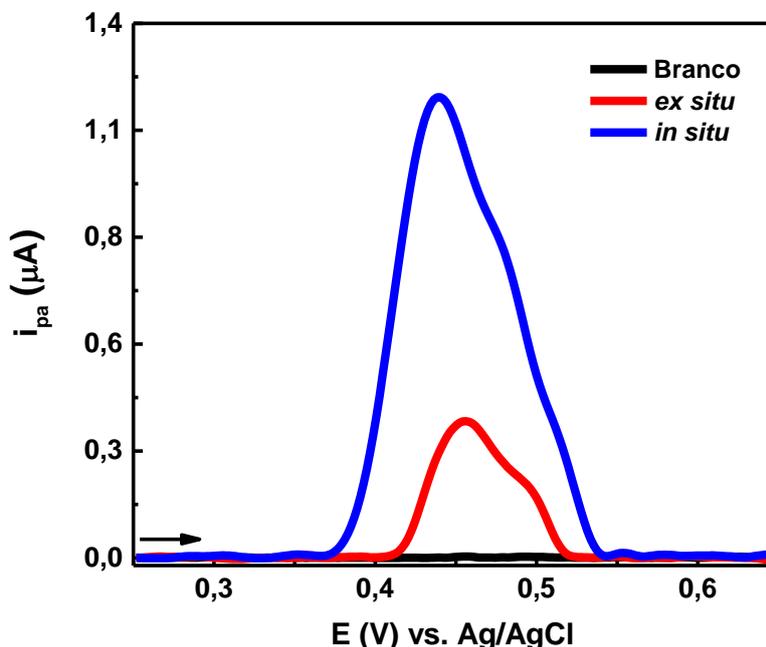
A célula eletroquímica é o ambiente onde são realizados os estudos referentes ao sistema e seus componentes (meio eletrolítico, eletrodos, entre outros). O processo de análise depende de diversos fatores, dentre eles, o tempo de exposição do eletrodo à solução antes da leitura voltamétrica, permitindo um maior contato eletrodo-analito. Na Figura 20A demonstra o procedimento *in situ* (na mesma cela), que se dá por meio da exposição do eletrodo de trabalho à solução onde está presente o eletrólito suporte e o analito estudado. A solução é agitada por meio de uma barra magnética por um tempo pré-estabelecido, etapa essa denominada de pré acumulação. Após esse momento, a análise eletroquímica é realizada. Na Figura 20B, o procedimento *ex situ* (células distintas), a etapa de pré acumulação é realizada em uma cela diferente, onde há eletrólito suporte e analito. Após esse tempo, o eletrodo de trabalho é retirado e a análise eletroquímica é realizada em uma cela eletroquímica que contém unicamente o eletrólito suporte.

Figura 20. Etapas de acumulação e leitura voltamétrica realizadas: (A) *in situ* e B) *ex situ*. **Fonte:** Autoria própria.



Ao realizar a metodologia *in situ*, uma maior quantidade de analito, pode entrar em contato com o eletrodo durante a leitura, porém a metodologia *ex situ* se destaca por diminuir a influência de substâncias concomitantes no sinal obtido para o analito, quando aplicado a uma amostra complexa [12]. Dessa forma, com o objetivo de averiguar a influência da acumulação e leitura voltamétrica do EE2 na mesma célula eletroquímica e em células distintas, realizou-se o estudo comparativo utilizando o eletrodo modificado com rGO seco (ErGOAs5%), demonstrado na Figura 21.

Figura 21. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs5% em tampão B-R pH 7,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 50 mV, $t = 50,0 \text{ ms}$, TA = 3 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2.



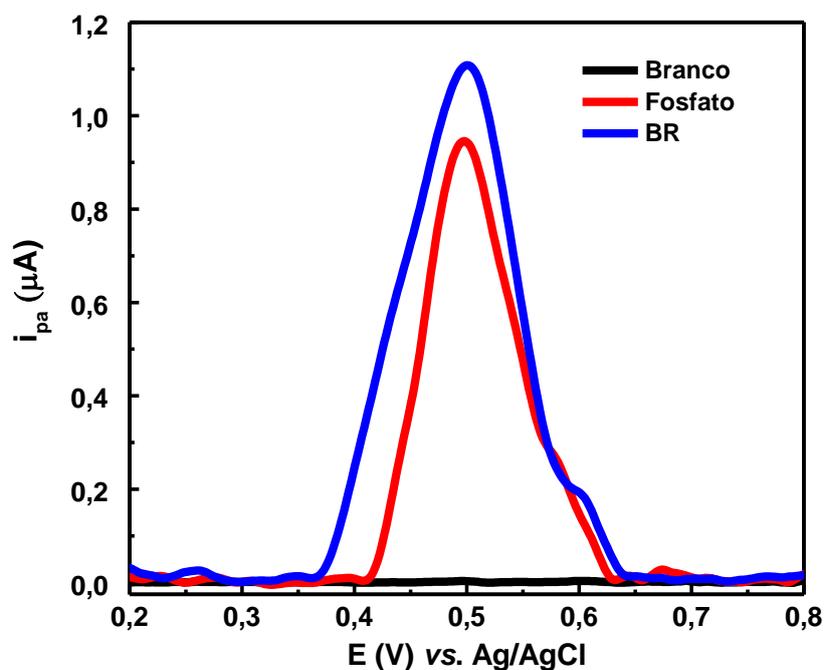
As análises (Figura 21) permitiram observar a influência ao realizar as etapas de acumulação e a leitura voltamétrica *in situ* e *ex situ*. Um pico de oxidação de maior intensidade foi obtido para a situação *in situ*, diferentemente de quando a mesma análise foi realizada *ex situ*. O processo *ex situ* uma maior capacidade de reduzir a influência de interferentes presentes na solução. Entretanto, optou-se por realizar as etapas de acumulação e leitura *in situ*, de forma que a sensibilidade do eletrodo seja favorecida, permitindo resultados com maiores intensidade de pico de oxidação para os estudos realizados nas etapas de otimização.

4.3.2.1 Influência do eletrolítico suporte

A escolha do meio eletrolítico implica em diversas consequências para a análise eletroquímica, tais como a condutividade elétrica, o controle de pH, a força iônica e entre outros (ANEXO 1, item 1.1). Assim, para avaliar a influência do meio de detecção, utilizou-se como eletrólitos suporte tampão fosfato (pH 7,00) e tampão B-R (pH 7,00) na presença de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2 e o tempo

de acumulação foi de 3 minutos. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 22.

Figura 22. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs5% em tampão B-R e fosfato pH 7,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 50 mV, $t = 50,0 \text{ ms}$, TA = 3 min na presença de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2.



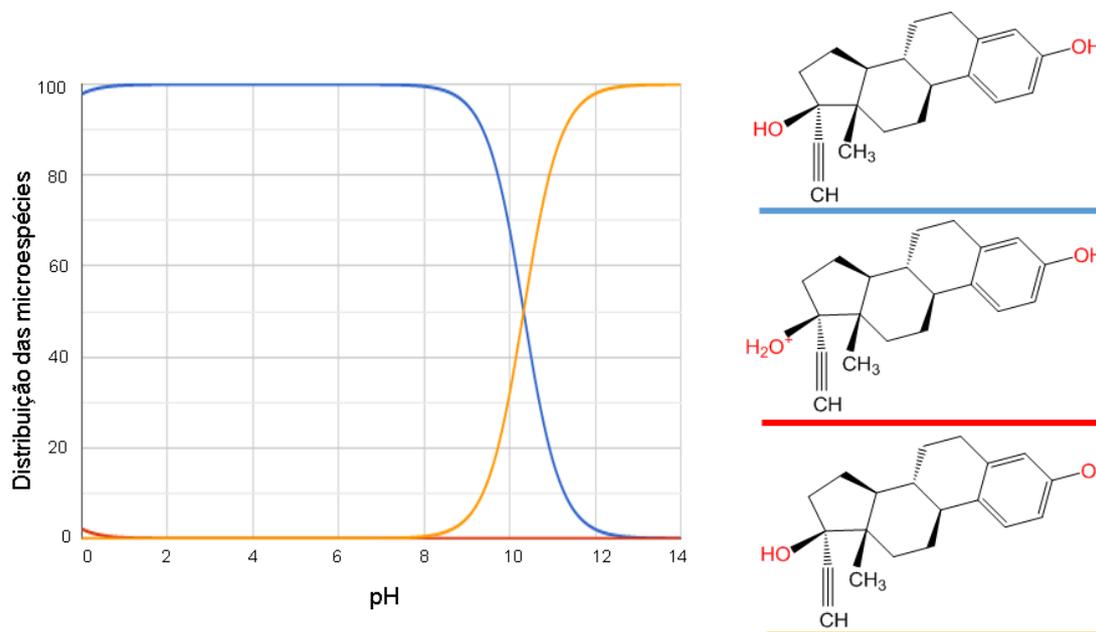
Frente aos resultados obtidos na Figura 22, nota-se que os dois eletrólitos suportes não apresentam diferenças significativas para o estudo realizado, com uma diferença de 15% entre os i_{pa} . Apesar das forças iônicas dos meios eletrolíticos terem sido distintas (força iônica (μ) B-R de 0,50 e para tampão fosfato 0,20), não houve influência considerável na resposta analítica. Dessa forma, o tampão B-R foi escolhido por este permitir a realização do estudo de pH em uma ampla faixa (2,00 – 12,00).

4.3.2.2 Estudo da influência do pH

O pH da solução eletrolítica é um fator de elevada importância por influenciar diretamente nos potenciais de oxidação e/ou redução. Sendo os potenciais dependentes, portanto, da forma com que as espécies eletroativas

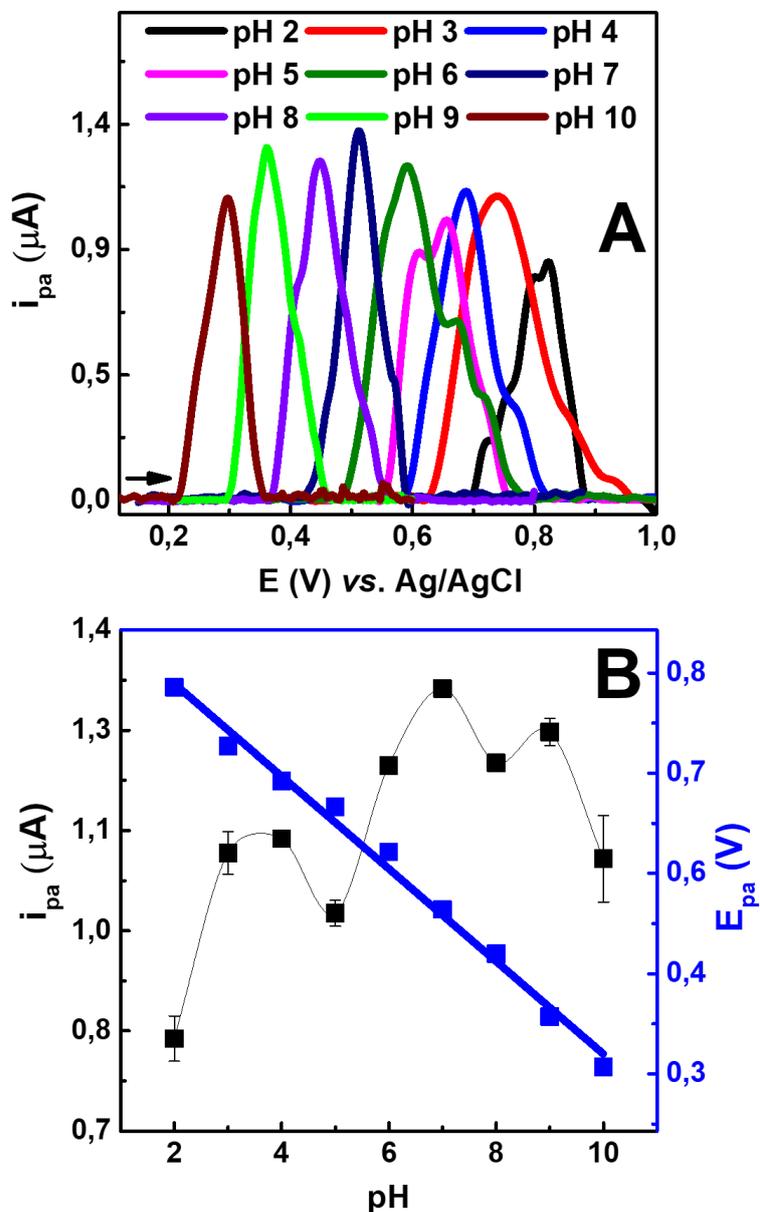
que se apresentam em determinadas faixas de pH. A Figura 23 mostra a distribuição das espécies do EE2 em diferentes pH.

Figura 23. Espécies do 17 α -etinilestradiol referentes a diferentes pH. **Fonte:** Disponível em: <<https://chemicalize.com>>.



Frente a essas informações, o estudo de pH foi realizado com o ErGOAs5% em tampão B-R. Essa solução é composta por ácido bórico, ácido acético e ácido orto-fosfórico, o que permite uma ampla faixa de pH tamponante (~2,00-12,00), devido aos vários de pKa dos ácidos presentes. Sendo assim, as análises foram realizadas na faixa de pH de 2,00 - 10,00 com o objetivo de avaliar o comportamento dos sinais obtidos pelo eletrodo ErGOAs5% (Figura 24).

Figura 24. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs5% em tampão B-R pH 2,00 - 10,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 50 mV, $t = 50,0 \text{ ms}$, TA = 3 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} e E_{pa} em função do pH.



As respostas eletroquímicas utilizando ErGOAs5% apresentadas na Figura 24A evidenciam que em meio ácido (2,00 - 5,00) o pico de oxidação apresenta diferença de 25% para o i_{pa} mais intenso (pH 7,00). Nesta faixa, a espécie de EE2 encontra-se mais disponível na forma protonada (Figura 23). Em pH neutro e básico, nota-se maiores intensidades de corrente de pico anódico (i_{pa}). A Figura 24B apresenta a relação entre i_{pa} e pH e mostra que a faixa de pH de 7,00 - 9,00, correspondente às condições mais sensíveis para a detecção do

EE2. Os resultados obtidos podem ser relacionados a protonação ou desprotonação dos grupos oxigenados do rGO, pois, como apresentado na Figura 23, a proporção do EE2 no meio não apresenta uma diferença significativa. Os trabalhos na literatura demonstram que o processo redox do EE2 é fortemente relacionado ao pH, devido a solubilidade desse composto aumentar em pH mais básico e estar relacionado ao processo de transporte do próton [19,49,113].

Através do voltamograma da Figura 24A, é possível perceber que há um deslocamento de i_{pa} para valores de potenciais menos positivos à medida que o pH aumenta. Esse comportamento fica mais evidenciado na Figura 24B, que apresenta uma relação linear de E_{pa} com o pH, onde o $R^2 = 0,9955$. A equação obtida para a reta corresponde é $E_{pa} (V) = 0,9543 - 0,0647(pH)$ e o coeficiente angular da reta igual a 65,0 mV [113]. Esse deslocamento, quando linear, indica que há uma transferência de mesma quantidade de prótons (H^+) e elétrons durante a oxidação do EE2 na superfície do eletrodo. Frente a esses resultados, o pH escolhido para continuar as otimizações foi o pH 8,00, dada a intensidade do pico anódico não ter variado bastante entre os pH 7,00 a 9,00, além do deslocamento para potenciais menos positivos, o que favorece o processo de oxidação do analito.

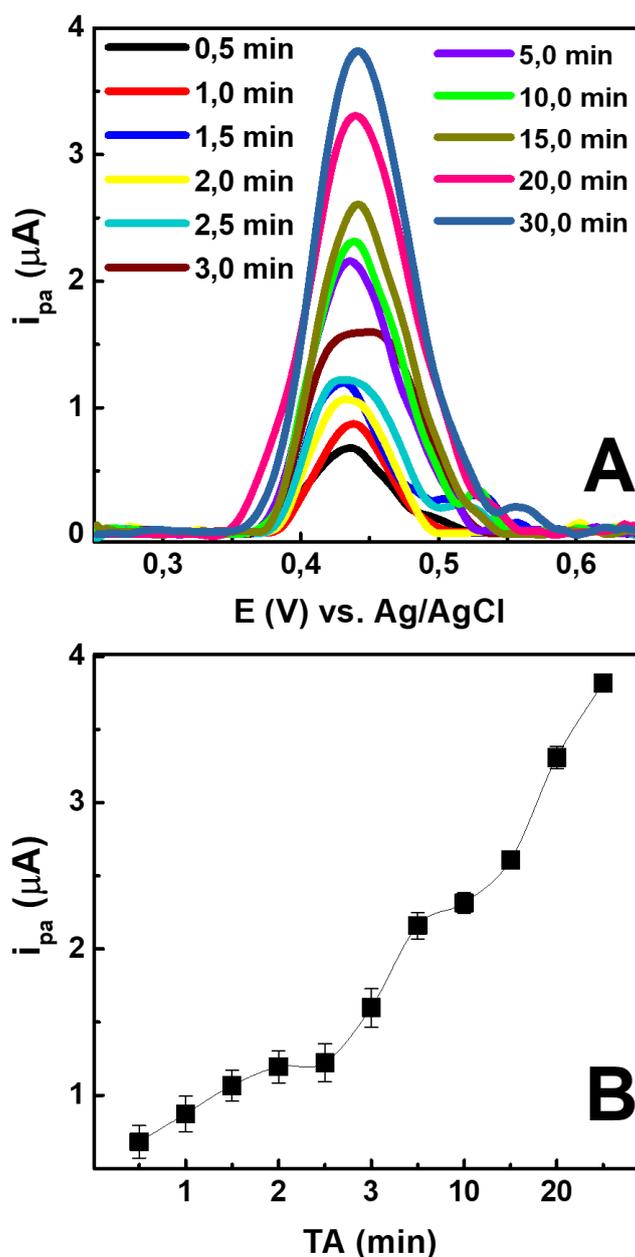
4.3.3 Otimização dos Parâmetros da Metodologia Analítica

4.3.3.1 Otimização do Tempo de Acumulação

A análise do tempo de acumulação objetiva estudar a influência do período em que o eletrodo fica imerso no meio eletrolítico com certa concentração do analito, antes da leitura voltamétrica e obtenção do sinal analítico. Tal técnica eletroquímica recebe a denominação de *Adsorptive stripping voltammetry* (AdSV), a qual é usado para aumentar a sensibilidade das técnicas eletroanalíticas. O AdSV consiste em um processo de acumulação do analito na superfície do eletrodo, o que resulta em adsorção química e/ou física. Após a acumulação, realiza-se a varredura voltamétrica, na qual o analito

acumulado é oxidado ou reduzido [128,129]. Assim, realizou-se o estudo do ErGOAs5% com tempo de acumulação de 30 segundos a 30 minutos (Figura 25).

Figura 25. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs5% em tampão B-R pH 8,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 50 mV, $t = 50,0 \text{ ms}$, TA = 30 s a 30 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} em função do tempo de acumulação.

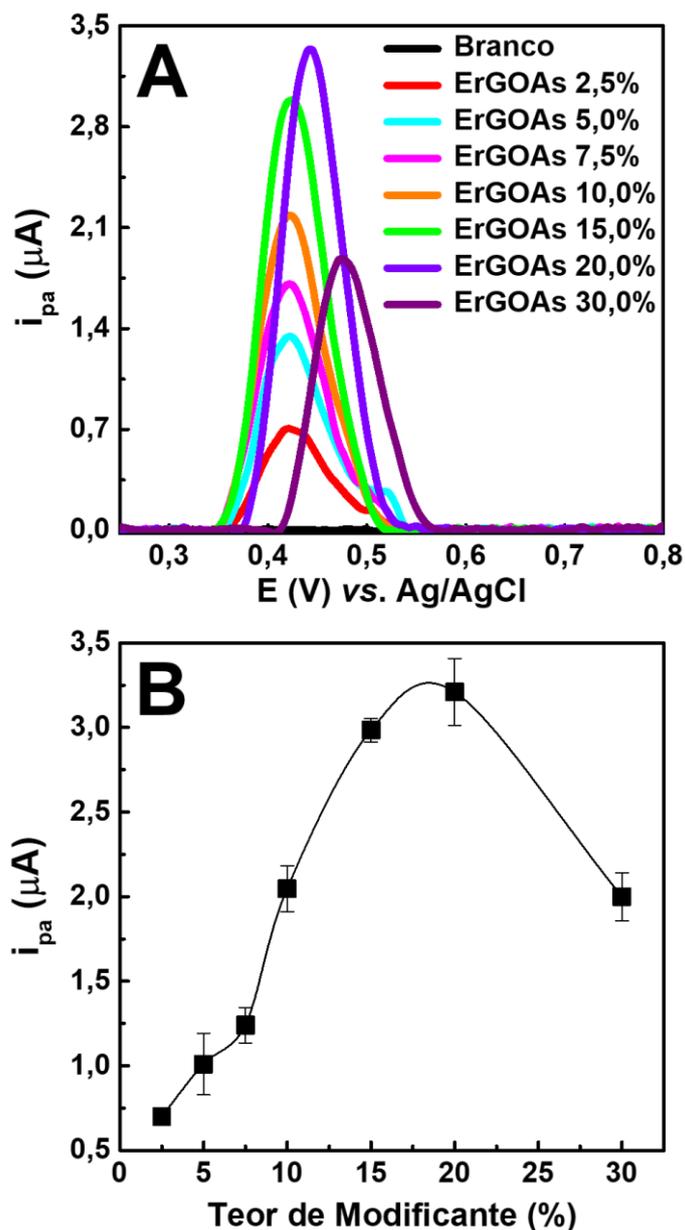


Os voltamogramas expressos na Figura 25A evidenciam que, quanto maior o tempo de acumulação, maiores são as intensidades de corrente de pico anódico. O tempo máximo de acumulação foi de 30 minutos, e não foi observar saturação da superfície do eletrodo, indicando que após esse período ainda pode haver sítios disponíveis para interação com o analito. Esse fato pode estar relacionado à grande área superficial atribuída ao óxido de grafeno reduzido. No entanto, tempos muito longos de análise inviabilizariam a aplicação deste método. Além disso, observa-se uma tendência ao um alargamento do pico com aumento do tempo de contato entre eletrodo-solução (Figura 25B). Apesar de maiores valores de tempo apresentarem maiores valores de i_{pa} , o tempo de 5 minutos ofereceu vantagens na relação intensidade de sinal eletroquímico e tempo de análise [113,130].

4.3.3.2 Estudo de proporção de modificante

Realizou-se o estudo da influência na intensidade de pico anódico (i_{pa}) gerada pela variação da proporção do rGOAs, com o objetivo de avaliar a capacidade desse material e suas propriedades na detecção do EE2 [88]. Os voltamogramas presentes na Figura 26, mostram os resultados obtidos das análises utilizando os eletrodos de pasta de carbono modificados com 2,5%; 5,0%; 7,5%; 10,0%; 15,0%; 20,0%; 30,0% de rGOAs.

Figura 26. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando diferentes proporções do modificante ErGOAs (2,5; 5,0, 7,5; 10,0; 15,0; 20,0; 30,0%) em tampão B-R pH 8,00, $v = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 50 mV, $t = 50,0 \text{ ms}$, TA = 5 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} em função do teor de modificante.



Os resultados demonstrados na Figura 26A, apontam que o aumento da proporção do modificante, entre 2,5% a 20,0%, proporcionou o crescimento da corrente de pico anódico para detecção do EE2. Tais resultados estão relacionados as características que o rGO concede ao EPCM. Pode-se explicar os i_{pa} obtidos através da morfologia do modificante, onde a estrutura lamelar e

os poros observados nas análises de MEV e MET intensificam as interações entre eletrodo-analito [51,120]. Outro fator é a maior proporção de carbonos sp^2 , que foram observados nas análises de FTIR e UV-VIS, o que gera uma maior capacidade condutora de elétrons, potencializando as análises eletroanalíticas [20,51,60].

Os eletrodos obtidos com as proporções de 20,0 e 30,0% do modificante, observou-se o deslocamento do potencial para valores mais positivos, o que demonstra um aumento energético para ocorrer o processo de oxidação (ANEXO 1, item 1.2). Além disso, notou-se que as pastas de carbono desses eletrodos apresentaram características menos compactas e aglutinadas, dificultando o processo de renovação da superfície do eletrodo. Com o aumento da proporção de rGO presente no eletrodo, foi possível observar a mudança da coloração da solução de estudo presente na célula eletroquímica, onde, após a leitura dessa solução com o eletrodo de carbono vítreo, percebeu-se que a coloração se deve a lixiviação do rGO. A causa possivelmente foi determinada como o desprendimento do material que compõe a pasta. A partir desses dados, foi escolhida a proporção de 15,0%, por oferecer a melhor relação intensidade de pico anódico, além da consistência da pasta e após várias leituras, não se observou a mudança na coloração da solução.

4.3.4 Otimização dos parâmetros da técnica

O potencial aplicado no processo de análise eletroquímica pode gerar o transferência de carga entre analito/eletrodo, onde a intensidade da corrente elétrica pode estar relacionada com a concentração da espécie estudada [1,2,114]. Dessa forma, as otimizações dos parâmetros da técnica (velocidade de varredura, amplitude de pulso e tempo de pulso) objetivam o aumento da intensidade do sinal analítico, desenvolvendo a capacidade eletroanalítica dos eletrodos. Outro fator que deve ser analisado é o alargamento do pico, determinado através da largura a meia altura do pico ($W_{1/2}$), pois esse parâmetro está associado a seletividade do eletrodo. Como a seletividade e a especificidade das determinações resultam da oxidação e redução das espécies

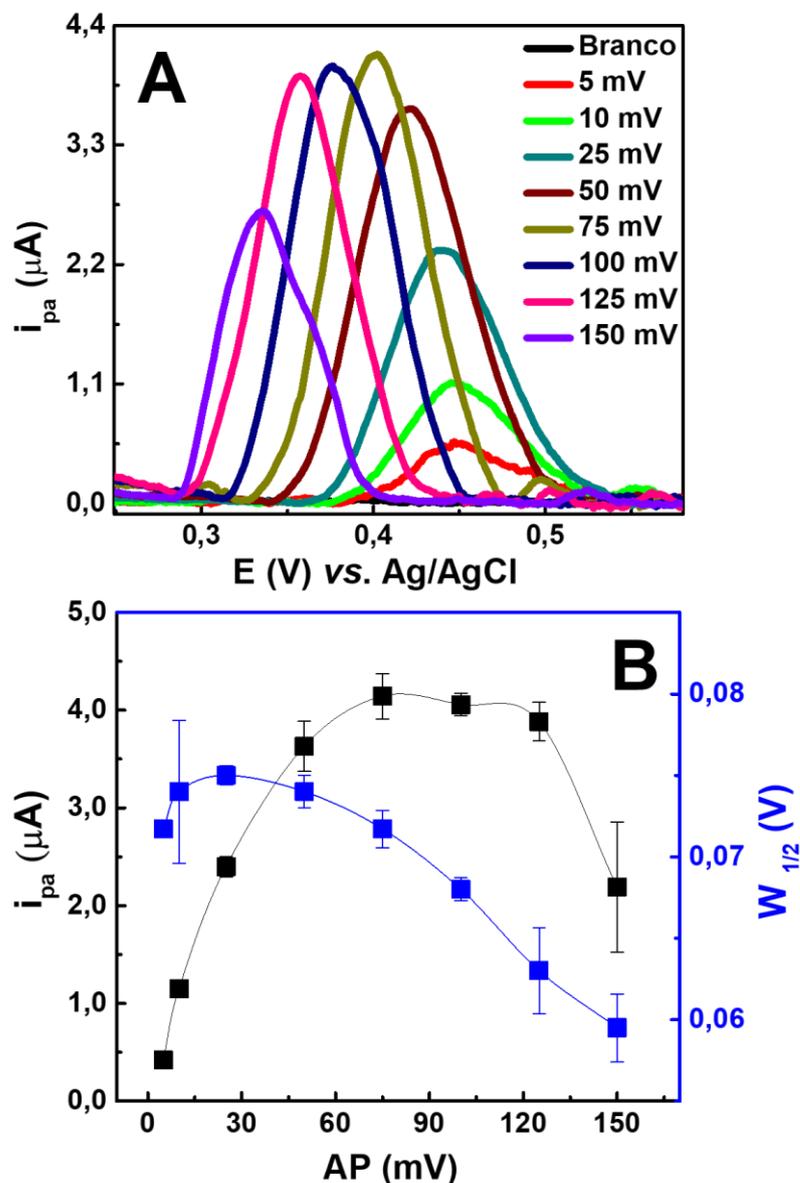
analíticas de interesse, em um potencial aplicado específico, o alargamento do pico pode gerar uma sobreposição de respostas eletroanalíticas de outras espécies [2,3].

Para as análises propostas, as condições otimizadas anteriormente foram utilizadas. O estudo foi realizado em uma célula eletroquímica, tampão B-R em pH 8,00, 5 minutos de acumulação, 15,0% do teor de modificante para detecção de EE2 10,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

4.3.4.1 Amplitude de pulso

A voltametria de pulso diferencial (VPD) é uma técnica voltamétrica onde os pulsos de amplitude fixos são sobrepostos a uma rampa de potencial crescente [114] (ANEXO A1.2). A variação da amplitude de pulso influencia diretamente na seletividade do pico, que tende a ficar mais largo para altos valores de amplitude. Foram estudadas diferentes amplitudes de pulso, correspondentes à intensidade de oscilação de uma onda. Valores de 5 a 150 mV foram avaliados e a velocidade de varredura empregada foi de 20,0 mV s^{-1} . Os voltamogramas obtidos estão representados na Figura 27A, enquanto as intensidades de corrente e largura de pico ($W_{1/2}$) estão na Figura 27B.

Figura 27. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs15% em tampão B-R pH 8,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125 e 150 mV, $t = 50,0 \text{ ms}$, TA = 5 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} e $W_{1/2}$ em função da amplitude de pulso.



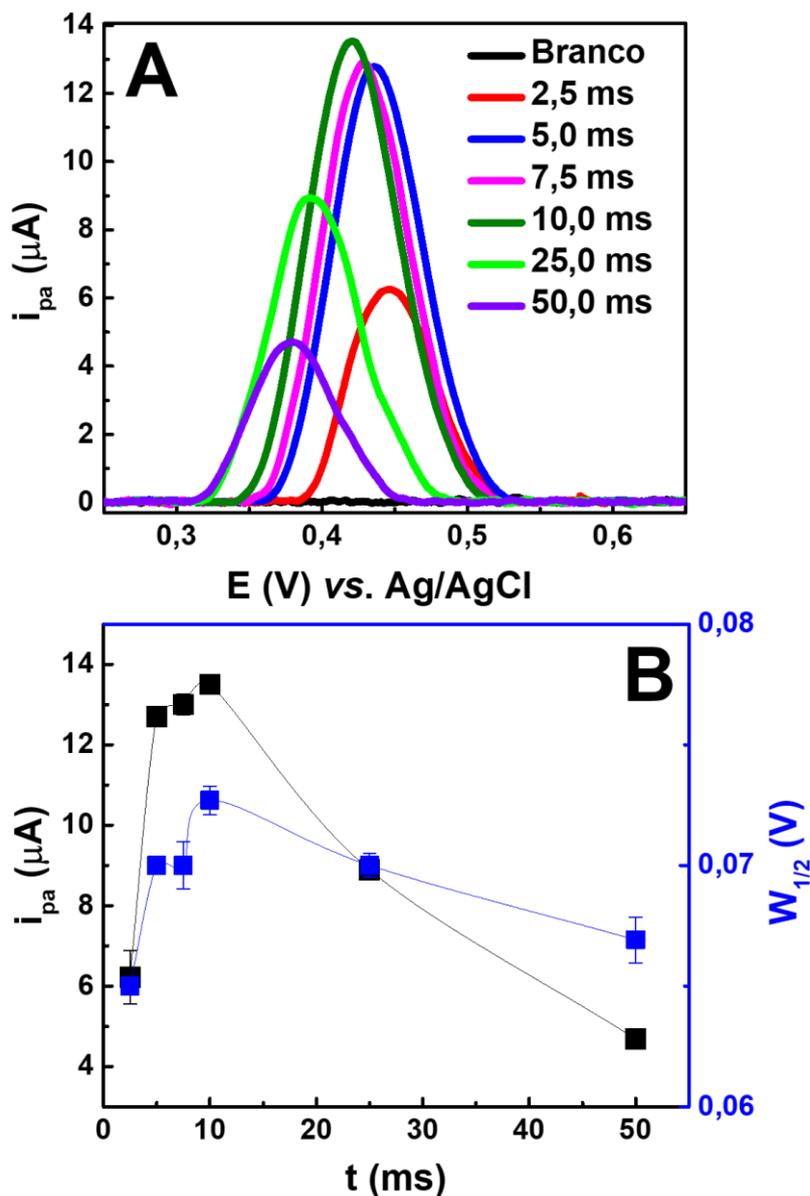
Os voltamogramas da Figura 27A demonstram a influência da AP nas intensidades de pico anódico e na seletividade do sinal analítico. Foi possível observar que o aumento da amplitude de pulso gerou o aumento de valores de i_{pa} , onde houve o ápice em 75 mV, além do decréscimo do $W_{1/2}$, (Figura 27B). Enquanto em valores superiores, observa um decréscimo do i_{pa} e o deslocamento do E_{pa} para valores menos positivos. Devido a esses resultados, o valor de 100 mV foi escolhido por apresentar um elevado i_{pa} e o deslocamento

de E_{pa} para valores menos positivos, concedendo ao eletrodo uma melhor capacidade eletroanalítica de detecção do EE2.

4.3.4.2 Tempo de pulso (t)

Nas análises de VPD, a medida da corrente é realizada duas vezes, uma antes da aplicação do pulso e outra ao final do pulso. A subtração dessas medidas objetiva a correção da influência da corrente capacitiva, onde a corrente capacitiva diminui exponencialmente, enquanto que a corrente faradáica diminui linearmente. Dessa forma, o estudo do tempo de pulso (t) permite a menor contribuição da influência da corrente capacitiva nos resultados (obtem-se uma minimização da contribuição da corrente de fundo) [2]. Os tempos de pulso empregados na otimização foram: 2,5, 5,0, 7,5, 10,0, 25,0 e 50,0 ms. Os resultados experimentais estão dispostos na Figura 28.

Figura 28. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs15% em tampão B-R pH 8,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 100 mV, $t = 2,5, 5,0, 7,5, 10,0, 25,0$ e $50,0 \text{ ms}$, TA = 5 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} e $W_{1/2}$ em função do t .

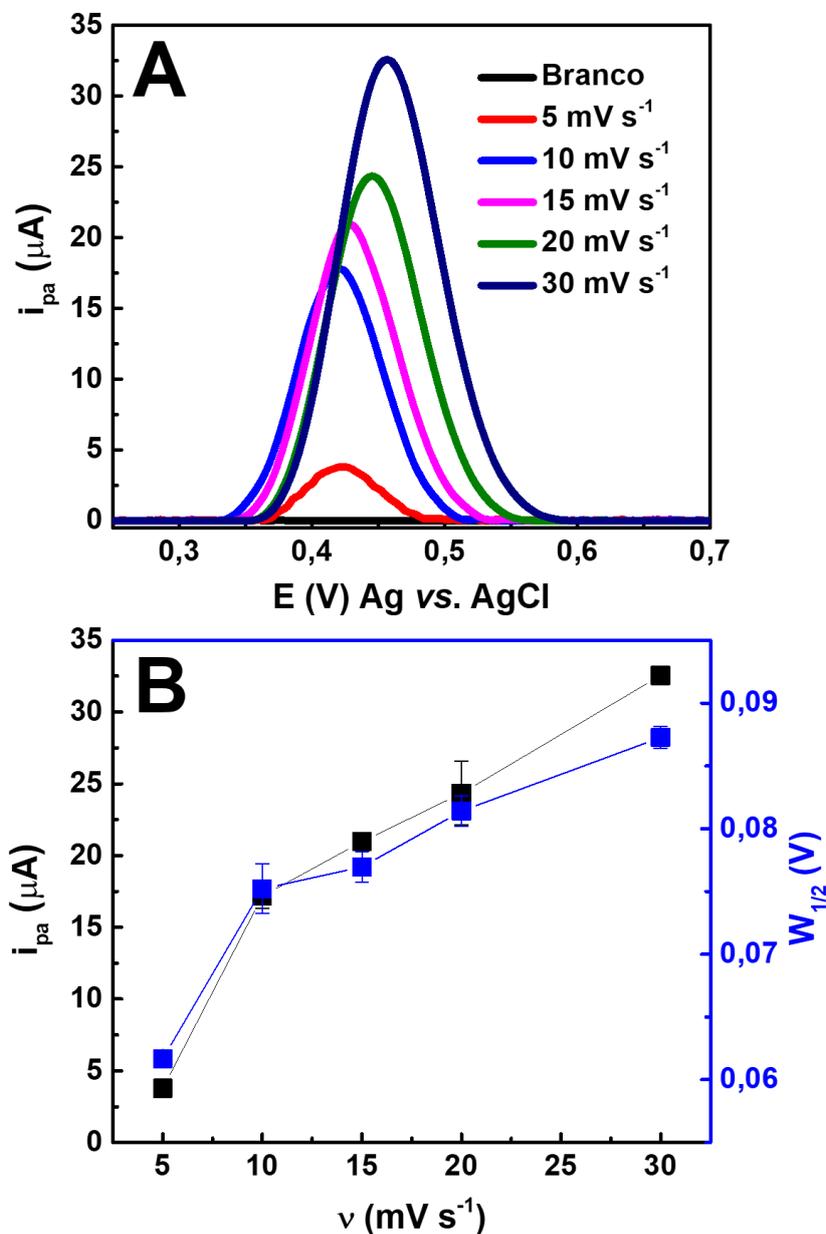


Os resultados expressos na Figura 28A demonstram o aumento do i_{pa} com o aumento do tempo de pulso (entre 2,5 e 10,0 ms), enquanto valores superiores a 10,0 ms, há o decréscimo das intensidades de corrente. Pode-se observar na Figura 28B que o $W_{1/2}$ não apresenta diferenças consideráveis, portanto, devido à elevada sensibilidade analítica e os valores da largura do pico, foi escolhida o tempo de 10,0 ms.

4.3.4.3 Velocidade de varredura

A velocidade de varredura (v) é resultado do produto entre frequência de aplicação do pulso e o incremento de potencial e está relacionada à velocidade com a qual o potencial é aplicado. Tais fatores influenciam na magnitude do sinal analítico e, conseqüentemente, a sensibilidade do método na taxa de transferência de elétrons no processo de oxidação e/ou redução [2]. Para estudar esse efeito e sua influência na i_{pa} , realizou-se o estudo da influência da velocidade de varredura de 5,0 a 30,0 mV s⁻¹ (Figura 30).

Figura 29. A) Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o ErGOAs15% em tampão B-R pH 8,00, $\nu = 5,0, 10,0, 15,0, 20,0$ e $30,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP = 100 mV , $t = 10,0 \text{ ms}$, TA = 5 min para detecção de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2; B) Variação da intensidade de i_{pa} e $W_{1/2}$ em função do teor de modificante.



Através da observação da Figura 30A é possível verificar que o aumento da velocidade de varredura acarretou o aumento da i_{pa} e no aumento do $W_{1/2}$ (Figura 30B). Onde na velocidade de $20,0 \text{ mV s}^{-1}$ há o aumento da corrente de pico anódico em relação às outras velocidades ($5,0 - 15,0 \text{ mV s}^{-1}$) e apresenta menor alargamento do pico em relação à velocidade de $30,0 \text{ mV s}^{-1}$, o que inviabiliza as análises eletroquímicas. Portanto, foi escolhido o valor de $20,0 \text{ mV s}^{-1}$

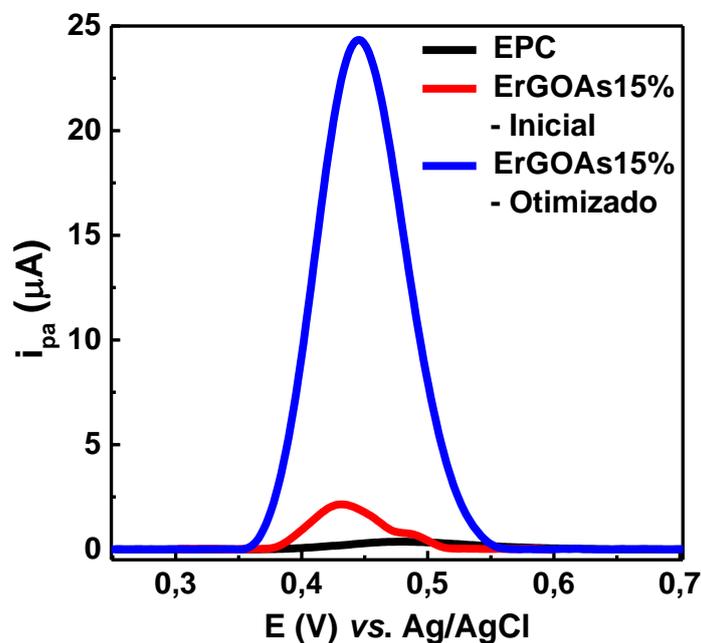
s⁻¹ para continuidade dos estudos. As condições experimentais otimizadas estão descritas na Tabela 7.

Tabela 7. Condições avaliadas para detecção do 17 α -etinilestradiol.

	Material/Parâmetros	Condição otimizada
<i>Eletrodo</i>	Grafite	50,0%
	Óleo Mineral	35,0%
	rGOAs	15,0%
<i>Célula de leitura</i>	Célula eletroquímica	<i>In situ</i>
<i>Meio</i>	Meio eletrolítico	Tampão B-R
	pH	8,00
<i>Metodologia</i>	Tempo de acumulação	5,0 minutos
<i>Analítica</i>	Proporção do modificante	15,0%
<i>Parâmetros da técnica</i>	Tempo de pulso	10,0 ms
	Amplitude de pulso	100 mV
	Velocidade de varredura	20,0 mV s ⁻¹

A Figura 30 apresenta um comparativo das intensidades de corrente de pico anódico obtidas com o EPC e o ErGOAs15% utilizando os parâmetros iniciais e após as otimizações realizadas (Figura 30).

Figura 30. Voltamogramas comparativos com as intensidades de pico anódico obtidos na detecção do EE2 com os eletrodos EPC e ErGOAs15% em condições iniciais e otimizadas.



A Figura 30 demonstra a comparação dos resultados obtidos com a análise do EE2, onde constata-se um aumento significativo da intensidade do pico de oxidação do EE2. Esses resultados corroboram para a importância do estudo das etapas realizadas, o que concederam um aumento da capacidade eletroanalítica do eletrodo, pois, com o potencial aplicado, pode-se gerar um processo oxidativo mais efetivo.

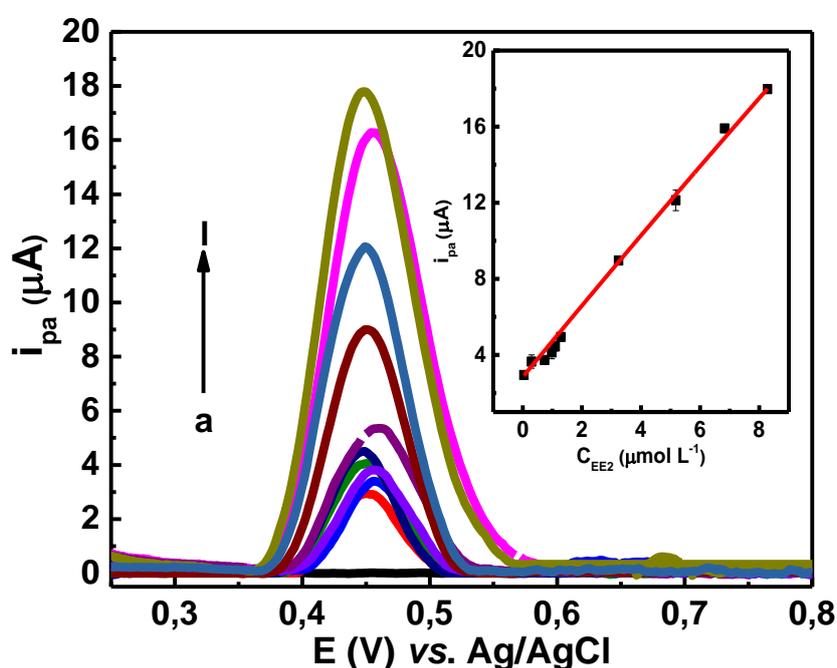
4.3.5 Curva Analítica

Após as etapas de otimização dos parâmetros, foi realizada a curva analítica para detecção do EE2. A curva analítica foi construída para o ErGOAs15% com faixa de concentração entre 0,04 a 8,28 $\mu mol L^{-1}$. Para determinar os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), foi utilizado o desvio padrão (S_d) das leituras da solução eletrolítica (branco). Os cálculos para quantificar o LD (Equação 3) e o LQ (Equação 4) relacionam com a inclinação da reta (b). As medidas foram executadas em triplicata ($n=3$) (Figura 32).

$$LD = \frac{3S_d}{b} \quad \text{Equação 3}$$

$$LQ = \frac{10S_d}{b} \quad \text{Equação 4}$$

Figura 31. Voltamogramas de Pulso Diferencial obtidos para o eletrodo ErGOAs15% na faixa de concentração Curva 0,04 a 8,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão B-R (pH 8,00), TA = 5 min, AP = 100 mV, t = 10 ms, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$. Curva analítica obtidos das correntes de pico anódico do EE2. O a e o I representam a menor até a maior concentração adicionada.



Os resultados apresentados na Figura 32A, mostram que à medida que se aumenta a concentração da solução padrão de EE2, os picos de oxidação (i_{pa}) também se intensificam. Através da Figura 32B, observa-se na curva analítica o aumento linear de i_{pa} na faixa concentração de 0,04 a 8,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9997$), resultando na equação $i_{pa} = 2,84 \times 10^{-6} + 1,88 \times C_{EE2}$, onde C_{EE2} corresponde à concentração do EE2. O limite de detecção (LD) obtido foi de 6,79 nmol L^{-1} e o limite de quantificação (LQ) foi de 22,60 nmol L^{-1} .

Assim, em comparação com outros sensores eletroquímicos utilizados para a detecção do mesmo analito encontrados na literatura, o eletrodo desenvolvido neste trabalho demonstra ser promissor para a detecção do EE2

em amostras complexas. Na Tabela 8 estão listados alguns eletrodos e os resultados obtidos na detecção do 17 α -etinilestradiol.

Tabela 8. Comparação entre os resultados obtidos na aplicação de diferentes eletrodos para a detecção do EE2.

Eletrodos	Faixa de concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Limite de detecção (nmol L^{-1})	Referência
Au/Fe ₃ O ₄ @TA/MWNT/GCE	0,01 - 120,00	3,30	[49]
GCE-MWCNTs-CoPc	2,50 - 90,00	2200,00	[14]
(mag@MIP)-GQDs-FG-NF/SPE	0,01 - 2,50	2,60	[113]
PVP/Chi/rGO_Laccase	0,00025 – 0,02	0,00015	[19]
Ru/rGO	0,05 - 1,20	2,04	[50]
SPE/rGO/AuNPs	0,39 – 1,32	390	[107]
ErGOAs15%	0,04 a 8,28	6,79	Neste trabalho

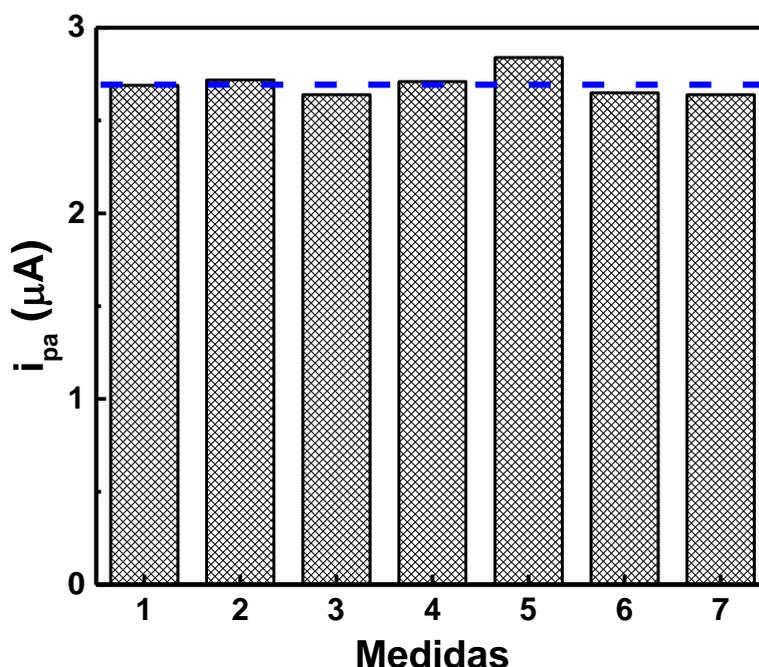
Au/Fe₃O₄@TA/MWNT/CGE = nanotubos de carbono de múltiplas paredes e nanopartículas magnéticas funcionalizadas com ácido tânico e nanopartículas de ouro. Ru/rGO = Nanopartículas de Rutênio em Óxido de Grafeno Reduzido. (mag@MIP)-GQDs-FG-NF/SPE = eletrodo impresso em tela modificado com grafeno funcionalizado, pontos quânticos de grafeno e nanopartículas magnéticas revestidas com polímeros impressos molecularmente. GCE-MWCNTs-CoPc = materiais carbonáceos (nanotubos de carbono de paredes múltiplas, óxido de grafeno reduzido Óxido de grafeno reduzido, grafite) e diferentes ftalocianinas metálicas (cobalto, ferro e manganês).

Os resultados obtidos com o estudo da curva analítica demonstraram resultados favoráveis para o ErGOAs15%. Ao comparar o eletrodo desenvolvido neste trabalho com sensores na literatura, pode-se observar resultados com sensibilidades próximas para a detecção do EE2, dado o limite de detecção e a faixa linear. Outra característica que deve ser ressaltada, é a relação entre os resultados e composição simplificada do eletrodo, onde o eletrodo foi composto unicamente por rGO, grafite e óleo mineral, demonstrando-se assim, um sensor capaz de contribuir com os estudos referentes a detecção do EE2.

4.3.6 Repetibilidade e Reprodutibilidade

A precisão do método desenvolvido foi analisada a partir da repetibilidade e reprodutibilidade do ErGOAs15% na detecção do EE2. As condições otimizadas foram utilizadas para a detecção de EE2 na concentração de 0,90 $\mu\text{mol L}^{-1}$, utilizando a técnica de VPD. O estudo de repetibilidade avaliou os resultados de 7 medições sucessivas (n) com o mesmo eletrodo, onde a superfície desse foi renovado após cada leitura (Figura 32).

Figura 32. Estudo de repetibilidade do ErGOAs15% em condições otimizadas na presença de EE2 (n = 7). A linha tracejada azul representa a média dos i_{pa} medidos nas análises.

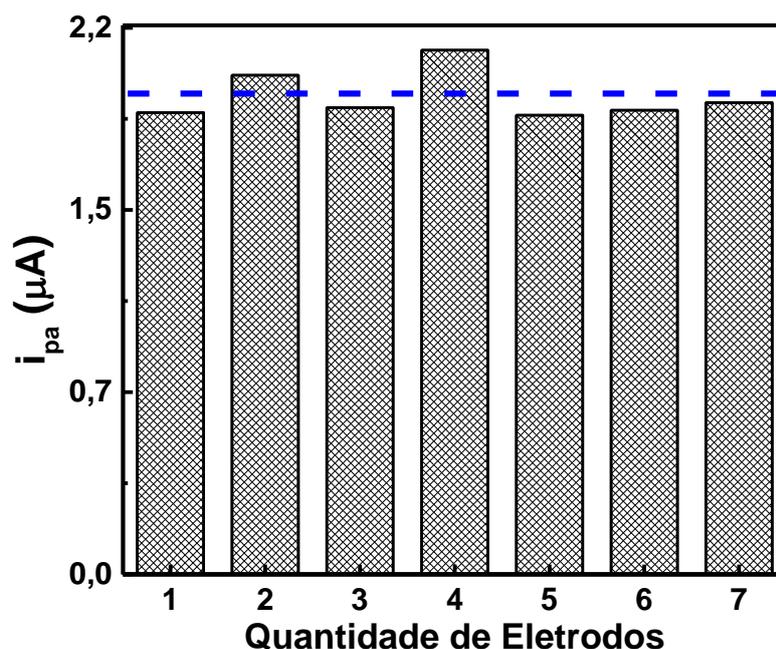


Os resultados expressam a capacidade do eletrodo reproduzir o sinal eletroanalítico, com desvio padrão relativo de 2,71%. O estudo de reprodutibilidade avaliou os resultados de 7 eletrodos diferentes sob condições otimizadas. Onde os resultados obtidos demonstraram ser excelentes, devido o desvio entre as leituras ser baixo em comparação com outros trabalhos na literatura, tais como 2,10% [49], 3,36% [112] e 2,50% [131].

O objetivo do estudo de reprodutibilidade foi analisar os resultados de 7 eletrodos (n) distintos, onde cada eletrodo foi preparado com a diferença de 15

dias entre eles. Após a produção do último eletrodo foram realizados os estudos de reprodutibilidade. A Figura 33 demonstra as intensidades de corrente para o teste de reprodutibilidade para detecção do EE2.

Figura 33. Estudo de reprodutibilidade do ErGOAs15% em condições otimizadas na presença de EE2 (n = 7). A linha tracejada azul representa a média dos i_{pa} medidos nas análises.



Os resultados de reprodutibilidade apresentados na Figura 33, mostram um desvio padrão relativo de 5,23%. Com tais valores pode-se aferir que a metodologia para a detecção do EE2 com o ErGOAs15% apresentou-se adequada. A literatura demonstra valores de desvio padrão relativos para reprodutibilidade similares aos resultados obtidos nesse trabalho: 8,44% [19], 6,60% [31] e 5,40% [39].

4.3.7 Interferentes

O estudo da seletividade do eletrodo (ErGOAs15%) para a detecção do EE2 foi realizado o estudo da influência das espécies interferentes no sinal eletroanalítico. Esses concomitantes podem interferir nas análises

eletroanalíticas por sofrerem o processo de oxidação na mesma região que o analito estudado, ou também, podem interagir com a espécie ou mais efetivamente com o eletrodo utilizado. Portanto, foram selecionadas espécies tomando como base estudos realizados na literatura e possíveis compostos presentes nas amostras complexas [19,49,112,113]. As espécies selecionadas foram ácido ascórbico (AA), cafeína (CA), ureia (Ure), estrona (E1), Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , Na^+ , Mg^{2+} , Pb^{2+} e Fe^{3+} . A proporção molar foi de 1:10 e 1:100 (EE2:concomitante). A Figura 34A e B mostra os resultados obtidos para as análises do EE2 e a linha tracejada azul representa a média dos i_{pa} medidos nas análises. Na Tabela 9 constam as porcentagens das variações dos i_{pa} para a detecção do EE2 na presença dos interferentes.

Figura 34. Variação das correntes de pico anódico obtidas para $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2 ao adicionar interferentes na proporção: A) 1:10 (analito:concomitante); B) (1:100 analito:concomitante). A linha pontilhada azul representa o i_{pa} obtido para a detecção do EE2 sem as espécies concomitantes.

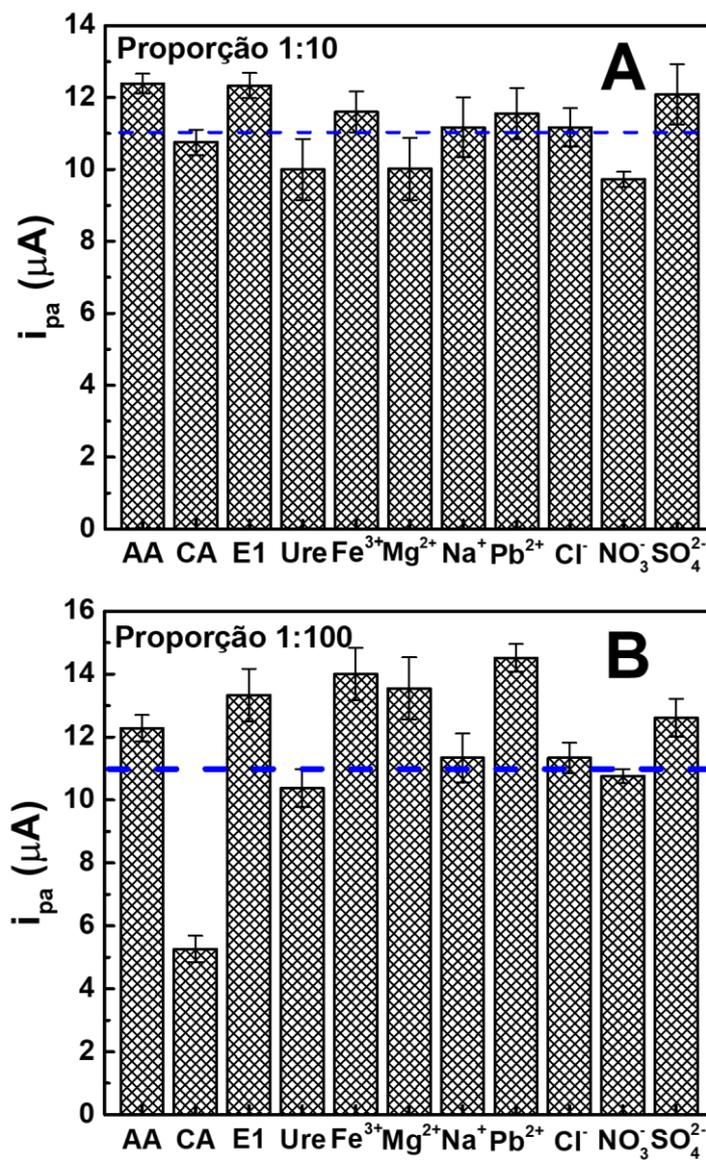


Tabela 9. Variações das correntes de pico anódico para o ErGOAs15% quando avaliado na presença de interferentes em concentração em proporção 1:10 e 1:100.

Interferentes/Proporção	1:10 (%)	1:100 (%)
Ácido ascórbico	107,54%	106,62%
Cafeína	93,42%	45,74%
Estrona	115,75%	110,62%
Ureia	135,97%	90,10%
Cl ⁻	100,01%	99,33%
NO ₃ ⁻	84,47%	93,45%
SO ₄ ²⁻	84,00%	109,54%
Na ⁺	97,01%	98,46%
Mg ²⁺	86,96%	117,57%
Pb ²⁺	100,34%	126,05%
Fe ³⁺	128,87%	132,18%

Os resultados expressos na Figura 34A e B, e na Tabela 9 demonstraram a influência das espécies concomitantes no sinal eletroanalítico de detecção do EE2. Pode-se constatar o aumento ou a diminuição do i_{pa} mediante a espécie e a concentração adicionada. O aumento da intensidade do pico oxidação do EE2 foi observado nas análises do AA, E1, Fe³⁺, Pb²⁺, SO₄²⁻, enquanto as espécies como NO₃⁻, Cafeína e Na⁺ interferiram na diminuição da i_{pa} .

Através do estudo realizado, pode-se compreender que ao adicionar as espécies interferentes, essas podem provocar variações da resposta obtida, onde o efeito matriz pode afetar a seletividade e a precisão do método, demonstrando a importância dos testes realizados. Os resultados obtidos podem ser relacionados com as interações das espécies concomitantes e o EE2, ou a interação eletrodo/concomitante interferir na interação eletrodo/EE2, seja por inviabilizar a aproximação do EE2 na camada difusa ou adjacente do eletrodo,

ou uma maior interação entre o rGO e a espécie interferente. Ao comparar os resultados obtidos com a literatura, observa-se que algumas espécies afetaram o processo de análise, dessa forma, enquanto que as outras espécies tiveram resultados similares a outros trabalhos [19,49,111–113].

4.3.8 *Amostra complexa*

As análises eletroanalíticas podem apresentar elevada sensibilidade e seletividade para detecção das espécies eletroativas [2,114]. Segundo Skoog *et al.* [5], matriz é o meio que contém o analito estudado, e o efeito dos compostos interferentes podem interferir nos resultados obtidos. O efeito de matriz podem gerar mascaramento do pico do analito, erro da identificação do analito, aumento ou diminuição do sinal obtido, entre outros [132,133]. Assim, após os estudos executados, realizou-se as análises para detecção do EE2 em amostras complexas, com o objetivo de estudar o efeito de matriz, a sensibilidade e seletividade. As amostras complexas foram escolhidas mediante os trabalhos observados na literatura utilizando urina sintética, água residual e comprimido anticoncepcional [19,49,50,111].

4.3.8.1 Água residual

O estudo da detecção eletroquímica do EE2 em água residual foi realizada ao adicionar na célula eletroquímica uma proporção de 1:9 (água residual:tampão). Primeiramente, foi realizada a análise do branco (tampão B-R pH 8,00), em seguida, foi realizada a leitura da solução tampão/água residual. O método de adição padrão de quantificação foi realizada adicionando alíquotas da solução estoque na célula eletroquímica. Os resultados obtidos estão expressos na Figura 35A e B, e na Tabela 10.

Figura 35. Recuperações referentes às concentrações nas amostras de água residual: A) Voltamogramas de Pulso Diferencial obtidos para o eletrodo ErGOAs15% na faixa de concentração Curva 190,00 a 800,00 nmol L⁻¹ em tampão B-R (pH 8,00), TA = 5 min, AP = 100 mV, t = 10 ms, ν = 20,0 mV s⁻¹; B) Correlação linear.

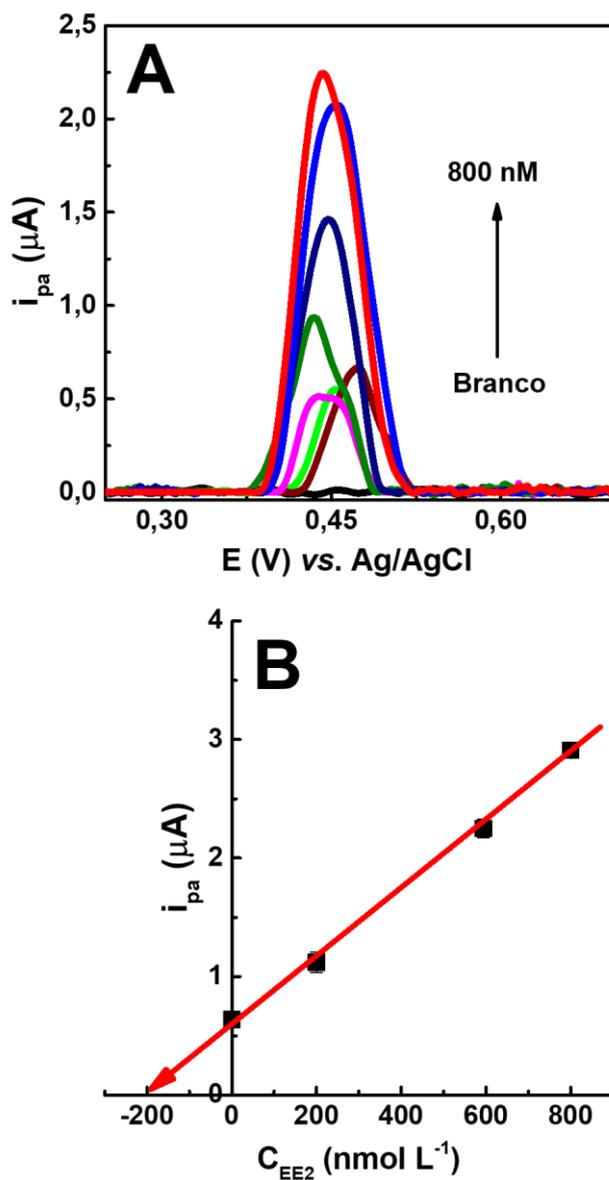


Tabela 10. Resultados das recuperações referentes as concentrações e seus respectivos desvios padrões relativos às análises das amostras de água residual.

Concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Concentração recuperada ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
0,20	95,00	0,19
0,79	103,80	0,82
0,99	110,10	1,09

Os resultados demonstrados na Figura 35 (A e B) e Tabela 10, observa-se que o método de adição padrão apresentou resultados satisfatórios comparados aos expressos na literatura. A partir das intensidades das i_{pa} foram possíveis obter recuperações para três concentrações diferentes. O estudo de Nodehi *et. al.* [49] obteve recuperações entre 99,50 - 101,00%, Santos *et. al.* [113] demonstraram valores entre 97,00 - 105,00%, enquanto as recuperações desse estudo foram 95,00 – 110,10%, o que demonstra o efeito de matriz e a capacidade do ErGOAs15% detectar o EE2 em concentrações próximas as adicionadas.

4.3.8.2 Urina sintética

A detecção eletroquímica do EE2 em urina sintética foi realizada ao adicionar na célula eletroquímica uma proporção de 1:9 (urina sintética:tampão). Primeiramente, foi realizada a análise do branco (tampão B-R pH 8,00), em seguida, foi realizada a leitura em triplicata da solução tampão/urina sintética na presença do EE2. O método utilizado no estudo foi o de interpolação na reta, onde os resultados das i_{pa} obtidos foram substituídos na equação da reta obtida no estudo da curva analítica (Equação 5). Os resultados das recuperações estão apresentados na Tabela 11.

$$i_{pa} = 2,84 \times 10^{-6} + 1,88 \times C_{EE2}$$

Equação 5

Tabela 11. Resultados das recuperações referentes às concentrações nas amostras de urina sintética e seus respectivos desvios padrão relativos.

Concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Concentração recuperada ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DPR/ (%)
0,20	94,80	0,19	9,13
0,79	98,73	0,78	2,34
0,99	104,00	1,03	7,57

Os resultados referentes as análises de recuperações nas amostras de urina sintética estão apresentados na Tabela 11. Pode-se constar que o método de interpolação das i_{pa} na equação da reta, obtida no estudo da curva analítica, apresentaram recuperações satisfatórios comparados aos resultados da literatura. O trabalho de Nodehi *et. al.* obtiveram recuperações de 100,80-106,50% [49], Prado *et. al.* 96,00-101,10% [50] e Pavinatto *et. al.* 99,00-102,00% [19]. Enquanto, nesse trabalho obteve-se valores entre 94,80 – 104,00%, o que corrobora para a compreensão do desempenho eletroanalítico do eletrodo, demonstrando-se eficaz para detecção do EE2 em amostras de urina sintética.

4.3.8.3 Comprimido anticoncepcional

Para o estudo da detecção eletroquímica do EE2 em anticoncepcional comercial foi realizada a análise do branco (tampão B-R pH 8,00), em seguida, adicionou-se na célula eletroquímica uma concentração calculada da solução preparada a partir do comprimido anticoncepcional, para se obter $0,10 \mu\text{mol L}^{-1}$ do EE2. As análises foram realizadas em triplicata e as intensidades de pico anódico obtidas foram substituídas na equação da reta referente a curva analítica (Equação 5) e os resultados das recuperações obtidas estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Resultados das recuperações referentes à concentração em amostra de anticoncepcional comercial e seu respectivo desvio padrão relativo (n=3).

Concentração do EE2 no comprimido	Recuperação (%)	Concentração do EE2 recuperada	DPR/ (%)
0,0350 g	102,86	0,0360	6,08

A análise para detecção do EE2 presente em amostra de anticoncepcional comercial está apresentada na Tabela 12. Através do resultado obtido foi possível constatar o resultado satisfatório comparado com o estudo de Jesus *et. al.*, onde obtiveram recuperações de 97,10% [111]. Esse dado demonstra a capacidade do ErGOAs15% detectar o EE2 na amostra complexa escolhida.

5 CONCLUSÕES

Os resultados das caracterizações físico-químicas dos compostos sintetizados: óxido de grafeno (GO) e óxido de grafeno reduzido com ácido ascórbico (rGOA) e seco (rGOAs), apresentaram estruturas semelhantes com as encontradas na literatura. Através do MEV, foi possível observar que o GO possui uma estrutura mais compacta, enquanto o rGOA e rGOAs apresenta estruturas mais espaçadas. Tais observações foram corroboradas pelas imagens obtidas por TEM, com folhas de GO mais sobrepostas, enquanto que o rGOA possui menores sobreposições de folhas e maior transparência.

Por meio dos difratogramas, pode-se analisar o aumento da desordem da estrutura do óxido de grafeno reduzido com ácido ascórbico em relação ao grafite (GR) e ao óxido de grafeno, enquanto nos espectros obtidos pelo Raman corroboram com a formação do rGOA e o rGOAs, através do aumento da banda G, em relação a banda D. Analisou-se nos espectros de FTIR a presença dos grupos funcionais oxigenados para o GO, e o aumento da banda referente ao C=C de carbono sp^2 , característico do rGOA e rGOAs, obtido pelo processo de redução. A caracterização por UV-VIS evidenciou a presença das transições mais intensas de banda $\pi-\pi^*$ no rGOAs.

O eletrodo modificado com rGOAs demonstrou a maior sensibilidade eletroanalítica para a detecção do 17 α -etinilestradiol em comparação aos demais eletrodos (EPC e ErGOA). As otimizações dos parâmetros do meio e da técnica apresentaram uma melhoria significativa nas respostas voltamétricas. O método desenvolvido no intervalo linear de 0,04 a 8,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9997$) demonstrou limites de detecção (6,79 nmol L^{-1}) e quantificação (22,60 nmol L^{-1}). As análises de reprodutibilidade e repetibilidade apresentaram resultados inferiores aos limites determinados pela ANVISA, com DPR/% de 2,71% e 5,23%, respectivamente. O sensor foi aplicado às amostras de água residuária, urina sintética e de anticoncepcional para a detecção de EE2, onde obteve-se resultados satisfatórios de recuperação entre 95,00 – 110,10%, 94,80-104,00% e 102,86%, respectivamente. Frente aos resultados obtidos, o sensor composto por oxido de grafeno reduzido com ácido ascórbico (ErGOAs15%) demonstrou características eletroanalíticas excelentes para a detecção do EE2, podendo contribuir assim para os estudos de monitoramento desse contaminante emergente em diferentes meios.

6 PERSPECTIVAS DO TRABALHO

- Publicar artigo em revista científica indexada.
- Análises de impedância dos eletrodos desenvolvidos no trabalho.
- Desenvolvimento de eletrodo impresso em suporte de ITO.

7 TRABALHOS

- Análise quantitativa da perda de massa por oxidação em barras de aço carbono CA-50: uma proposta metodológica para a contextualização do estudo da corrosão em cursos de engenharia civil/IFS, 2019. Capítulo de livro publicado na Editora Atena. Livro: A Interface Essencial da Engenharia de Produção no Mundo Corporativo. Volume 3. ISBN 978-85-7247-457-3 DOI 10.22533/at.ed.573190907

- Electrochemical sensors based on ionic liquid and reduced graphene oxide for voltammetric determination of ciprofloxacin, 2020. Trabalho aceito 43ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.

- Eletroquímica: eletrodos modificados e suas potencialidades, 2020. Trabalho publicado na Revista Virtual de Química. Volume 12. Número 5. DOI: 10.21577/1984-6835.20200092.

- Análise quantitativa da perda de massa por oxidação em barras de aço carbono CA-50: uma proposta metodológica para a contextualização do estudo da corrosão em cursos de engenharia civil/IFS, 2020. Artigo publicado na Brazilian Journal of Development. Volume 6. Número 5. p.28561-28575. DOI: 10.34117/bjdv6n5-341.

- Processo de obtenção de óxido de grafeno a partir do biochar da semente de uva e produto obtido, 2020. Depósito de patente no Instituto Nacional da Propriedade Industrial, número 71. Número de registro, BR10202001218.

"Hydrothermal synthesis of carbon nanoparticles from glucose and urea", foi aprovado e encontra-se no prelo para publicação no livro eletrônico "Trabalhos nas Áreas de Fronteira da Química" a ser divulgado em fevereiro de 2021, na Editora Atena.

"Biocarvão ativado e óxido de grafeno reduzido aplicados em sensor eletroquímico para a determinação de paraquate", foi aprovado e encontra-se no prelo para publicação no livro eletrônico "Trabalhos nas Áreas de Fronteira da Química" a ser divulgado em fevereiro de 2021, na Editora Atena.

"Líquido iônico prótico para a construção de sensor eletroquímico aplicado na detecção de pesticida", foi aprovado e encontra-se no prelo para publicação no livro eletrônico "Trabalhos nas Áreas de Fronteira da Química" a ser divulgado em fevereiro de 2021, na Editora Atena.

"Detecção de ciprofloxacina aplicando um sensor eletroquímico à base de derivado do grafeno e líquido iônico", foi aprovado e encontra-se no prelo para publicação no livro eletrônico "Trabalhos nas Áreas de Fronteira da Química" a ser divulgado em fevereiro de 2021, na Editora Atena.

8 REFERÊNCIAS

- [1] Wang, J., *Analytical Electrochemistry*, 2nd ed.; Wiley-VCH: New Jersey, 2000.
- [2] Pacheco, W. F.; Semaan, F. S.; Almeida, V. G. K.; Ritta, A. G. S. L.; Aucélio, R. Q., Voltammetry: A Brief Review About Concepts. *Rev. Virtual Química* **2013**, 5 (4), 516–537.
- [3] Elgrishi, N.; Rountree, K. J.; McCarthy, B. D.; Rountree, E. S.; Eisenhart, T. T.; Dempsey, J. L., A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.* **2018**, 95 (2), 197–206.
- [4] Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A., *Princípios de Análise Instrumental*, 5th ed.; Bookman: Porto Alegre, 2006.
- [5] Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, E. S. R., *Fundamentos de Química Analítica*, 8a ed.; Thomson, Ed.; São Paulo, 2006.
- [6] Pletcher, D.; Greff, R.; Peat, R.; Peter, L. M.; Robinson, J., Potential Sweep Techniques and Cyclic Voltammetry. In *Instrumental Methods in Electrochemistry*; Elsevier, 2010, 178–228.
- [7] Fiorucci, A. R.; Soares, M. H. F. B.; Cavalheiro, É. T. G., A Importância Da Vitamina C Na Sociedade Através Dos Tempos. *Química Nov. na Esc.* **2003**, 17, 3–7.
- [8] Gao, J.; Liu, F.; Liu, Y.; Ma, N.; Wang, Z.; Zhang, X., Environment-Friendly Method To Produce Graphene That Employs Vitamin C and Amino Acid. *Chem. Mater.* **2010**, 22 (7), 2213–2218.
- [9] Casanova, L.; Cornelius, P. K.; Dutta, S., The Impact of Science and Technology Policies on Rapid Economic Development in China. In *Financing Entrepreneurship and Innovation in Emerging Markets*; Elsevier, 2018, 69–80.
- [10] Ynalvez, M. A.; Shrum, W. M., Science and Development. In *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences*; Elsevier, 2015, 150–155.

- [11] Wang, L.; Huang, X., New Protein-Based Smart Materials. In *Artificial Protein and Peptide Nanofibers*; Elsevier, 2020, 415–436.
- [12] Sant'Anna, M. V. S.; Carvalho, S. W. M. M.; Gevaerd, A.; Silva, J. O. S.; Santos, E.; Carregosa, I. S. C.; Wisniewski, A.; Marcolino-Junior, L. H.; Bergamini, M. F.; Sussuchi, E. M., Electrochemical Sensor Based on Biochar and Reduced Graphene Oxide Nanocomposite for Carbendazim Determination. *Talanta* **2020**, *220*, 121334.
- [13] Randviir, E. P.; Brownson, D. A. C.; Banks, C. E., A Decade of Graphene Research: Production, Applications and Outlook. *Mater. Today* **2014**, *17* (9), 426–432.
- [14] Coelho, M. K. L.; Silva, D. N. da; Pereira, A. C., Development of Electrochemical Sensor Based on Carbonaceous and Metal Phthalocyanines Materials for Determination of Ethinyl Estradiol. *Chemosensors* **2019**, *7* (3), 32.
- [15] Cassidy, M.; Neagu, D.; Savaniu, C.; Boldrin, P., New Materials for Improved Durability and Robustness in Solid Oxide Fuel Cell. In *Solid Oxide Fuel Cell Lifetime and Reliability*; Elsevier, 2017, 193–216.
- [16] Wen, H.-Q.; Ren, H.-Y.; Xie, G.-J.; Xing, D.-F.; Ren, N.-Q.; Liu, B.-F., Effect of Chirality of Cysteine on the Cell Growth and Photo-Fermentative Hydrogen Production by Using Acetate as Substrate. *Fuel* **2021**, 289.
- [17] Hao, M.; Li, Y.; Gao, L.; Ji, C.; Qu, R.; Yang, Z.; Sun, C.; Zhang, Y., In-Situ Hard Template Synthesis of Mesoporous Carbon/Graphite Carbon Nitride (C/CN-T-x) Composites with High Photocatalytic Activities under Visible Light Irradiation. *Solid State Sci.* **2020**, 109.
- [18] Xu, W.; Cai, Y.; Gao, S.; Hou, S.; Yang, Y.; Duan, Y.; Fu, Q.; Chen, F.; Wu, J., New Understanding of Miniaturized VOCs Monitoring Device: PID-Type Sensors Performance Evaluations in Ambient Air. *Sensors Actuators B Chem.* **2021**, 330.
- [19] Pavinatto, A.; Mercante, L. A.; Facure, M. H. M.; Pena, R. B.; Sanfelice, R. C.; Mattoso, L. H. C.; Correa, D. S., Ultrasensitive Biosensor Based on

Polyvinylpyrrolidone/Chitosan/Reduced Graphene Oxide Electrospun Nanofibers for 17 α – Ethinylestradiol Electrochemical Detection. *Appl. Surf. Sci.* **2018**, *458*, 431–437.

[20] Zheng, F.; Xu, W.-L.; Jin, H.-D.; Hao, X.-T.; Ghiggino, K. P., Charge Transfer from Poly(3-Hexylthiophene) to Graphene Oxide and Reduced Graphene Oxide. *RSC Adv.* **2015**, *5* (109), 89515–89520.

[21] Xu, R.; Liu, W.; Cai, J.; Li, Z., Robust RGO Composite Aerogels with High Adsorption Capabilities for Organic Pollutants in Water. *Sep. Purif. Technol.* **2021**, *257*,.

[22] Sheikh-Mohseni, M. A.; Hassanzadeh, V.; Habibi, B., Reduced Graphene Oxide Supported Bimetallic Ni–Co Nanoparticles Composite as an Electrocatalyst for Oxidation of Methanol. *Solid State Sci.* **2019**, *98*, 1–7.

[23] Sharma, N.; Sharma, V.; Vyas, R.; Kumari, M.; Kaushal, A.; Gupta, R.; Sharma, S. K.; Sachdev, K., A New Sustainable Green Protocol for Production of Reduced Graphene Oxide and Its Gas Sensing Properties. *J. Sci. Adv. Mater. Devices* **2019**, *4* (3), 473–482.

[24] Wang, B.; Ruan, T.; Chen, Y.; Jin, F.; Peng, L.; Zhou, Y.; Wang, D.; Dou, S., Graphene-Based Composites for Electrochemical Energy Storage. *Energy Storage Mater.* **2020**, *24*, 22–51.

[25] Santana, P.; Lima, J.; Santana, T.; Santos, L.; Matos, C.; da Costa, L.; Gimenez, I.; Sussuchi, E., Semiconductor Nanocrystals-Reduced Graphene Composites for the Electrochemical Detection of Carbendazim. *J. Braz. Chem. Soc.* **2019**, *30* (6), 1302–1308.

[26] Wiench, P.; González, Z.; Gryglewicz, S.; Menéndez, R.; Gryglewicz, G., Enhanced Performance of Pyrrolic N-Doped Reduced Graphene Oxide-Modified Glassy Carbon Electrodes for Dopamine Sensing. *J. Electroanal. Chem.* **2019**, *852*, 1–8.

[27] Brasil; Ambiente, M. do M.; Ambiente, C. N. do M., Lei nº 6.938/1981 http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l6938compilada.htm (accessed Jan 7,

2021).

[28] Bagheri, A. R.; Aramesh, N.; Sher, F.; Bilal, M., Covalent Organic Frameworks as Robust Materials for Sustainable Mitigation of Environmental Pollutants. *Chemosphere* **2021**, 270,.

[29] Borthakur, P.; Boruah, P. K.; Das, M. R.; Kulik, N.; Minofar, B., Adsorption of 17 α -Ethinyl Estradiol and β -Estradiol on Graphene Oxide Surface: An Experimental and Computational Study. *J. Mol. Liq.* **2018**, 269, 160–168.

[30] Cunha, D. L. da; Silva, S. M. C. da; Bila, D. M.; Oliveira, J. L. da M.; Sarcinelli, P. de N.; Larentis, A. L., Regulamentação Do Estrogênio Sintético 17 α -Ethinylestradiol Em Matrizes Aquáticas Na Europa, Estados Unidos e Brasil. *Cad. Saude Publica* **2016**, 32 (3), e00056715.

[31] Pavinatto, A.; Mercante, L. A.; Leandro, C. S.; Mattoso, L. H. C.; Correa, D. S., Layer-by-Layer Assembled Films of Chitosan and Multi-Walled Carbon Nanotubes for the Electrochemical Detection of 17 α -Ethinylestradiol. *J. Electroanal. Chem.* **2015**, 755, 215–220.

[32] Adeel, M.; Song, X.; Wang, Y.; Francis, D.; Yang, Y., Environmental Impact of Estrogens on Human, Animal and Plant Life: A Critical Review. *Environ. Int.* **2017**, 99, 107–119.

[33] Aris, A. Z.; Shamsuddin, A. S.; Praveena, S. M., Occurrence of 17 α -Ethinylestradiol (EE2) in the Environment and Effect on Exposed Biota: A Review. *Environ. Int.* **2014**, 69, 104–119.

[34] Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC N^o 17/2010 Dispõe Sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. *Diário Of. da União* **2010**.

[35] Smajdor, J.; Piech, R.; Pięk, M.; Paczosa-Bator, B., Sensitive Voltammetric Determination of Ethinyl Estradiol on Carbon Black Modified Electrode. *J. Electrochem. Soc.* **2017**, 164 (13), 885–889.

[36] Sousa, I. C. de A. de; Álvares, A. da C. M., A trombose venosa profunda como reação adversa do uso contínuo de anticoncepcionais orais. *Rev. Cient*

2018, 7 (1), p 54–65.

[37] Younus, I.; Reddy, D. S., Seizure Facilitating Activity of the Oral Contraceptive Ethinyl Estradiol. *Epilepsy Res.* **2016**, 121, 29–32.

[38] Nunes, C. N.; Pauluk, L. E.; Felsner, M. L.; Egéa dos Anjos, V.; Quináia, S. P., Rapid Screening Method for Detecting Ethinyl Estradiol in Natural Water Employing Voltammetry. *J. Anal. Methods Chem.* **2016**, 2016, 1–7.

[39] Pingarrón, J. M.; Canevari, T. C.; Cincotto, F. H.; Machado, S. A. S.; Yáñez-Sedeño, P.; Martínez-García, G., Electrochemical Immunosensor for Ethinylestradiol Using Diazonium Salt Grafting onto Silver Nanoparticles-Silica-Graphene Oxide Hybrids. *Talanta* **2015**, 147, 328–334.

[40] Ribeiro, C. C. M.; Shimo, A. K. K.; Lopes, M. H. B. de M.; Lamas, J. L. T.; Tatagiba, Efeitos Dos Diferentes Anticoncepcionais Hormonais Nos Valores de Pressão Arterial Da Mulher. *Rev. Bras. Enferm.* **2018**, 71 (3), 1537–1543.

[41] Beltz, A. M.; Hampson, E.; Berenbaum, S. A., Oral Contraceptives and Cognition: A Role for Ethinyl Estradiol. *Horm. Behav.* **2015**, 74, 209–217.

[42] Raymond, C.; Marin, M.; Juster, R.; Leclaire, S.; Bourdon, O.; Cayer-falardeau, S.; Lupien, S. J., Psychoneuroendocrinology Increased Frequency of Mind Wandering in Healthy Women Using Oral Contraceptives. *Psychoneuroendocrinology* **2019**, 101, 121–127.

[43] Corrêa, D. A. S.; Felisbino-Mendes, M. S.; Mendes, M. S.; Malta, D. C.; Velasquez-Melendez, G., Factors Associated with the Contraindicated Use of Oral Contraceptives in Brazil. *Rev. Saude Publica* **2017**, 51 (1), 1–10.

[44] (ECHA), E. C. A., Ethinylestradiol <https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.000.311>.

[45] Zhang, M.; Zhang, M.-F.; Chen, F.-Y.; Cui, Q.; Yang, B.-Z.; Liu, Y.; Peng, H.; Wang, K.-J., The Transcriptional Regulation of an Antimicrobial Peptide Hepcidin1 in *Oryzias Melastigma* upon EE2 Exposure Involved in a New Pathway with a Novel Transcriptional Regulatory Element HepERE. *Fish Shellfish Immunol.* **2018**, 82, 421–431.

- [46] Kanso, H.; Inguibert, N.; Istamboulie, G.; Barthelmebs, L.; Calas-Blanchard, C.; Noguer, T., Chemiluminescence Immunoassays for Estradiol and Ethinylestradiol Based on New Biotinylated Estrogen Derivatives. *Anal. Biochem.* **2017**, *537*, 63–68.
- [47] Barreca, S.; Busetto, M.; Colzani, L.; Clerici, L.; Daverio, D.; Dellavedova, P.; Balzamo, S.; Calabretta, E.; Ubaldi, V., Determination of Estrogenic Endocrine Disruptors in Water at Sub-Ng L⁻¹ Levels in Compliance with Decision 2015/495/EU Using Offline-Online Solid Phase Extraction Concentration Coupled with High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Microchem. J.* **2019**, *147*, 1186–1191.
- [48] Česen, M.; Heath, E., Disk-Based Solid Phase Extraction for the Determination of Diclofenac and Steroidal Estrogens E1, E2 and EE2 Listed in the WFD Watch List by GC–MS. *Sci. Total Environ.* **2017**, *590–591*, 832–837.
- [49] Nodehi, M.; Baghayeri, M.; Ansari, R.; Veisi, H., Electrochemical Quantification of 17 α – Ethinylestradiol in Biological Samples Using a Au/Fe₃O₄@TA/MWNT/GCE Sensor. *Mater. Chem. Phys.* **2020**, *244*, 122687.
- [50] Prado, T. M.; Cincotto, F. H.; Moraes, F. C.; Machado, S. A. S., Electrochemical Sensor-Based Ruthenium Nanoparticles on Reduced Graphene Oxide for the Simultaneous Determination of Ethinylestradiol and Amoxicillin. *Electroanalysis* **2017**, *29* (5), 1278–1285.
- [51] Jimenez-Cervantes, E.; López-Barroso, J.; Martínez-Hernández, A. L.; Velasco-Santos, C., Graphene-Based Materials Functionalization with Natural Polymeric Biomolecules. In *Recent Advances in Graphene Research*; InTech, 2016, 13.
- [52] Atkins, P.; Jones, L., Princípios de Química: Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente. *Bookman*. 2006.
- [53] Basu, S.; Bhattacharyya, P., Recent Developments on Graphene and Graphene Oxide Based Solid State Gas Sensors. *Sensors Actuators, B Chem.* **2012**, *173*, 1–21.

- [54] Yan, J.-W.; Hu, C.; Chen, K.; Lin, Q.-B., Release of Graphene from Graphene-Polyethylene Composite Films into Food Simulants. *Food Packag. Shelf Life* **2019**, *20*, 100310.
- [55] Mogera, U.; Kulkarni, G. U., Review Article A New Twist in Graphene Research : Twisted Graphene. *Carbon N. Y.* **2020**, *156*, 470–487.
- [56] Nandanapalli, K. R.; Mudusu, D.; Lee, S., Functionalization of Graphene Layers and Advancements in Device Applications. *Carbon N. Y.* **2019**, *152*, 954–985.
- [57] Smith, A. T.; LaChance, A. M.; Zeng, S.; Liu, B.; Sun, L., Synthesis, Properties, and Applications of Graphene Oxide/Reduced Graphene Oxide and Their Nanocomposites. *Nano Mater. Sci.* **2019**, *1* (1), 31–47.
- [58] Raslan, A.; Saenz del Burgo, L.; Ciriza, J.; Luis Pedraz, J., Graphene Oxide and Reduced Graphene Oxide-Based Scaffolds in Regenerative Medicine. *Int. J. Pharm.* **2020**, *580*, 119226.
- [59] Tiwari, S. K.; Sahoo, S.; Wang, N.; Huczko, A., Graphene Research and Their Outputs: Status and Prospect. *J. Sci. Adv. Mater. Devices* **2020**.
- [60] Abid, P. S.; Islam, S. S.; Mishra, P.; Ahmad, S., Reduced Graphene Oxide (RGO) Based Wideband Optical Sensor and the Role of Temperature, Defect States and Quantum Efficiency. *Sci. Rep.* **2018**, *8* (1), 1–13.
- [61] Wu, D.-Y.; Zhou, W.-H.; He, L.-Y.; Tang, H.-Y.; Xu, X.-H.; Ouyang, Q.-S.; Shao, J.-J., Micro-Corrugated Graphene Sheet Enabled High-Performance All-Solid-State Film Supercapacitor. *Carbon N. Y.* **2020**, *160*, 156–163.
- [62] Orsu, P.; Koyyada, A., Recent Progresses and Challenges in Graphene Based Nano Materials for Advanced Therapeutical Applications: A Comprehensive Review. *Mater. Today Commun.* **2020**, *22*, 100823.
- [63] Kakaei, K.; Esrafil, M. D.; Ehsani, A., *Graphene and Anticorrosive Properties*; 2019, Vol. 27.
- [64] Si, N.; Zhang, F.; Jiang, W.; Zhang, Y. L., Magnetic and Thermodynamics

Properties Graphene Monolayer with Defects. *Phys. A Stat. Mech. its Appl.* **2018**, *510*, 641–648.

[65] Yeganeh, M.; Saraf, H. H.; Kafi, F.; Boochani, A., First Principles Investigation of Vibrational, Electronic and Optical Properties of Graphene-like Boron Carbide. *Solid State Commun.* **2020**, *305*, 1–9.

[66] Nie, C.; Ma, L.; Li, S.; Fan, X.; Yang, Y.; Cheng, C.; Zhao, W.; Zhao, C., Recent Progresses in Graphene Based Bio-Functional Nanostructures for Advanced Biological and Cellular Interfaces. *Nano Today* **2019**, *26*, 57–97.

[67] Zhang, Z.; Gao, Z.; Fang, R.; Li, H.; He, W.; Du, C., UV-Assisted Room Temperature NO₂ Sensor Using Monolayer Graphene Decorated with SnO₂ Nanoparticles. *Ceram. Int.* **2020**, *46* (2), 2255–2260.

[68] Al-Gaashani, R.; Najjar, A.; Zakaria, Y.; Mansour, S.; Atieh, M. A., XPS and Structural Studies of High Quality Graphene Oxide and Reduced Graphene Oxide Prepared by Different Chemical Oxidation Methods. *Ceram. Int.* **2019**, *45* (11), 14439–14448.

[69] Korkmaz, S.; Kariper, İ. A., Graphene and Graphene Oxide Based Aerogels: Synthesis, Characteristics and Supercapacitor Applications. *J. Energy Storage* **2020**, *27*, 101038.

[70] Escudero, M. L.; Llorente, I.; Pérez-Maceda, B. T.; José-Pinilla, S. S.; Sánchez-López, L.; Lozano, R. M.; Aguado-Henche, S.; de Arriba, C. C.; Alobera-Gracia, M. A.; García-Alonso, M. C., Electrochemically Reduced Graphene Oxide on CoCr Biomedical Alloy: Characterization, Macrophage Biocompatibility and Hemocompatibility in Rats with Graphene and Graphene Oxide. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *109*, 110522.

[71] Kapitanova, O. O.; Emelin, E. V.; Dorofeev, S. G.; Evdokimov, P. V.; Panin, G. N.; Lee, Y.; Lee, S., Direct Patterning of Reduced Graphene Oxide/Graphene Oxide Memristive Heterostructures by Electron-Beam Irradiation. *J. Mater. Sci. Technol.* **2020**, *38*, 237–243.

[72] Sui, J.-X.; Wang, X.-X.; Zhang, X.-T.; Han, W.-P.; Song, C.; Yu, J.; Chen,

J.; Liu, H.; Yuan, F.; Long, Y.-Z., Variable-Range Hopping Conduction with Positive and Negative Magnetoresistance Transformation in Reduced Graphene Oxide Mesostructures. *J. Magn. Magn. Mater.* **2020**, *498*, 166107.

[73] Shriver, D.; Weller, M.; Overton, T.; Rourke, J.; Armstrong, F., *Inorganic Chemistry*, Sixth.; W. H. Freeman and Company, Ed.; Oxford University Press: New York, 2014.

[74] Zhao, G.; Feng, C.; Cheng, H.; Li, Y.; Wang, Z.-S., In Situ Thermal Conversion of Graphene Oxide Films to Reduced Graphene Oxide Films for Efficient Dye-Sensitized Solar Cells. *Mater. Res. Bull.* **2019**, *120*, 1–7.

[75] Nagarajan, L.; Sampath kumar, P.; Arulraj, A.; Senguttuvan, G.; Kumaraguru, K., Solar Assisted Reduced Graphene Oxide as Adsorbent for Carbon Dioxide and Its Kinetic Studies. *Phys. E Low-dimensional Syst. Nanostructures* **2020**, *116*, 1–6.

[76] Kim, H.; Kim, H.; Muhammad, S.; Um, J. H.; Sher Shah, M. S. A.; Yoo, P. J.; Yoon, W.-S., Catalytic Effect of Reduced Graphene Oxide on Facilitating Reversible Conversion Reaction in SnO₂ for Next-Generation Li Rechargeable Batteries. *J. Power Sources* **2020**, *446*, 1–9.

[77] Zhu, W.; Yao, M.; Gao, H.; Wen, H.; Zhao, X.; Zhang, J.; Bai, H., Enhanced Extracellular Electron Transfer between *Shewanella Putrefaciens* and Carbon Felt Electrode Modified by Bio-Reduced Graphene Oxide. *Sci. Total Environ.* **2019**, *691*, 1089–1097.

[78] Lingaraju, K.; Raja Naika, H.; Nagaraju, G.; Nagabhushana, H., Biocompatible Synthesis of Reduced Graphene Oxide from *Euphorbia Heterophylla* (L.) and Their in-Vitro Cytotoxicity against Human Cancer Cell Lines. *Biotechnol. Reports* **2019**, *24*, 1–6.

[79] Mahmudzadeh, M.; Yari, H.; Ramezanzadeh, B.; Mahdavian, M., Highly Potent Radical Scavenging-Anti-Oxidant Activity of Biologically Reduced Graphene Oxide Using Nettle Extract as a Green Bio-Genic Amines-Based Reductants Source Instead of Hazardous Hydrazine Hydrate. *J. Hazard. Mater.* **2019**, *371*, 609–624.

- [80] Oghli, A. H.; Soleymanpour, A., Polyoxometalate/Reduced Graphene Oxide Modified Pencil Graphite Sensor for the Electrochemical Trace Determination of Paroxetine in Biological and Pharmaceutical Media. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *108*, 1–10.
- [81] Moreira, L. F. P. P.; Buffon, E.; Stradiotto, N. R., Electrochemical Sensor Based on Reduced Graphene Oxide and Molecularly Imprinted Poly(Phenol) for d-Xylose Determination. *Talanta* **2020**, *208*, 1–9.
- [82] Jing, M. hua; Song, X. M.; Fang, D. W.; Zhang, L.; Zhang, Q., Construction of Multifunctional Electrochemical Sensor Based on Electroactivity-Adjustable Poly (Ionic Liquids)/Reduced Graphene Oxide. *Talanta* **2019**, *197*, 277–283.
- [83] Moraes, F. C.; Rossi, B.; Donatoni, M. C.; de Oliveira, K. T.; Pereira, E. C., Sensitive Determination of 17 β -Estradiol in River Water Using a Graphene Based Electrochemical Sensor. *Anal. Chim. Acta* **2015**, *881*, 37–43.
- [84] Atacan, K., CuFe₂O₄/Reduced Graphene Oxide Nanocomposite Decorated with Gold Nanoparticles as a New Electrochemical Sensor Material for L-Cysteine Detection. *J. Alloys Compd.* **2019**, *791*, 391–401.
- [85] Harraz, F. A.; Faisal, M.; Ismail, A. A.; Al-Sayari, S. A.; Al-Salami, A. E.; Al-Hajry, A.; Al-Assiri, M. S., TiO₂/Reduced Graphene Oxide Nanocomposite as Efficient Ascorbic Acid Amperometric Sensor. *J. Electroanal. Chem.* **2019**, *832*, 225–232.
- [86] Baezzat, M. R.; Bagheri, M.; Abdollahi, E., Molecularly Imprinted Polymer Based Sensor for Measuring of Zileuton: Evaluation as a Modifier for Carbon Paste Electrode in Electrochemically Recognition. *Mater. Today Commun.* **2019**, *19*, 23–31.
- [87] Maciel, J. V.; Durigon, A. M. M.; Souza, M. M.; Quadrado, R. F. N.; Fajardo, A. R.; Dias, D., Polysaccharides Derived from Natural Sources Applied to the Development of Chemically Modified Electrodes for Environmental Applications: A Review. *Trends Environ. Anal. Chem.* **2019**, *22*, 1–9.
- [88] Sajid, M.; Baig, N.; Alhooshani, K., Chemically Modified Electrodes for

Electrochemical Detection of Dopamine: Challenges and Opportunities. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2019**, *118*, 368–385.

[89] Cariati, L. S. S.; Buoro, R. M., Evaluation of Ionic Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) Modified Binders towards the Chemical Properties of Carbon Paste Electrodes. *Electrochem. commun.* **2019**, *109*, 1–5.

[90] Madhuchandra, H. D.; Swamy, B. E. K., Poly (Vanillin) Modified Carbon Paste Electrode for the Determination of Adrenaline: A Voltammetric Study. *Mater. Sci. Energy Technol.* **2019**, *2* (3), 697–702.

[91] Edwards, G. A.; Bergren, A. J.; Porter, M. D., Chemically Modified Electrodes. In *Handbook of Electrochemistry*; Elsevier, 2007, 295–327.

[92] Swain, G. M., Solid Electrode Materials. In *Handbook of Electrochemistry*; Elsevier, 2007, 111–153.

[93] Pourakbari, Z.; Sheykhan, M.; Aliakbar, A., A New Poly Carboxylic Catex Polymer-Gold Nanoparticles Modified Electrode for Determination of Paraquat by Voltammetry Method. *J. Environ. Chem. Eng.* **2020**, *8* (5), 104284.

[94] Sammarraie, A. S. E. S. A. W. A.-S. A. K. M. A. AL, Hydrogen Peroxide Biosensor Based on Hemoglobin-Modified Gold Nanoparticles–Screen Printed Carbon Electrode. *Sens. Bio-Sensing Res.* **2020**, *28*, 100340.

[95] Mahmoudi-Moghaddam, H.; Tajik, S.; Beitollahi, H., A New Electrochemical DNA Biosensor Based on Modified Carbon Paste Electrode Using Graphene Quantum Dots and Ionic Liquid for Determination of Topotecan. *Microchem. J.* **2019**, *150*, 104085.

[96] Qian, L.; Durairaj, S.; Prins, S.; Chen, A., Nanomaterial-Based Electrochemical Sensors and Biosensors for the Detection of Pharmaceutical Compounds. *Biosens. Bioelectron.* **2020**, *175* (1),.

[97] Naseri, A.; Hormozi-Nezhad, M. R.; Shahrokhian, S.; Asadian, E., Silver Nanowires Immobilized on Gold-Modified Glassy Carbon Electrode for Electrochemical Quantification of Atorvastatin. *J. Electroanal. Chem.* **2020**, 114540.

- [98] Joseph, T.; Thomas, N., A Facile Electrochemical Sensor Based on Titanium Oxide (TiO₂)/Reduced Graphene Oxide (RGO) Nano Composite Modified Carbon Paste Electrode for Sensitive Detection of Epinephrine (EP) from Ternary Mixture. *Mater. Today Proc.* **2020**.
- [99] Abdalla, A.; Hamzah, H. H.; Keattch, O.; Covill, D.; Patel, B. A., Augmentation of Conductive Pathways in Carbon Black/PLA 3D-Printed Electrodes Achieved through Varying Printing Parameters. *Electrochim. Acta* **2020**, *354*, 136618.
- [100] Shetti, N. P.; Ilager, D.; Malode, S. J.; Monga, D.; Basu, S.; Reddy, K. R., Poly(Eriochrome Black T) Modified Electrode for Electrosensing of Methdilazine. *Mater. Sci. Semicond. Process.* **2020**, *120*, 105261.
- [101] Zhang, L.; Tan, Q.; Wang, Y.; Fan, Z.; Lin, L.; Zhang, W.; Xiong, J., Wirelessly Powered Multi-Functional Wearable Humidity Sensor Based on RGO-WS₂ Heterojunctions. *Sensors Actuators B Chem.* **2020**, 129077.
- [102] Lu, Y.; Sun, H.; Cheng, J.; Myong, J.; Mehedi, H. M.; Bhat, G.; Yu, B., High Performance Flexible Wearable Strain Sensor Based on RGO and AgNWs Decorated PBT Melt-Blown Non-Woven Fabrics. *Sensors Actuators A Phys.* **2020**, *315*, p 112174.
- [103] Rashed, M. A.; Faisal, M.; Harraz, F. A.; Jalalah, M.; Alsaiari, M.; Al-Assiri, M. S., RGO/ZnO/Nafion Nanocomposite as Highly Sensitive and Selective Amperometric Sensor for Detecting Nitrite Ions (NO₂⁻). *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2020**, *112*, 345–356.
- [104] Sohoul, E.; Ghalkhani, M.; Rostami, M.; Rahimi-Nasrabadi, M.; Ahmadi, F., A Noble Electrochemical Sensor Based on TiO₂@CuO-N-RGO and Poly (L-Cysteine) Nanocomposite Applicable for Trace Analysis of Flunitrazepam. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *117*, 111300.
- [105] He, Q.; Liu, J.; Liu, X.; Li, G.; Deng, P.; Liang, J., Preparation of Cu₂O-Reduced Graphene Nanocomposite Modified Electrodes towards Ultrasensitive Dopamine Detection. *Sensors (Switzerland)* **2018**, *18* (1), 1–13.

- [106] Forootan, A.; Sjöback, R.; Björkman, J.; Sjögreen, B.; Linz, L.; Kubista, M., Methods to Determine Limit of Detection and Limit of Quantification in Quantitative Real-Time PCR (QPCR). *Biomol. Detect. Quantif.* **2017**, *12*, 1–6.
- [107] Nazarpour, S.; Hajian, R.; Sabzvari, M. H., A Novel Nanocomposite Electrochemical Sensor Based on Green Synthesis of Reduced Graphene Oxide/Gold Nanoparticles Modified Screen Printed Electrode for Determination of Tryptophan Using Response Surface Methodology Approach. *Microchem. J.* **2020**, *154*, 104634.
- [108] Dong, S.; Wang, Z.; Wang, J.; Asif, M.; Yao, Y.; Xiao, F.; Liu, H., Sulfate-Reducing Bacteria Respiration Approach to Fabricating Flexible N,S-Reduced Graphene Oxide Thin Film Electrode for in Situ Cancer Biomarker Detection. *J. Electroanal. Chem.* **2020**, *859*, 113867.
- [109] Hummers Jr, W. S.; Offeman, R. E., Preparation of Graphitic Oxide. *J. Am. Chem. Soc.* February 26, 1958, 1339.
- [110] Vu, T. H. T.; Tran, T. T. T.; Le, H. N. T.; Nguyen, P. H. T.; Bui, N. Q.; Essayem, N., A New Green Approach for the Reduction of Graphene Oxide Nanosheets Using Caffeine. *Bull. Mater. Sci.* **2015**, *38* (3), 667–671.
- [111] Jesus, V. O. de; Ferreira, V. S.; Lucca, B. G., Electrochemical Study and Simultaneous Voltammetric Determination of Contraceptives Ethinylestradiol and Cyproterone Acetate Using Silver Nanoparticles Solid Amalgam Electrode and Cationic Surfactant. *Talanta* **2020**, *210*, 120610.
- [112] Silva, L. R. G.; Rodrigues, J. G. A.; Franco, J. P.; Santos, L. P.; D'Elia, E.; Romão, W.; Ferreira, R. de Q., Development of a Portable Electroanalytical Method Using Nickel Modified Screen-Printed Carbon Electrode for Ethinylestradiol Determination in Organic Fertilizers. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2021**, *208*, 111430.
- [113] Santos, A. M.; Wong, A.; Prado, T. M.; Fava, E. L.; Fatibello-Filho, O.; Sotomayor, M. D. P. T.; Moraes, F. C., Voltammetric Determination of Ethinylestradiol Using Screen-Printed Electrode Modified with Functionalized Graphene, Graphene Quantum Dots and Magnetic Nanoparticles Coated with

Molecularly Imprinted Polymers. *Talanta* **2020**, p 121804.

[114] Oliveira, A. M.; Brett, C. M. A., *Eletroquímica, Princípios, Métodos e Aplicações*; Coimbra, Portugal, 1996,.

[115] Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S.; Vyvyan, J. R., *Introdução à Espectroscopia*, 4 Edição.; Learning, C., Ed.; Bellingham, Washington, 2010,.

[116] Omid, M.; Fatehinya, A.; Farahani, M.; Akbari, Z.; Shahmoradi, S.; Yazdian, F.; Tahiri, M.; Moharamzadeh, K.; Tayebi, L.; Vashae, D., Characterization of Biomaterials. In *Biomaterials for Oral and Dental Tissue Engineering*; Elsevier, 2017, 97–115.

[117] Xu, C.; Shi, X.; Ji, A.; Shi, L.; Zhou, C.; Cui, Y., Fabrication and Characteristics of Reduced Graphene Oxide Produced with Different Green Reductants. *PLoS One* **2015**, *10* (12), 1–15.

[118] Emiru, T. F.; Ayele, D. W., Controlled Synthesis, Characterization and Reduction of Graphene Oxide: A Convenient Method for Large Scale Production. *Egypt. J. Basic Appl. Sci.* **2017**, *4* (1), 74–79.

[119] Habte, A. T.; Ayele, D. W., Synthesis and Characterization of Reduced Graphene Oxide (RGO) Started from Graphene Oxide (GO) Using the Tour Method with Different Parameters. *Adv. Mater. Sci. Eng.* **2019**, *2019*, 1–9.

[120] Ngqalakwezi, A.; Nkazi, D.; Seifert, G.; Ntho, T., Effects of Reduction of Graphene Oxide on the Hydrogen Storage Capacities of Metal Graphene Nanocomposite. *Catal. Today* **2019**, No. March, 1–7.

[121] Alula, M. T.; Mengesha, Z. T.; Mwenesongole, E., Advances in Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Analysis of Pharmaceuticals: A Review. *Vib. Spectrosc.* **2018**, *98*, 50–63.

[122] Rivera, L. M.; Betancur, A. F.; Zarate, D. G.; Torres, D.; Hoyos, L.; García, A., Simultaneous N Doping and Reduction of GO: Compositional, Structural Characterization and Its Effects in Negative Electrostatic Charges Repulsion. *Diam. Relat. Mater.* **2019**, *97*, 1–12.

- [123] De Silva, K. K. H.; Huang, H.-H.; Yoshimura, M., Progress of Reduction of Graphene Oxide by Ascorbic Acid. *Appl. Surf. Sci.* **2018**, *447*, 338–346.
- [124] Gebreegziabher, G. G.; Asemahegne, A. S.; Ayele, D. W.; Dhakshnamoorthy, M.; Kumar, A., One-Step Synthesis and Characterization of Reduced Graphene Oxide Using Chemical Exfoliation Method. *Mater. Today Chem.* **2019**, *12*, 233–239.
- [125] Simanjuntak, C.; Siburian, R.; Marpaung, H.; Tamrin, Properties of Mg/Graphite and Mg/Graphene as Cathode Electrode on Primary Cell Battery. *Heliyon* **2020**, *6* (1), 1–6.
- [126] Indukuri, C. S. R.; Nerella, R.; Madduru, S. R. C., Effect of Graphene Oxide on Microstructure and Strengthened Properties of Fly Ash and Silica Fume Based Cement Composites. *Constr. Build. Mater.* **2019**, *229*, 1–9.
- [127] Sieradzka, M.; Ślusarczyk, C.; Fryczkowski, R.; Janicki, J., Insight into the Effect of Graphite Grain Sizes on the Morphology, Structure and Electrical Properties of Reduced Graphene Oxide. *J. Mater. Res. Technol.* **2020**, *9* (4), 7059–7067.
- [128] Santos, W. T. P. dos; Amin, H. M. A.; Compton, R. G., A Nano-Carbon Electrode Optimized for Adsorptive Stripping Voltammetry: Application to Detection of the Stimulant Selegiline in Authentic Saliva. *Sensors Actuators B Chem.* **2019**, *279*, 433–439.
- [129] Kaewket, K.; Maensiri, S.; Ngamchuea, K., Adsorptive Stripping Voltammetry at Microporous Carbon: Determination and Adsorption Characteristics of Environmental Contaminants. *Colloid Interface Sci. Commun.* **2020**, *38*, 100310.
- [130] Sochr, J.; Nemčková, K.; Černicová, M.; Campbell, K.; Milata, V.; Farkašová, D.; Labuda, J., DNA Interaction with 17 α -Ethinylestradiol Studied Using Electrochemical Biosensors and Biosensing in Solution. *Electroanalysis* **2019**, *31* (10), 1961–1968.
- [131] Triviño, J. J.; Gómez, M.; Valenzuela, J.; Vera, A.; Arancibia, V.,

Determination of a Natural (17β -Estradiol) and a Synthetic (17α -Ethinylestradiol) Hormones in Pharmaceutical Formulations and Urine by Adsorptive Stripping Voltammetry. *Sensors Actuators B Chem.* **2019**, *297*, 126728.

[132] Carvalho, L. M. de; Spengler, C.; Garmatz, J. C.; Nascimento, P. C. do; Bohrer, D.; Del-Fabro, L.; Radis, G.; Bolli, A. A.; Garcia, S. C.; Moro, A. M.; et al., Determinação Voltamétrica de Metais Em Águas e Fluidos Biológicos Empregando Mineralização de Amostras Com Radiação Ultravioleta. *Quim. Nova* **2008**, *31* (6), 1336–1342.

[133] Pinho, G. P.; Neves, A. A.; Queiroz, M. E. L. R.; Silvério, F. O., Efeito de Matriz Na Quantificação de Agrotóxicos Por Cromatografia Gasosa. *Quim. Nova* **2009**, *32* (4), 987–995.

[134] Ha, T.; Nguyen, T.; Lee, J.; Kim, H.; Min, K.; Kim, B., Current Research on Single-Entity Electrochemistry for Soft Nanoparticle Detection: Introduction to Detection Methods and Applications. *Biosens. Bioelectron.* **2020**, *151*, 1–16.

[135] S., J. P.; Sutrave, D. S., A Brief Study of Cyclic Voltammetry and Electrochemical Analysis. *Int. J. ChemTech Res.* **2018**, *11* (9), 77–88.

[136] Scholz, F., Voltammetric Techniques of Analysis: The Essentials. *ChemTexts* **2015**, *1* (17), 24.

[137] Harris, D. C., *Explorando a Química Analítica*, Quarta Edi.; California, 2011.

[138] Benabid, W.; Ouari, K.; Bendia, S.; Bourzami, R.; Ait Ali, M., Crystal Structure, Spectroscopic Studies, DFT Calculations, Cyclic Voltammetry and Biological Activity of a Copper (II) Schiff Base Complex. *J. Mol. Struct.* **2020**, *1203*, 127313.

[139] He, R.-X.; Zha, D.-W., Cyclic Voltammetry and Voltabsorptometry Studies of Redox Mechanism of Lumazine. *J. Electroanal. Chem.* **2017**, *791*, 103–108.

[140] Saha, R.; Mukhopadhyay, M., Elucidation of the Decolorization of Congo Red by *Trametes Versicolor* Laccase in Presence of ABTS through Cyclic Voltammetry. *Enzyme Microb. Technol.* **2020**, *135*, 109507.

- [141] José Jara-Palacios, M.; Luisa Escudero-Gilete, M.; Miguel Hernández-Hierro, J.; Heredia, F. J.; Hernanz, D., Cyclic Voltammetry to Evaluate the Antioxidant Potential in Winemaking By-Products. *Talanta* **2017**, *165*, 211–215.
- [142] Prinith, N. S.; Manjunatha, J. G., Surfactant Modified Electrochemical Sensor for Determination of Anthrone – A Cyclic Voltammetry. *Mater. Sci. Energy Technol.* **2019**, *2* (3), 408–416.
- [143] Motshakeri, M.; Phillips, A. R. J.; Kilmartin, P. A., Application of Cyclic Voltammetry to Analyse Uric Acid and Reducing Agents in Commercial Milks. *Food Chem.* **2019**, *293*, 23–31.
- [144] Mačák, M.; Vyroubal, P.; Kazda, T.; Jaššo, K., Numerical Investigation of Lithium-Sulfur Batteries by Cyclic Voltammetry. *J. Energy Storage* **2020**, *27*, 101158.
- [145] Forster, R. J.; Walsh, D.; Adamson, K.; Spain, E., Voltammetry Overview. In *Encyclopedia of Analytical Science*; Elsevier, 2018, 1–10.
- [146] Gan, L.; Su, Q.; Chen, Z.; Yang, X., Exploration of PH-Responsive Carbon Dots for Detecting Nitrite and Ascorbic Acid. *Appl. Surf. Sci.* **2020**, *530*, 147269.
- [147] Monteiro, A.; Sousa, A.; Rossetti, A.; Maia, D.; Martins, C.; Alves, O., Índio: uma visão científica e tecnológica de um metal estratégico. *Quim. Nova* **2019**, *42* (10), p 1162–1171.
- [148] Ashjari, A.; Eftekhari Yekta, B.; Rezaie, H. R., Crystallization and Optical Properties of Alumino-Silicate and Alumino-Borosilicate Glasses Containing Indium Tin Oxide. *J. Eur. Ceram. Soc.* **2010**, *40* (4), 1368–1375.
- [149] Bragaglia, M.; Lamastra, F. R.; Tului, M.; Di Gaspare, L.; Notargiacomo, A.; Valentini, M.; Nanni, F., Low Temperature Sputtered ITO on Glass and Epoxy Resin Substrates: Influence of Process Parameters and Substrate Roughness on Morphological and Electrical Properties. *Surfaces and Interfaces* **2019**, *17*, 100365.
- [150] Yang, S.; Sun, B.; Liu, Y.; Zhu, J.; Song, J.; Hao, Z., Effect of ITO Target Crystallinity on the Properties of Sputtering Deposited ITO Films. *Ceram. Int.*

2020, 46 (5), 6342–6350.

[151] Li, S.; Tian, M.; Gao, Q.; Wang, M.; Li, T.; Hu, Q.; Li, X.; Wu, Y., Nanometre-Thin Indium Tin Oxide for Advanced High-Performance Electronics. *Nat. Mater.* **2019**, 18 (10), 1091–1097.

[152] Dou, W.; Tan, Y., Low-Voltage Self-Assembled Indium Tin Oxide Thin-Film Transistors Gated by Microporous SiO₂ Treated by H₃PO₄. *RSC Adv.* **2019**, 9 (53), 30715–30719.

[153] Gui, Y.; Miscuglio, M.; Ma, Z.; Tahersima, M. H.; Sun, S.; Amin, R.; Dalir, H.; Sorger, V. J., Towards Integrated Metatronics: A Holistic Approach on Precise Optical and Electrical Properties of Indium Tin Oxide. *Sci. Rep.* **2019**, 9 (1), 11279.

[154] Janczuk-Richter, M.; Piestrzyńska, M.; Burnat, D.; Sezemsky, P.; Stranak, V.; Bock, W. J.; Bogdanowicz, R.; Niedziółka-Jönsson, J.; Śmietana, M., Optical Investigations of Electrochemical Processes Using a Long-Period Fiber Grating Functionalized by Indium Tin Oxide. *Sensors Actuators B Chem.* **2019**, 279, 223–229.

[155] Leitzke, D. W.; Cholant, C. M.; Landarin, D. M.; Lucio, C. S.; Krüger, L. U.; Gündel, A.; Flores, W. H.; Rodrigues, M. P.; Balboni, R. D. C.; Pawlicka, A.; et al., Electrochemical Properties of WO₃ Sol-Gel Thin Films on Indium Tin Oxide/Poly(Ethylene Terephthalate) Substrate. *Thin Solid Films* **2019**, 683, 8–15.

[156] Pruna, R.; Baraket, A.; Bonhommé, A.; Zine, N.; Errachid, A.; López, M., Novel Nanostructured Indium Tin Oxide Electrode for Electrochemical Immunosensors: Suitability for the Detection of TNF- α . *Electrochim. Acta* **2018**, 283, 1632–1639.

[157] Bouden, S.; Dahi, A.; Hauquier, F.; Randriamahazaka, H.; Ghilane, J., Multifunctional Indium Tin Oxide Electrode Generated by Unusual Surface Modification. *Sci. Rep.* **2016**, 6 (1), 36708.

[158] Burcu, E.; Kemal, M., A Disposable and Ultrasensitive ITO Based Biosensor Modified by 6-Phosphonoheptanoic Acid for Electrochemical Sensing

of IL-1 b in Human Serum and Saliva. *Anal. Chim. Acta* **2018**, *1039*, 41–50.

[159] Aydina, E. B.; Aydina, M.; Sezgintürk, M. K., Selective and Ultrasensitive Electrochemical Immunosensing of NSE Cancer Biomarker in Human Serum Using Epoxy-Substituted Poly (Pyrrole) Polymer Modified Disposable ITO Electrode. *Sensors Actuators B Chem.* **2020**, *306*, 1–12.

[160] Guo, X.; Yue, H.; Song, S.; Huang, S.; Gao, X.; Chen, H.; Wu, P.; Zhang, T.; Wang, Z., Simultaneous Electrochemical Determination of Dopamine and Uric Acid Based on MoS₂ Nanoflowers-Graphene/ITO Electrode. *Microchem. J.* **2020**, *154*, 1–7.

[161] Wang, J.; Kong, S.; Chen, F.; Chen, W.; Du, L.; Cai, W.; Huang, L.; Wu, C.; Zhang, D.-W., A Bioelectronic Taste Sensor Based on Bioengineered Escherichia Coli Cells Combined with ITO-Constructed Electrochemical Sensors. *Anal. Chim. Acta* **2019**, *1079* (4), 73–78.

[162] Akyüz, D.; Koca, A., An Electrochemical Sensor for the Detection of Pesticides Based on the Hybrid of Manganese Phthalocyanine and Polyaniline. *Sensors Actuators B Chem.* **2019**, *283*, 848–856.

[163] Matsoso, B. J.; Mutuma, B. K.; Billing, C.; Ranganathan, K.; Leretholi, T.; Jones, G.; Coville, N. J., Investigating the Electrochemical Behaviour and Detection of Uric Acid on ITO Electrodes Modified with Differently Doped N-Graphene Films. *J. Electroanal. Chem.* **2019**, *833*, 160–168.

[164] Stankevičius, E.; Garliauskas, M.; Laurinavičius, L.; Trusovas, R.; Tarasenko, N.; Pauliukaitė, R., Engineering Electrochemical Sensors Using Nanosecond Laser Treatment of Thin Gold Film on ITO Glass. *Electrochim. Acta* **2019**, *297*, 511–522.

[165] Sun, B.; Zhang, K.; Chen, L.; Guo, L.; Ai, S., A Novel Photoelectrochemical Sensor Based on PPIX-Functionalized WO₃-RGO Nanohybrid-Decorated ITO Electrode for Detecting Cysteine. *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *44*, 48–51.

[166] Maheshwari, S.; Li, Y.; Agrawal, N.; Janik, M. J., *Density Functional Theory Models for Electrocatalytic Reactions*, 1st ed.; Elsevier Inc., 2018.

[167] Bond, A. M., *Broadening Electrochemical Horizons: Principles and Illustration of Voltammetric and Related Techniques*, First.; Victoria, 2002.

ANEXO 1

A1. Análises eletroquímicas

A eletroquímica é o ramo que estuda e relaciona as reações químicas ao fluxo de elétrons, através de interações físicas e/ou químicas dos componentes do meio com espécies redox. Em um sistema eletroquímico, as células eletroquímicas são ambientes utilizados para análises referentes às espécies eletroativas estudadas presentes na amostra. As células eletroquímicas são compostas pelos eletrodos, solução eletrolítica e podem possuir analito para estudo [1–3,114,134,135].

As soluções eletrolíticas são sais inertes com concentrações relativamente elevadas, que permitem não só a condutividade elétrica, como também proporcionam o controle de pH, força iônica, viscosidade, densidade e tensão superficial. Além disso, o sistema que compõe as células eletroquímicas permite o estudo de pH, dos eletrodos, dos parâmetros das técnicas, minimização do transporte migracional e outros fatores [2,5,114].

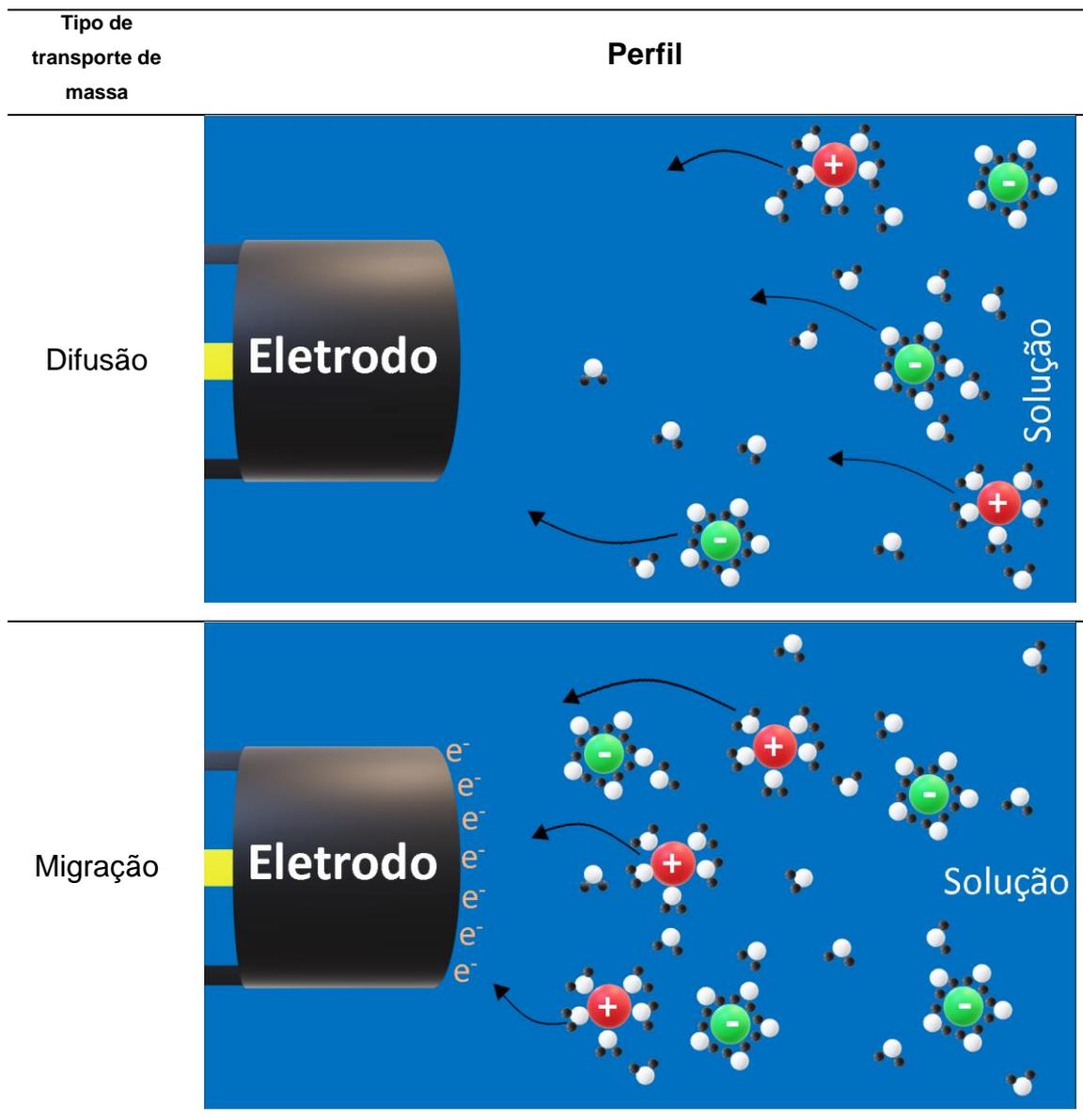
O potencial aplicado no eletrodo atua como força motriz, com o objetivo de permitir que ocorra a reação eletroquímica. Ao se aplicar um potencial mais negativo, o eletrodo se torna uma fonte de elétrons, que favorece o processo de redução do analito na interface. Por outro lado, em potenciais mais positivos, favorece-se a oxidação [2,5,114]. O processo de oxidação e redução, e quantificação das espécies estudadas ocorrem através do transporte de massa das espécies eletroativas presentes na solução para a superfície do eletrodo, além de que a reação, a ocorrência dessa reação e o controle difusional geram um fluxo (corrente) dependente da concentração da espécie envolvida no processo.

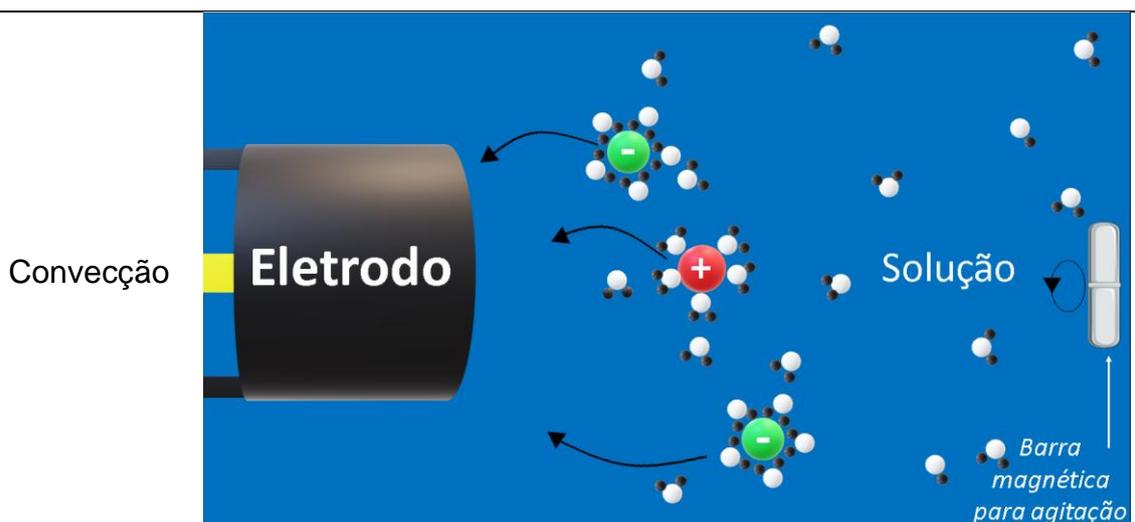
Assim, o processo de transporte de massa pode ocorrer por *difusão* (Figura A1.1A), que é o movimento espontâneo das espécies na direção da superfície do eletrodo. Devido ao gradiente de concentrações do analito na solução, os produtos obtidos no processo de redox saem da região interfacial (eletrodo/solução). No processo de transporte de massa por *migração* (Figura A1.1B), o movimento de atração ou repulsão entre os íons é causado por meio

do campo elétrico entre analito e eletrodo. Através da *convecção* (Figura A1.1C), o processo aproximação do analito com a superfície do eletrodo ocorre devido à perturbação mecânica do meio, como rotação ou agitação da solução ou do eletrodo [1–3,114,134,135].

Figura A1.1. Representação dos processos de Difusão, Migração e Convecção.

Fonte: Adaptado de [1].





Além do transporte de massa, as transferências de carga e as reações químicas de oxidação e redução e outras reações químicas acopladas que ocorrem na superfície do eletrodo são de fundamental importância para a compreensão da corrente elétrica gerada nas análises [2]. A corrente total do processo pode ser dividida em corrente faradáica e capacitiva. A corrente faradáica é relativa à reação de oxidação/redução do analito e é proporcional à concentração de analito no seio da solução, como expresso na equação de Nernst (Equação A1). Através da equação de Nernst pode-se relacionar o potencial do eletrodo (E) com a concentração da espécie eletroativa na superfície do eletrodo, além de prever como o sistema irá responder a mudanças de concentração das espécies em solução e a mudanças de potencial do eletrodo (confuso) [2,114].

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{[Ox]}{[Red]} \right)$$

Equação A1

E = potencial do eletrodo (V);

E^0 = potencial padrão da reação (V);

R = constante dos gases ($\text{m}^3 \text{Pa K}^{-1} \text{mol}^{-1}$);

T = temperatura absoluta (K);

n = número de mols de elétrons transferidos na reação;

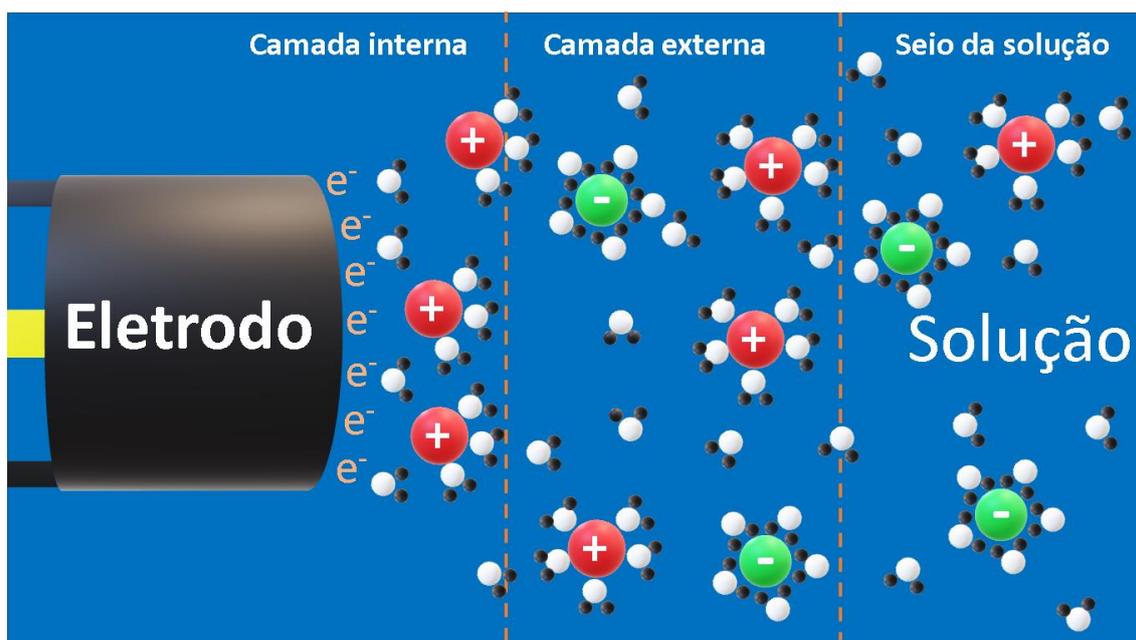
F = constante de Faraday (C);

[Ox] = concentração da espécie oxidada (mol L^{-1});

$[Red]$ = concentração da espécie reduzida (mol L^{-1}).

A corrente capacitiva é responsável por ordenar as cargas positivas ou negativas na superfície do eletrodo (dupla camada elétrica). Essa é gerada devido ao acúmulo de elétrons na superfície do eletrodo, onde essa não é proporcional à concentração de analito (Figura A1.) [2,114]. A formação da dupla camada elétrica (Figura A1.2), refere-se ao potencial aplicado sobre o eletrodo de trabalho e a carga devida à ordenação das espécies. Helmholtz considera que a concentração do eletrólito e o potencial aplicado são fatores que influenciam o valor da capacidade da dupla camada, o que gera a camada interna (compacta) e a camada externa (difusa).

Figura A1.2. Representação da dupla camada elétrica. **Fonte:** Adaptado de [2].

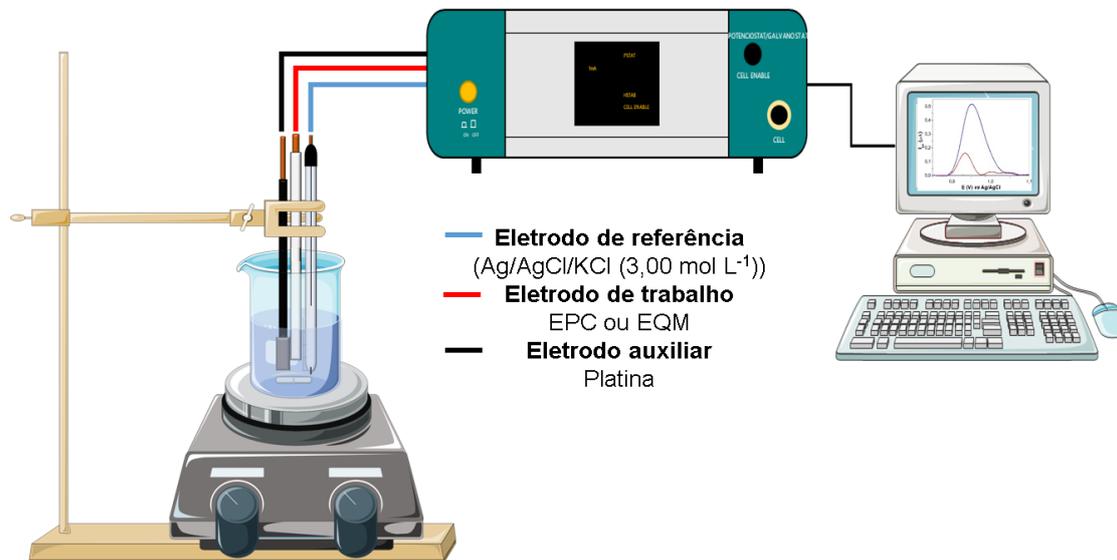


A camada interna demonstra que as moléculas do solvente estão adsorvidas na interface do eletrodo e não possuem mobilidade. A camada externa é uma região onde as moléculas solvatadas do analito estão presentes, e por ser mais larga que a camada interna, essas possuem maior mobilidade. Entretanto, devido ao seu raio de hidratação, as espécies não conseguem atingir a superfície do eletrodo, à qual se estende até a região denominada seio da solução. Essa região possui a concentração das espécies de interesse proporcional à concentração no seio da solução. Geralmente, a transferência de

carga se dá quando o analito atinge a camada difusa, mas existem casos em que o analito pode chegar à camada interna por adsorção, substituindo moléculas do solvente e adsorvendo ao eletrodo [2–4].

Os sistemas eletroquímicos podem ser compostos por dois ou três eletrodos (Figura A1.3). Os sistemas que possuem três eletrodos têm maior capacidade de analisar eletrólitos suporte mais diluídos e também conferem alta resistência à transferência de carga. O eletrodo de referência é responsável por manter o potencial constante durante as medidas e os valores dos potenciais aplicados no eletrodo de trabalho são registrados mediante ao referencial escolhido. O eletrodo de trabalho corresponde ao eletrodo onde o potencial aplicado atua com a força motriz para que o analito seja oxidado ou reduzido. O eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo tem a função de reduzir oscilações de passagem da corrente elétrica entre os eletrodos de trabalho e o auxiliar [2,3,5,114,136].

Figura A1.3. Sistema com três eletrodos em um sistema de análise eletroquímica. **Fonte:** Adaptado de [3].

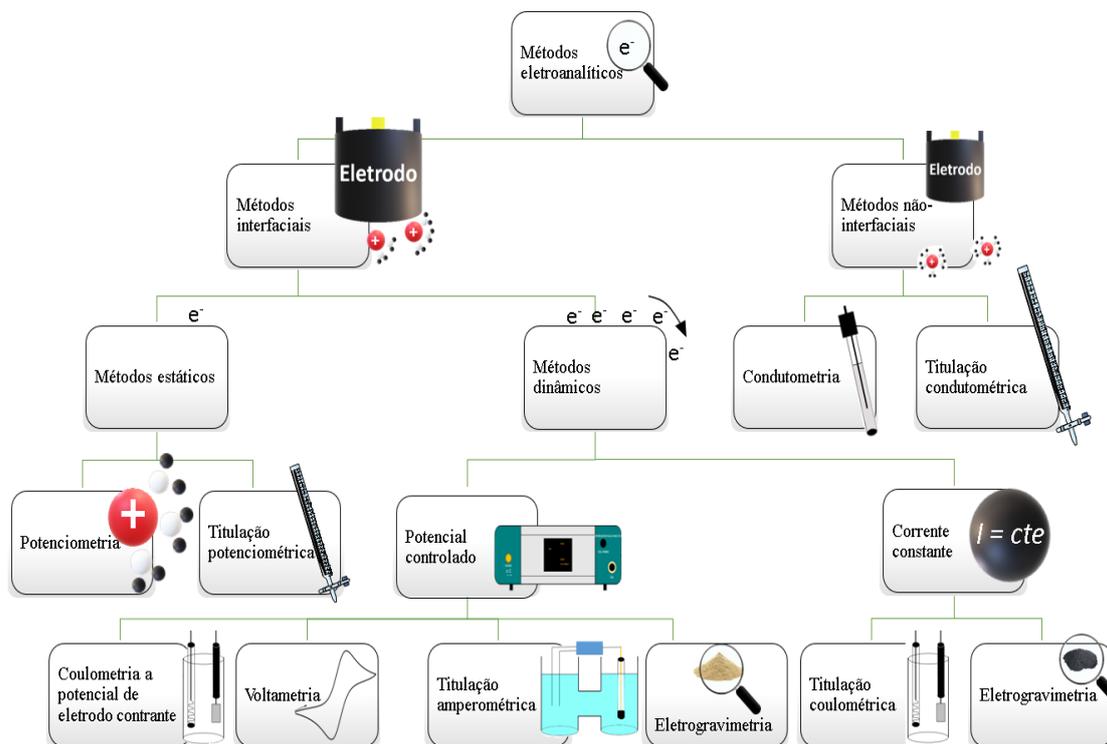


A1.2 Técnicas voltamétricas

As técnicas eletroanalíticas são baseadas em processos que fazem uso de propriedades elétricas mensuráveis, como corrente elétrica, acúmulo de carga e diferença de potencial. Esses processos estão relacionados com algum parâmetro químico intrínseco das espécies, através de fenômenos físicos/químicos que ocorrem no seio da solução ou na superfície do eletrodo [2,114,136].

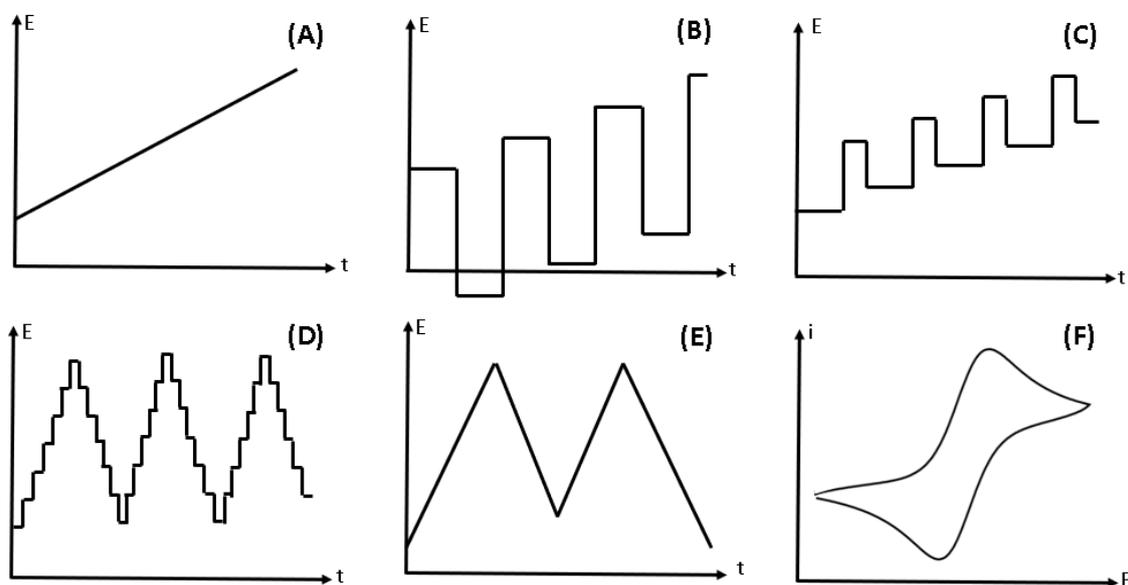
As técnicas voltamétricas se baseiam em processos de transferência de carga entre a interface do eletrodo trabalho e a camada fina adjacente da solução (métodos interfaciais), onde a corrente mensurável flui e a reação ocorre (método dinâmico) (Figura A1.4). O potencial aplicado entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência pode ser controlado por dispositivos, chamados potenciostatos, onde a célula eletroquímica é operada na presença de corrente elétrica ($i \neq 0$). A corrente entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar pode ser medida como uma resposta proporcional à concentração do analito. Isso ocorre quando o potencial aplicado atinge um valor que permite a oxidação ou redução da espécie eletroativa [2,114,136].

Figura A1.4. Esquema dos métodos eletroanalíticos mais comuns. **Fonte:** Adaptado de [4].



Os métodos voltamétricos oferecem a oportunidade de investigar os processos de oxidação, redução e adsorção, e as concentrações das espécies eletroativas no sistema. A quantificação das espécies presentes no meio, é diretamente proporcional a quantidade de matéria transferida para o eletrodo e a corrente medida em função do potencial aplicado. A voltametria é o termo geral para todas as técnicas nas quais a corrente é medida em função do potencial aplicado no eletrodo. Dessa forma, várias funções voltagem-tempo podem ser aplicadas, que são denominados sinais de excitação. Os registros de sinal são gerados em voltamogramas, que relacionam o potencial e a magnitude da transferência de elétrons nos processos redox (Figura A1.5) [2,5,136].

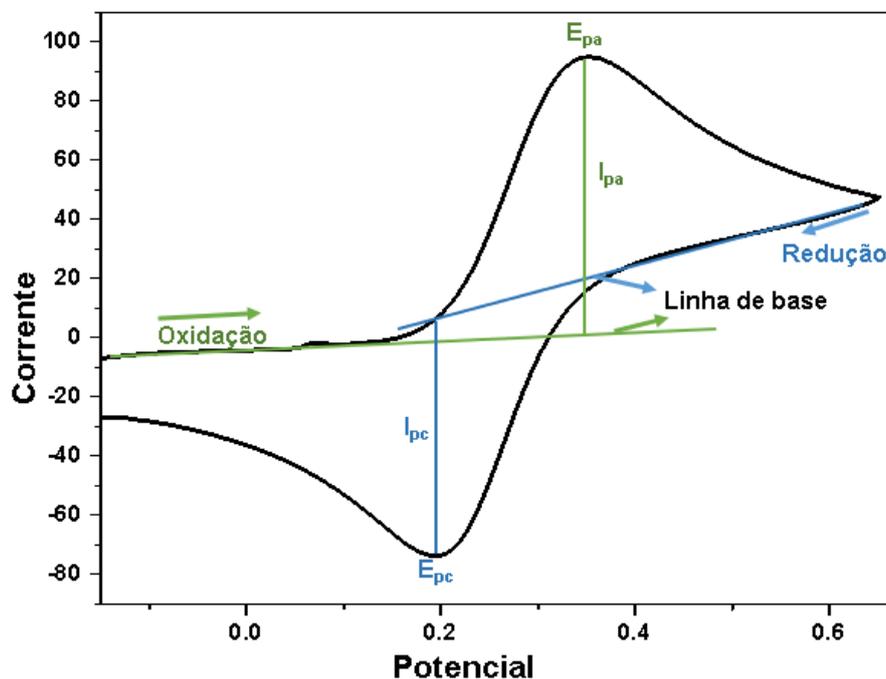
Figura A1.5. Sinais de excitação de potencial *versus* tempo empregado nas técnicas voltamétricas A) Varredura linear; B) Onda quadrada; C) Pulso diferencial; D –E) Triangular; F) Voltamograma cíclico. **Fonte:** Adaptado de [5].



Assim, as técnicas voltamétricas permitem a determinação de quantidades do analito presentes no meio, facilitando o consumo mínimo do mesmo nos processos de otimização, potencializando suas diversas aplicações. A voltagem aplicada entre os eletrodos permite a medida da corrente, cuja velocidade de oxidação ou redução do analito é limitada pela velocidade de transporte de massa sobre a superfície do mesmo [5,137]. Para avaliar essas propriedades, as técnicas voltamétricas permitem analisar os processos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e a solução [2,5,137].

A forma do voltamograma obtido dependerá do tipo do mecanismo redox, ou seja, do potencial de redução e de oxidação da espécie estudada (Figura A1.6). Essa técnica permite rápida avaliação e determinação de potenciais redox de espécies eletroativas, informações qualitativas de processos termodinâmicos redox, a cinética das reações de transferência de elétrons, reações químicas acopladas à adsorção e a quantificação da espécie estudada [1–3]. A vasta aplicabilidade da técnica gera pesquisas em diversas áreas, como em atividades biológicas [138], estudos de mecanismos redox [139], elucidação da influência de compostos em processos industriais [140,141], poluentes ambientais [142], entre outras [143–145].

Figura A1.6. Representação ilustrativa de um voltamograma cíclico. **Fonte:** Adaptado de [6].



A partir das obtenções dos valores de corrente, os picos de corrente anódico (i_{pa}) e catódico (i_{pc}) são proporcionais à concentração da espécie eletroativa (Figura A1.6). Na obtenção dos voltamogramas, ao variar a varredura de potencial para regiões mais positivas (anódicas), obtêm-se os potenciais de pico anódico (E_{pa}). Ao variar os potenciais para regiões mais negativas (catódicas), permite-se a redução do analito, que ocorre em potenciais de pico catódico (E_{pc}). Ao atingir potenciais em que nenhuma reação de redução ocorra, o potencial é varrido no sentido inverso até o valor inicial.

Os processos redox dependem do que ocorre na superfície do eletrodo, esses processos que ocorrem podem ser classificados como sistemas reversível, *quasi*-reversível e irreversível (Quadro A1.1) [2]. A reversibilidade química, relaciona-se com a estabilidade do analito ser reoxidado após o processo de redução, enquanto que a reversibilidade eletroquímica refere-se à velocidade de transferência do elétron entre eletrodo e o analito. Nos processos eletroquímicos que são quimicamente e eletroquimicamente reversíveis, a diferença entre o potencial anódico (E_{pa}) e catódico (E_{pc}) é 57 mV/n [2–4].

Quadro A1.1. Características relacionadas aos sistemas reversíveis, *quasi*-reversíveis e irreversíveis. **Fonte:** Adaptado de [2,114]

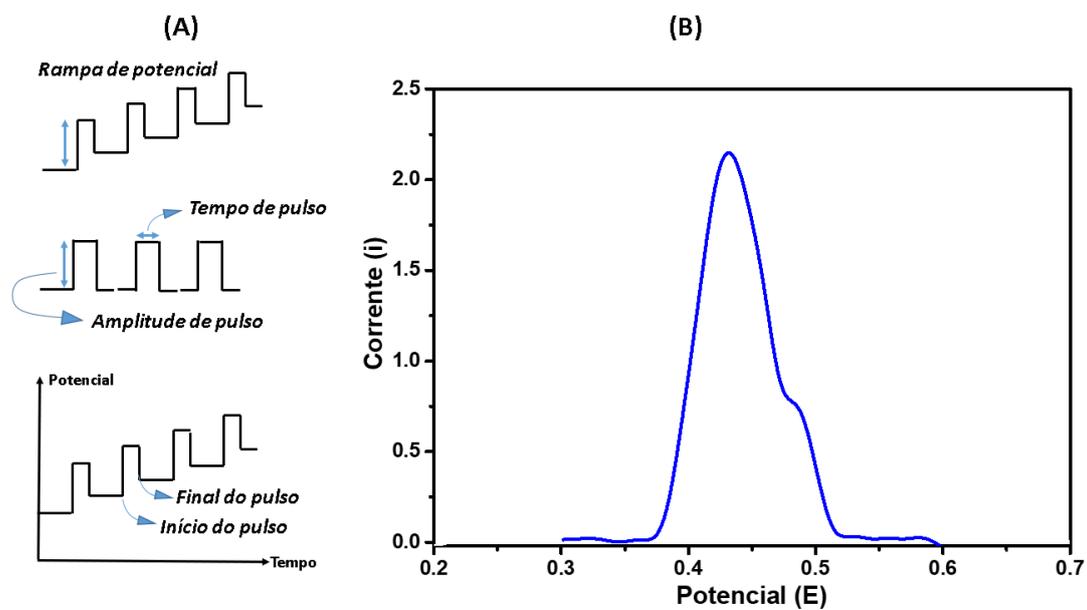
	Processos reversíveis	Processos <i>quasi</i>-reversíveis	Processos irreversíveis
Característica	Reação ocorre com velocidade suficientemente alta para estabelecer um equilíbrio dinâmico na interface	A corrente é controlada tanto pela etapa de transporte de massa como pela etapa de transferência de carga	Taxa de transferência de elétrons é insuficiente para manter esse equilíbrio superficial
Velocidade de transferência de carga (Ks)	$K_s \geq 0,3 \nu^{1/2} \text{ cm s}^{-1}$	$0,3 \nu^{1/2} > K_s > 2 \times 10^{-5} \nu^{1/2} \text{ cm s}^{-1}$	$K_s \leq 2 \times 10^{-5} \nu^{1/2} \text{ cm s}^{-1}$
Relação ΔE_p	$\Delta E_p = 57 \text{ mV/n}$	$\Delta E_p > 57 \text{ mV/n}$	Sem pico reverso
Relação i_p e $\nu^{1/2}$	i_p aproximadamente $\nu^{1/2}$	i_p aumenta com $\nu^{1/2}$	E_p depende de ν
Relação i_{pa} e i_{pc}	$ i_{pa}/i_{pc} = 1$	ΔE_p depende de ν	i_{pc} aproximadamente $\nu^{1/2}$

A velocidade de varredura (ν) controla quão rápido o potencial é aplicado. Varreduras mais rápidas reduzem a camada difusa, conseqüentemente maiores correntes são observadas. O Quadro 1 demonstra que a relação corrente (i_p) e a velocidade de varredura caracteriza a facilidade da difusão das espécies para a superfície do eletrodo.

A técnica de Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) é caracterizada por possuir limites de detecção significativamente menores que os de voltametria de pulso normal. O potencial base é aplicado sobre o eletrodo de trabalho, onde os pulsos de amplitude fixos são sobrepostos a uma rampa de potencial crescente, como demonstrado na Figura A1.7A – B. Após a aplicação dos pulsos de potencial, a corrente capacitiva diminui mais rapidamente que a faradáica. Assim, a diferença entre as duas correntes é medida antes e após a aplicação do pulso. A resposta obtida é expressa em forma de pico, por ser semelhante à primeira derivada de um voltamograma diferencial. A análise permite um

aumento de sensibilidade e melhores características para aplicações analíticas [2,5,114].

Figura A1.7. A) Representações de sinais de excitação para voltametria de pulso diferencial; B) Representação de um voltamograma de pulso diferencial. **Fonte:** Pacheco *et. al.* 2013 [2].



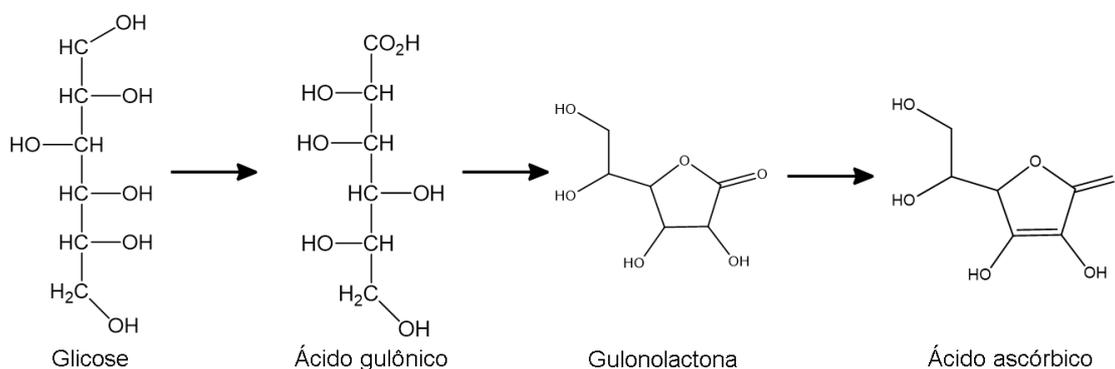
As análises eletroquímicas apresentam menor custo, menos tempo de acumulação e análises menos exaustivas, o que favorece sua escolha.

ANEXO 2

A2 Ácido ascórbico

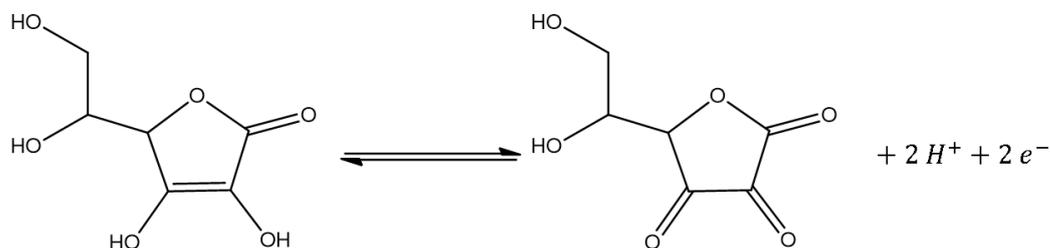
O ácido ascórbico (AA), possui fórmula molecular $C_6H_8O_6$, denominado como vitamina C ou ácido L-ascórbico, é um antioxidante presente em alimentos, sintetizado industrialmente a partir da glicose (Figura A2.1). Esse composto desempenha um papel indispensável em processos metabólicos nos seres humanos, como em funções imunológicas, diferenciação celular e absorção de ferro nas células intestinais. A natureza ácida advém da ionização do grupo enólico ($pK_a = 4,25$) e a denominação ascórbico advém da proteção contra a doença escorbuto, do latim *scorbutus* [7,146].

Figura A2.1. Esquema da síntese comercial da vitamina C. **Fonte:** Adaptado de [7].



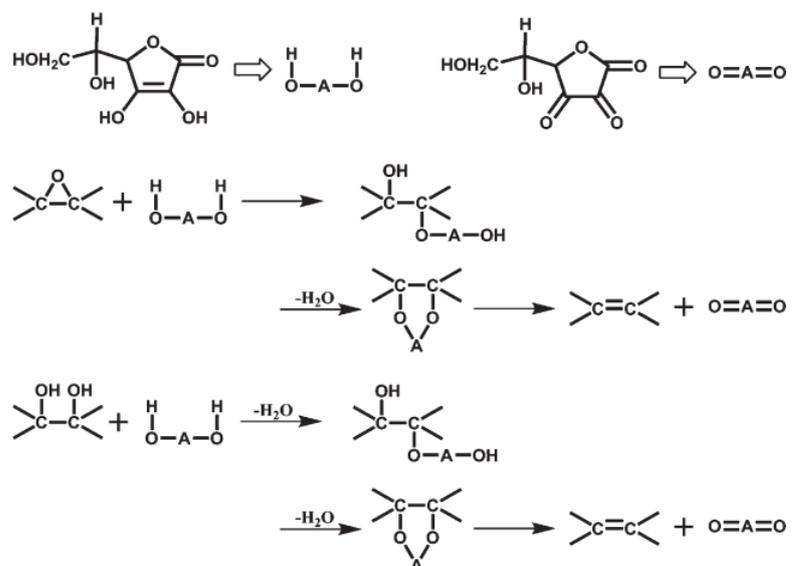
O AA é um agente redutor em solução aquosa, o qual apresenta uma estrutura que contém um grupo hidróxi-enólico, tautômero da α -hidroxicetona, a qual concede as suas capacidades redutoras. A oxidação é facilmente reversível e produz o ácido dehidroascórbico (Figura A2.2) [7].

Figura A2.2. Esquema da oxidação do ácido ascórbico ao ácido dehidroascórbico. **Fonte:** Adaptado de [7].



Gao e colaboradores [8], propôs a redução do óxido de grafeno (GO) com o AA como agente redutor, devido às suas propriedades antioxidantes, e o L-triptofano como estabilizante, por esse composto possuir um grupo de indol aromático rico em elétrons, que pode atuar como um doador de elétrons. Esse mesmo trabalho demonstra um mecanismo de redução do GO em duas etapas (Figura A2.3). Sendo a primeira uma reação nucleofílica bimolecular SN_2 , seguida de uma eliminação termal. O anel de cinco membros retira densidade eletrônica das hidroxilas, o que as tornam mais ácidas, concedendo assim um caráter nucleofílico ao ácido ascórbico. O GO possui diversos grupos reativos, tais como os epóxidos e as hidroxilas. No caso do epóxido, ele pode ser aberto pelo ânion oxigênio do ácido L-ascórbico com um ataque nucleofílico SN_2 . A redução pode ser seguida por um ataque nucleofílico SN_2 no verso com liberação de H_2O , resultando na formação de um intermediário. Finalmente, o intermediário pode sofrer uma eliminação térmica, levando à formação de grafeno reduzido [8].

Figura A2.3. Proposta do mecanismo de reação do mecanismo de redução do GO. **Fonte:** [8].



ANEXO 3

A3 Óxido de Índio dopado com Estanho (ITO)

O elemento químico Índio foi descoberto em 1863, nos estudos envolvendo o elemento Tálho, por Reich e Richter, onde pode ser encontrado em compostos estáveis na forma de sulfetos, hidróxidos, cloretos e óxidos [147]. O óxido de índio (In_2O_3) estequiométrico exibe um comportamento isolante, no entanto, quando preparado com deficiência de oxigênio pode alcançar um alto nível de dopagem tipo n , devido aos defeitos intrínsecos como vacâncias de oxigênio, que fornece no máximo 2 elétrons livres, formando uma estrutura tipo $\text{In}_2\text{O}_{3-x}$. A dopagem com o íon Sn^{4+} atua como uma impureza doadora, por se tratar de uma espécie tetravalente, provendo um elétron na camada de condução. Assim, obtêm-se o semiconductor óxido de índio dopado com estanho ($\text{In}_2\text{O}_3:\text{Sn}$), denominado ITO (do termo em inglês *Indium-Tin Oxide*) [147–149].

As propriedades do ITO, como a alta transmitância da luz visível ($\geq 90,0\%$), elevado *band gap* ($\sim 4,50 - 5,10$ eV), baixa resistividade (até $7,00 \times 10^{-5} \Omega \text{ cm}$), alta reflectância no infravermelho, boa estabilidade química, resistência ao desgaste e alta condutividade elétrica (comparar com os eletrodos metálicos ou metálicos) [150], geram aplicações em aparelhos eletrônicos, como televisores, computadores, celulares, células solares [151,152], em materiais ópticos e transistores [153,154].

Devido às suas propriedades óticas, elétricas e à alta estabilidade, o ITO pode ser utilizado como modificante de sensores para análises eletroquímicas [147,155–157], na maioria dos casos como eletrodos miniaturizados e impressos (Tabela A3.1) [150,158,159].

Tabela A3.1. Trabalhos que utilizam o ITO associado a outras espécies químicas para determinações eletroquímicas. **Fonte:** Autoria própria.

Modificante	Analito	LD (nmol L ⁻¹)	Referência
Nanoflores de MoS ₂ /grafeno/ITO	Dopamina e ácido úrico	2290,00 e 1880,00	[160]
Células de <i>Escherichia coli</i> combinadas com ITO	Quinino e alfa-naftiltioureia (ANTU)	50,00 e 500,00	[161]
Híbrido de ftalocianina, polianina de manganês e ITO	Fenitroton, Eserina and Diazinon	49,00, 88,00 e 62,00	[162]
ITO modificado com filmes de N-grafeno dopados de maneira diferente	Ácido úrico e ácido ascórbico	51,00 e 0,93	[163]
Nanopartículas de ouro em vidro de ITO	Ácido ascórbico	87,00	[164]
Protoporfirina IX, Trióxido de tungstênio (WO ₃), RGO e ITO	Cisteína	25,00	[165]

Os trabalhos apresentados na Tabela A3.1 demonstram o quanto o ITO é aplicado em análises eletroquímicaA recentes. Dessa forma, este estudo propõe a combinação de óxido de grafeno reduzido e óxido de índio dopado com estanho para a aplicação como modificadores de eletrodos, visando o aprimoramento das propriedades eletroanalíticas para a detecção de EE2 (APÊNDICE 2).

ANEXO 4

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \mu)^2}{N}}$$

Equação 4.1

σ = Desvio Padrão (DP);

Σ = Somatório;

x_i = Valor inicial;

μ = Média aritmética dos dados;

N = Quantidade dos dados;

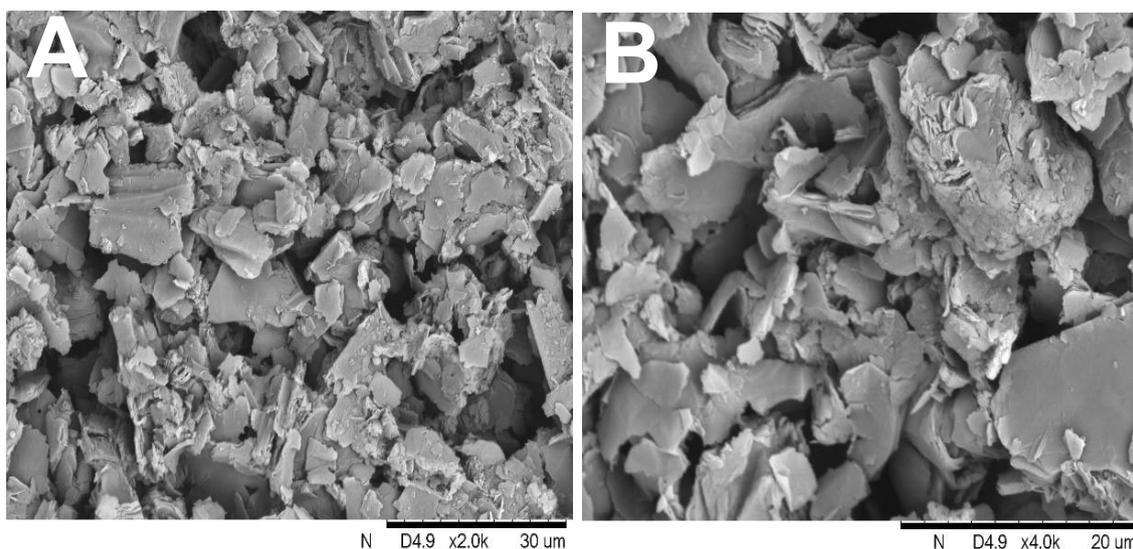
APÊNDICE 1

P1 Caracterizações morfológicas, estruturais e eletrônicas do Óxido de Grafeno Reduzido com Cafeína (rGOC)

P1.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura das amostras do Óxido de Grafeno Reduzido com Cafeína (rGOC) estão expressas na Figura P1.1.

Figura P1.1. Micrografias obtidas por MEV do (A – B) rGOC (x2000 e x4000).

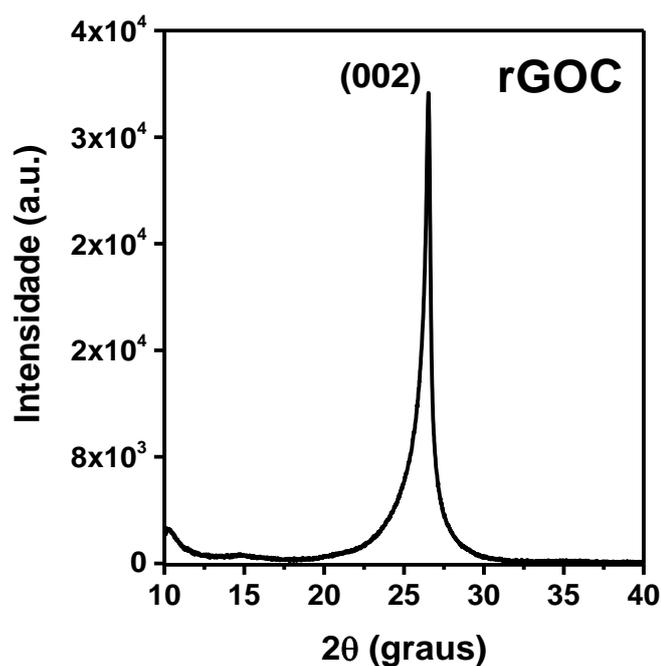


As imagens obtidas para o RGOC apresentaram uma morfologia com estruturas espeçadas mais agregadas e sólidos similar a lâminas (Figura P1.A-B).

P1.2 Difração de Raios X (DRX)

O resultado obtido na análise do rGOC está expresso na Figura P1.2.

Figura P1.2. Difratoograma do rGOC.



A Figura P1.2 demonstra uma menor intensidade do pico e mais largo, tal resultado aponta que o processo de redução diminuiu a quantidade de grupos oxigenados.

P1.3 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (FTIR)

O espectro de FTIR para a amostra de óxido de grafeno reduzido com cafeína (rGOC) é apresentado na Figura P1.3, enquanto a correlação dos principais grupos funcionais presentes nos compostos sintetizados e suas atribuições estão na Tabela P1.1.

Figura P1.3. Espectros de absorção na região do Infravermelho do GR, GO e rGOC, em pastilha de KBr.

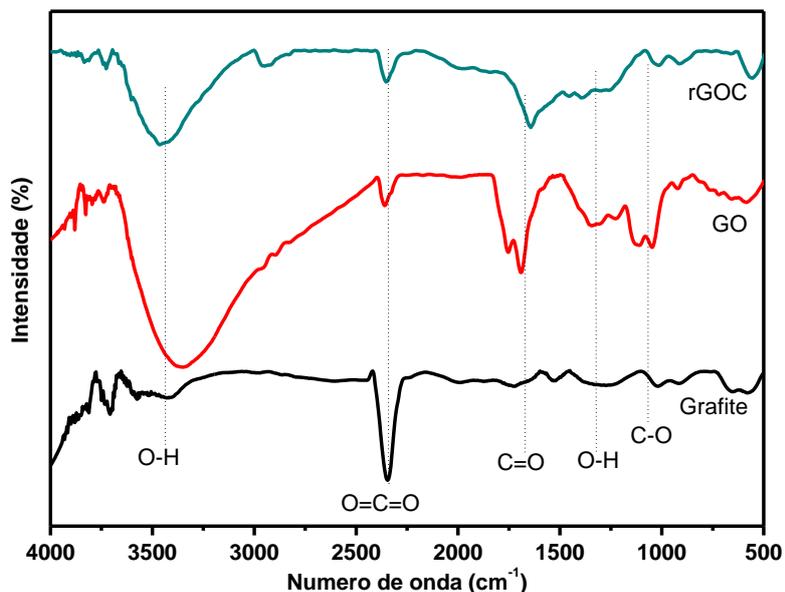


Tabela P1.1. Atribuições de bandas de vibração e deformações angulares presentes nos espectros de infravermelho para o GO e o rGOC.

Atribuição	Classes químicas	Número de onda (cm ⁻¹)			
		[117]	[118]	[119]	Experimental
$\nu_{\text{O-H}}$	Álcool	3223	3400	3400	3382
$\nu_{\text{C-H}}$	Alcano	-	2927	2854	2950
$\nu_{\text{C=C}}$	Alceno	1620	1619	-	1644
$\delta_{\text{C-O-C}}$	Éter	1046	1080	1078	1100

ν = estiramento; δ = deformação.

A presença de vibrações intensas de estiramento de O-H em 3382 cm⁻¹ para as amostras de rGOC. Observou-se vibrações de estiramentos de CH₂ em 2950 cm⁻¹ [117–120], em 1627 cm⁻¹ o estiramento C=C para rGOC. [117–120].

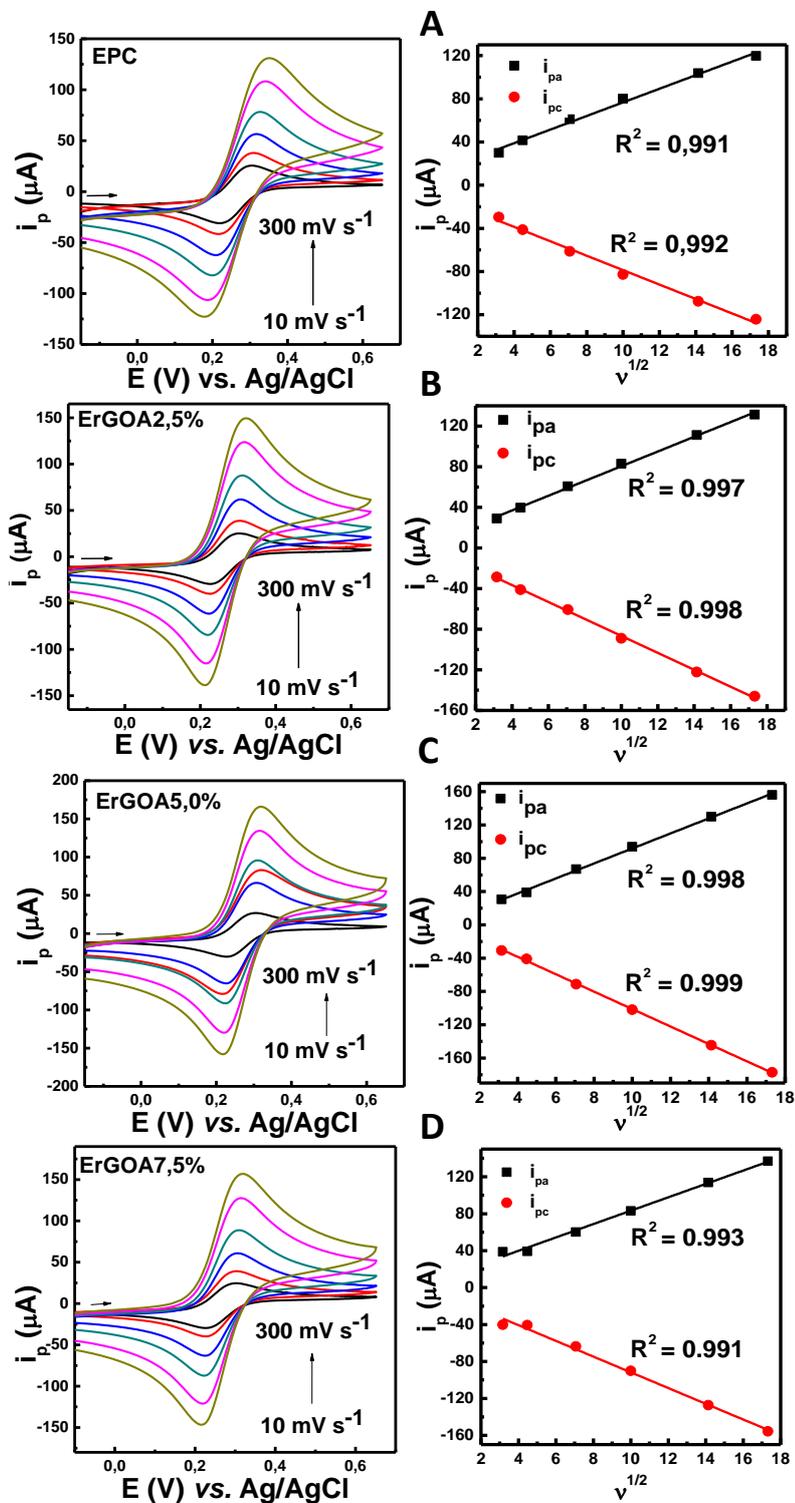
APÊNDICE 2

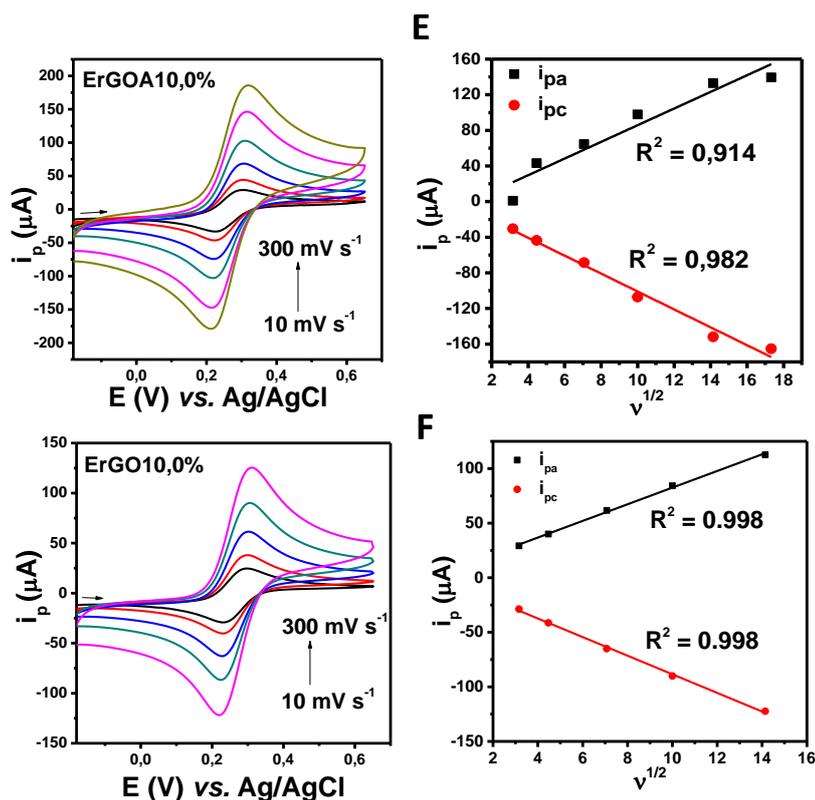
P2 Caracterização Eletroquímica dos Eletrodos

P2.1 Comportamento Eletroquímico dos Eletrodos Modificados

Para avaliar a eletroatividade dos eletrodos EPC, ErGOC e ErGOA em diferentes proporções (2,5%, 5,0%, 7,5%, 10,0%), foram realizadas medidas de voltametria cíclica em meio a uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ em KCl. Para as respostas voltamétricas, foi levado em consideração o aumento total das correntes dos picos anódicos (i_{pa}) e catódicos (i_{pc}) nas velocidades de varreduras de 10,0 a 300,0 mV s^{-1} . A Figura P2.1 demonstra os perfis dos voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos.

Figura P2.1. Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (1,00 mmol L⁻¹ e 1,00 mol L⁻¹ de KCl), em diferentes velocidades de varredura para: A) EPC; B) ErGOA2,5%; C) ErGOA5%; D) ErGOA7,5%; E) ErGOA10%; F) ErGOC10%.





Analisando os voltamogramas cíclicos é possível observar que os eletrodos modificados (Figura P2.1A – F) apresentaram baixos deslocamentos dos valores do potencial de pico com o aumento da velocidade de varredura. O eletrodo modificado ErGOA10% (Figura P2.E) apresentou valores de picos anódicos e catódicos mais intensos que o EPC e os demais eletrodos.

Ao analisar os gráficos presentes na Figura P2.A – F, é notório que as correntes de pico anódico (i_{pa}) e a corrente de pico catódico (i_{pc}) variam de forma linear (R^2 entre 0,999 e 0,914) com a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), indicando uma que a transporte de massa foi controlada por um processo difusional [3,114]. Onde o ErGOA10%, na Figura P2.E, apresentou a relação mais distante da linearidade. No processo de oxidação, percebe-se que os i_{pa} deslocam para valores mais positivos, enquanto para o processo de redução os i_{pc} demonstraram deslocamentos para valores mais negativos. A variação dos potenciais (ΔE_p) entre os picos de oxidação e de redução e a relação entre correntes de pico anódico e catódico dos resultados obtidos dos eletrodos são apresentados na Tabela P2.1.

Tabela P2.1. Resultados para os valores de variação (ΔE_p) dos potenciais de oxidação e redução, e razão i_{pa}/i_{pc} .

Eletrodos	EPC		ErGOA2,5%		ErGOA5%		ErGOA7,5%		ErGOA10%		ErGOC10%	
	ΔE_p	i_{pa}/i_{pc}										
10	78,13	1,00	73,20	1,00	70,89	0,99	68,36	0,99	80,60	0,91	73,25	1,27
20	85,45	0,98	75,69	0,97	83,07	0,97	68,36	0,97	80,50	0,99	75,69	1,29
50	100,10	0,97	80,57	1,00	68,00	0,94	73,25	0,95	78,22	0,94	83,01	1,32
100	114,75	0,96	87,89	0,93	85,50	0,93	75,69	0,92	85,80	0,91	90,33	1,35
200	139,16	0,96	97,65	0,91	87,80	0,91	85,45	0,89	92,77	0,87	100,09	1,41
300	153,81	0,96	104,98	0,90	95,90	0,89	90,33	0,88	100,09	0,84	-	-

ΔE_p = Variação de potencial dos picos anódicos e catódicos em mV/n. ΔE_p = Potencial de pico anódico – Potencial de pico catódico; i_{pa} = Corrente de pico anódico; i_{pc} = Corrente de pico catódico.

Os resultados de ΔE_p variaram de 68,36 a 153,81 mV, onde, de modo geral, os eletrodos apresentaram aumento ΔE_p com o aumento da velocidade de varredura. Todos os intervalos de ΔE_p foram superiores que o valor de 59 mV, o que caracteriza um processo de redox *quasi-reversível* [2,114]. Em relação às razões de corrente de pico anódico/catódico (i_{pa}/i_{pc}), os valores obtidos foram diferentes de 1, exceto para o EPC e ErGOA (2,5%; 5,0%) nas velocidades de 10,0, 20,0 e 50,0 mV s⁻¹. Esses dados corroboram um processo *quasi-reversível* para os eletrodos estudados frente ao par redox Fe²⁺/Fe³⁺. Pode-se observar que os resultados corroboram com a literatura, pois, a velocidade de varredura controla a rapidez que o potencial é aplicado, o quanto maior a taxa de velocidade, há a diminuição do tamanho da camada de difusão, o que causa o aumento das correntes, por permitir a troca mais efetiva das espécies na superfície do eletrodo, como observado nas análises dos dados [2,3,114].

O processo eletroquímico está relacionado com o transporte de massa na interface eletrodo/solução, com a transferência de elétrons e com os processos reacionais envolvidos no sistema [166]. Assim, com o objetivo de determinar a área efetiva do EPC e dos EPCM, foi utilizada a equação de Randles-Sevèk rearranjada (Equação P2.1) [2,3,167]. Os resultados estão demonstrados na Tabela P2.2. Os estudos dos processos de oxidação e redução foram realizados usando a técnica de voltametria cíclica com velocidade de varredura de 50,0 mV s⁻¹, com o par redox [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, onde as espécies envolvidas participam com

apenas um elétron e o coeficiente de difusão (D) corresponde a $7,60 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

$$A = \frac{i_{pa}}{2,69 \cdot 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2}} \quad \text{Equação P2.1}$$

A = área efetiva do eletrodo (cm^2);

i_{pa} = corrente de pico anódico (A);

n = número de elétrons envolvidos na reação

D = coeficiente de difusão da espécie eletroativa ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$);

C = concentração da espécie eletroativa (mol cm^{-3})

v = velocidade de varredura (V s^{-1}).

Tabela P2.2. Valores das áreas efetivas calculadas para o EPC e para os EPCM.

Eletrodos	Área efetiva (cm^2)
EPC	0,34
ErGOA2,5%	0,36
ErGOA5,0%	0,40
ErGOA7,5%	0,36
ErGOA10,0%	0,40
ErGOC10,0%	0,10

Os resultados expressos na Tabela P2.2 demonstram que os eletrodos (EPC e ErGOA) apresentam áreas efetivas maiores que a área geométrica medida, de $0,18 \text{ cm}^2$. Diferentemente do ErGOC, que apresentou uma área efetiva de $0,10 \text{ cm}^2$, inferior à área geométrica. A avaliação da porcentagem de modificante demonstrou ser de grande influência para a melhora da atividade eletroanalítica do sensor, ressaltando que o ErGOA5% apresentou a maior área superficial. O aumento da área é devido a elevada área superficial do rGOA, característica atribuída à efetiva redução dos grupos funcionais do plano das folhas do óxido de grafeno [51,69–71].

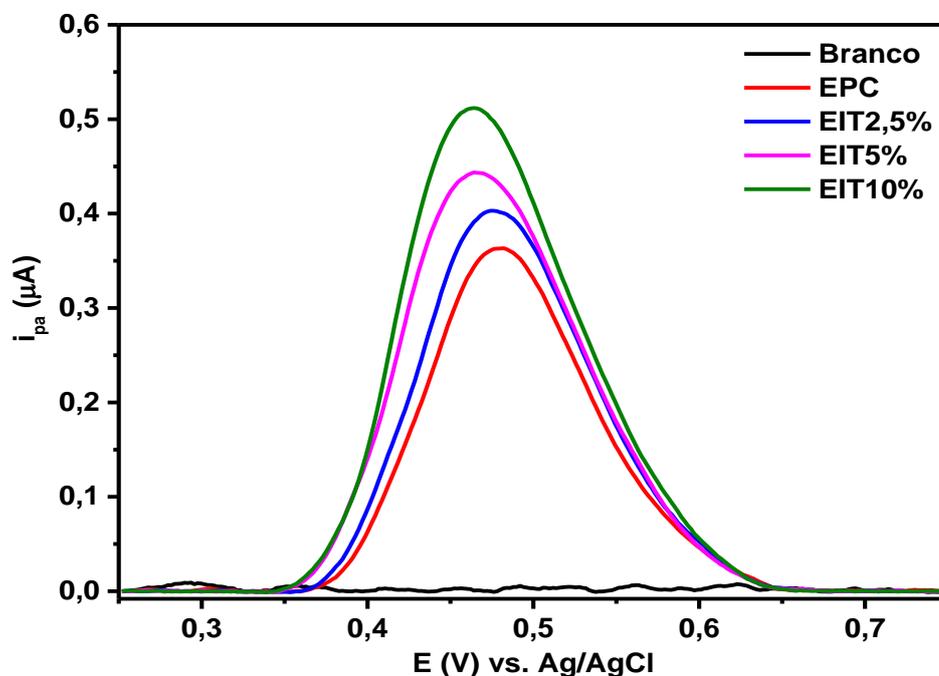
P2.2 Análise dos eletrodos com ITO (EIT), rGOA (ErGOA), rGOAs (ErGOAs) e híbrido (EITrGO)

A detecção eletroanalítica é de fundamental importância devido ao custo, a agilidade as análises e outros fatores. Os modificantes podem proporcionar uma maior capacidade de determinação e quantificação dos compostos estudados. Dessa forma, esse tópico objetiva demonstrar os resultados obtidos para análises do EE2 com diferentes eletrodos.

P2.2.1 Estudo de proporção de modificantes

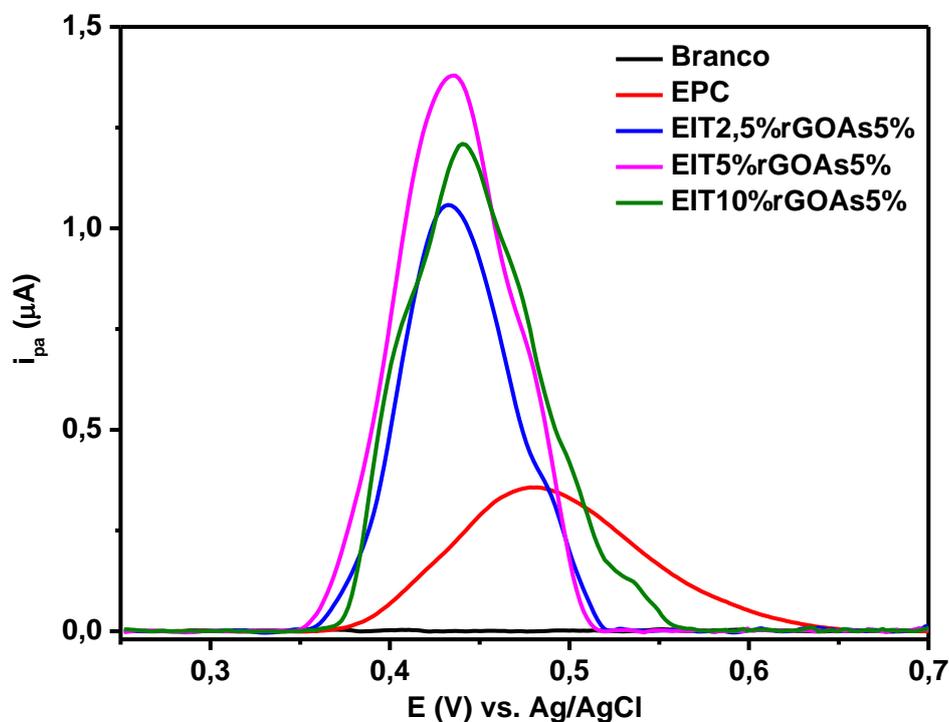
A proporção do modificante na composição da pasta pode proporcionar mudanças consideráveis no sinal eletroquímico, por permitir o aumento ou a redução das interações modificante/analito. Foram realizados estudos do comportamento do eletrodo de pasta de carbono e de eletrodos modificados com diferentes proporções de Óxido de Índio dopado com Estanho (ITO) (Figura P2.2).

Figura P2.2. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o EPC, EIT2,5%, EIT5% e EIT10% em tampão B-R pH 7,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, amplitude de pulso (AP) de 50 mV, tempo de pulso (t) de 50,0 ms, tempo de acumulação (TA) de 3 min na presença de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2.



A análise dos resultados demonstra que o aumento da proporção de ITO, gerou o aumento da corrente de pico anódico, ressaltando a capacidade eletroanalítica do modificante. Todos os eletrodos modificados com ITO apresentaram sinais superiores ao EPC. O EIT10% apresentou a maior taxa de transferência de elétrons com o analito (EE2). Porém, os resultados obtidos não possuem uma grande diferença em relação ao EPC. Dessa forma, realizou o estudo eletroquímico de proporção do híbrido ITO e rGOAs, frente ao EE2, buscando-se obter a melhor desempenho do material híbrido (Figura P2.).

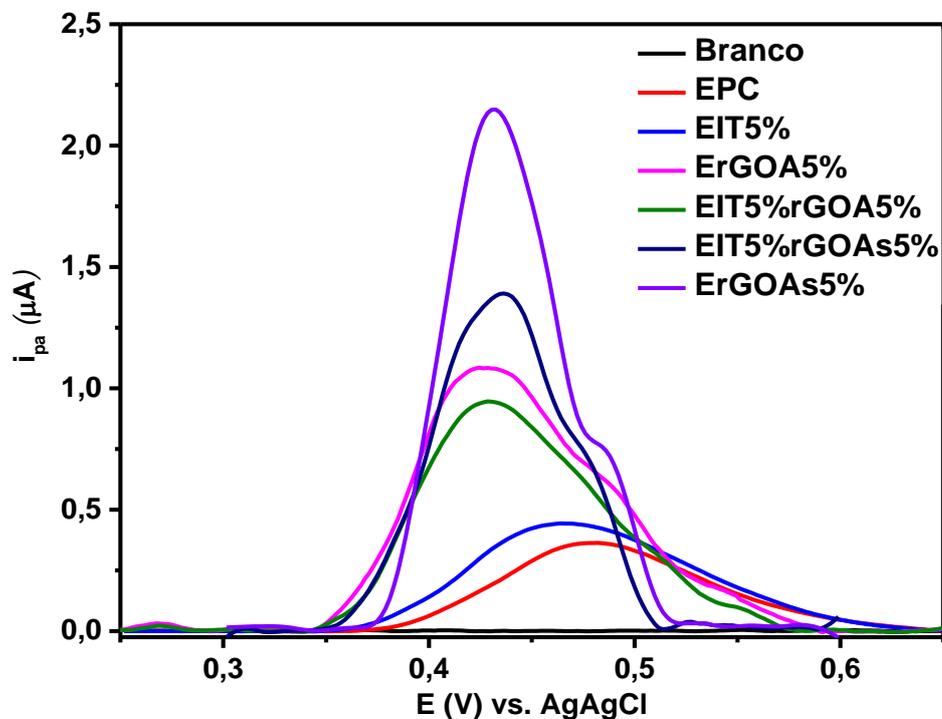
Figura P2.3. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o EPC, EIT2,5%rGOAs5%, EIT5%rGOAs5% e EIT10%rGOAs5% em tampão B-R pH 7,00, $v = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP de 50 mV, t de 50,0 ms, TA de 3 min na presença de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2.



Os voltamogramas apresentados na Figura P2.3 demonstraram um aumento de corrente de pico anódico para o eletrodo com o material híbrido em relação ao EPC. Entretanto, observou-se uma pequena diferença entre os potenciais obtidos pelos eletrodos modificados com ITO e rGOAs. O EIT5%rGOAs5% apresentou o maior valor de i_{pa} frente ao EIT2,5%rGOAs5% e EIT10%rGOAs5%.

Com o objetivo de investigar a influência de outro modificante na resposta eletroquímica do EE2, foram realizadas análises utilizando os eletrodos quimicamente modificados com óxido de grafeno reduzido e ITO, frente ao eletrodo de pasta de carbono (Figura P2.4). Para fins comparativos, foi estabelecida a mesma proporção de modificação para os eletrodos modificados (5,00%). O meio eletrolítico escolhido foi o tampão B-R pH 8,00, com uma concentração de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ do 17α -etinilestradiol (EE2).

Figura P2.4. Voltamogramas de pulso diferencial anódico empregando o EPC, ErGOA5%, ErGOAs5%, EIT5%, EIT5%rGOA5% e EIT5%rGOAs5% em tampão B-R pH 7,00, $\nu = 20,0 \text{ mV s}^{-1}$, AP de 50 mV, t de 50,0 ms, TA de 3 min na presença de $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EE2.



Os voltamogramas presentes na Figura P2.4 demonstram que todos os eletrodos possuem maior intensidade de corrente de pico anódico e deslocamento no potencial de pico anódico para regiões menos positivas, em comparação ao EPC. O EIT5% apresentou uma pequena diferença de potencial em relação ao EPC. Os EPCM híbridos (rGOA e ITO) apresentaram potenciais superiores ao EPC e o EIT5%, porém, inferior ao ErGOAs5%. Tais resultados demonstraram que o EIT e eletrodo composto pelo composto (EITrGOA e EITrGOAs) apresentam sinal analito (i_{pa}) inferiores em comparação com o eletrodo modificado com o rGOAs.