



**Instituto de Química**

**Programa de Pós-Graduação em Química**

**TESE DE DOUTORADO**

**ELETRODOS MODIFICADOS COM FILMES ULTRAFINOS DE  
NANOPARTÍCULAS DE OURO/POLI (LÍQUIDO IÔNICO) PARA DETECÇÃO  
VOLTAMÉTRICA DE TRICLOSAN**

**PRISCILA RIOS TEIXEIRA**

**ORIENTADOR: LEONARDO GIORDANO PATERNO**

**Brasília, DF**

**2020**

TESE DE DOUTORADO  
PRISCILA RIOS TEIXEIRA

ELETRODOS MODIFICADOS COM FILMES ULTRAFINOS DE  
NANOPARTÍCULAS DE OURO/POLI (LÍQUIDO IÔNICO) PARA DETECÇÃO  
VOLTAMÉTRICA DE TRICLOSAN

ORIENTADOR: LEONARDO GIORDANO PATERNO

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Química.

Brasília, DF

2020

## Folha de Aprovação

Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese do (a) aluno (a) Priscila Rios Teixeira, matrícula nº 16/0103754, intitulada *“Eletrodos Modificados com Filmes Ultrafinos de Nanopartículas de Ouro/Poli(líquido iônico) para Detecção Voltamétrica de Triclosan”*, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 13 de fevereiro de 2020.

Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno  
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof.<sup>a</sup> Dra. Claudia Cristina Gatto  
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dr. Antônio Otávio de Toledo Patrocínio  
Membro Titular (UFU)

Prof. Dr. Alex Fabiano Cortez Campos  
Membro Titular (FUP/UnB)

Prof. Dr. Jurandir Rodrigues de Souza  
Membro Suplente (IQ/UnB)

Em 13 de fevereiro de 2020.

*A Deus que esteve ao meu lado em todo tempo  
assim como prometeu em sua palavra  
fortalecendo –me e ensinando-me todos os*

## **Agradecimentos**

A Deus que me formou de maneira assombrosamente maravilhosa, escolhendo-me para cumprir o propósito e os sonhos Dele. Ele esteve comigo em todo o tempo, em cada passo e cada palavra. Este doutorado somente aconteceu porque Deus permitiu e irá usar essa formação para o propósito Dele em minha vida.

À minha família, que sempre esteve ao meu lado, incentivando-me e fortalecendo minha fé. Aos meus pais Esmael e Rilde, por acreditarem em mim e nesse sonho, amando-me de maneira incondicional, orando, aconselhando e intercedendo. As minhas irmãs e cunhados por tanto amor e por não me deixarem desanimar e desistir, principalmente minha irmã Aline que sempre me ajudou muito revisando meus textos e provavelmente leu este texto e o corrigiu. Com muito amor, obrigada minha família, não teria conseguido sem vocês ao meu lado.

Aos meus pastores e amigos da Batista Filadélfia que com tanto amor e dedicação sempre me incentivaram a permanecer, principalmente nos momentos mais difíceis em que as forças se acabavam e o sentimento de desistir se sobressaía. Agradeço por todo encorajamento e orações, por risadas incontroláveis e choros desesperados. Agradeço principalmente aos meus líderes Dudu e Alê, Roger e Lari, por muito amor e carinho e por sempre lembrarem de mim em suas orações e pedidos, caminhando comigo a cada passo. Meu sincero agradecimento.

As minhas discípulas da Batista Filadélfia, que com tanto amor e carinho me incentivaram até o final. Ser um modelo para elas me fez crescer. Ver o olhar de orgulho em cada uma delas é mais que satisfatório. Por cada

conselho, cada reunião e brincadeira, todos os momentos me levaram a realização desse sonho. Muito obrigada.

Às minhas amigas Ruana Brandão e Camila Dourado, por estarem junto comigo nessa caminhada desde a faculdade. Por não desistirem de mim e me fazerem continuar nos momentos mais difíceis. Obrigada.

À Camila Ribeiro por me ajudar com tanto zelo e atenção em todos os procedimentos analíticos necessários para completar esse trabalho.

Ao meu orientador Leonardo Paterno, que com muita paciência me direcionou à finalização desse Doutorado e realização de um sonho. Além de orientador, um amigo e companheiro de pesquisa. Obrigada por todos os anos de ensinamento e crescimento tanto acadêmico quanto pessoal. Meu sincero agradecimento.

Aos meus professores e colegas de pesquisa do LABPOLN, que juntos na caminhada me ajudaram em cada experimento e pesquisa. Pelas risadas incontroláveis e tardes de lanches comunitários. Muito obrigada por tornarem essa caminhada mais divertida.

Aos professores doutores Claudia Cristina Gatto, Antônio Otávio Patrocínio e Alex Cortez Campos, que gentilmente aceitaram o convite para participarem da avaliação dessa tese. Meu sincero agradecimento.

A todos, não teria conseguido com minhas próprias forças e com certeza não teria conseguido finalizar essa caminhada sozinha. Obrigada.

*“ Dê conta de quem você é, e não do que as pessoas  
pensam ao seu respeito. ”*

*Doutora Rosana Alves*

## Resumo

As nanopartículas de ouro (np-Au) são nanomateriais de grande interesse à modificação de eletrodos para sensores eletroquímicos, uma vez aumentam a área eletroativa e a atividade eletrocatalítica. Uma das aplicações diretas desses sensores é a detecção e quantificação de micropoluentes emergentes, cujo uso indiscriminado tem se tornado um problema para o meio ambiente. Dentre esses micropoluentes, o triclosan (TCS), foco desse trabalho, é um agente bactericida potente, encontrado em produtos de higiene pessoal como creme dental, xampu e sabonete líquido, cujos descarte e acúmulo no meio ambiente não são controlados. Portanto, o monitoramento do TCS no meio ambiente é de suma importância. Desta maneira, este doutorado teve por objetivos a síntese e caracterização de um novo nanocompósito de nanopartículas de ouro e poli(líquido iônico), o cloreto de poli(1-vinil-3-N-carboximetilimidazólio), e seu uso como agente modificante de eletrodos de vidro condutor tipo ITO para a detecção voltamétrica de TCS. A estrutura do nanocompósito np-Au/PVAI foi elucidada por espectroscopia de absorção UV-Vis, espalhamento dinâmico de luz, mobilidade eletroforética e microscopia eletrônica de transmissão (MET). A morfologia da superfície dos eletrodos foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A cinética eletroquímica e o desempenho analítico foram avaliados por voltametria cíclica (VC), espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) e voltametria de pulso diferencial (VPD). O eletrodo desenvolvido realiza a oxidação eletroquímica do TCS em potenciais mais baixos e com correntes de oxidação mais altas do que o ITO sem modificação. Em condições otimizadas de VPD, a determinação eletroquímica do TCS forneceu os seguintes parâmetros: faixa linear de 10 -60  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , sensibilidade de 57,1  $\mu\text{A.cm}^{-2} / \mu\text{mol.L}^{-1}$  e limite de detecção 0.098  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (28.3  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). A determinação de TCS foi realizada com sucesso em amostras fortificadas de água do Lago Paranoá apresentando recuperação de 91 a 103%, mostrando que a resposta do eletrodo não é afetada por uma matriz complexa. Por fim, um creme dental de marca comercial foi avaliado simultaneamente pelo sensor eletroquímico e por HPLC, fornecendo o mesmo resultado (nível de confiança de 95%) que o indicado na embalagem do produto. Portanto, o eletrodo modificado com o compósito de np-Au/PVAI é adequado para a detecção de TCS com alto nível de confiança.

Palavras-chave: nanopartículas de ouro, poli(líquido iônico), triclosan, sensor eletroquímico.



## Abstract

Gold nanoparticles (np-Au) are nanomaterials of great importance, especially for modification of electrodes for electrochemical sensors, since they enlarge both the electroactive surface area and electrocatalytic activity. A straightforward application of these sensors is on the detection and quantification of emerging pollutants, whose indiscriminate use has become a serious environmental problem. Among these pollutants, triclosan (TCS), focus of the present work, is a powerful bactericide agent found in personal care products such as tooth paste, shampoo and liquid soap, whose disposal and accumulation in the environment are not monitored. Therefore, monitoring of TCS in the environment is extremely important. In this way, the main goals of this doctorate work were the synthesis and characterization of a novel nanocomposite made of gold nanoparticles and a poly(ionic liquid), namely, poly(1-vinyl-3-N-carboxymethylimidazolium), and its use as a modifying agent of ITO-type conducting glass electrodes for the voltammetric detection of TCS. The np-Au/PVAI nanocomposite structure was elucidated by UV-Vis spectroscopy, dynamic light scattering, electrophoretic mobility, and transmission electron microscopy. The electrodes morphology was evaluated by scanning electron microscopy. The electrochemical kinetics and analytical performance were evaluated by cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy, and differential pulse voltammetry (DPV). The developed electrode performs the TCS oxidation at lower potentials and higher currents than plain ITO. Under optimized DPV conditions, the electrochemical determination of TCS provided the following parameters: linear working range of 10-60  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , sensitivity of 57.1  $\mu\text{A.cm}^{-2} / \mu\text{mol.L}^{-1}$ , and limit of detection of 0.098  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (28.3  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). The determination of TCS was performed successfully in fortified water samples from *Lago Paranoá - Brasil* (91 - 103% recovery), showing that the electrode response is not affected by such a complex matrix. Finally, a branded toothpaste was evaluated simultaneously by the electrochemical sensor and HPLC, providing the same result as that indicated on the product packaging. The modified np-Au PVAI electrode is therefore suitable for detecting TCS at a high level of confidence.

Keywords: gold nanoparticles, poly(ionic liquid), triclosan, electrochemical sensor.

## Sumário

Lista de siglas e abreviações.....	xii
Lista de figuras.....	xiv
Lista de tabelas.....	xviii
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	4
2.1 Objetivo Geral.....	4
2.2 Objetivos específicos.....	4
3. Revisão bibliográfica.....	5
3.1 Nanopartículas de ouro.....	5
3.2 Voltametria.....	18
3.2.1 Polarografia clássica ou de varredura linear.....	19
3.2.2 Voltametria de Varredura linear.....	22
3.2.3 Voltametria Cíclica (VC).....	23
3.2.4 Voltametria de pulso diferencial (VPD).....	27
3.3 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica.....	29
3.4 Triclosan (TCS).....	32
3.5 Sensores eletroquímicos para TCS.....	38
4. Materiais e métodos.....	41
4.1 Reagentes e Solventes.....	41
4.2 Métodos.....	42
4.2.1 Síntese de nanopartículas de ouro (np-Au).....	42
4.2.2 Deposição dos filmes de np-Au.....	43

4.2.3 Caracterização estrutural .....	45
4.2.4 Preparação das amostras de água do lago Paranoá .....	46
4.2.5 Preparação das amostras de pasta de dente .....	47
4.2.6 Medidas eletroquímicas .....	48
5. Resultados e discussão .....	49
5.1 Caracterização das nanopartículas de ouro .....	49
5.2 Deposição dos filmes .....	56
5.3 Caracterização eletroquímica dos eletrodos com o par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ .....	58
5.4 Eletrooxidação do TCS .....	63
5.5 Detecção de TCS por VPD .....	68
5.6 Determinação de TCS em amostras de água .....	72
5.7 Determinação de TCS em pasta de dente. ....	77
6. Conclusão .....	79
7. Referências .....	81
8. Anexo I .....	90

## LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

<b><math>\Delta E_p</math></b>	Variação do potencial de pico
<b>DH</b>	Diâmetro hidrodinâmico
<b>DLS</b>	Espalhamento dinâmico de luz
<b>DMET</b>	Diâmetro medido por microscopia eletrônica de transmissão
<b>J</b>	Densidade de corrente
<b><math>J_{pa}</math></b>	Densidade de corrente anódica
<b><math>J_{pc}</math></b>	Densidade de corrente catódica
<b><math>k_{ap}</math></b>	Constante aparente de taxa de transferência de elétrons
<b>LbL</b>	<i>Layer-by-Layer</i>
<b>MET</b>	Microscopia eletrônica de transmissão
<b>np-Au</b>	Nanopartículas de ouro
<b>PDAC</b>	Cloridrato de poli(dialil dimetilamônio)
<b>PLI</b>	Poli(líquido iônico)
<b>PSS</b>	Poli(4-estirenosulfonato de sódio)
<b>PVAI</b>	Cloreto de poli(1-vinil-3-N-carboximetilimidazólio)
<b>SPR</b>	<i>Surface plasmon resonance</i> – ressonância plasmônica de superfície
<b>UV- Vis</b>	Ultravioleta visível
<b><math>v</math></b>	Velocidade de varredura
<b><math>v^{1/2}</math></b>	Raiz da velocidade de varredura
<b>VC</b>	Voltametria cíclica
<b>VPD</b>	Voltametria de pulso diferencial
<b>EIE</b>	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica
<b><math>i_d</math></b>	Corrente de difusão
<b><math>n</math></b>	Número de elétrons
<b><math>D</math></b>	Coeficiente de difusão

<b><i>m</i></b>	Velocidade do fluxo de Hg
<b><i>t</i></b>	Tempo da gota
<b><i>C</i></b>	Concentração
<b><i>E</i><sub>0</sub></b>	Potencial padrão de eletrodo
<b><i>R</i></b>	Constante do gás ideal
<b><i>T</i></b>	Temperatura
<b><i>F</i></b>	Constante de <i>Faraday</i>
<b><i>i</i><sub>p</sub></b>	corrente de pico
<b><i>A</i></b>	Área do eletrodo
<b><i>t</i><sub>m</sub></b>	tempo entre a segunda e a primeira leitura de corrente
<b><i>σ</i></b>	$\exp\left(\frac{nF\Delta E}{2RT}\right)$
<b><i>ΔE</i></b>	amplitude de pulso
<b><i>C</i><sub>d</sub></b>	capacitância da dupla camada
<b><i>R</i><sub>Ω</sub></b>	resistência ôhmica da solução eletrolítica
<b><i>R</i><sub>ct</sub></b>	resistência de transferência de elétrons
<b><i>W</i></b>	impedância de Warburg
<b><i>ψ</i></b>	parâmetro cinético segundo tabela desenvolvida por Nicholson
<b><i>D</i><sub>r</sub></b>	coeficiente de difusão de redução do par redox.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representação esquemática da Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada. ....	6
<b>Figura 2.</b> Estrutura molecular do Citrato de Sódio. ....	9
<b>Figura 3.</b> Mecanismo proposto para síntese de nanopartículas metálicas. Figura adaptada da referência 21. ....	10
<b>Figura 4.</b> Representação esquemática da formação das np-Au por redução com citrato de sódio (Na <sub>3</sub> Ct). Adaptada da referência 24. ....	11
<b>Figura 5.</b> Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução da amostra de nanopartículas de ouro reduzidas fotoquimicamente na presença de poli(etileno imina) (PEI). Figura retirada da referência 27. ....	13
<b>Figura 6.</b> Estruturas de PLIs recentemente reportadas. Figura adaptada da referência 42. ....	16
<b>Figura 7.</b> Representação de uma célula eletroquímica. Sendo ER= Eletrodo de Referência, CE = Contra eletrodo e ET = Eletrodo de trabalho. ....	19
<b>Figura 8.</b> Eletrodo gotejante de mercúrio - EGM (a). Polarograma para uma solução de HCl 1,0 mol L <sup>-1</sup> contendo 5,0x10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> de Cd <sup>2+</sup> e uma solução de HCl 1,0 mol L <sup>-1</sup> (b). Figuras retiradas da referência 25. ....	21
<b>Figura 9.</b> Representação do voltamograma de uma voltametria de varredura linear. Sendo $i_p$ a corrente limite, também chamada de corrente de pico. $E_p$ o potencial referente a corrente limite e $E_{1/2}$ o potencial de meia onda. Figura retirada e modificada da referência 29. ....	23
<b>Figura 10.</b> Representação do formato da onda na voltametria cíclica (a) e voltamograma adquirido a partir de um experimento de voltametria. Onde, $E_{1/2}$ é o potencial de meia onda, $E_{pc}$ potencial catódico, $E_{pa}$ potencial anódico, $I_{pc}$ corrente catódica e $I_{pa}$ corrente anódica. Figura retirada e modificada da referência 26. ....	24

<b>Figura 11.</b> Sinais de excitação para voltametria de pulso diferencial (a). Voltamograma de um experimento de voltametria de pulso diferencial (b). Figura retirada e modificada a referência 25.....	28
<b>Figura 12.</b> Espectro de impedância apresentado na forma de gráfico Nyquist. Figura adaptada da referência 68. ....	31
<b>Figura 13.</b> Circuito equivalente de Randles. Figura adaptada da referência 69.....	31
<b>Figura 14.</b> Estrutura molecular do Triclosan, 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenol. ....	32
<b>Figura 15.</b> Estruturas derivadas do TCS encontrados em efluentes e estações de tratamento de águas residuais.....	33
<b>Figura 16.</b> Fórmula estrutural dos polímeros: Cloridrato de poli (dialil dimetilamônio) - PDAC (a), Poli- 4-estirenosulfonato de sódio – PSS (b), cloreto de poli(1-vinil-3-N-carboximetilimidazólio) – PVAI.....	43
<b>Figura 17.</b> Esquema de deposição do filme realizado pela técnica LbL por atração eletrostática. ....	45
<b>Figura 18.</b> Representação esquemática do preparo de amostras de água do lago Paranoá.....	47
<b>Figura 19.</b> Espectro UV-vis das misturas reacionais antes e depois da redução com citrato.....	49
<b>Figura 20.</b> Espectros de absorção UV-vis das misturas reacionais antes da redução com citrato e depois da redução com citrato em diferentes razões molares PVAI / H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> .....	51
<b>Figura 21.</b> (a) Imagens de MET em alta resolução da amostra np-Au – PVAI-10. (b) Distância interplanar e cobertura da np-Au por PVAI (b).....	52
<b>Figura 22.</b> Imagens de TEM e curva de distribuição de tamanhos das amostras np-Au – PVAI 5x (A, B), np-Au –PVAI 10x (C, D) e np-Au-PVAI 20x (E, F). ....	53
<b>Figura 23.</b> Voltametria cíclica das soluções de H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> (0,02 mmol L <sup>-1</sup> ), PVAI (1 g mol <sup>-1</sup> ) e a mistura das soluções à velocidade de 50 mV em KCl 1 mol L <sup>-1</sup> , pH 7.....	55

<b>Figura 24.</b> Espectros de absorção UV-vis obtidos na deposição do filme-I (A), filme-II (C). Os gráficos B e D representam a variação da absorbância máxima com o número de bicamadas depositadas dos filmes .....	57
<b>Figura 25.</b> Microcopia Eletrônica de Varredura dos filmes depositados. (a) filme-I (PDAC/np-Au) e (B) filme-II (PDAC/np-Au – PVAI-10x). .....	58
<b>Figura 26.</b> (a) Voltamogramas cíclicos no par redox $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ 1 mmol L <sup>-1</sup> em tampão fosfato (pH 7), velocidade de varredura de 60 mV. (b) Espectros de impedância no par redox $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ 1 mmol L <sup>-1</sup> em tampão fosfato (pH 7). .....	60
<b>Figura 27.</b> Voltamogramas e curvas de J (anódico e catódico) versus $v^{1/2}$ obtidas em solução de $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ 1 mmol L <sup>-1</sup> em Tampão fosfato 1,0 M (pH 7), sendo filme I (A,B), filme-II – 5bi (C,D) e filme II – 10 Bi (E,F). .....	61
<b>Figura 28.</b> (a) Voltamogramas cíclicos em TCS 20 $\mu$ molL <sup>-1</sup> em tampão fosfato (pH 9,5), velocidade de varredura de 60 mV. (b) Espectros de impedância em TCS 20 $\mu$ molL <sup>-1</sup> em tampão fosfato (pH 9,5). (c) Circuitos equivalente para ITO e eletrodo modificado com 5 bicamadas. (d) Espectros de impedância próximos do valor de zero. ....	65
<b>Figura 29.</b> Voltametria cíclica em diferentes velocidades (20 - 500 mV s <sup>-1</sup> ) do filme II - 5bi (a) em TCS (20 $\mu$ mol L <sup>-1</sup> ) em solução tampão fosfato pH 9,5. Curva de densidade de corrente pela raiz da velocidade de varredura para o filme II – 5bi (b). .....	66
<b>Figura 30.</b> Cinética de eletro-oxidação de TCS (20 $\mu$ mol L <sup>-1</sup> , tampão PBS pH = 9,5). (a) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura (20 a 300 mV s <sup>-1</sup> ) a inserção mostra a relação da densidade de corrente de oxidação pela raiz quadrada da velocidade de varredura; (b) Relação entre a densidade de corrente de oxidação e a velocidade de varredura; (c) Gráfico do potencial de oxidação versus log da densidade de corrente, a 60 mV s <sup>-1</sup> ; (d) Potencial de oxidação versus logaritmo natural da velocidade de varredura (v). .....	67



<b>Figura 31.</b> Voltamogramas de pulso diferencial para o TCS registrados em diferentes pHs, conforme indicado. [TCS] = 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , velocidade de varredura: 60 $\text{mV s}^{-1}$ e amplitude do pulso de 50 mV.....	69
<b>Figura 32.</b> Gráfico da variação da densidade de corrente (curva azul) e da largura a meia altura do pico (curva vermelha) em função da mudança de potencial de amplitude.....	70
<b>Figura 33.</b> Voltametria de pulso diferencial do filme II 5 bi na presença de TCS em tampão fosfato pH 9,5. Curva de adição de padrão variando as concentrações de 10 – 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (A) e a curva linear obtida através da concentração pela densidade de corrente do filme (B). .....	71
<b>Figura 34.</b> Voltametria de pulso diferencial da amostra de água fortificada com padrão de TCS, na concentração de (a) 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , (c) 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (e) 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (velocidade de varredura de 60 $\text{mV s}^{-1}$ , amplitude de 50 mV). Adições sucessivas de padrão de TCS (120 $\mu\text{L}$ a concentração de 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Relação linear entre a concentração adicionada e a densidade de corrente, (b) 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , (d) 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (f) 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ . 73	
<b>Figura 35.</b> Curva de adição de padrão à amostra de pasta de dente. (a) VPD em tampão PBS pH = 9,5; amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura de 60 $\text{mV s}^{-1}$ e adições sucessivas de 250 $\mu\text{L}$ de padrão na concentração de 1 $\text{g L}^{-1}$ . (b) Relação linear entre a densidade de corrente ( $J_{pa}$ ) e as concentrações de padrão adicionadas. (c) Curva de dição de padrão obtida por HPLC, amostra foi diluída em vials contendo de 1,5 mL com fase móvel (acetonitrila: água, 70:30, v/v). (d) relação linear entre a absorvância e a concentração de TCS.....	77

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Valores de diâmetro médio ( $D_{MET}$ ), diâmetro hidrodinâmico (DH), pH e potencial zeta de amostras de nanopartículas de ouro. ....	54
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros eletroquímicos para o filme-I (PDAC/ npAu) e filme-II (PDAC/ npAu PVAI 10x) com 5 e 10 bicamadas. Parâmetros determinados por voltametria cíclica em $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ a concentração de $1\text{mmol L}^{-1}$ em tampão fosfato $1\text{mol L}^{-1}$ (pH 7), a velocidade de $60\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . ....	62
<b>Tabela 3.</b> Valores de TCS em amostra de água do lago fortificadas com 2, 5 e $10\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ , calculados através da equação da reta no ajuste linear das adição $100\text{ }\mu\text{L}$ de padrão (concentração de $500\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ ). ....	74
<b>Tabela 4.</b> Resultados do teste de recuperação do TCS na concentração de 2, 5 e $10\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ . Sendo o filme II- 5bi (PDAC/ np-Au PVAI) o eletrodo de trabalho.....	74
<b>Tabela 5.</b> Valores de LOD encontrados na literatura. ....	76
<b>Tabela 6.</b> Valores encontrados na mostra de pasta de dente contendo 0,03% em massa de TCS ( $2,5\text{ g L}^{-1}$ ). VPD em tampão PBS pH = 9,5; amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura de $60\text{ mV s}^{-1}$ e adições sucessivas de $250\text{ }\mu\text{L}$ de padrão na concentração de $1\text{ g L}^{-1}$ . HPLC amostra foi diluída em vials contendo de 1,5 mL, fase móvel acetonitrila: água, 70:30, v/v). ....	78

## 1. Introdução

As nanopartículas de metais nobres, como ouro (np-Au) e prata (np-Ag), são nanomateriais de interesse às áreas de catálise, biomedicina, sensores, fotônica, eletrocatalise, terapia oncológica e intensificação de espalhamento Ramam (SERS).<sup>1</sup> O interesse nestas partículas se deve às propriedades físico-químicas relacionadas ao efeito de redução de tamanho.<sup>2</sup> Esta é talvez uma das principais razões para o crescente número de estudos sobre np-Au, uma vez que expressam propriedades que podem ser aplicadas em muitas áreas diferentes, sem danos significativos ao meio ambiente e aos seres humanos.

Desta forma, devido ao seu tamanho e propriedades físicas e químicas dependentes de sua forma, como a ressonância plasmônica de superfície localizada (LSPR), efeito eletrocatalítico e fluorescência as np-Au são nanomateriais ideais para estudos técnicos e fundamentais, como sensores químicos e bioquímicos, diagnóstico e terapia para câncer, mecanismo de transferência de elétrons, catálise e ensaios de DNA.<sup>3</sup>

As propriedades das nanopartículas e o desempenho dos sensores eletroquímicos e biossensores resultam na construção de sistemas altamente sensíveis e seletivos fazendo uso, principalmente, das propriedades catalíticas das nanopartículas.<sup>4</sup> Tais sistemas podem ser utilizados para detecção e quantificação de substâncias denominadas contaminantes emergentes, que são potencialmente tóxicos, mas cujos efeitos e concentração no ambiente são pouco conhecidos ainda.

A ocorrência destas substâncias no meio ambiente, principalmente em águas superficiais, tornou-se preocupante e tem sido objeto de estudos na áreas de química analítica e saúde, com atenção especial dada aos sensores químicos e bioquímicos para sua detecção.<sup>5</sup> Uma vez introduzidos no meio ambiente por atividades antrópicas, algumas dessas substâncias podem atuar como desreguladores do sistema endócrino (DEs), com consequências danosas à saúde, crescimento e reprodução de vários organismos.<sup>6</sup>

Entre os DEs de interesse podem ser destacados os estrogênios como estrona (E1), estradiol (E2), etinilestradiol (EE2) e o estriol (E3), que são componentes de pílulas anticoncepcionais; bactericidas, como triclosan (TCS) e retardantes de chamas, como o bisfenol-A (BPA).<sup>7</sup> As concentrações de EE2 encontradas em águas superficiais, da ordem de nanogramas por litro, já influenciam o metabolismo de organismos aquáticos, uma vez que apresenta estrogenicidade duas vezes maior que o 17 $\beta$ -Estradiol, hormônio natural feminino. O TCS, alvo de estudo deste trabalho, é geralmente considerado como um químico de baixa toxicidade. Porém, algumas pesquisas<sup>8</sup> indicaram que esses compostos são DEs extremamente tóxicos e altamente potentes. Como consequência, o uso de TCS em produtos de cuidados pessoais foi restrito.

Desta maneira, nas últimas décadas foram feitos grandes esforços para o desenvolvimento de instrumentos e métodos analíticos para detectar e quantificar tais micropoluentes, incluindo cromatografia líquida acoplado com detecção UV (HPLC -UV), cromatografia gasosa combinada com espectroscopia de massa, entre outros.<sup>8</sup>

Embora apresentem alta sensibilidade, esses métodos apresentam algumas desvantagens como equipamento altamente específico e com custo alto, técnicos especializados e a demora nas análises, tornando-as inadequadas para o uso em campo. Desta maneira, técnicas eletroquímicas são uma escolha mais adequada, uma vez que são de baixo custo, de fácil manuseio, e os equipamentos podem ser transportados e manuseados em campo.<sup>9</sup>

Assim, este trabalho descreve a síntese e caracterização estrutural de np-Au sintetizadas na presença de um poli(líquido iônico) inédito e de seus filmes ultrafinos depositados pela técnica de automontagem camada por camada sobre substratos de ITO (óxido de estanho dopado com índio), visando à construção de sensores voltamétricos para detecção de triclosan (TCS) em amostra de água do Lago Paranoá e de creme dental com características antibacterianas.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo Geral**

Síntese, caracterização estrutural e eletroquímica de nanopartículas de ouro, para o desenvolvimento de sensores para detecção e quantificação de TCS em água de abastecimento urbano.

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Sintetizar nanopartículas de ouro por via química, na presença de um poli(líquido iônico);
2. Compreender os mecanismos de formação das nanopartículas com base nos dados de caracterização estrutural e morfológica;
3. Investigar o efeito da estrutura e morfologia das nanopartículas sobre o comportamento eletroquímico de seus filmes automontados;
4. Desenvolver metodologia eletroanalítica com eletrodos modificados por filmes automontados de nanopartículas de ouro para detecção de TCS em águas naturais e amostra de pasta de dente.

### **3. Revisão bibliográfica**

#### **3.1 Nanopartículas de ouro**

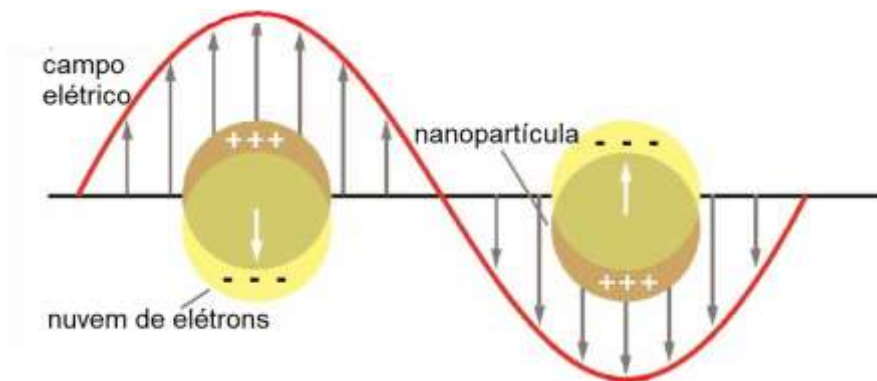
A nanotecnologia, nos últimos anos, tem sido o objeto de pesquisa crescente no campo de engenharia de materiais. Os materiais em escala nanométrica possuem propriedades únicas relacionadas ao seu tamanho reduzido. Pesquisas recentes têm se concentrado em alternativas e métodos economicamente viáveis para produção e manipulação de materiais em escala nanométrica.<sup>10</sup> Dentre os nanomateriais mais estudados estão as nanopartículas metálicas, sendo utilizadas em várias áreas como catálise, biomedicina e sensores eletroquímicos.<sup>1</sup>

As nanopartículas de ouro (np-Au) chamam muito atenção, por suas propriedades físico-químicas dependentes do tamanho e forma, tais como efeito eletrocatalítico e ressonância plasmônica de superfície localizada (LSPR), que as tornam relevantes para o desenvolvimento de sensores químicos de alta sensibilidade assim como, para dispositivos de diagnóstico e terapia do câncer.<sup>3</sup>

A LSPR é um fenômeno resultante da oscilação coletiva dos elétrons livres na superfície das nanopartículas, cuja frequência coincide com a faixa visível do espectro eletromagnético. Sua intensidade depende fortemente do tamanho, formato e da distância entre as partículas. No geral, o fenômeno é observado em partículas com diâmetros entre 5 e 20 nm, quando excitadas com comprimento de onda em 530 nm.<sup>11</sup>

A interação da radiação eletromagnética com os elétrons ocasiona a oscilação coletiva dos elétrons livres nas nanopartículas metálicas, formando

uma densidade de carga em sua superfície. Assim, uma força compensatória é gerada assim como um comprimento de onda ressonante único, ou seja, a banda plasmônica de superfície,<sup>12</sup> que pode ser visualizada na **Figura 1**.



**Figura 1.** Representação esquemática da Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada.

Um exemplo de aplicação da LSPR de np-Au é descrito por Fang *et al.*<sup>13</sup> que utilizaram np-Au funcionalizadas com tioglucose e que, na presença do íon fluoreto ( $F^-$ ) são induzidas à agregação e conseqüente mudança de cor, o que pode ser aproveitado na detecção do íon fluoreto, por meio de métodos colorimétricos.

As np-Au também podem ser utilizadas para aprimoramento de eletrodos como descrito por Idris *et al.*<sup>14</sup> Neste caso, o eletrodo de carbono vítreo foi modificado com np-Au depositadas eletroquimicamente e utilizado para detecção de selênio (IV) em água. Segundo os autores, a modificação do eletrodo com np-Au resultou no aumento da superfície eletroativa levando ao aumento do picos de corrente do par redox ferri/ferrocianeto comparado ao eletrodo de carbono vítreo não-modificado. Utilizando voltametria de redissolução anódica por onda quadrada detectaram selênio (IV) em água de



torneira com o limite de detecção de  $0,64 \mu\text{g L}^{-1}$ , mostrando a importância do eletrodo em estudo.

As np-Au são utilizadas também para a detecção de moléculas orgânicas, como a homocisteína. Rajaram e Mathiyarasu<sup>15</sup> modificaram eletrodo de carbono vítreo com np-Au associadas ao óxido de grafeno reduzido (RGO). Utilizando voltametria de onda quadrada, segundo os autores, o eletrodo modificado apresentou limite de detecção de  $6,3 \mu\text{mol L}^{-1}$  para homocisteína. Devido à interação das np-Au com o grupo -SH da homocisteína e a atividade eletrocatalítica das np-Au e do RGO, o desempenho do eletrodo modificado foi melhor que do eletrodo sem qualquer modificação. Isso mostra que as np-Au são materiais promissores para detecção e quantificação de moléculas orgânicas.

A introdução de nanopartículas metálicas na eletroquímica de sensores e biossensores foi um grande avanço, pois foi possível a observação da reversibilidade de reações redox imperceptíveis em eletrodos não modificados.<sup>4</sup>

A eletrocatalise acontece quando, em um mesmo potencial, a reação eletroquímica se processa com velocidades mais altas que daquelas conduzidas na ausência do eletrocatalisador. Nesse processo, a np-Au não é meramente doadora ou aceitadora de elétrons, mas participa ativamente da reação promovendo sítios de adsorção para a transferência eletrônica.<sup>16</sup>

A atividade eletrocatalítica das np-Au depende de sua estrutura cristalina, morfologia e estrutura eletrônica. Outros fatores externos como: concentração dos reagentes, pH, temperatura, eletrólito, forças de interação eletrodo-solução

também são importantes para as reações eletroquímicas que podem influenciar na velocidade de rendimento das atividades eletrocatalíticas.

Alguns exemplos podem ser encontrados na literatura, como o descrito por Wang *et al.*<sup>17</sup> no qual nanocompósitos de np-Au com RGO e poli(vinil pirrolidona) (PVP) foram empregados na modificação de eletrodos de carbono vítreo para a oxidação/detecção de 3-terc-butil-4-hidroxianisol (BHA), um conservante muito utilizado em produtos comerciais. Verificou-se que o eletrodo modificado apresentava maior resposta ao analito de interesse, bem como maior sensibilidade, o que foi atribuído ao aumento da área superficial do eletrodo e da taxa de transferência de elétrons entre a espécie e o eletrodo.

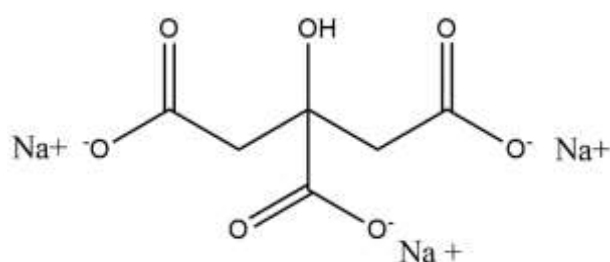
As np-Au também são utilizadas para discriminar espécies de interesse encontradas numa única amostra. Madrakian *et al.*<sup>18</sup> modificaram o eletrodo de carbono vítreo com um nanocompósito de múltiplas camadas de nanotubos de carbono e np-Au para detecção simultânea de tirosina (Tyr), acetaminofeno (AC) e ácido ascórbico (AA). Os autores observaram por medidas de voltametria cíclica e impedância, que o eletrodo modificado apresentou alta atividade catalítica e utilizando voltametria de pulso diferencial conseguiram discriminar as espécies em estudo, já que eram oxidadas em potenciais distintos. Com isso, foi possível atingir limites de detecção de 0,21  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para Tyr, 0,03  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para AC e 0,76  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para AA, mostrando a eficácia do eletrodo para detecção simultânea de analitos de interesse.

Outro exemplo relevante é o de eletrodos modificados com np-Au para detecção de dopamina (DA) na presença de AA. O efeito eletrocatalítico das np-Au permitiu que a oxidação do AA ocorresse em potencial distante daquele em que ocorre a oxidação da DA resultando na separação efetiva dos

potenciais de oxidação das duas espécies e, portanto, permitindo sua discriminação.<sup>19</sup>

O método mais usual para síntese de np-Au é o de redução de ácido cloroáurico (HAuCl<sub>4</sub>) com citrato, descrito originalmente por Turkevich em 1951.<sup>20</sup> Este método consiste em adicionar citrato de sódio em excesso a uma solução aquosa de HAuCl<sub>4</sub> mantida em refluxo. Depois de 30 minutos de reação, a mistura torna-se roxa como vinho devido ao efeito LSPR, indicando visualmente que as nanopartículas foram formadas.

A fórmula estrutural do O citrato de sódio, apresentada na **Figura 2**, a qual possui três grupos carboxilatos (COO<sup>-</sup>) que atuam na interação do citrato na superfície do ouro.<sup>21</sup>



**Figura 2.** Estrutura molecular do Citrato de Sódio.

A síntese química por redução com citrato de sódio, assim como com borohidreto de sódio, se destaca pelo considerável rendimento da síntese (85 a 95%),. Porém, as nanopartículas em meio coloidal, em uma curta distância entre as partículas, são atraídas entre si devido às forças de van der Waals - forças de atração originadas entre os grupos presentes - e não havendo forças

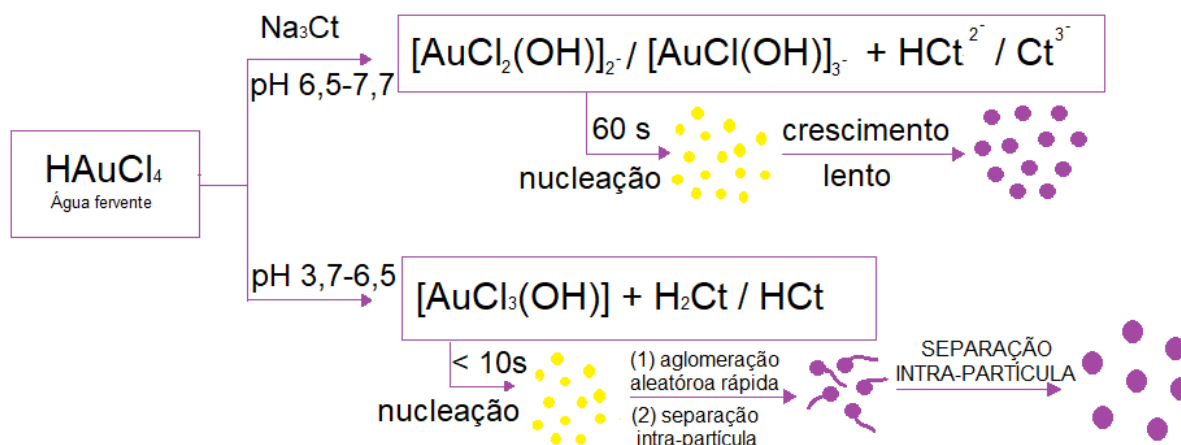
contrárias de repulsão, as partículas irão se agregar e desta maneira desestabilizar o sistema coloidal.<sup>22</sup>

O mecanismo geral proposto para o crescimento das nanopartículas metálicas mais recente é descrito por Polte <sup>23</sup>. Tal crescimento com o uso de agentes redutores em excesso é resumido em três etapas: O primeiro passo é a redução dos íons metálicos, em seguida, no segundo passo, os átomos formarão dímeros e pequenos aglomerados e, na terceira etapa e final, os clusters, devido à agregação e coalescência, crescem até atingir o tamanho final, essa etapa deve seguir até que as partículas fiquem estabilizadas. Tal mecanismo é mostrado na **Figura 3**.



**Figura 3.** Mecanismo proposto para síntese de nanopartículas metálicas. Figura adaptada da referência 21.

Em 2007, o mecanismo de formação de nanopartículas na presença de citrato foi sugerido por Xiaohui *et al.*<sup>24</sup>, no qual consiste na nucleação rápida seguida do crescimento difusional controlado.



**Figura 4.** Representação esquemática da formação das np-Au por redução com citrato de sódio ( $\text{Na}_3\text{Ct}$ ). Adaptada da referência 24.

Doyer *et al.* sugerem que na síntese com citrato de sódio, os agregados com de átomos de ouro são formados por meio de ligação covalente possibilitando a formação das nanopartículas. O aumento do grau de oxidação, devido à descaboxilação da molécula de citrato leva ao efeito de formação das np-Au.<sup>25</sup> Além de auxiliar na formação de nanopartículas, o citrato de sódio atua nas nanopartículas de ouro formadas como estabilizante.<sup>21</sup>

As np-Au têm pouca afinidade com o meio dispersante e, assim, o citrato de sódio em excesso confere ao coloide estabilidade via repulsão eletrostática.<sup>26</sup> Outros materiais podem ser utilizados na síntese das partículas como estabilizantes, tais como polímeros,<sup>27</sup> líquidos iônicos (LIs),<sup>28</sup> poli(líquidos iônicos) (PLIs)<sup>29</sup> e extratos de plantas com: flavonó

ides, fenóis, terpenos e alcaloides.<sup>30</sup>

As nanopartículas, quando em suspensão, tendem à formação de aglomerados para que a instabilidade causada pela alta energia em sua

superfície e pelas interações de dipolo-dipolo sejam minimizadas.<sup>31</sup> Entretanto, para evitar que ocorra aglomeração e perda de propriedades associadas ao pequeno tamanho, precisam ser estabilizadas de outra maneira. Assim, podem ser estabilizadas de maneira eletrostática, estérica e eletroestérica.<sup>32</sup>

A adsorção de íons em torno do metal configura uma estabilização eletrostática, pois cria camadas carregadas na superfície das nanopartículas o que resulta na repulsão entre elas.<sup>33</sup> Um exemplo já anteriormente citado, é a síntese de nanopartículas na presença de citrato de sódio.

A estabilidade eletroestérica acontece com o uso de surfactantes e polieltrólitos que possuam carga e grande volume estérico, evitando a aproximação e aglomeração. Tais características são encontradas nos PLIs, que apresentam alta massa molar e possuem grupos ionizáveis.<sup>34</sup>

Já a estabilidade estérica ocorre através da formação de camadas de moléculas que possuem grande volume ao redor da nanopartícula, criando uma cobertura que previne o contato entre elas. Os polímeros são materiais extensivamente utilizados para promover esta estabilidade.<sup>27</sup>

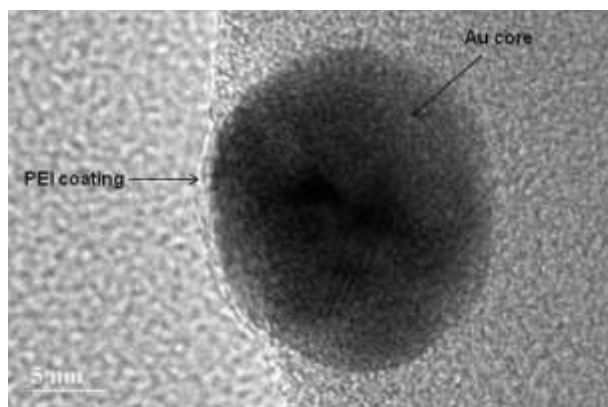
Feng Wei *et al.*, por exemplo, sintetizaram o polímero poli(tiofeno) (PTPA), e o utilizaram na síntese *in situ* de nanopartículas de ouro exercendo papel de suporte para as nanopartículas. O compósito foi aplicado na redução de 4-nitrofenol (4-NP) apresentando alta atividade catalítica.<sup>35</sup>

Outro exemplo a ser citado são nanopartículas de ouro imobilizadas em microesferas híbridas de poli(estireno) (PS) / poli(dopamina) (PDA) realizado por Ting Xu *et al.*<sup>36</sup> Os autores revelam que o compósito apresentou microesferas com PS/PDA/Au de tamanhos uniformes e nanoestrutura de núcleo/casca /casca. Os autores também modificaram, com este compósito,

eletrodos de carbono vítreo para testes eletroquímicos com o par redox  $\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6^{3-}$  atestando sua eficiência para modificação de superfícies com possíveis aplicações em biossensores e sensores eletroquímicos.

Polímeros também podem ser utilizados em métodos fotoquímicos que empregam radiação UV e visível como agente redutor. Esses métodos têm se tornado mais populares, uma vez que não produzem resíduos tóxicos e permitem o controle sobre tamanho, formato e superfície com melhor eficiência.<sup>27</sup>

A redução de íons metálicos e formação de nanopartículas por ação da radiação eletromagnética pode ser um processo lento. Assim, é comum o uso conjunto de uma espécie doadora de elétrons mais susceptível à oxidação. Podem ser usados nessa função cetonas, álcoois, aminas e polímeros contendo esses grupos funcionais, que além de redutores podem servir como estabilizadores formando uma cobertura na superfície das nanopartículas.<sup>37</sup> Tal cobertura pode ser observada na **Figura 5**.



**Figura 5.** Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução da amostra de nanopartículas de ouro reduzidas fotoquimicamente na presença de poli(etileno imina) (PEI). Figura retirada da referência 27.

Outros agentes estabilizantes usados com frequência são os LIs. Os LIs possuem propriedades peculiares, tais como pressão de vapor desprezível,

boa estabilidade térmica, alta condutividade iônica, amplas janelas de potencial eletroquímico e boa solubilidade.<sup>38</sup>

No estado líquido, os íons são geralmente assimétricos com cargas eletrostáticas deslocalizadas.<sup>39</sup> Assim, as forças de interação em líquidos iônicos são diferentes dos sais clássicos, a combinação das forças de Coulomb e interações mais fracas, como ligações de hidrogênio e forças de van der Waals, induz a formação de estruturas em nanoescala no LI e LI / solvente molecular ou LI / mistura de solutos.<sup>34</sup>

Os LIs podem atuar junto com nanopartículas metálicas em sistemas híbridos que forma materiais com várias estruturas, suspendendo as nanopartículas nos LIs, tais como dispersões coloidais, géis coloidais ou vidros coloidais.<sup>41</sup> A modificação física ou química da superfície de nano partículas com LIs acarreta a melhora ou modificação de suas propriedades, como estabilidade térmica, eficiência catalítica, eficiência de adsorção e resposta eletroquímica.<sup>42</sup> Assim, como LIs podem melhorar algumas propriedades das nanopartículas, estas também podem conferir aos LIs modificações em suas propriedades fisicoquímicas e eletroquímicas.<sup>43</sup>

Camadas de íons tanto catiônicos como aniônicos em volta das nanopartículas podem ser geradas pelos Lis. Os LIs baseados no cátion imidazólio tendem a formar agregados supramoleculares semiorganizados de formulas gerais  $[(Im)_x - n (X)_x]^{n-}$  (aniônico) e  $[(Im)_x(X)_x - n]^{n+}$  (catiônico), nos quais Im representa o cátion imidazólio e X o ânion.<sup>44</sup> Desta maneira, a dupla camada do líquido iônico fornece interações eletrostáticas que impedem a agregação das nanopartículas, por meio do balanceamento das interações de van der Waals entre as partículas.<sup>45</sup>

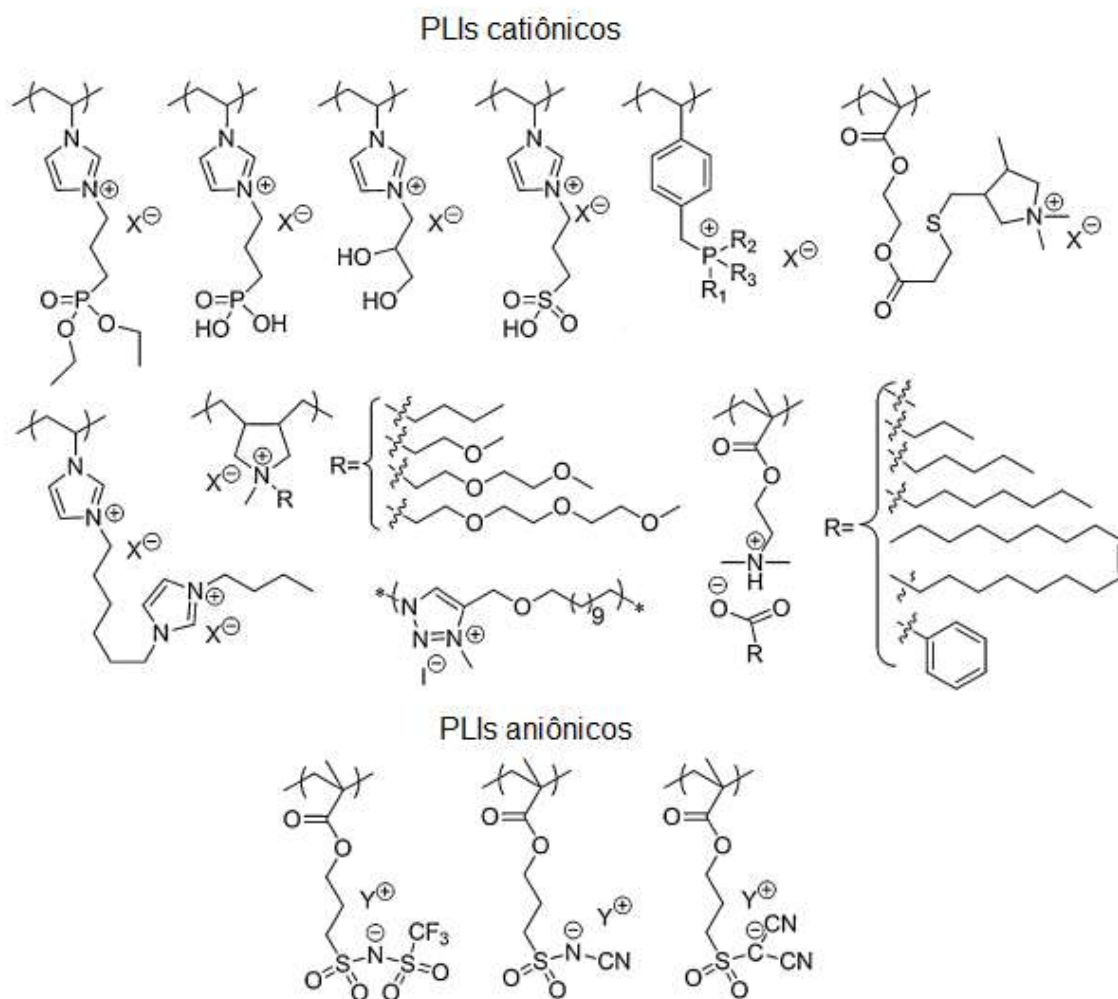


Embora os LIs sejam extensivamente utilizados para sínteses de nanopartículas, a síntese na presença de poli(líquidos iônicos) (PLIs) tem chamado atenção, principalmente por atuarem como agentes de nucleação, aumentando a taxa de formação das partículas, reguladores do tamanho e do formato, além de estabilizantes que impedem a aglomeração com o tempo.<sup>46</sup>

Os PLIs são obtidos a partir de monômeros de LIs combinando as propriedades dos LIs como as propriedades térmicas e mecânicas dos polímeros.<sup>47</sup> Estes fluidos são conhecidos como uma nova classe de compostos com propriedades físico-químicas únicas como alta estabilidade térmica,<sup>48</sup> baixa pressão de vapor<sup>49</sup> e capacidade de se ajustar ao solvente.<sup>50</sup>

Também conhecidos como líquidos iônicos polimerizados, são uma subclasse de polieletrólitos que apresentam uma estrutura de líquido iônico em cada unidade monomérica conectadas pela cadeia principal do polímero formando uma arquitetura macromolecular.<sup>51</sup>

Algumas propriedades únicas dos LIs são incorporadas às cadeias poliméricas, formando uma nova classe de materiais e expandindo as propriedades de aplicações dos LIs e polieletrólitos sozinhos.<sup>52</sup> Na **Figura 6** são mostrados exemplos de estruturas químicas de PLIs recentemente relatados.



**Figura 6.** Estruturas de PLIs recentemente reportadas. Figura adaptada da referência 42.

PLIs podem se comportar de maneira similar aos polieletrólitos, como relatado por Elabs e Chem, onde verificaram que o poli(1-butiril-3etilimidazólio metacrilato)BF<sub>4</sub> em solução orgânica apresenta as mesmas características de um polieletrólito em água, em termos de concentração, viscosidade e condutividade.<sup>53</sup>

No estado sólido, os PLIs de modo geral, são amorfos, característica atribuída a mobilidade do íons presentes na estrutura dificultando a cristalização. Assim, a temperatura de transição vítrea (T<sub>g</sub>) desses materiais pode variar, pois depende do cátions e do ânions que compõe a sua estrutura

molecular.<sup>54</sup> Entretanto, Mecerreyes<sup>47</sup> relatou grande variação de Tg ocorrendo pela alteração do ânion. O autor descreve que o polycation poli(1-vinil-3-etilimidazólio) acompanhado do íon NTf<sub>2</sub><sup>-</sup> tem Tg de 60 °C, porém com o ânion Br<sup>-</sup> chega a 235 °C.

Ao compartilhar as propriedades dos LIs e dos polímeros, os PLIs são aplicados nas sínteses por serem bons estabilizantes para dispersões coloidais de nanopartículas entre outras características. A modificação da superfície das nanopartículas através do revestimento do PLI pode evitar aglomeração conferindo também propriedades adicionais.<sup>55</sup>

Os PLIs interagem eletrostaticamente com as nanopartículas ajustando o seu tamanho dependendo do comprimento da cadeia, mostrando estabilidade para períodos mais longos, consideradas estáveis e sem aglomeração. Um exemplo a ser citado é o das nanopartículas de ouro sintetizadas na presença do poli (1-vinil-3-alkil imidazolio), nas quais apresentaram estabilidade coloidal após 75 dias após a síntese.<sup>56</sup>

Os PLIs combinam as propriedades dos LIs, como baixa toxicidade, alta condutividade, alta polaridade e boa estabilidade química, com as propriedades intrínsecas dos polímeros apresentando vantagens que podem ser aplicadas em vários campos de pesquisa.<sup>57</sup> Um exemplo a ser citado é a glicose oxidase adsorvida em compósito de nanopartículas de ouro e PLI. O PLI atua como substrato para imobilização eletrostática da glicose oxidase e as nanopartículas de ouro promovem a transferência de elétrons com centros redox da enzima embutida, permitindo e este compósito seja utilizado como eletrodo para detecção eletroquímica, apresentando boa transferência de elétrons e propriedades biocatalíticas.<sup>58</sup>

Outro exemplo, o compósito de folhas de grafeno com nanopartículas de prata e PLI utilizado para fabricar um sensor de peróxido hidrogênio apresentando boa resposta eletroquímica e eficiência na quantificação de hidrogênio.<sup>59</sup> Portanto, os PLIs contribuem significativamente para modificar e aprimorar nanopartículas metálicas utilizadas em eletrodos para biossensores e sensores eletroquímicos.

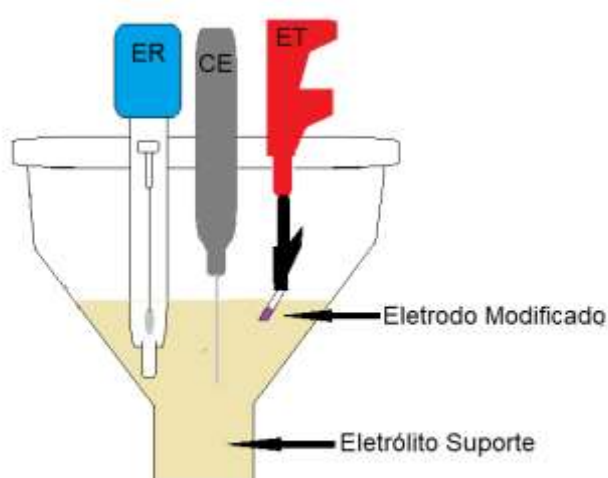
### 3.2 Voltametria

Os métodos voltamétricos são métodos eletroanalíticos que dependem da medida da corrente em função do potencial aplicado. Em tais métodos são aplicadas condições que favorecem a polarização do eletrodo de trabalho e, geralmente para aumentar a polarização do eletrodo de trabalho, são utilizados eletrodos com pequenas áreas, sendo em algumas aplicações alguns micrômetros quadrados.<sup>60</sup>

Esta técnica se baseia na medida da corrente sob condições de completa polarização, na qual a velocidade de redução ou oxidação do analíto se limita a velocidade de transferência da massa do analíto para a superfície do eletrodo ocorrendo um consumo mínimo do analíto.<sup>61</sup>

Para a realização de uma análise de voltametria é necessária a utilização de uma célula eletroquímica constituída de eletrodos imersos em uma solução em excesso de um eletrólito não reativo chamado de eletrólito suporte, e neste também contém o analíto.<sup>60</sup> A representação da célula eletroquímica é mostrada na **Figura 7**.

Um dos eletrodos contidos na célula é o eletrodo de trabalho, cujo potencial varia linearmente com o tempo em relação a outro eletrodo chamado eletrodo de referência, o qual tem um potencial constante durante o experimento. O terceiro eletrodo é chamado contra-eletrodo, o qual normalmente é um fio de platina ou um poço de mercúrio. Assim, na célula contendo os três eletrodos a corrente flui entre o eletrodo de trabalho e contra-eletrodo.<sup>62</sup>



**Figura 7.** Representação de uma célula eletroquímica. Sendo ER= Eletrodo de Referência, CE = Contra eletrodo e ET = Eletrodo de trabalho.

### 3.2.1 Polarografia clássica ou de varredura linear

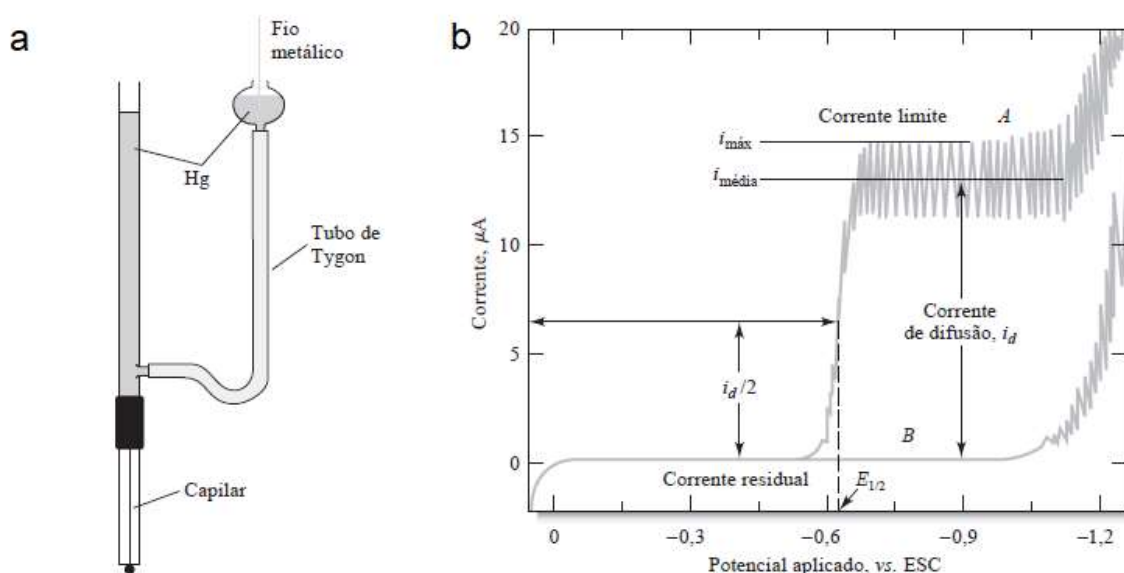
A polarografia foi a primeira técnica de voltametria a ser empregada. Esta técnica utiliza um eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) como eletrodo de trabalho e foi primeiramente estudada por Heyrovsky,<sup>63</sup> na qual foi aplicada nos processos envolvendo íons metálicos em soluções.

Na polarografia clássica utiliza-se um sistema com dois eletrodos, sendo o eletrodo de trabalho com superfície relativamente pequena e o eletrodo de

referência com área relativamente grande. Nesse sistema, somente o eletrodo de trabalho é polarizado pois o potencial é aplicado no eletrodo de trabalho frente ao eletrodo de referência.<sup>64</sup>

Empregado nos primeiros experimentos polarográficos o EGM é composto por 10 cm de um tubo capilar com diâmetro interno de 0,05 mm que faz com que uma nova gota se forme e se quebre em aproximadamente 2 a 6 s. O mercúrio é forçado por um volume do metal que está contido em uma coluna de cerca de 50 cm de altura, acima do capilar.<sup>65</sup>

Na célula contendo um EGM, ocorrem variações periódicas na corrente correspondentes à velocidade de formação da gota. Com o aumento da área superficial de uma gota a corrente aumenta proporcionalmente, e à medida que a gota se solta do capilar e corrente decresce para zero, dessa maneira a corrente de difusão normalmente é verificada no máximo da variação da corrente. Um eletrodo EGM é mostrado na **Figura 8**.



**Figura 8.** Eletrodo gotejante de mercúrio - EGM (a). Polarograma para uma solução de HCl 1,0 mol L<sup>-1</sup> contendo 5,0x10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de Cd<sup>2+</sup> e uma solução de HCl 1,0 mol L<sup>-1</sup> (b). Figuras retiradas da referência 25.

Na análise de polarografia, o polarograma obtido somente no eletrólito revela uma pequena corrente, a corrente residual, presente na célula mesmo na ausência do analito. Sendo o transporte de massa controlado essencialmente pelo mecanismo de difusão, as correntes limites são normalmente correntes de difusão e são denominadas pelo símbolo  $i_d$ , assim a corrente de difusão, na qual é proporcional a concentração do analito, é a diferença entre a corrente média e a corrente residual.<sup>60</sup> Como pode ser observado na **Figura 8.b**.

Na equação de Ilkovic destaca-se a relação entre a corrente de difusão e a concentração do analito. Esta equação considera algumas variáveis como a velocidade do crescimento do eletrodo, o tempo da gota em segundos, a velocidade do fluxo de mercúrio e o coeficiente de difusão, conforme descrito na **Equação 1**:

$$(i_d) = 607 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C \quad \text{Equação 1}$$

Sendo:

$i_d$  = Corrente de difusão ( $\mu\text{A}$ );

$n$  = Número de elétrons;

$D$  = Coeficiente de difusão ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )

$m$  = Velocidade do fluxo de Hg ( $\text{mg s}^{-1}$ )

$t$  = Tempo da gota (s)

$C$  = Concentração ( $\text{mmol L}^{-1}$ )

Apesar desta técnica ser amplamente aplicada no passado, ela apresenta algumas desvantagens como, o fato da corrente resultante percorrer o eletrodo de referência e no EGM a escala de tempo ser controlada pela vida útil da gota o que não pode variar fora do intervalo de 0,5 a 10 s.<sup>62</sup>

Outra desvantagem é o mercúrio ser facilmente oxidado e isto limita severamente a faixa de potenciais anódicos empregada nas análises. O EGM também apresenta uma corrente não faradaica ou seja, a corrente residual, assim o limite de detecção é alto (na ordem de  $10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>), ou seja, em baixas concentrações a corrente de difusão pode ser sobreposta pela corrente residual, ocorrendo assim a inexatidão das correntes de difusão.<sup>65</sup> Por fim, o uso do mercúrio é controverso, uma vez que se trata de um metal altamente tóxico.

### **3.2.2 Voltametria de Varredura linear**

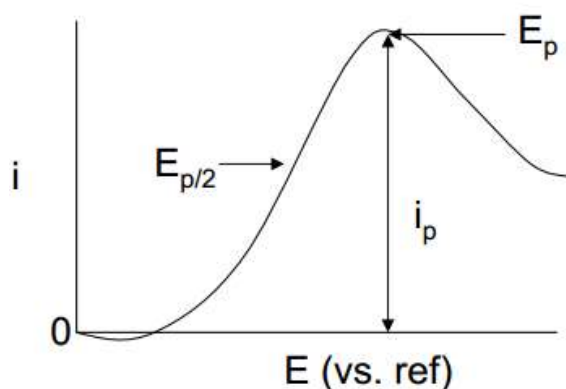
A voltametria de varredura linear é a mais simples técnica voltamétrica. O potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia linearmente com o tempo e pode ser aumentado ou diminuído a uma velocidade de 2 a 5 mV s<sup>-1</sup>, o que possibilita a aplicação de elevadas velocidades de varredura, porém a torna uma técnica não muito sensível.<sup>66</sup>

A corrente é medida em função do potencial aplicado, assim as contribuições à corrente total são tanto faradaica, quanto capacitiva prejudicando a aplicação desta técnica em medidas quantitativas com concentrações muito baixas, pois os limites de detecção são na ordem de  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>.<sup>64</sup>



Os voltamogramas de varredura linear geralmente têm forma de uma curva sigmoidal, no qual apresenta a corrente limite, ou seja, o patamar de corrente que é observado no topo da onda voltamétrica. Esta corrente é limitada pela velocidade que o reagente é conduzido à superfície do eletrodo por processos de transporte de massa. As correntes limites normalmente são proporcionais às concentrações dos reagentes.<sup>65</sup>

Na corrente correspondente à metade da corrente limite tem-se o potencial denominado potencial de meia onda ( $E_{1/2}$ ), geralmente utilizado na identificação de componentes de uma solução, como pode ser observado na **Figura 9**.<sup>60</sup>.

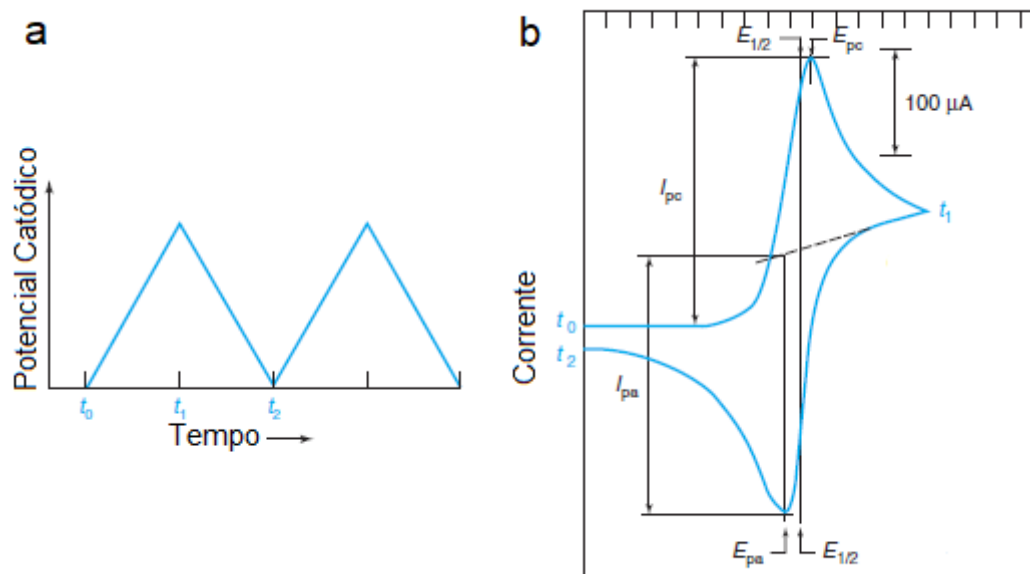


**Figura 9.** Representação do voltamograma de uma voltametria de varredura linear. Sendo  $i_p$  a corrente limite, também chamada de corrente de pico.  $E_p$  o potencial referente a corrente limite e  $E_{1/2}$  o potencial de meia onda. Figura retirada e modificada da referência 29.

### 3.2.3 Voltametria Cíclica (VC)

A voltametria cíclica (VC) é uma técnica normalmente empregada para adquirir informações qualitativas sobre os processos eletroquímicos, tais como, o estudo de reações redox, detecção de intermediários de reação e observação de reações envolvendo produtos formados nos eletrodos.<sup>64</sup>

Em uma VC, a varredura de potencial é feita em uma direção e em seguida na direção inversa enquanto a corrente é medida, e nesse experimento pode ser empregado um ciclo inteiro, meio ciclo ou vários ciclos. O sistema é excitado na forma de uma onda triangular, como mostrada na **Figura 10.a**.



**Figura 10.** Representação do formato da onda na voltametria cíclica (a) e voltamograma adquirido a partir de um experimento de voltametria. Onde,  $E_{1/2}$  é o potencial de meia onda,  $E_{pc}$  potencial catódico,  $E_{pa}$  potencial anódico,  $I_{pc}$  corrente catódica e  $I_{pa}$  corrente anódica. Figura retirada e modificada da referência 26.

A onda na forma triangular produz a varredura no sentido direto e posteriormente no sentido inverso. Assim, durante a varredura mede-se a corrente resultante do potencial aplicado, o gráfico da corrente resultante é denominado voltamograma cíclico, um exemplo pode ser observado na **Figura 10-b**.

Neste exemplo observa-se a ilustração da resposta esperada de um par redox quasi-reversível durante a aplicação do potencial. Assume-se que a forma oxidada (O) é a única presente inicialmente. Aplicando-se o potencial para valores mais catódicos a corrente aumenta de maneira a atingir o pico. Depois de atravessar a região em que o processo ocorre, a direção do potencial de varredura é invertida, e durante a varredura feita da maneira inversa, moléculas na forma reduzida – R, geradas no meio do ciclo e acumuladas perto da superfície do eletrodo – são reoxidadas de volta para o estado O segundo mostrado na **Equação 2**.<sup>62</sup> Assim, o ciclo característico no voltamograma é gerado pela formação da camada de difusão perto da superfície do eletrodo.



Em uma VC o voltamograma obtido depende do tipo de mecanismo redox que o analito em questão sofre no eletrodo. Desta maneira, dois componentes principais determinam as reações que ocorrem no eletrodo, a transferência por difusão de massa do analito para a superfície do eletrodo e a transferência de carga entre o eletrodo e o analito, podendo ocorrer uma reação química concomitante a esses processos.<sup>64</sup>

Em um processo reversível ocorre a aproximação dos picos de oxidação e redução, ou seja, o processo de transferência de elétrons é reversível e os coeficientes de difusão das formas reduzidas e oxidadas são o mesmo. Assim, se a reação é reversível a separação entre os picos de potencial,  $\Delta E_p$ , é pequena (aproximadamente  $58/n$  mV), isso significa que a reação é rápida o

suficiente para manter as concentrações das formas oxidadas e reduzidas em equilíbrio na superfície do eletrodo.<sup>67</sup> Esse equilíbrio se traduz na equação de Nernst:

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \left( \frac{[R]}{[O]} \right) \quad \text{Equação 3}$$

Sendo:

$E_0$  = Potencial padrão de eletrodo;

$R$  = Constante do gás ideal (8,314 J K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>);

$T$  = Temperatura (K);

$n$  = Número de mols de elétrons;

$F$  = Constante de *Faraday* (96.485 coulombs por mol de elétrons);

ln = Logaritmo natural (2,303 log).

Uma característica predominante em sistemas reversíveis é a dependência da corrente do pico ( $i_{pc}$ ), aumentando de maneira linear, pela raiz quadrada da velocidade de varredura ( $v^{1/2}$ ). Isto ocorre, pois, a cinética de reação de transferência de carga é rápida e apenas a transferência difusional de massa contribui nesse processo.<sup>64</sup>

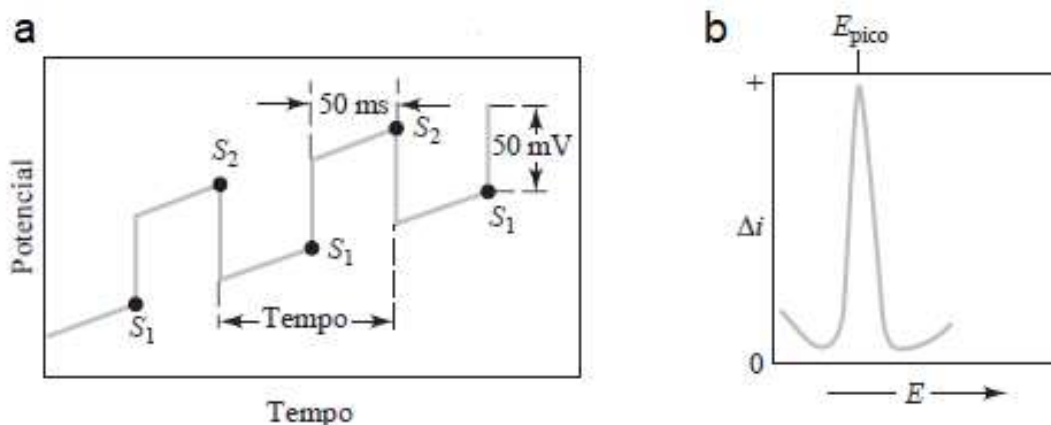
Em uma reação quase-reversível ocorre tanto a transferência de massa quanto a transferência de carga, sendo assim a equação de Nernst é aproximadamente satisfeita. Desta maneira, a relação linear entre a corrente de pico ( $i_{pc}$ ) ou densidade de corrente de pico ( $j_{pc}$ ) com a raiz quadrada da velocidade ( $v^{1/2}$ ) é dada pela equação de Randles-Sevick:

$$j_{pc} = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} D^{1/2} C v^{1/2} \quad \text{Equação 4}$$

Onde  $j_{pc}$  é a densidade de corrente de pico ( $A \text{ cm}^{-2}$ ),  $n$  é o número de mols de elétrons transferidos,  $D$  é o coeficiente de difusão do par redox ( $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ),  $C$  é a concentração do par redox ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) e  $v$  é a velocidade de varredura do potencial ( $\text{mV.s}^{-1}$ ). Sendo o valor da área eletroativa introduzido na densidade de corrente.

#### 3.2.4 Voltametria de pulso diferencial (VPD)

Visando diminuir os limites de detecção de medidas voltamétricas técnicas de voltametrias de pulso foram desenvolvidas. Tais técnicas permitem a quantificação de concentrações na ordem de  $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ . São aplicados pulsos e após aplicação dos pulsos de potencial a corrente capacitiva diminui de maneira muito rápida (exponencialmente) a um valor muito pequeno enquanto a corrente faradaica decai mais lentamente, assim o sinal analítico é mensurado no final da aplicação.<sup>68</sup> Um exemplo pode ser observado na **Figura 11.b.**



**Figura 11.** Sinais de excitação para voltametria de pulso diferencial (a). Voltamograma de um experimento de voltametria de pulso diferencial (b). Figura retirada e modificada a referência 25.

A **Figura 11.a** mostra o sinal de excitação para a VPD, um pequeno pulso de aproximadamente 50 mV é aplicado durando aproximadamente 50ms. Duas medias são realizadas alternadamente uma em  $S_1$ , antecedendo a aplicação do pulso e a outra  $S_2$  logo após o final do pulso.<sup>68</sup> A diferença de corrente ( $\Delta i$ ) é registrada à medida que a voltagem aumenta linearmente. Assim o resultado é uma curva diferencial com um pico, o qual é proporcional à concentração do analito segundo a **Equação 5**.<sup>60 64</sup>

$$i_p = \frac{nFAD^{1/2}C}{\sqrt{\pi t_m}} \left( \frac{1-\sigma}{1+\sigma} \right) \quad \text{Equação 5}$$

Sendo:

$i_p$  = corrente de pico ( $\mu A$ );

$n$  = numero de elétrons envolvidos na reação redox;

$F$  = constante de Faraday (Coulombs);

$A$  = Área do eletrodo ( $cm^2$ );

$t_m$  = tempo entre a segunda e a primeira leitura de corrente (s);

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

$C$  = concentração do analito ( $\text{mmol L}^{-1}$ );

$$\sigma = \exp\left(\frac{nF\Delta E}{2RT}\right);$$

$\Delta E$  = amplitude de pulso.

### 3.3 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

A espectroscopia de impedância Eletroquímica (EIE) fornece informações detalhadas das características elétricas da interface eletrodo/solução, as quais são importantes na caracterização de eletrodos modificados. A EIE é uma técnica de estado estacionário, que envolve a aplicação de uma perturbação senoidal, podendo ser da corrente ou dos potenciais aplicados. Como resultado, observa-se a resposta, a corrente ou a diferença de potencial resultante, ao estímulo aplicado.<sup>65</sup>

A EIE é uma técnica que utiliza corrente alternada, e ao se medir a corrente alternada que atravessa a célula eletroquímica obtém-se a impedância  $Z$  (ohms), na qual é a divisão do potencial elétrico aplicado ( $E$ ) em volts, pela corrente elétrica medida ( $I$ ) em amperes. A partir dos dados de impedância é possível verificar se o circuito elétrico contém um capacitor (componente que armazena energia elétrica frente a um campo elétrico), um indutor (dispositivo elétrico que armazena energia elétrica na forma de campo magnético) e um resistor (dispositivo que transforma energia elétrica em energia térmica).<sup>69</sup>

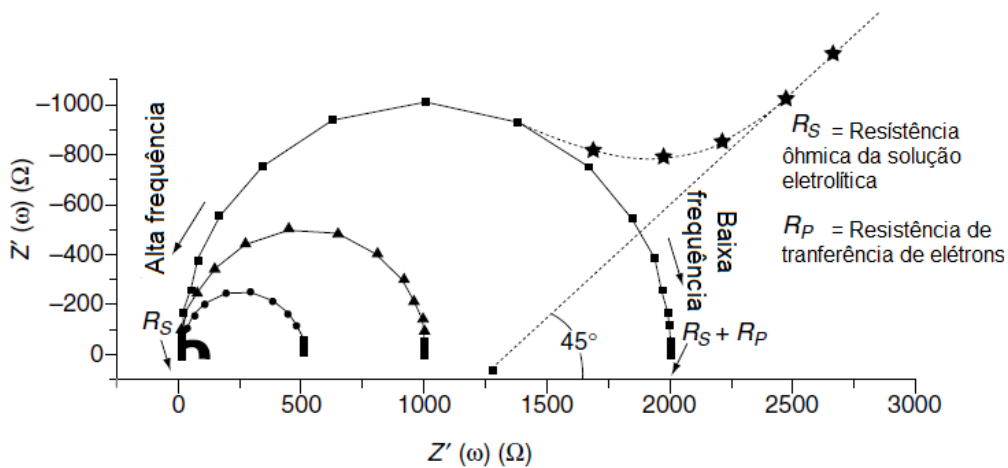
A interpretação dos resultados obtidos pelos experimentos de impedância é realizada observando-se os espectros obtidos. Ao analisar os dados contidos nos gráficos, obtém-se as características do sistema, como o

ângulo da fase ( $\theta$ ) e as partes real e imaginária  $Z'$  e  $Z''$ , da impedância total  $|Z|$ , para cada frequência aplicada. Os gráficos resultantes do ensaio de impedância relacionam a frequência de excitação ( $f$ ), em Hz, com o ângulo de fase e a magnitude da impedância e também os componentes real e imaginário da impedância.

O espectro de impedância resultante em formato de gráfico conhecido como Nyquist, que corresponde à dependência do número imaginário ( $Z''$ ) ao número real ( $Z'$ ), e nesse espectro contém informações sobre a interface eletrificada e a reação de transferência de elétrons. O diagrama de Nyquist (**Figura 12**) inclui uma região de semicírculo no eixo seguida por uma linha reta. A porção do semicírculo corresponde ao processo de transferência eletrônica, observada em frequências mais altas, enquanto a linha reta representa o processo de difusão que pode ser observada em faixa de baixa frequência.<sup>68</sup>

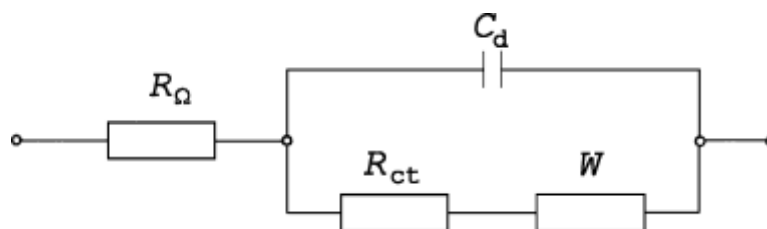
Extraí-se desses espectros características da cinética de transferência eletrônica e difusional. Em processos de transferência eletrônica muito rápidos, o espectro de impedância inclui somente a porção da reta, e para processos lentos de transferência de elétrons o espectro é caracterizado por uma grande região semicircular, no qual seu diâmetro é igual a resistência de transferência de elétrons.<sup>70</sup>





**Figura 12.** Espectro de impedância apresentado na forma de gráfico Nyquist. Figura adaptada da referência 68.

As transformações eletroquímicas que ocorrem na interface eletrodo-solução podem ser modeladas utilizando componentes de sistemas eletrônicos. Assim, circuitos equivalentes podem ser gerados, os quais correspondem aos espectros de impedância experimental. Os circuitos mais utilizados para modelar fenômenos interfaciais são os modelos de circuito equivalente de Randles e Ershler, mostrado na **Figura 13**. Esse circuito inclui a capacitância da dupla camada ( $C_d$ ), a resistência ôhmica da solução eletrolítica ( $R_\Omega$ ), a resistência de transferência de elétrons ( $R_{ct}$ ) e a impedância de Warburg ( $W$ ) resultante da difusão de íons da solução para a superfície do eletrodo.<sup>68, 69</sup>

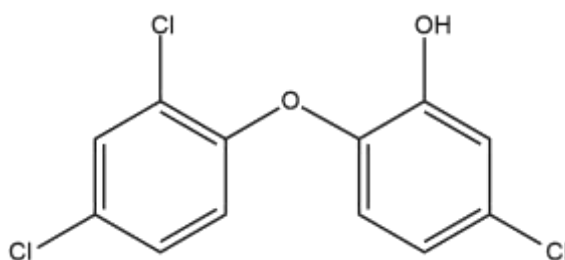


**Figura 13.** Circuito equivalente de Randles. Figura adaptada da referência 69.

### 3.4 Triclosan (TCS)

O triclosan, 5-cloro-2-2(2,4-diclorofenoxi)fenol (**Figura 14**), também comercializado com o nome Irgasan DP300 é um pó branco, cristalino, com um odor característico fenólico. É um conservante e agente antimicrobiano utilizado extensivamente em produtos de higiene pessoal, como creme dental, sabonete, xampu e loções para a pele. Sua concentração nesses produtos pode variar de 0,1 a 0,3% do peso do produto, sendo 0,3% o máximo a ser utilizado no produto segundo a Agência de alimentos e drogas dos Estados Unidos da América (USFDA).<sup>71</sup>

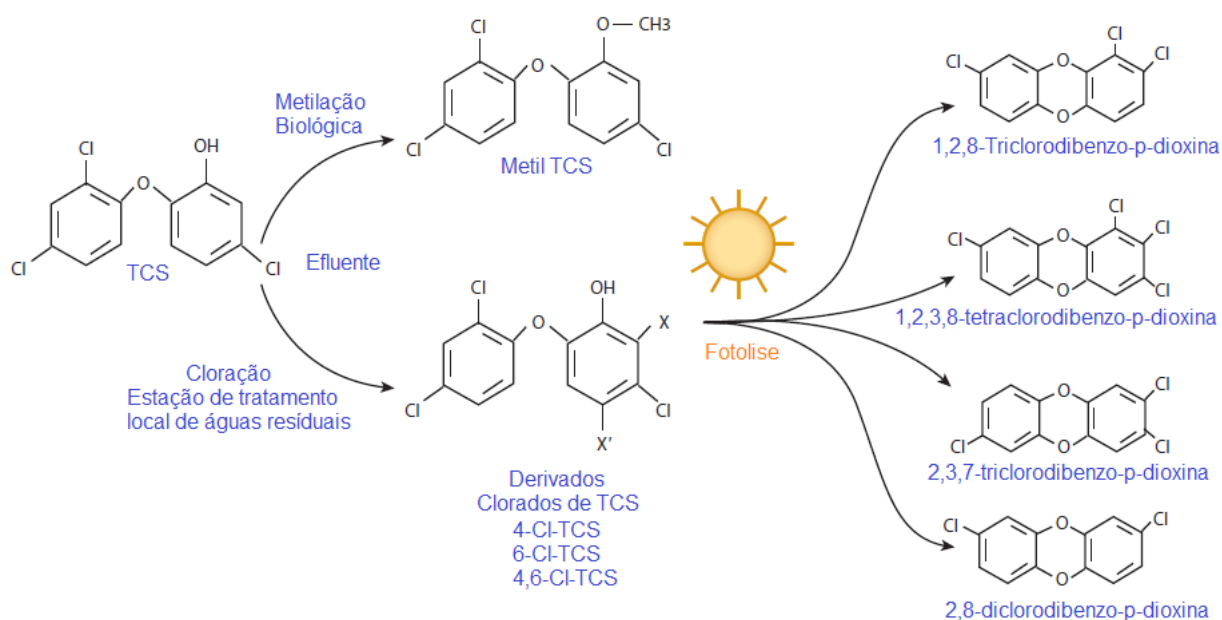
Em água, a solubilidade do TCS é de  $10^{-6}$  g mL<sup>-1</sup> aumentando quando o pH se torna mais alcalino. Entretanto, seu coeficiente de partição ( $\log P = 5,4$ ) indica que o TCS seja lipofílico.<sup>72</sup> Sua estrutura é semelhante a do bisfenol-A, hormônios da tireoide e dioxinas. Desta maneira, o TCS é considerado um disruptor do sistema endócrino, principalmente na homeostase do hormônio tireoidiano.<sup>73</sup>



**Figura 14.** Estrutura molecular do Triclosan, 5-cloro-2-2(2,4-diclorofenoxi) fenol.

Alguns problemas de saúde atribuídos ao TCS foram reportados, devido ao seu acúmulo no corpo humano ao longo do tempo. Compostos tóxicos como o

metil triclosan – que é mais lipofílico que seu composto de origem contribuindo para sua bioacumulação no ambiente e em humanos - e fenóis clorados podem ser formados após a metilação do TCS.<sup>74</sup> Estruturas derivadas do TCS são apresentadas na **Figura 15**.



**Figura 15.** Estruturas derivadas do TCS encontrados em efluentes e estações de tratamento de águas residuais.

Encontrado também em outros produtos de consumo como tecidos, roupas, materiais de limpeza e dispositivos médicos, o TCS tem impacto altamente destrutivo em vários organismos estando entre o mais sensíveis aos seus efeitos bactérias, plantas, peixes, aves, protozoários e mamíferos em ecossistemas aquáticos.<sup>75</sup>

O TCS é considerado um dos principais contaminantes encontrado em ambientes aquáticos e terrestres. Sua concentração varia em partes por bilhão em águas superficiais e partes por milhões em sedimentos aquáticos. Tais concentrações elevadas são causadas pelo alto uso do TCS colaborando para a permanência desse composto no ambiente.<sup>76</sup>

Níveis elevados de TCS em águas superficiais, cujo a concentração é influenciada por esgoto bruto e tratado, afeta peixes, algas e crustáceos. Parolini e colaboradores<sup>77</sup> estudaram a toxicidade de cinco produtos de higiene pessoal, incluindo o TCS. A espécie *Dreissena polymorpha* (Mexilhão-zebra) foi exposta a diferentes concentrações dos produtos por noventa e seis horas. O estudo revelou que os produtos demonstram efeitos drásticos à espécie de mexilhão, sendo o TCS o mais tóxico, seguido por trimetoprim, ibuprofeno e diclofenaco.

No ambiente, pode ocorrer a forma dissociada do TCS devido a seu pKa ser 7,9 o que o torna persistente em ambientes aquáticos, pois ânions geralmente não adsorvem ao carbono orgânico e a argila tão fortemente como suas formas neutras. Entretanto, o TCS, na presença de luz solar, sofre degradação oxidativa pelo ozônio e cloro sendo um mecanismo eficiente para a remoção do TCS em águas residuais.<sup>78</sup>

Estudos *in vitro* evidenciam os efeitos neurotóxicos causados pelo TCS. O estudo de Muth-Kohne *et al.*, por exemplo, mostrou que a alta concentração de TCs – cerca de 2,8  $\mu\text{M}$  – pode atrasar levemente o desenvolvimento de neurônio motores secundários em peixe-zebra.<sup>79</sup> O TCS, na concentração de 10  $\mu\text{M}$ , contribuiu para induzir a fragmentação de DNA no receptor Fas em culturas primárias de neurônios neocorticais *in vitro* de camundongos, mostrando a toxicidade do TCS.<sup>80</sup>

Outro estudo realizado por Park *et al.*, mostrou que o TCS na concentração de 50  $\mu\text{M}$ , reduz significativamente as defesas antioxidantes por homeostase de espécies reativas de oxigênio, causando a neurotoxicidade no desenvolvimento do cérebro de ratos.<sup>81</sup> Complementando, em 2018, Sahu *et al.*

relataram que a exposição do TCS ao hipotálamo pode apresentar parâmetros de comportamento e funções neurológicas alteradas devido ao aumento de espécies reativas de oxigênio.<sup>82</sup>

O TCS pode migrar facilmente para o cérebro humano e para tecidos animais e causar alterações adversas em vários órgãos. Elizadeh *et al.* realizaram um estudo com camundongos, nos quais, receberam doses de 1000, 2000 e 4000 mg/Kg por gavagem durante 14 dias consecutivos, enquanto animais controle recebiam óleo de milho. Os autores revelam que ao final da exposição foram realizados teste de atividade locomotora, coordenação e comportamento de ansiedade, observando que ocorreu mudança na atividade locomotora e na coordenação de camundongos. Além dos comportamentos semelhantes, a ansiedade e força foram gravemente afetados, resultando em distúrbios comportamentais graves nessas espécies.<sup>83</sup>

Pullaguri *et al.* relataram efeitos tóxicos do TCS nos estágios de desenvolvimentos da espécie de peixe zebra. Os indivíduos foram expostos a 0,3 e 0,6 mg/L de TCS por 48 horas realizando um teste de comportamento ao final da exposição. Os autores descrevem que os grupos expostos a TCS apresentaram locomoção reduzida e movimentos irregulares, sugerindo que o TCS induz um comportamento semelhante à ansiedade em adultos. Os autores descobriram ainda que, a exposição ao TCS diminui a atividade da acetilcolinesterase no cérebro e no músculo esquelético do peixe zebra adulto indicando que mesmo uma curta exposição ao TCS é suficiente para induzir anomalias comportamentais nessa espécie.<sup>84</sup>

A concentração de TCS na urina de homens, bem como, a qualidade do sêmen foi estudada por Nassan *et al.* Ao todo, foram analisadas 581 amostras

de urina e sêmem juntos coletadas entre os anos de 2009 a 2017. Os autores encontraram padrões consistentes em homens com idade média de 36,6 anos (5 – 24) com IMC de 27,9 (5 – 94 Kg) mostrando que 72% dos homens com quantidade detectadas na urina de TCS, apresentam menor quantidade de espermatozoides morfolologicamente normais do que homens que não apresentam quantidades detectáveis de TCS, demonstrando que tal substância pode afetar de maneira direta a produção de espermatozoides sadios.<sup>85</sup>

O estudo relacionando a concentração de TCS e a contagem de óvulos realizado com 511 mulheres de 25 a 39 anos foi relatado por Jurewicz *et al.*. No estudo, os autores relatam que a exposição ao TCS pode afetar negativamente a contagem dos óvulos, que em altas doses pode diminuir a fertilidade em mulheres.<sup>86</sup>

Estudo epidemiológicos documentam a detecção de TCS na urina, sangue e leite materno em diferentes regiões do mundo e sugerem que a população em geral está exposta ao TCS.<sup>75</sup> Um estudo realizado nos EUA em amostras de urina na população em geral, revelou concentrações de 2,4 a 3,7 µg/L em 74,6 dos 2.517 participantes, com os níveis mais altos encontrados na população de jovens adultos na faixa dos 20 anos de idade em posições socioeconômicas mais elevadas.<sup>87</sup>

O estudo realizado por Cooper e Kosatsky<sup>88</sup> demonstra o efeito em mulheres que nasceram na Índia ou China mas que moram e são novas em Vancouver (Canadá). O estudo foi efetuado com 100 mulheres com idade de 19 a 45 anos recrutadas entre os anos de 2015 e 2016. As participantes realizaram uma entrevista, na qual relatam a potencial fonte de TCS e as amostras foram testadas por cromatografia gasosa acoplada ao

espectrofotômetro de massas. Nos resultados, os autores constataram que o TCS foi encontrado em 62% das amostras de urina com uma concentração média de 14,5 µg/L. Usuárias do creme dental antibacteriano apresentaram maiores concentrações de TCS (média de 34µg/L) que as mulheres que não usam este creme dental em específico, além de notarem que as mulheres nascidas no sul da Ásia apresentam concentrações mais elevadas que as nascidas no leste da Ásia, provavelmente associada a diferença na educação em saúde.

Um estudo realizado na área de Boston (EUA) com 317 mulheres que procuraram tratamento para fertilidade descreve a associação da concentração de TCS na urina com a função tireoidiana sérica. A quantidade de TCS foi quantificada juntamente com a concentração de biomarcadores como triiodotironina (hormônio estimulador da tireoide) e anticorpos da tireoide. Os autores relatam diferenças nos biomarcadores da função tireoidiana com o aumento do TCS, ou seja, a cada aumento de 10 vezes da concentração de TCS há o decréscimo proporcional da triiodotironina e dos anticorpos, sugerindo que concentrações de TCS podem afetar a homeostase da tireoide e a autoimunidade nos indivíduos testados.<sup>89</sup>

Com o uso extensivo do TCS e sua presença conhecida no meio ambiente assim como os seus possíveis impactos, é crucial que métodos analíticos sejam sensíveis para permitir a detecção e quantificação confiáveis de TCS em diferentes sistemas.

### 3.5 Sensores eletroquímicos para TCS

Os sensores químicos são dispositivos que convertem informações químicas em sinais elétricos mensuráveis. Tais sensores possuem uma camada eletroativa que interage com o analito de interesse e esse evento é traduzido em um sinal elétrico. Em particular, os sensores eletroquímicos se baseiam na medida da corrente ou da diferença de potencial entre um eletrodo sensível ao analito e o eletrodo de referência, provenientes da oxidação e/ou redução da espécie em estudo. A utilização dos sensores tem crescido desde a década de 1980 e algumas tecnologias já são encontradas no mercado como por exemplo, sensores para glicose usados por diabéticos e sensores de gases a base de óxidos metálicos.<sup>90</sup>

Em destaque, e objeto de estudo deste trabalho, está o triclosan (TCS). O TCS é um agente antibacteriano não-iônico que tem sido extensivamente utilizado em produtos de higiene pessoal, como pasta de dente, xampu e sabão líquido. O TCS tem sido encontrado na água de rios e lagos e, principalmente, em animais aquáticos como peixes. Geralmente, é considerado com uma baixa toxicidade química, porém pode ter efeitos adversos como leve coceira e alergia em peles sensíveis.<sup>8</sup>

Eletrodos modificados foram propostos para detecção de TCS. Amiri *et al.*<sup>91</sup> modificaram eletrodo de ITO com um filme ultrafino de 20 bicamadas composto de nanopartículas de carbono e cloridrato de poli(dialil dimetilamônio) (PDAC). O filme foi testado em tampão fosfato pH 9,5 para adsorção de tetrassulfonato de ftalocianina de ferro (III), um sistema redox aniônico para mostrar a reatividade e condutividade elétrica do filme. Atestando a condutividade, o



eletrodo foi utilizado para identificação de TCS em meio aquoso, e segundo os autores, o eletrodo foi capaz de detectá-lo devido à carga negativa do TCS ser acumulada no filme por interação eletrostática nos sítios catiônicos do filme. Apesar de detectar, não é demonstrado pelos autores que o eletrodo foi capaz de quantificar analiticamente o TCS, tanto em amostras padrão quanto em amostras ambientais.

Em outro caso, um filme de multicamadas de nanotubos de carbono foi desenvolvido para detecção de TCS. As respostas eletroquímicas do TCS foram examinadas pela oxidação irreversível envolvendo um elétron. Nesse filme, o sinal de oxidação do TCS aumenta como o acréscimo da concentração no meio aquoso, apresentando limite de detecção de  $16,5 \mu\text{g L}^{-1}$ .<sup>92</sup>

Embora tais eletrodos possam detectar e quantificar a molécula de TCS, os limites encontrados ainda estão distantes das concentrações encontradas em águas de rios e lagos. A incorporação de np-Au em nanomateriais para a produção de eletrodos modificados é uma estratégia estudada para diminuir os limites de detecção. Como mostrado por Yola *et al.*<sup>93</sup> que modificaram um eletrodo de carbono vítreo com polioxometalato (POM) e RGO decorados com np-Au, o sensor nomeado como np-Au/POM/RGO/GC foi capaz de quantificar TCS por voltametria de pulso diferencial em águas residuais apresentando limite de detecção de  $0,15 \text{ nmol L}^{-1}$ , atribuído ao efeito eletrocatalítico das np-Au incorporadas no compósito. Uma variedade de materiais são utilizados para melhorar o desempenho de um biosensor, principalmente para detecção de micropoluentes, como óxido de grafeno (GO)<sup>94</sup>, nanotubos de carbono (CNTs)<sup>95</sup>, nanopartículas metálicas<sup>96</sup>, entre outros.

Os CNTs, os quais possuem alta condutividade elétrica, estabilidade química e resistência mecânica, foram utilizados por Zheng *et al.*<sup>97</sup> onde segundo os autores são adequados para modificação da superfície de um eletrodo para aplicação em sensores.

Este grupo utilizou CTNs como suporte para nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (np $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) envoltas pelo polímero poli(pirrol) que também foi utilizado como suporte para nanopartículas de paládio (Pd), gerando o nanocomposto nomeado pelos autores de CNTs/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @PPy/Pd. O interesse dos autores no polímero poli(pirrol) se deve as suas propriedades eletroquímicas distintas, tais como sofrer reações redox reversíveis, além de ser biocompatível e um ótimo suporte para nanopartículas metálicas.

Para a detecção, as amostras em diferentes concentrações foram enriquecidas com 100  $\mu\text{L}$  de TCS e misturadas a 10  $\mu\text{L}$  da suspensão do composto sob agitação vigorosa por 3 minutos. Logo após, com a ajuda de um ímã, o TCS anexado ao composto é coletado e utilizado para a medida eletroquímica.

Os autores concluíram, após todos os experimentos realizados, que os CNTs não apenas melhoram a condutividade elétrica do nanocomposto como também são utilizados como suporte para o  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . O polímero, melhora o desempenho do eletrodo devido a sua condutividade elétrica, protege o  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  da corrosão, e é suporte para np-Pd (nas quais atuam nos sensores como andaimes devido a sua biocompatibilidade).

Assim, o eletrodo elaborado com o composto CNTs/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @PPy/Pd mostrou-se eficiente aprimorando a cinética eletrônica para a oxidação do TCS além da modificação do eletrodo ser um procedimento simplificado e sem alto custo.<sup>97</sup>

## 4. Materiais e métodos

### 4.1 Reagentes e Solventes

Cloridrato de poli (dialil dimetilamônio) ( $C_8H_{16}ClN$ )<sub>n</sub> (PDAC), Sigma-Aldrich Co.;

Poli (4-estireno sulfonato de sódio) [-CH<sub>2</sub>CH (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>3</sub>Na)-]<sub>n</sub> (PSS), Sigma-Aldrich Co.;

Ácido cloroáurico trihidratado (HAuCl<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O), Sigma-Aldrich Co.;

Triclosan (C<sub>12</sub>H<sub>7</sub>Cl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, 97%), Sigma-Aldrich Co.;

Ferricianeto de potássio (III) [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>], Sigma-Aldrich Co.;

Ácido clorídrico PA. (HCl, 37%), VetecTM;

Ácido nítrico PA. (HNO<sub>3</sub>, 65%), VetecTM;

Citrato de sódio di-hidratado (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Na<sub>3</sub>.2H<sub>2</sub>O), VetecTM;

Di-hidrogenofosfato de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 99%) VetecTM;

Cloreto de potássio (KCl, 99,5%), Dinâmica;

Cloreto de sódio (NaCl, 99%), Dinâmica;

Fosfato dibásico de sódio (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 99%), Dinâmica;

Cloreto de poli(1-vinil-3-N-carboximetilimidazólio) (PVAI), cedido pelo grupo LAQUIMET- IQ da Universidade de Brasília

Água ultra pura (resistividade: 18.2 Mohm cm<sup>-1</sup> )

Substrato de quartzo (1.0 cm x 2.0 cm x 0.1 cm)

Substrato de ITO (2,5 cm x 1,0 cm 0,1 cm; resistividade: 15 ohm sq<sup>-1</sup>)

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Síntese de nanopartículas de ouro (np-Au)

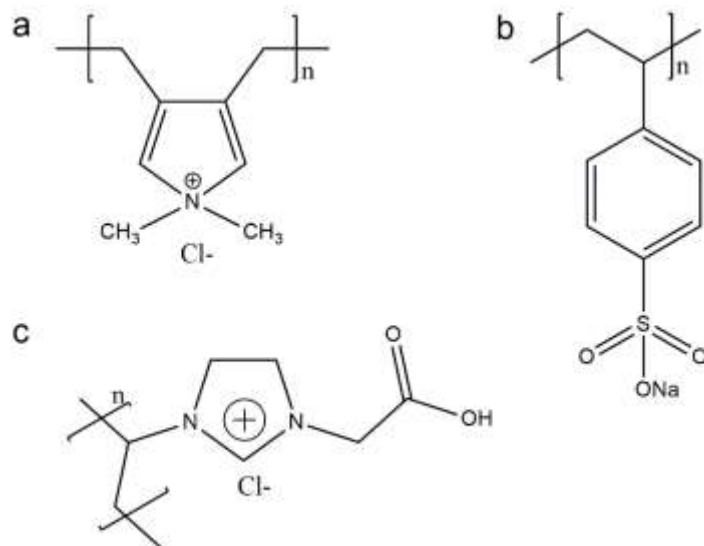
A síntese química das np-Au foi realizada seguindo o método tradicional, originalmente descrito por Turkevich,<sup>20</sup> no qual ocorre a redução do ácido cloroáurico com citrato de sódio. Todas as vidrarias utilizadas foram previamente lavadas com água régia (HNO<sub>3</sub>/HCl 1:3 v/v) para retirar qualquer resíduo, evitando qualquer interferência na etapa de nucleação.

Em um balão de fundo redondo de duas bocas, foram adicionados 10 mL da solução de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O (0,02 mmol L<sup>-1</sup>). Foi adicionada água ultrapura e completado o volume para 70 mL. A solução resultante foi mantida sobre agitação constante em banho de glicerina até atingir a temperatura de refluxo (≈95 °C). Ao alcançar a condição de refluxo, foram adicionados 5 mL de citrato de sódio (5,0 μmol L<sup>-1</sup>) de uma vez só. A solução final foi mantida em refluxo por mais trinta minutos e, em seguida, acondicionada em temperatura ambiente para resfriamento. Depois de resfriada foi guardada em um frasco âmbar previamente lavado.

O mesmo procedimento foi realizado para síntese de np-Au na presença de PVAI. Na etapa inicial além de serem adicionados 10 mL da solução de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O (0,02 mmol L<sup>-1</sup>) são adicionados também 2,5 mL de solução da PVAI (1,0 g L<sup>-1</sup>), (na **Figura 16** são mostradas as fórmulas estruturais dos polímeros utilizados).

Para analisar a influência do PVAI na formação das np-Au, foram sintetizadas amostras com concentrações diferentes de PVAI e para melhor

entendimento, as amostras foram intituladas de np-Au – PVAI -X, em que X é a razão molar entre PVAI/HAuCl<sub>4</sub>, sendo X= 5, 10 e 20.



**Figura 16.** Fórmula estrutural dos polímeros: Cloridrato de poli (dialil dimetilamônio) - PDAC (a), Poli- 4-estirenosulfonato de sódio – PSS (b), cloreto de poli(1-vinil-3-N-carboximetilimidazólio) – PVAI.

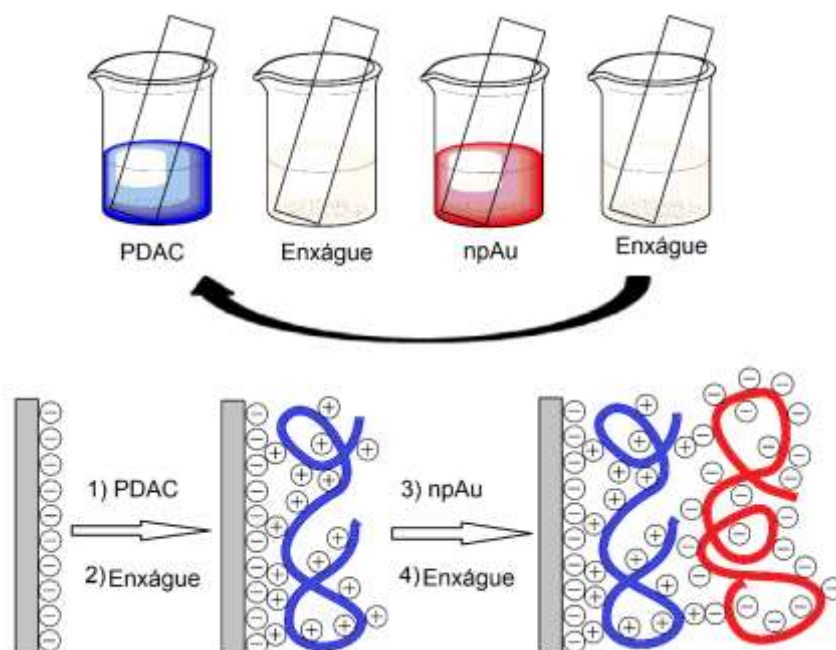
#### 4.2.2 Deposição dos filmes de np-Au

Os filmes foram depositados em substratos de ITO e vidro óptico. O substrato de vidro foi lavado com uma sequência de soluções, primeiramente com solução “piranha” (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 3:1, v/v) seguido por enxague abundante com água deionizada e posteriormente lavado com solução RCA (H<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/NH<sub>4</sub>OH, 5:1:1, v/v)<sup>99</sup> a 50 °C por 30 min. Após os 30 min imerso na solução RCA, o substrato de quartzo foi enxaguado abundantemente com água ultrapura e acondicionado em recipiente com água na geladeira até o momento da deposição.

Os substratos de ITO, por sua vez, foram lavados manualmente, um a um, com detergente neutro, transferidos para um béquer com solução de detergente neutro e água ultrapura, e submetidos a banho de ultrassom por 20 minutos. Após os 20 minutos, os substratos foram lavados com água ultrapura para retirada do detergente, imersos em água ultrapura em um béquer, e levados a mais 20 minutos no banho de ultrassom. Após completada todas as etapas, o ITO foi acondicionado em recipiente com água ultrapura dentro da geladeira até o momento da deposição dos filmes.

A deposição dos filmes foi realizada pela técnica de automontagem ou LbL<sup>100</sup>, por meio de imersões sucessivas e alternadas do substrato nas soluções dos materiais aniônicos e catiônicos, considerando-se que os filmes são formados, predominantemente, por atração eletrostática.

Na **Figura 17**, é mostrado o esquema de deposição utilizando a técnica LbL. Na primeira etapa (1) o substrato, negativamente carregado, é mantido imerso na solução de um polycation (PDAC), que forma uma camada adsorvida por atração eletrostática. Em seguida na etapa (2), o substrato+polycation é enxaguado para eliminar o material fracamente adsorvido. Posteriormente, na etapa (3), o substrato+polycation é imerso na solução de um poliânion (np-Au ou np-Au-PVAI) até a formação de uma nova camada. O substrato+polycation+poliânion é enxaguado, como mostrado na etapa (4), e ao final do ciclo, um filme com uma bicamada de polycation/poliânion é obtido. Os ciclos 1 a 4 podem ser repetidos até se atingir o número de bicamadas desejado.



**Figura 17.** Esquema de deposição do filme realizado pela técnica LbL por atração eletrostática.

#### 4.2.3 Caracterização estrutural

Os espectros de UV-vis das suspensões de np-Au e dos eletrodos modificados foram registrados com espectrofotômetro Varian Cary 5000. A formação de nanopartículas foi investigada nas amostras preparadas sem a adição de PVAI e com a adição de PVAI. Foram registrados também os espectros da deposição dos filmes a cada número pré-determinado de bicamadas, para monitoramento da deposição do material no substrato.

A morfologia das nanopartículas foi avaliada por imagens MET com o microscópio Jeol JEM-1011. As amostras foram diluídas em água e depositadas em telas de Cu pré-revestidas com Formvar® e deixadas em temperatura ambiente para secagem. A morfologia dos filmes foi observada por

imagens de MEV adquiridas com o microscópio JEOL JSM-7000F. Os filmes foram colocados em um suporte e metalizados com ouro.

O potencial zeta e o diâmetro hidrodinâmico (dH) foram obtidos com um equipamento Malvern Zeta Sizer Nano ZS, onde as suspensões coloidais foram diluídas em água a proporção de 100 vezes para o volume de 1 mL. O diâmetro médio das nanopartículas foi determinado com a contagem de no mínimo 300 partículas em imagens de MET utilizando o software Image J Pro Plus 5.

#### **4.2.4 Preparação das amostras de água do lago Paranoá**

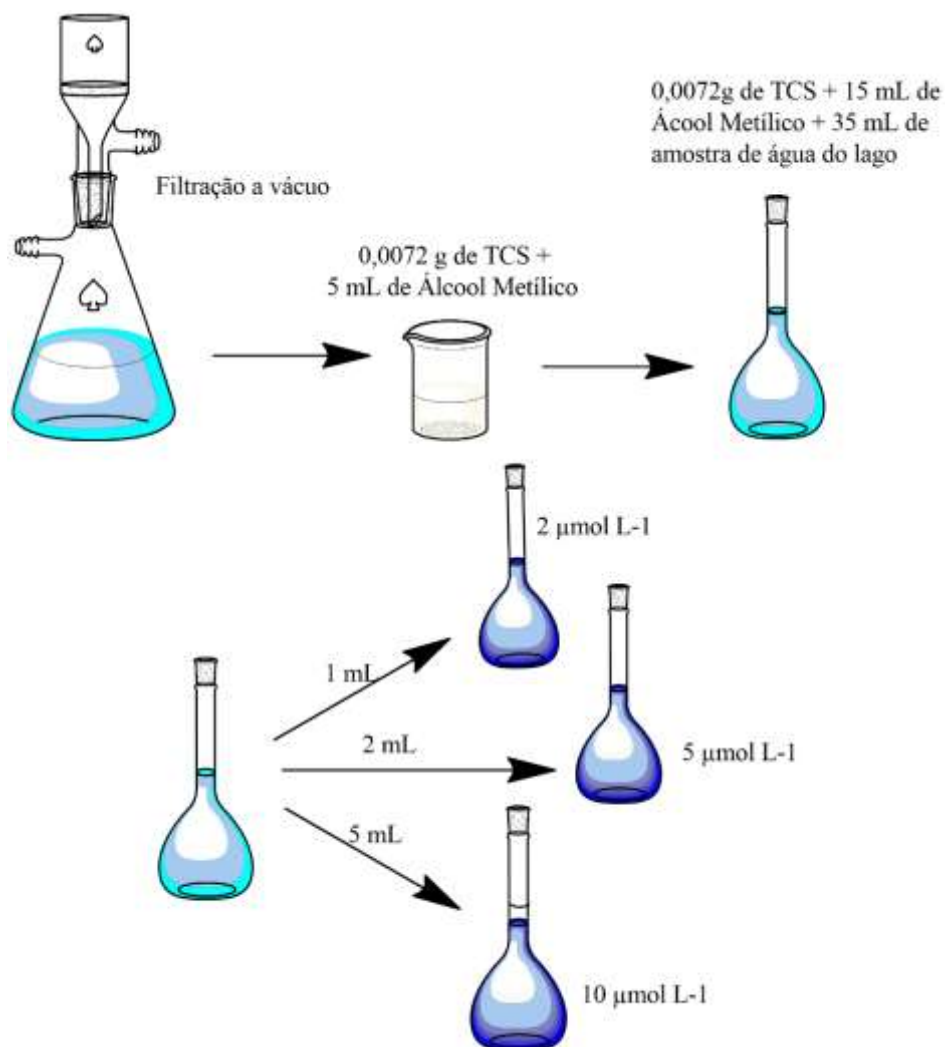
A amostra foi coletada através de um recipiente de plástico grande anexado a uma corda. O recipiente foi lançado ao lago e a água coletada foi transferida para um frasco âmbar de vidro de 1 L. A água coletada foi filtrada a vácuo utilizando uma membrana de acetato de celulose de 0,45 µm.

Após a amostra ser filtrada, pesou-se 0,0072 g de TCS padrão em um béquer de 10 mL e adicionou-se 5 mL de álcool metílico. O padrão dissolvido em álcool metílico foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL e depois de acrescentados mais 10 mL de álcool metílico ao balão para o padrão ser completamente dissolvido completou-se o volume do balão com a amostra de água filtrada. Este procedimento foi necessário pois a solubilidade do TCS na água é praticamente nula, necessitando, portanto, álcool metílico para dissolvê-lo.

Esta amostra (“solução-mãe”) foi utilizada para o preparo de 3 amostras com concentrações de 2, 5 e 10 µmol L<sup>-1</sup>, nas quais foram retiradas alíquotas



de 1 mL, 2 mL e 5 mL respectivamente, segundo esquema mostrado na **Figura 18**.



**Figura 18.** Representação esquemática do preparo de amostras de água do lago Paranoá.

#### 4.2.5 Preparação das amostras de pasta de dente

A amostra de creme dental comercial contendo 0,3 % em massa de TCS foi dissolvida em 50 mL de água destilada com 10 mL de HCl 6 mol L<sup>-1</sup> e mantida sob agitação magnética e aquecimento (80 °C) durante 30 minutos. A mistura foi mantida em repouso até à temperatura ambiente e adequadamente

diluída em balão volumétrico de 100 mL. A mistura foi sonicada por 10 minutos a amplitude de 10% e acondicionada em frasco âmbar antes de ser utilizada na cromatografia e nas medidas eletroquímicas.

#### **4.2.6 Medidas eletroquímicas**

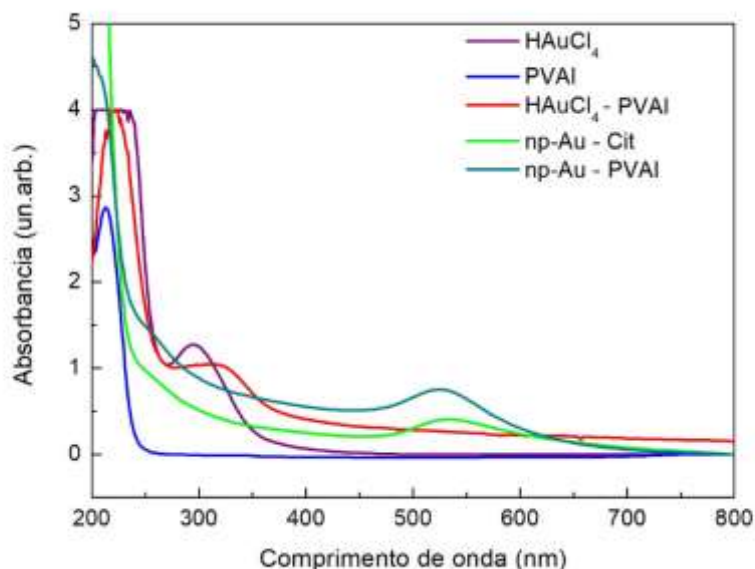
As medidas eletroquímicas foram realizadas com o potenciostato Metrohm Autolab PGSTAT204 equipado com módulo FRA 2 para medidas de impedância e software NOVA 1.11. O ITO e o filme previamente depositado em ITO com a arquitetura np-Au – PVAI/PDAC foram utilizados como eletrodos de trabalho. O eletrodo de platina e o eletrodo de Ag/AgCl saturado com KCl 3 mol L<sup>-1</sup> foram utilizados como contra eletrodo e eletrodo de referência, respectivamente.

Assim, os experimentos eletroquímicos foram conduzidos em tampão fosfato 1 mol.L<sup>-1</sup> (pH 9,5) a temperatura ambiente. A VC foi realizada a uma faixa de velocidade de 10 à 100 mV s<sup>-1</sup> aplicando -se potencial de 0 a 1,0 V. Nas medidas de VPD, foram realizados experimentos prévios para definir as melhores condições, assim, foram aplicados pulsos de 50 mV, amplitude de 50 mV e velocidade de 60 mV s<sup>-1</sup> com a janela de potencial de 0 a 1,2 V. Os espectros de impedância eletroquímica foram registrados num intervalo de 100 MHz a 0,1 Hz, 10 pontos por década, amplitude de 0,05 V, com potencial de célula de 0,3 e 0,7 V para o par redox ferricianeto de potássio e TCS, respectivamente.

## 5. Resultados e discussão

### 5.1 Caracterização das nanopartículas de ouro

As propriedades ópticas das nanopartículas de ouro são provenientes de um fenômeno denominado superfície ressonância plasmônica, no qual qualquer alteração no tamanho ou forma geométrica das partículas altera o confinamento quântico refletindo nos máximos de absorção da ressonância plasmônica de superfície e na cor da suspensão coloidal.<sup>101</sup> A síntese de nanopartículas de ouro pode ser observada a olho nu com o aparecimento de uma coloração roxa. Na **Figura 19** são apresentados os espectros UV-Vis das amostras np-Au e np-Au-PVAI e, para fins comparativos, são mostrados os espectros das suspensões antes da redução com citrato.



**Figura 19.** Espectro UV-vis das misturas reacionais antes e depois da redução com citrato.

Observa-se que o espectro da solução de PVAI (curva azul) apresenta uma banda intensa em 220 nm referente às transições eletrônicas  $n \rightarrow \pi^*$  e  $\pi \rightarrow \pi^*$  no grupo imidazólio. Já o espectro do  $\text{HAuCl}_4$  (curva roxa) apresenta uma banda em 295 nm referente à transferência de carga do ligante para o metal.<sup>27</sup>

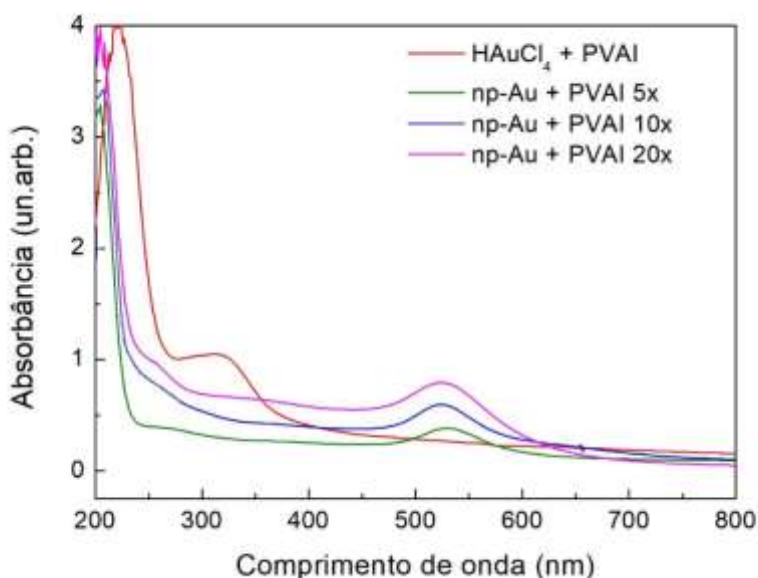
A mistura  $\text{HAuCl}_4$ -PVAI (curva vermelha) apresenta bandas semelhantes e características das mesmas transições das soluções individuais de  $\text{HAuCl}_4$  e PVAI. Entretanto, os máximos de absorção são deslocados para o vermelho em virtude da interação dos grupos imidazólio com o ânion  $\text{AuCl}_4^-$ . Após a redução com citrato, os espectros das misturas exibem apenas banda LSPR em aproximadamente 530 nm, o que indica a formação das np-Au. Pesquisas relatam que a síntese de np-Au na presença de PLIs não somente melhora a estabilidade coloidal como também pode agir diretamente no tamanho da partícula.<sup>101, 102</sup>

Nota-se que o máximo de absorção do espectro da suspensão de np-Au PVAI é deslocado para o azul em cerca de 8 nm em relação ao espectro da np-Au produzida na ausência do polímero. Esse deslocamento indica que as np-Au-PVAI são ligeiramente menores. Observa-se também que a absorbância da banda LSPR é maior para a suspensão de np-Au-PVAI, sugerindo que o PVAI favorece a formação de mais np-Au. A fim de compreender a influência do PVAI na formação das np-Au, foram sintetizadas amostras com concentrações diferentes de PVAI. As amostras foram intituladas np-Au – PVAI -X, em que X é a razão molar entre PVAI/ $\text{HAuCl}_4$ , sendo X= 5, 10 e 20.

Na **Figura 20** são apresentados os espectros UV-Vis dessas amostras. Observa-se que o aumento da concentração de PVAI leva a um aumento da absorbância da banda LSPR e, portanto, da concentração de nanopartículas

formadas. O PVAI sendo agente estabilizador envolve as partículas conferindo uma carga superficial que permite que as np-Au se encontrem numa suspensão coloidal individualizadas através das interações eletrostáticas repulsivas.

Além de estabilizar as nanopartículas, o PVAI desloca a banda LSPR para valores menores (525 nm), porém com maior absorbância. Esse efeito pode estar ligado à capacidade do PVAI de auxiliar na taxa de nucleação, na qual forma mais partículas e com tamanhos menores.



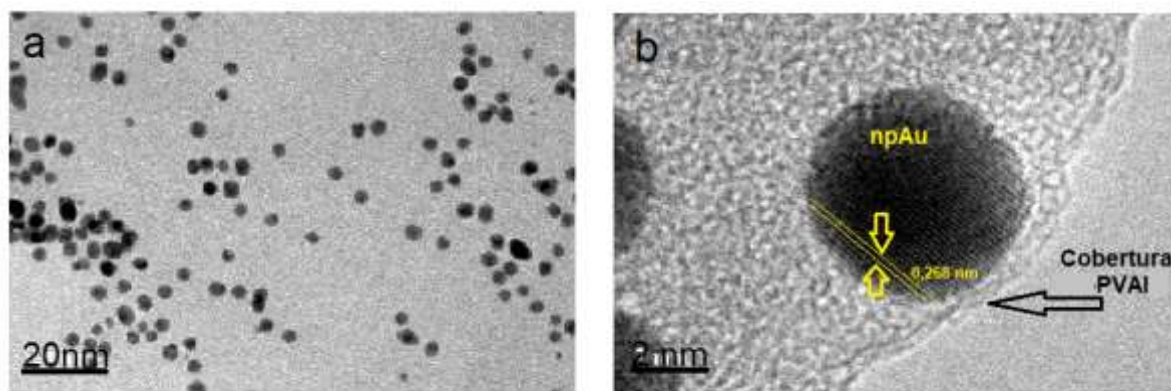
**Figura 20.** Espectros de absorção UV-vis das misturas reacionais antes da redução com citrato e depois da redução com citrato em diferentes razões molares PVAI /  $\text{HAuCl}_4$

As amostras produzidas com diferentes razões molares PVAI/ $\text{HAuCl}_4$  foram analisadas por imagens de MET.

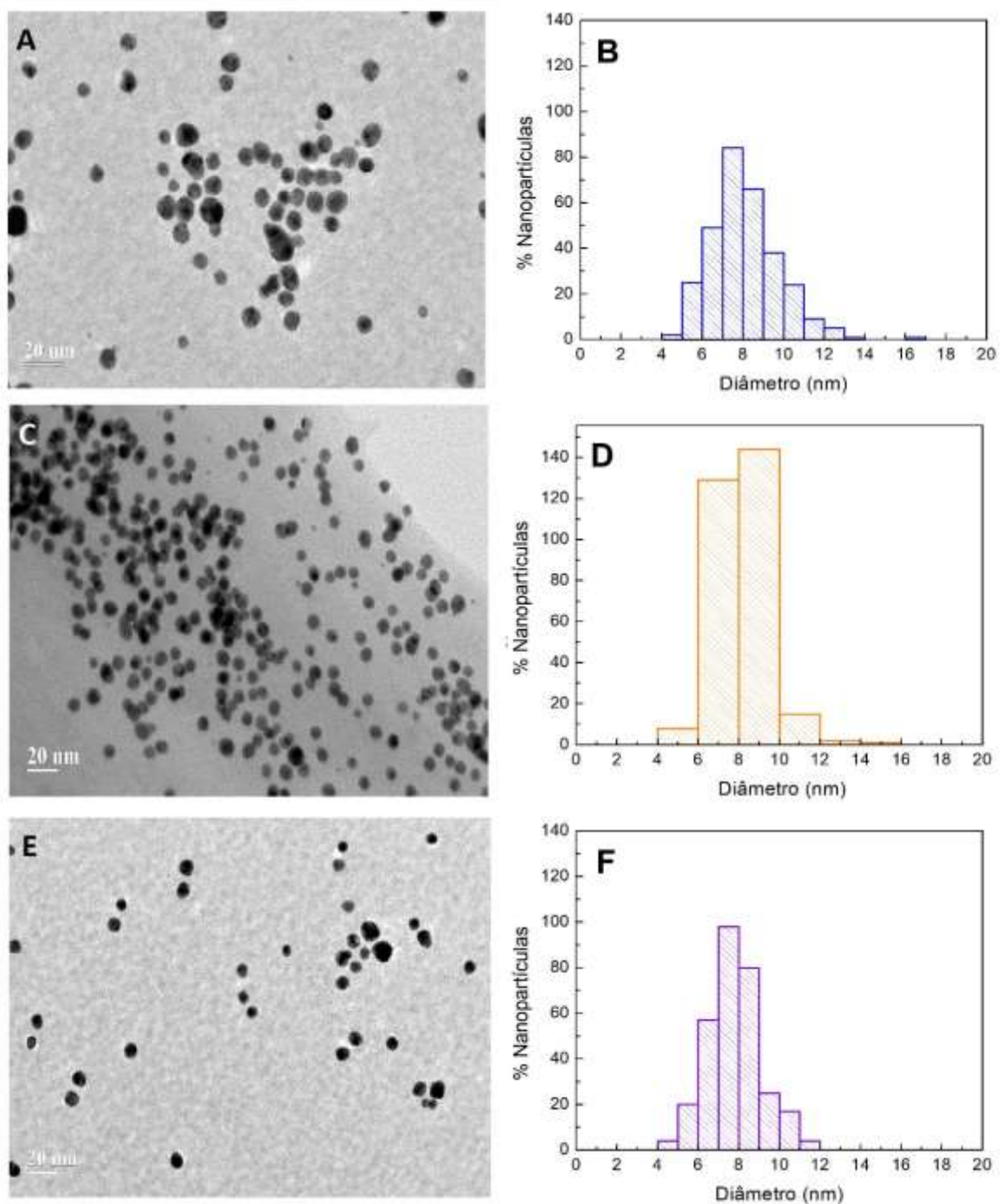
No geral, observa-se que as partículas são aproximadamente esféricas e os valores de  $D_{\text{MET}}$  são muito próximos, independentemente da concentração de PVAI empregada na síntese. As distribuições de tamanho mostradas na **Figura 22.b, d e f** indicam que as nanopartículas possuem diâmetro médio variando

entre  $7,9 \pm 0,07$  e  $8,1 \pm 0,2$  nm. Entretanto, conforme apresentado na **Tabela 1**, o tamanho apresentado pela medida de espalhamento de luz (DLS) varia entre 68,8 a 342,53 nm, confirmando que o PLI reveste as nanopartículas. De fato, é isso que acontece, como pode ser observado na imagem de alta resolução da amostra np-Au-PVAI apresentada na **Figura 21**. Na mesma imagem observa-se a distância interplanar de 0,268 nm correspondente ao plano com orientação (111) no ouro com estrutura cristalina cúbica de face centrada, mostrando que as np-Au sintetizadas são de natureza cristalina. Observa-se também que o parâmetro de rede é de 0,464 nm semelhante ao valor relatado na literatura (0,407 nm).<sup>103</sup>

A nanopartícula sintetizada apenas com citrato de sódio também apresenta estrutura esférica, porém seu tamanho é maior ( $15,3 \pm 0,3$  nm) relativo as nanopartículas sintetizadas na presença de PVAI e uma medida de espalhamento de luz significativamente menor ( $18,3 \pm 1,0$  nm).



**Figura 21.** (a) Imagens de MET em alta resolução da amostra np-Au – PVAI-10. (b) Distância interplanar e cobertura da np-Au por PVAI (b).



**Figura 22.** Imagens de TEM e curva de distribuição de tamanhos das amostras np-Au – PVAI 5x (A, B), np-Au –PVAI 10x (C, D) e np-Au-PVAI 20x (E, F).

Na **Tabela 1** são listados os valores de diâmetro médio determinados por MET ( $D_{MET}$ ) e diâmetro hidrodinâmico ( $D_H$ ) obtido por espalhamento de luz,

acompanhados dos valores de potencial zeta. Observa-se que todas as amostras apresentam potencial zeta negativo, devido ao excesso de citrato. Contudo, os valores são inferiores (em módulo) ao potencial zeta da amostra sintetizada somente com citrato. As suspensões apresentam estabilidade e sem sedimentação após meses de preparação, o que sugere que a estabilização seja não apenas de natureza eletrostática, mas também estérica.

**Tabela 1.** Valores de diâmetro médio ( $D_{MET}$ ), diâmetro hidrodinâmico ( $D_H$ ), pH e potencial zeta

Amostra	pH	$D_H$ (nm)	Potencial Zeta (mV)		$D_{MET}$ (nm)
			Antes da diálise	Depois da diálise	
np-Au – Cit	7,14	18,3	-37,7	--	15 ± 0,5
np-Au – PVAI- 5	7,84	68,80	-15,28	-13,8	7,9 ± 0,07
np-Au – PVAI- 10	7,23	183,01	-18,83	-14,7	8,1 ± 0,02
np-Au - PVAI- 20	6,68	342,53	-26,26	-15,2	7,7 ± 0,08

de amostras de nanopartículas de ouro.

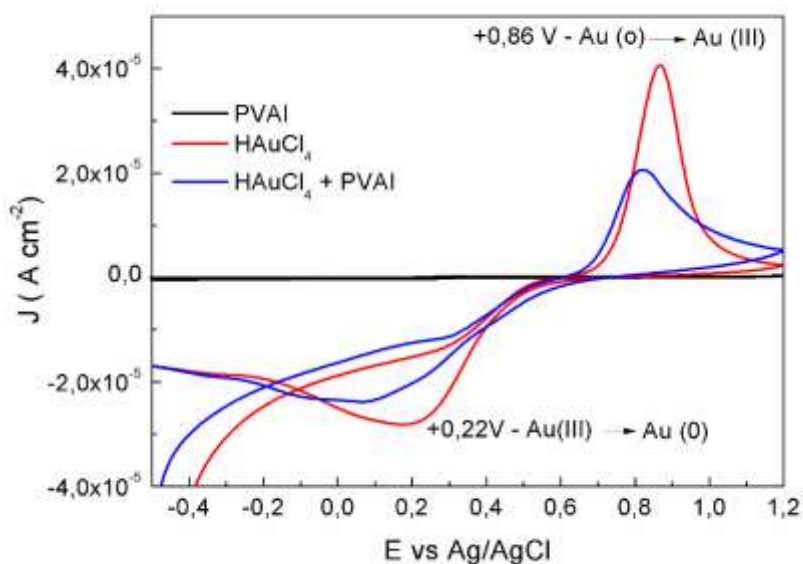
As amostras passaram pelo processo de diálise para a retirada do excesso de citrato proveniente da síntese. É notável que os potenciais zetas de todas as amostras dialisadas decresce, porém os coloides permaneceram estáveis. Isto ocorre, pois o PLI estabiliza as partículas sugerindo que o citrato nesse caso é dispensável. As porções carboxiladas ligadas ao grupo imidazólio possuem carga negativa devido ao pH da amostra ser 8, que é superior ao pKa do ácido carboxílico. Desta maneira, além de estabilizar as partículas evitando agregação, o nanocompósito pode ser montado camada a camada com materiais catiônicos, como o PDAC, através de interações eletrostáticas.

É possível que o PVAI se complexa com  $Au^{3+}$  servindo como sítio de nucleação para a formação das nanopartículas. Apesar dos tamanhos de  $D_{met}$  serem semelhantes, em amostras com maior razão molar de PVAI, maior é a taxa de



nucleação e nanopartículas de menor tamanho são formadas. Isso ocorre, pois há o pareamento de íons  $\text{AuCl}_4^-$  com o anel imidazólio com carga positiva. Esse efeito foi previamente observado e relatado após a mistura de  $\text{HAuCl}_4$  com o polímero ramificado poli(etileno imina) (PEI).<sup>27</sup>

A **Figura 23** apresenta os voltamogramas cíclicos das soluções e mistura reacional, com o objetivo de compreender melhor o papel do PVAI na síntese das np-Au. Na mistura de PVAI e  $\text{HAuCl}_4$ , observa-se que o PVAI inibe a oxidação e redução das espécies de Au, visto que ocorre a diminuição da corrente dos eventos característicos de oxidação e redução do Au. Entretanto, a voltametria realizada apenas com PVAI mostra que nenhuma redução ou oxidação ocorre nos potenciais relativos aos eventos anteriormente descritos, desta maneira o PVAI não é capaz de sozinho, reduzir o Au, porém interage fortemente com  $\text{HAuCl}_4$  como visto anteriormente.

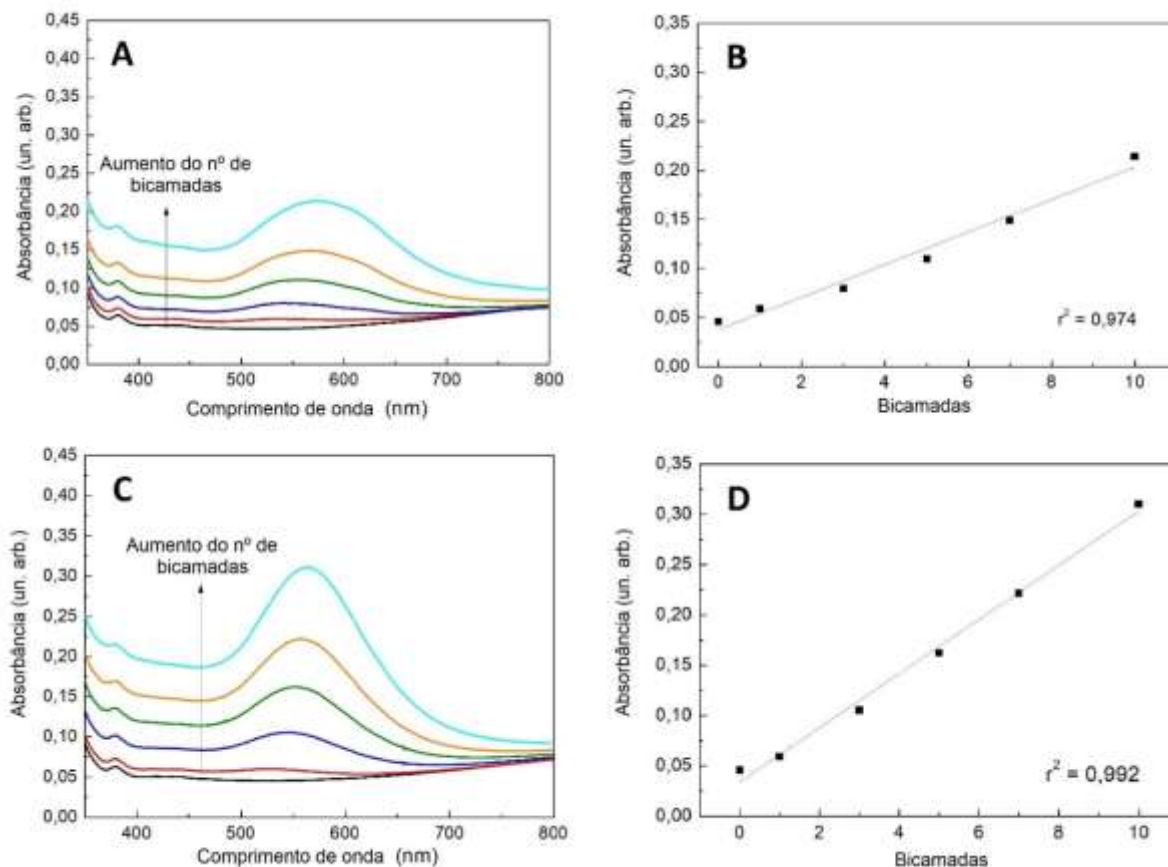


**Figura 23.** Voltametria cíclica das soluções de  $\text{HAuCl}_4$  ( $0,02 \text{ mmol L}^{-1}$ ), PVAI ( $1 \text{ g mol}^{-1}$ ) e a mistura das soluções à velocidade de  $50 \text{ mV}$  em  $\text{KCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7.

## 5.2 Deposição dos filmes

Determinados os valores de potencial zeta, e considerando-se que a adsorção dos filmes ocorre predominantemente por interação eletrostática entre os materiais, foi possível definir as estruturas dos filmes a serem depositados. Desta maneira, foram investigadas duas arquiteturas de filmes, sendo filme-I (PDAC/np-Au) e filme-II (PDAC/np-Au – PVAI-10x)<sub>n</sub>, onde n é o número de bicamadas (1 até 10). Os resultados da adsorção dos materiais, monitorada por espectroscopia UV-vis, são apresentados na **Figura 24**.

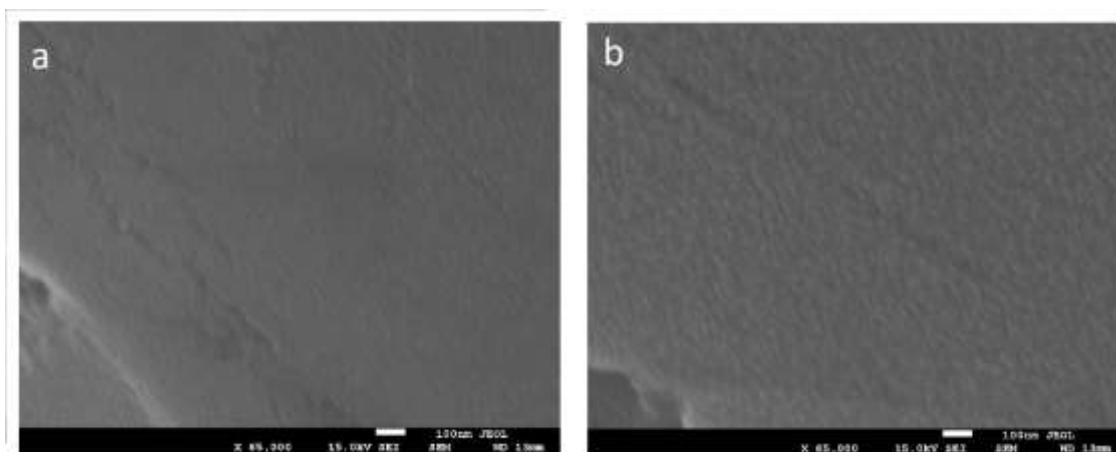
Os espectros de UV-vis registrados após a deposição das camadas 1,3,5,7 e 10 de np-Au e do nanocompósito de np-Au PVAI com PDAC são similares aos espectros das nanopartículas em suspensão. Porém, a banda LSPR nos filmes é deslocada para o vermelho, indicando uma possível agregação das nanopartículas. Na **Figura 24.b** e **d** observa-se que a absorvância da banda LSPR aumenta linearmente com o número de bicamadas aplicadas, ou seja, a quantidade de np-Au e np-Au PVAI é a mesma a cada camada depositada, comportamento característico da deposição eletrostática realizada camada a camada. Porém, a quantidade de material depositado no filme np-Au/PDAC é menor. Isso ocorre provavelmente porque o PVAI liga-se fortemente às nanopartículas favorecendo que mais partículas se agreguem ao filme. Além disso, o PVAI diminui a repulsão eletrostática causada pelo excesso de citrato favorecendo a adsorção de mais partículas.



**Figura 24.** Espectros de absorção UV-vis obtidos na deposição do filme-I (A), filme-II (C). Os gráficos B e D representam a variação da absorbância máxima com o número de bicamadas depositadas dos filmes.

Mesmo que o máximo de absorbância aumente proporcionalmente ao número de bicamadas, indício de que as partículas estejam gradativamente se agregando, é possível ver que a banda plasmônica permanece relativamente inalterada. Assim, é notável que a presença do polímero PVAI impeça a aproximação das nanopartículas e, dessa maneira, as np-Au estão mais individualizadas e, provavelmente, o filme II é mais uniforme.<sup>104</sup>

Na **Figura 25.a** observa-se a microscopia eletrônica de varredurado filme-I (PDAC/np-Au) e na **Figura 25.b** o filme-II (PDAC/np-Au – PVAI-10x). É possível ver que o filme com nanopartículas na presença de PVAI é mais uniforme que o filme somente com nanopartículas de ouro, isso se deve, pois, na presença PVAI as partículas são aderidas com facilidade ao filme, dessa maneira uma quantidade maior de material é depositada, comparada ao filme sem PVAI, e o filme, assim, é mais contínuo.

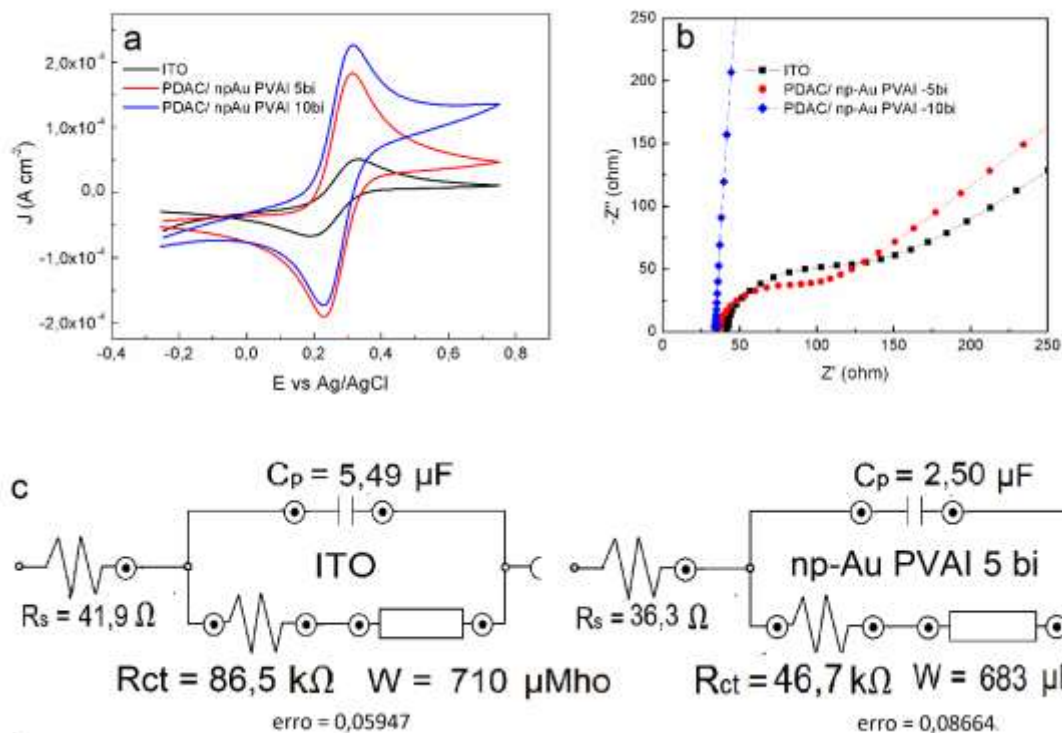


**Figura 25.** Microscopia Eletrônica de Varredura dos filmes depositados. (a) filme-I (PDAC/np-Au) e (b) filme-II (PDAC/np-Au – PVAI-10x).

### 5.3 Caracterização eletroquímica dos eletrodos com o par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/4-$

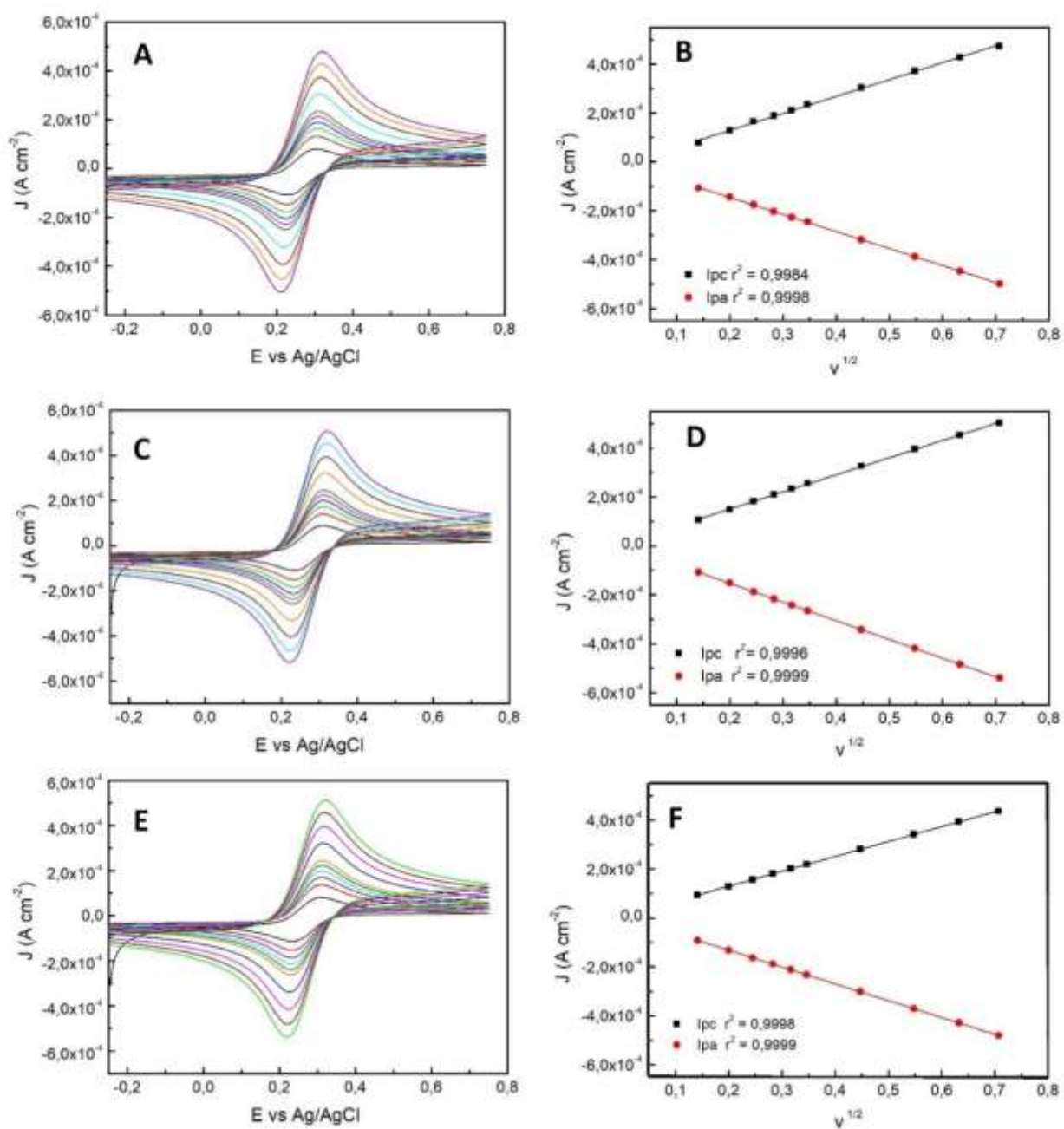
Os filmes-I e os filmes-II foram submetidos a medidas eletroquímicas (VC e espectroscopia de impedância) no par redox  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  1 mmol L<sup>-1</sup> em tampão fosfato (pH 7), para observação do comportamento eletroquímico das arquiteturas estudadas. Também foi analisado o filme-II com diferentes números de bicamadas (5 e 10) para observação do efeito das camadas nas medidas eletroquímicas.

Na **Figura 26** são apresentados os voltamogramas registrados em velocidade de varredura fixa ( $60 \text{ mV s}^{-1}$ ) e os espectros de impedância, obtidos com os três tipos de eletrodos: ITO e ITO modificado com filme-II com 5 e 10 bicamadas de (PDAC/np-Au-PVAI). Na VC, **Figura 26.a**, observa-se que os eletrodos modificados apresentam melhor desempenho que o ITO não modificado, pois há um aumento da corrente para a oxidação e redução do par redox com a deposição dos filmes. Os espectros de impedância, **Figura 26.b**, indicam que a impedância diminui com a deposição do filme. Conforme os ajustes dos espectros com um modelo de circuito equivalente, circuito de Randles (**Figura 26.c**), a diminuição da impedância se deve à diminuição da resistência de transferência de carga ( $R_{ct}$ ) entre solução e eletrodo causada pela deposição dos filmes. A  $R_{ct}$  é reduzida à metade quando o eletrodo é modificado com cinco bicamadas. Entretanto, um aumento no número de bicamadas além de cinco aumenta a capacitância, possivelmente porque o filme torna-se mais compacto, prejudicando a transferência de elétrons entre a solução e o ITO. Desta maneira, o filme – II (PDAC/ np-Au – PVAI 5bi) foi escolhido para determinação eletroanalítica de TCS, como veremos mais adiante.



**Figura 26.** (a) Voltamogramas cíclicos no par redox  $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$   $1 \text{ mmol L}^{-1}$  em tampão fosfato (pH 7), velocidade de varredura de  $60 \text{ mV}$ . (b) Espectros de impedância no par redox  $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$   $1 \text{ mmol L}^{-1}$  em tampão fosfato (pH 7).

Na **Figura 27** são apresentados os voltamogramas registrados em diferentes velocidades de varredura do potencial, comparando-se as diferentes arquiteturas de filmes. Nota-se que ambos os tipos de eletrodos modificados conduzem eficazmente a reação de interesse, porém as densidades de corrente obtidas de oxidação ( $J_{pa}$ ) e redução ( $J_{pc}$ ) foram maiores para o filme-II, sendo os valores mostrados na **Tabela 2**. Conclui-se que o filme com o polímero promove o aumento da densidade de corrente nos eletrodos modificados, visto que nestes filmes há uma quantidade maior de nanopartículas, promovendo assim um aumento na taxa de transferência de carga e maior interação com a espécie a ser identificada.



**Figura 27.** Voltamogramas e curvas de  $J$  (anódico e catódico) versus  $v^{1/2}$  obtidas em solução de  $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$  1 mmol L<sup>-1</sup> em Tampão fosfato 1,0 M (pH 7), sendo filme I (A,B), filme-II - 5bi (C,D) e filme II - 10 Bi (E,F).

Outro estudo relevante é mostrado na **Figura 27**, na qual apresenta o comportamento eletroquímico do filme I (**Figura 27.a**), filme II - 5bi (**Figura 27.c**) e filme II – 10bi (**Figura 27.e**), e é possível ver que apresentam um comportamento quase-reversível controlado por difusão do par redox sobre os filmes que atuam como eletrodos. Este fato pode ser confirmado na **Figura 27.b, 27.d e 27.f**, pois observa-se uma relação linear entre a densidade de corrente de pico ( $J_p$ ) com a raiz quadrada da velocidade de varredura do potencial ( $v^{1/2}$ ) (**Equação 4**).

**Tabela 2.** Parâmetros eletroquímicos para o filme-I (PDAC/ npAu) e filme-II (PDAC/ npAu PVAI 10x) com 5 e 10 bicamadas. Parâmetros determinados por voltametria cíclica em  $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$  a concentração de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7), a

Amostra	$\Delta E_p$ (mV)	$J_p$ ( $A \text{ cm}^{-2}$ )	$E_{1/2}$ (mV)	$k_{ap}$ ( $\text{cm s}^{-1}$ )
Filme I	80	$3,4095 \times 10^{-4}$	$1,704 \times 10^{-5}$	0,263
Filme II – 5 bi	70	$3,5808 \times 10^{-4}$	$1,790 \times 10^{-5}$	0,522
Filme II – 10 Bi	75	$3,5199 \times 10^{-4}$	$1,759 \times 10^{-5}$	0,349

velocidade de  $60 \text{ mV.s}^{-1}$ .

Um parâmetro importante para comparação quantitativa do processo de transferência de elétrons no eletrodo é a constante aparente de velocidade de transferência de elétrons ( $k_{ap}$ ) e foi calculada segundo equação desenvolvida por Nicholson.<sup>105</sup>

$$k_{ap} = \frac{\psi [D_0 \pi \left(\frac{nF}{RT}\right)]^{\frac{1}{2}}}{\left(\frac{D_0}{D_r}\right)^{\frac{\alpha}{2}}} \quad \text{Equação 6}$$



Em que,  $\Psi$  é o parâmetro cinético encontrado utilizando o valor de  $\Delta E$  segundo tabela desenvolvida por Nicholson,  $D_0$  é o coeficiente de difusão de oxidação do par redox ( $7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ),  $D_r$  o coeficiente de difusão de redução do par redox ( $6,5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ),  $R$  a constante universal dos gases ( $8,31 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ),  $T$  é a temperatura absoluta (298 K),  $n$  o número de elétrons transferidos,  $F$  a constante de Faraday ( $96485 \text{ C mol}^{-1}$ ) e  $\alpha$  o coeficiente de transferência de elétrons (0,5).

O valor de  $k_{ap}$  para o eletrodo modificado com 5 bicamadas (Filme II – 5 bi), é maior que o eletrodo de ITO sem modificação, ou seja, a presença de np-Au PVAI favorece uma transferência mais rápida de elétrons. Entretanto, esse valor diminui quando o eletrodo apresenta mais camadas (Filme II -10bi) isso pode ocorrer, pois, o número maior de camadas impede o caminho dos elétrons da solução eletrolítica ao substrato de ITO. O valor do  $K_{ap}$  é menor ainda para o eletrodo composto de nanopartículas sintetizadas sem o PVAI (Filme I), ou seja, a transferência de elétrons é menos facilitada quando há apenas np-Au na superfície do eletrodo comparada aos eletrodos modificados com o compósito np-Au PVAI.

#### **5.4 Eletrooxidação do TCS**

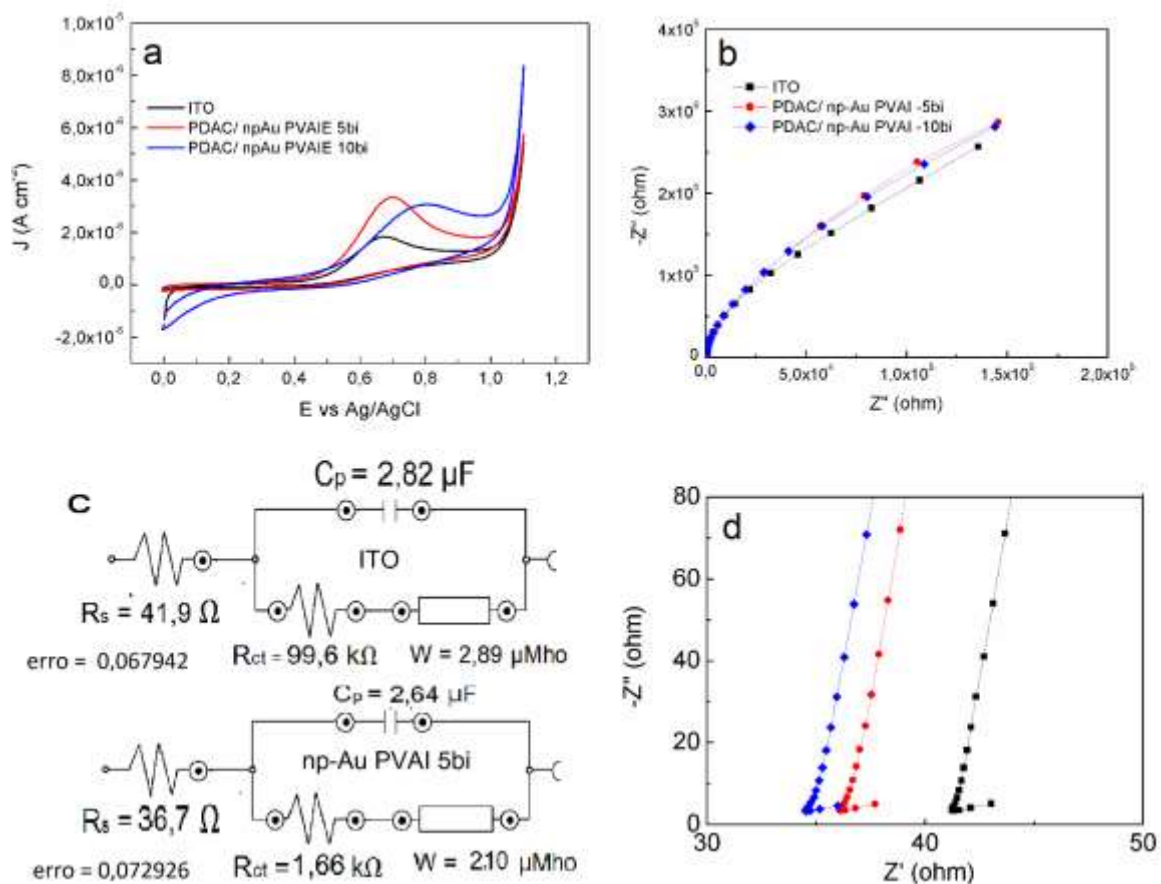
A eletrooxidação do TCS sobre diferentes eletrodos modificados é caracterizada pela transferência irreversível de um único elétron seguida da formação de dímeros e polímeros derivados dos produtos de oxidação. Estes, por sua vez, adsorvem na superfície do eletrodo e formam uma película passivante que inativa o eletrodo. Dessa forma, a eletro oxidação do TCS

sobre os eletrodos desenvolvidos foi inicialmente estudada por VC e espectroscopia de impedância. Os resultados são apresentados na **Figura 28**.

Os voltamogramas da **Figura 28** mostram que a oxidação é irreversível para o TCS isso ocorre devido a oxidação do grupo fenólico do TCS como descrito por Yola *et al.*<sup>93</sup>, sendo o potencial de oxidação semelhante ao encontrado na literatura (0,7 V). Observa-se, também, que nos eletrodos modificados a corrente de oxidação é maior do que o ITO sem modificação, e dentre estes o eletrodo com 5 bicamadas (np-Au PVAI 5 bi) apresenta melhor desempenho para oxidação do TCS, como visto na **Figura 28.a** (isto pode ser atribuído a alta condutividade do eletrodo modificado). Assim, tal eletrodo apresenta maior atividade eletrocatalítica e transferência mais rápida para a oxidação do TCS.

Os espectros de impedância na **Figura 28.b** mostram que ocorre a eletrooxidação do TCS, sendo o processo muito capacitivo. Observa se também na **Figura 28.d** que os eletrodos modificados apresentam espectros de impedância em frequências maiores indicando o processo mais rápido de transferência de carga comparados ao ITO sem modificação.

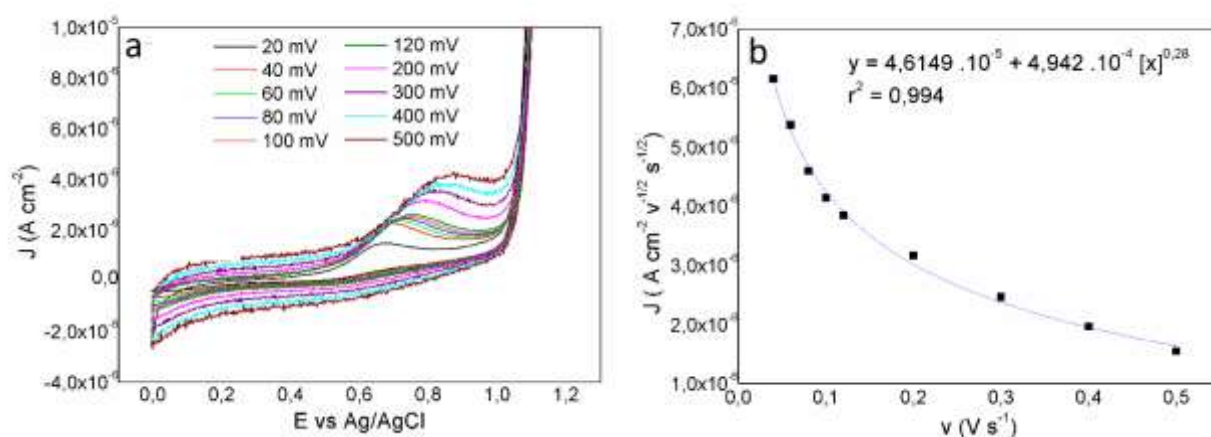
Na **Figura 28.c** verifica-se nos circuitos equivalentes que para o eletrodo com 5 bicamadas ocorre a diminuição da  $R_{ct}$ , a resistência de transferência de carga entre solução e o eletrodo um indicativo de que a modificação com np-Au PVAI aumenta a taxa de transferência de elétrons.<sup>94</sup> Conclui-se que o eletrodo modificado com cinco bicamadas é o mais adequado para a eletro oxidação do TCS e, portanto, para a sua detecção.



**Figura 28.** (a) Voltamogramas cíclicos em TCS  $20 \mu\text{molL}^{-1}$  em tampão fosfato (pH 9,5), velocidade de varredura de 60 mV. (b) Espectros de impedância em TCS  $20 \mu\text{molL}^{-1}$  em tampão fosfato (pH 9,5). (c) Circuitos equivalente para ITO e eletrodo modificado com 5 bicamadas. (d) Espectros de impedância próximos do valor de zero.

Uma vez determinada a arquitetura do eletrodo com cinco bicamadas como a mais adequada, este foi usado para estudar a cinética de eletro-oxidação do TCS. Na **Figura 29** são apresentados os voltamogramas para TCS obtidos com o eletrodo PDAC/ np-Au PVAI – 5bi (Filme – II 5bi), registrados sob diferentes velocidades de varredura (**Figura 29.a**) e a densidade de corrente normalizada em função da raiz quadrada da velocidade de varredura (**Figura 29.b**). Na **Figura 29.a** observa-se que à medida que a velocidade de varredura do potencial aumenta, a corrente aumenta, mas o

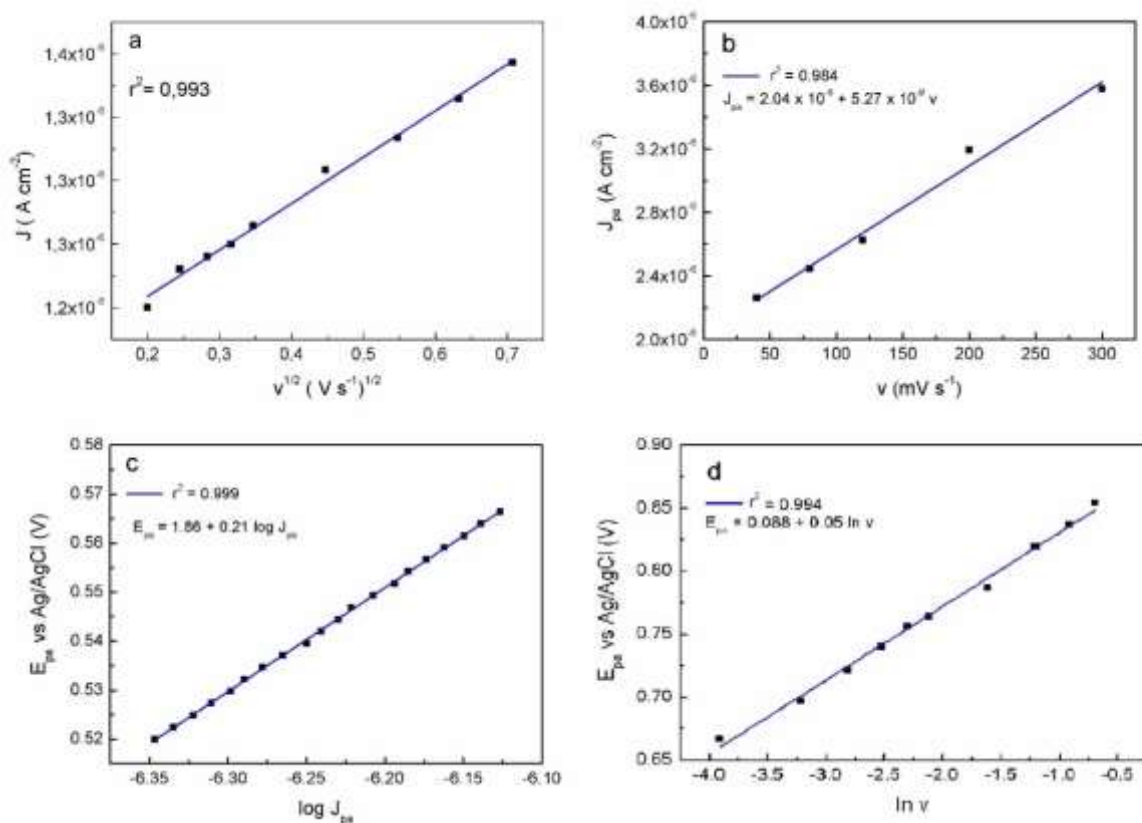
potencial de oxidação desloca-se no sentido anódico para valores cada vez maiores. Esse comportamento é típico de um processo irreversível, como já relatado para o TCS na literatura. O gráfico da **Figura 29.b** mostra uma dependência exponencial, que é típica de uma reação eletroquímica seguida de uma reação química, ou mecanismo EC (EC – do inglês *Electrochemical Chemical*). Esse mecanismo ocorre quando a transferência de elétron é irreversível ou quando a velocidade da etapa eletroquímica é muito maior que a velocidade da reação química. Ao se aplicar o potencial é formada no eletrodo a dupla camada de difusão, o elétron é atraído para a camada e, por consequência, a espécie oxida.<sup>65</sup> A espécie oxidada volta ao meio e sofre uma reação química.



**Figura 29.** Voltametria cíclica em diferentes velocidades (20 - 500 mV s<sup>-1</sup>) do filme II - 5bi (a) em TCS (20 μmol L<sup>-1</sup>) em solução tampão fosfato pH 9,5. Curva de densidade de corrente pela raiz da velocidade de varredura para o filme II – 5bi (b).

Na **Figura 30** são apresentadas outras características da cinética da eletro-oxidação do TCS no eletrodo modificado. Na **Figura 30.a** observa-se que a oxidação do TCS é um processo controlado por difusão, pois a densidade de corrente ( $J_{pa}$ ) relaciona-se com a raiz da velocidade ( $v^{1/2}$ ) de maneira linear ( $J_{pa} = 1,13 \cdot 10^{-6} + 3,65 \cdot 10^{-7} v^{1/2}$ ,  $r^2 = 0,99$ ). À medida que a

velocidade de varredura aumenta, o potencial de oxidação muda para valores mais positivos na direção anódica, confirmando que a eletro-oxidação do TCS é um processo irreversível, como mostrado anteriormente (**Figura 30**). Ademais, na **Figura 30.b**, mostra uma relação linear entre a  $J_{pa}$  e a velocidade de varredura, evidenciando ainda que o TCS adsorve fortemente à superfície do eletrodo.



**Figura 30.** Cinética de eletro-oxidação de TCS ( $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ , tampão PBS pH = 9,5). (a) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura (20 a  $300 \text{ mV s}^{-1}$ ) a inserção mostra a relação da densidade de corrente de oxidação pela raiz quadrada da velocidade de varredura; (b) Relação entre a densidade de corrente de oxidação e a velocidade de varredura; (c) Gráfico do potencial de oxidação versus log da densidade de corrente, a  $60 \text{ mV s}^{-1}$ ; (d) Potencial de oxidação versus logaritmo natural da velocidade de varredura ( $v$ ).

O gráfico de Tafel da **Figura 30.c** mostra uma relação linear entre o potencial de oxidação ( $E_{pa}$ ) e o log de  $J_{pa}$  dada pela reta  $E_{pa} = 1,86 + 0,21 \log (J_{pa})$ ,  $r^2 = 0,999$ . Essa inclinação está relacionada ao coeficiente de transferência de carga,  $\alpha$ , dado pela equação 7:

$$slope = \frac{2,303RT}{(1-\alpha)F} \quad \text{Equação 7}$$

Onde,  $R = 8,31 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ,  $T = 298 \text{ K}$  e  $F = 96500 \text{ C}$ .<sup>65</sup> Visto que a oxidação do TCS é um processo irreversível controlado por difusão e o valor de  $\alpha$  calculado é de 0,71 é possível estimar o número de elétrons,  $n_\alpha$ , a partir da relação linear entre  $E_{pa}$  e  $\ln v$ , como visto na equação abaixo:

$$E_{pa} = \left( \frac{RT}{2\alpha n_\alpha F} \right) \ln v + const. \quad \text{Equação 8}$$

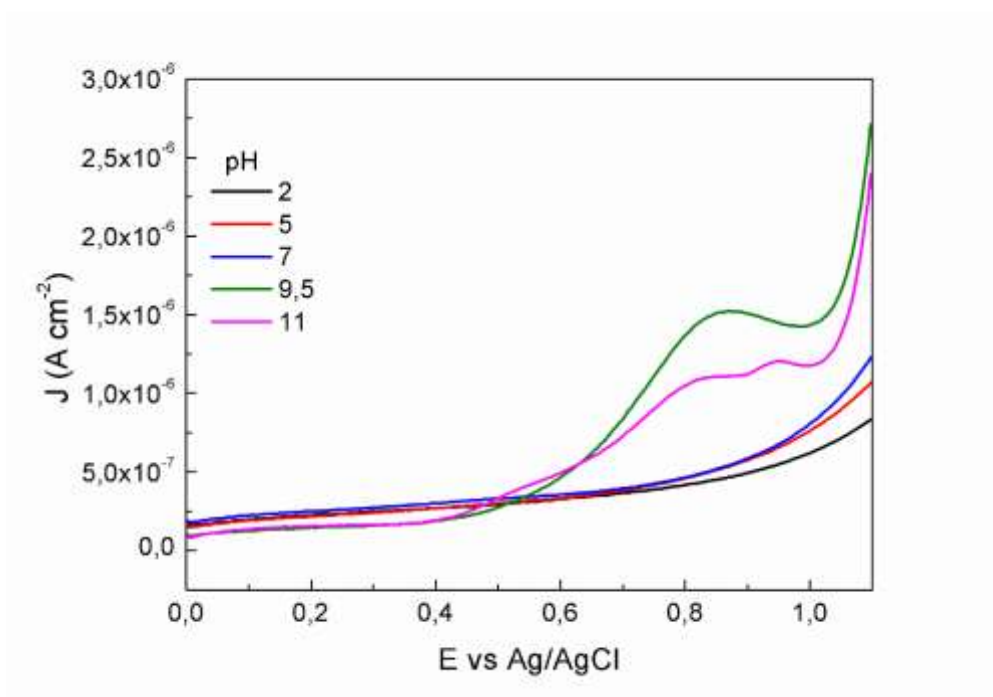
Desta maneira, como visto na **Figura 30 .d**, o ajuste linear dos dados experimentais dada pela reta  $E_{pa} = 0,682 + 0,050 \ln (v)$ ,  $r^2 = 0,994$ , estima-se que o número de elétrons envolvidos é de  $\sim 1$ , de acordo com relatado na literatura.<sup>106 107</sup>

### 5.5. Detecção de TCS por VPD

A VPD é um dos métodos voltamétricos mais adequados para a determinação eletroanalítica de analitos eletroquimicamente ativos, uma vez que pela forma com que o eletrodo é polarizado, via pulso, a corrente

capacitiva é eliminada e o sinal analítico é aumentado. Entretanto, as condições de operação, tais como pH do eletrólito, velocidade de varredura, tempo de pulso e potencial de pulso devem ser otimizadas. Desse modo, foram avaliados os seguintes parâmetros de operação: pH, amplitude e potencial de pulso.

A otimização do pH foi o primeiro parâmetro investigado. A eletrooxidação do TCS foi realizada por VPD nos pHs de 2; 5; 7; 9,5 e 11, e os voltamogramas obtidos são apresentados na **Figura 31**.

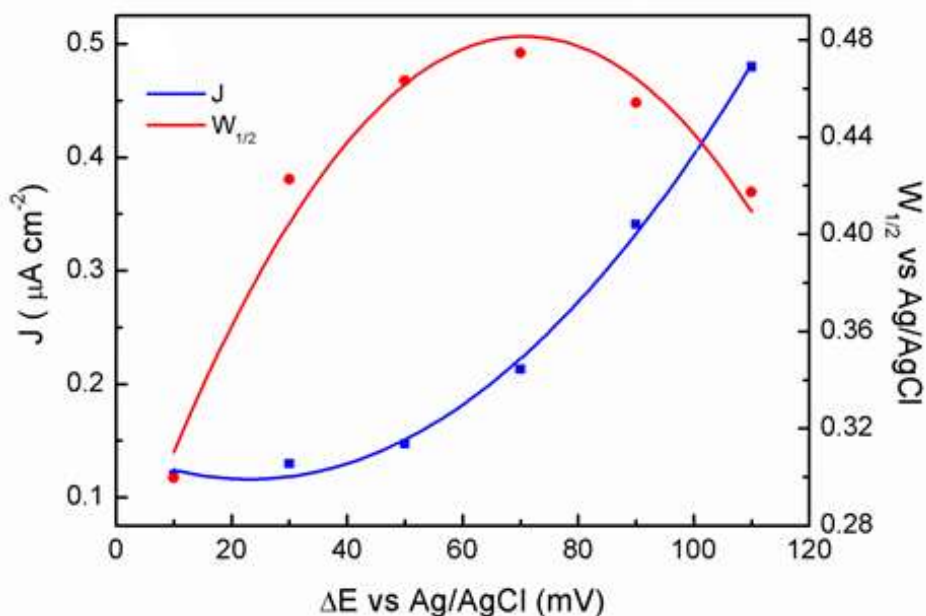


**Figura 31.** Voltamogramas de pulso diferencial para o TCS registrados em diferentes pHs, conforme indicado.  $[\text{TCS}] = 20 \mu\text{mol L}^{-1}$ , velocidade de varredura:  $60 \text{ mV s}^{-1}$  e amplitude do pulso de  $50 \text{ mV}$ .

Verifica-se que os pHs 2, 5 e 7 não obtiveram respostas que possam ser quantificadas ou mensuradas no eletrodo. Porém, nos pHs 9,5 e 11 a resposta a concentração de TCS é nítida, no qual o pH 9,5 se destaca obtendo a maior corrente e o pico de oxidação mais definido, entre os pHs estudados. Isto

ocorre, pois, o pKa do TCS é 8,1 e em pH 9,5 seus grupos  $-OH$  são desprotonados, permitindo que se aproximem do eletrodo que é terminado com uma camada de PDAC, que é catiônico. Além disso, na forma desprotonada, a remoção de um elétron é mais favorável, tornando o TCS mais susceptível à oxidação eletroquímica.<sup>108</sup>

A **Figura 32** mostra a variação da densidade de corrente e função da mudança de potencial de amplitude (curva azul). Utilizando os valores da altura dos picos encontrados nas varreduras, é possível encontrar a melhor amplitude para ser aplicada nos experimentos. A curva vermelha mostra a variação da largura a meia altura com a mudança do potencial de amplitude. Apesar da altura do pico aumentar com valores maiores de amplitude de pulso (70 a 110 mV), o valor da largura a meia altura diminui podendo influenciar nos experimentos de quantificação do TCS.

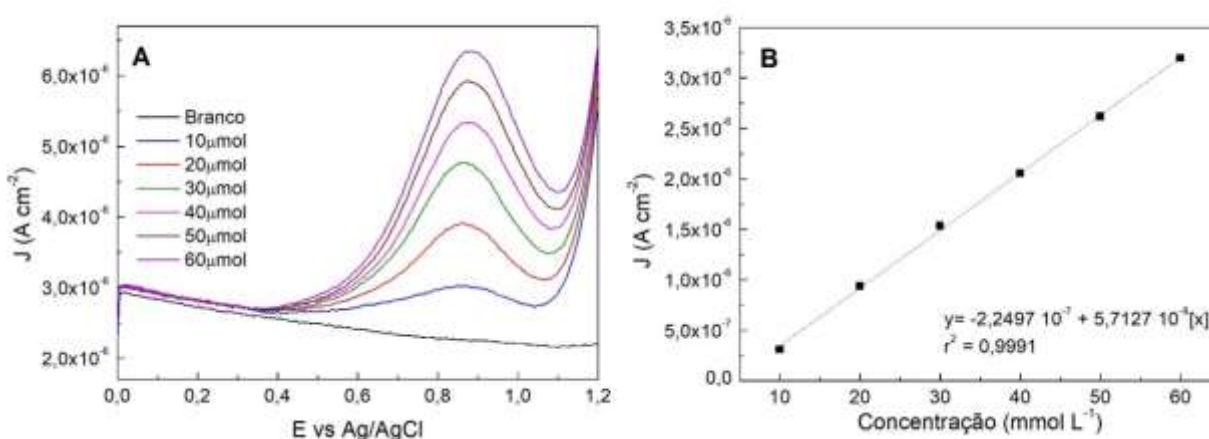


**Figura 32.** Gráfico da variação da densidade de corrente (curva azul) e da largura a meia altura do pico (curva vermelha) em função da mudança de potencial de amplitude.



Dessa maneira, e de acordo com os experimentos de otimização, concluiu-se que a melhor condição de detecção do TCS foi: PBS pH = 9,5, velocidade de varredura  $60 \text{ mV s}^{-1}$  e amplitude de pulso de 50 mV.

Sob condições otimizadas, foi obtida uma curva de calibração, por meio da adição de TCS padrão. Foram adicionadas alíquotas de  $10 \mu\text{L}$  de solução padrão ( $2 \text{ mmol L}^{-1}$ ) em 20 mL de solução tampão PBS pH 9,5. As concentrações das adições variaram de  $10 - 60 \mu\text{mol L}^{-1}$ , segundo mostrado na **Figura 33.a**. A partir das adições foi possível determinar a linearidade e a sensibilidade do método. Sendo o valor para a linearidade  $r^2 = 0,999$ , pode-se concluir que a correlação entre a resposta e a concentração é fortíssima, segundo dados relatados na literatura.<sup>109</sup> O mesmo ocorre para a sensibilidade da calibração cujo valor é expresso pelo coeficiente angular da reta resultante das concentrações pela densidade de corrente, tal valor é de aproximadamente  $57 \mu\text{A cm}^{-2}/\text{mol L}^{-1}$  que pode ser visto na **Figura 33.b**.



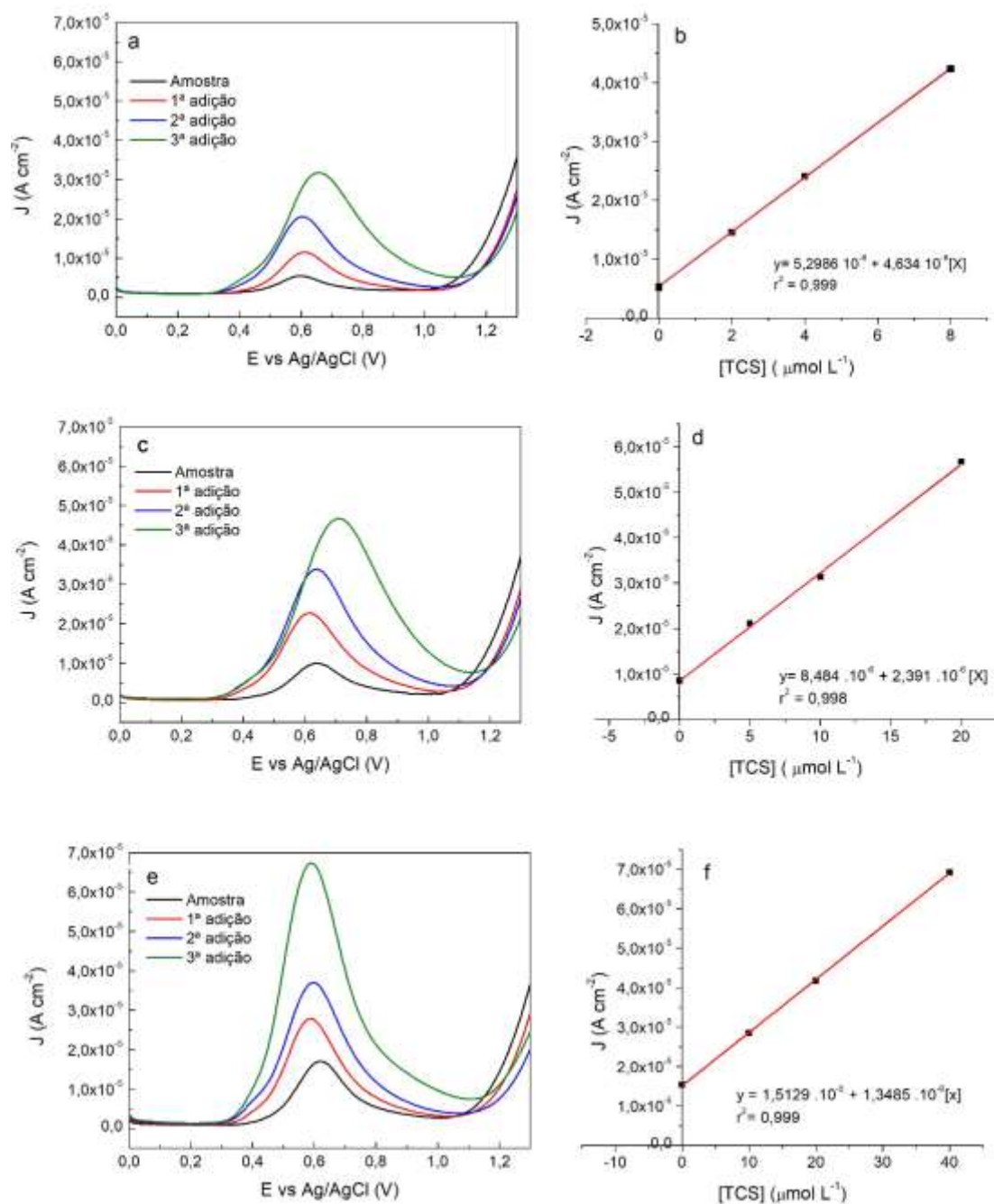
**Figura 33.** Voltametria de pulso diferencial do filme II 5 bi na presença de TCS em tampão fosfato pH 9,5. Curva de adição de padrão variando as concentrações de  $10 - 60 \mu\text{mol L}^{-1}$  (A) e a curva linear obtida através da concentração pela densidade de corrente do filme (B).

O limite de detecção (LOD) é a menor quantidade que pode ser detectada do analíto presente na amostra, enquanto o limite de quantificação (LOQ) é a menor quantidade do analíto determinada com exatidão e precisão em condições pré-estabelecidas. Desta maneira LOD e LOQ foram determinados segundo métodos de validação indicados pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO)<sup>110</sup>.

Os valores encontrados para o limite de LOD e LOQ foram de 0,021  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,071  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Tais valores foram determinados pelas equações:  $\text{LOD} = 3s / S$  e  $\text{LOQ} = 10 s / S$ , sendo:  $s$  = o desvio padrão do branco e  $S$  = sensibilidade do método encontrada na curva linear do padrão mostrado na **Figura 33.b**.

## 5.6 Determinação de TCS em amostras de água

A amostra de água foi coletada e tratada pelo laboratório colaborador AQUA – da Universidade de Brasília – Brasil e foi utilizada para o teste de recuperação do Triclosan, sendo o eletrodo de trabalho o filme II - 5Bi, estudado neste trabalho. Para o teste de recuperação a água coletada foi utilizada para a produção do tampão fosfato pH 9,5. Foram escolhidas 3 concentrações de TCS ( 2, 5 e 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) para fortificação com padrão, segundo dados encontrados na literatura.<sup>111</sup> (**Figura 34**).



**Figura 34.** Voltametria de pulso diferencial da amostra de água fortificada com padrão de TCS, na concentração de (a)  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ , (c)  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$  e (e)  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  (velocidade de varredura de  $60 \text{ mV s}^{-1}$ , amplitude de  $50 \text{ mV}$ ). Adições sucessivas de padrão de TCS ( $120 \mu\text{L}$  a concentração de  $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Relação linear entre a concentração adicionada e a densidade de corrente, (b)  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ , (d)  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$  e (f)  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Na **Tabela 3** estão descritos os valores calculados para a determinação da concentração de TCS recuperada na amostra, segundo dados encontrados no ajuste linear do experimento.

**Tabela 3.** Valores de TCS em amostra de água do lago fortificadas com 2, 5 e 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , calculados através da equação da reta no ajuste linear das adições 100  $\mu\text{L}$  de padrão (concentração de 500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ).

Amostra ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Equação da Reta	Concentração
2	$y = 5,298 \times 10^{-6} + 4,634 \times 10^{-6}[X]$	1,84 $\mu\text{mol L}^{-1}$
5	$y = 8,484 \times 10^{-6} + 2,391 \times 10^{-6}[X]$	5,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$
10	$y = 1,512 \times 10^{-5} + 1,348 \times 10^{-6}[X]$	10,5 $\text{mol L}^{-1}$

Calculou-se a quantidade percentual recuperada pelo processo utilizando a equação de recuperação  $R_c \% = (\text{valor obtido} - \text{valor real} / \text{valor real}) \times 100$  e os resultados são apresentados na **Tabela 4**.

**Tabela 4.** Resultados do teste de recuperação do TCS na concentração de 2, 5 e 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Sendo o filme II- 5bi (PDAC/ np-Au PVAI) o eletrodo de trabalho.

Triclosan ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Quantidade encontrada ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Recuperação (%)
2	1,84 $\pm$ 0,08	91 $\pm$ 5
5	5,54 $\pm$ 0,1	103 $\pm$ 2
10	10,5 $\pm$ 0,3	103 $\pm$ 3

O teste de recuperação é o método utilizado para validação de processo analíticos. A recuperação está relacionada com a exatidão do método, pois reflete a quantidade do analito estudado, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra.

Os resultados apresentados na **Tabela 4** para os experimentos de recuperação do TCS em água do lago variam entre 91 a 103%, constatando que tal método é adequado para quantificação de TCS, mesmo em uma matriz complexa como a água do lago. Entretanto, as concentrações de TCS encontradas em amostras de águas naturais em outras localidades, são menores que as encontradas neste trabalho (variam entre  $0,6 \cdot 10^{-3}$  a  $2,3 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

Desta maneira, para análise de amostras de águas naturais pode ser necessário uma etapa adicional de preparação da amostra para pré-concentrar ou extrair o TCS, como o uso de cartuchos ou discos para extração em fase sólida (SPE) aplicadas de maneira que a pré-contração possa ser de até 1000x.

Sendo assim, o método voltamétrico torna-se adequado para a quantificação no local e fora do local das concentrações de TCS, visto que as concentrações encontradas no ambiente de TCS por SPE são seguidas de quantificação utilizando Cromatografia acoplada a espectroscopia de massa, nas quais são mais caras precisando de constantes manutenções em detrimento aos métodos eletroquímicos apresentados para quantificação e determinação de TCS. Na **Tabela 5** são mostrados valores comparativos encontrados na literatura para diferentes eletrodos.

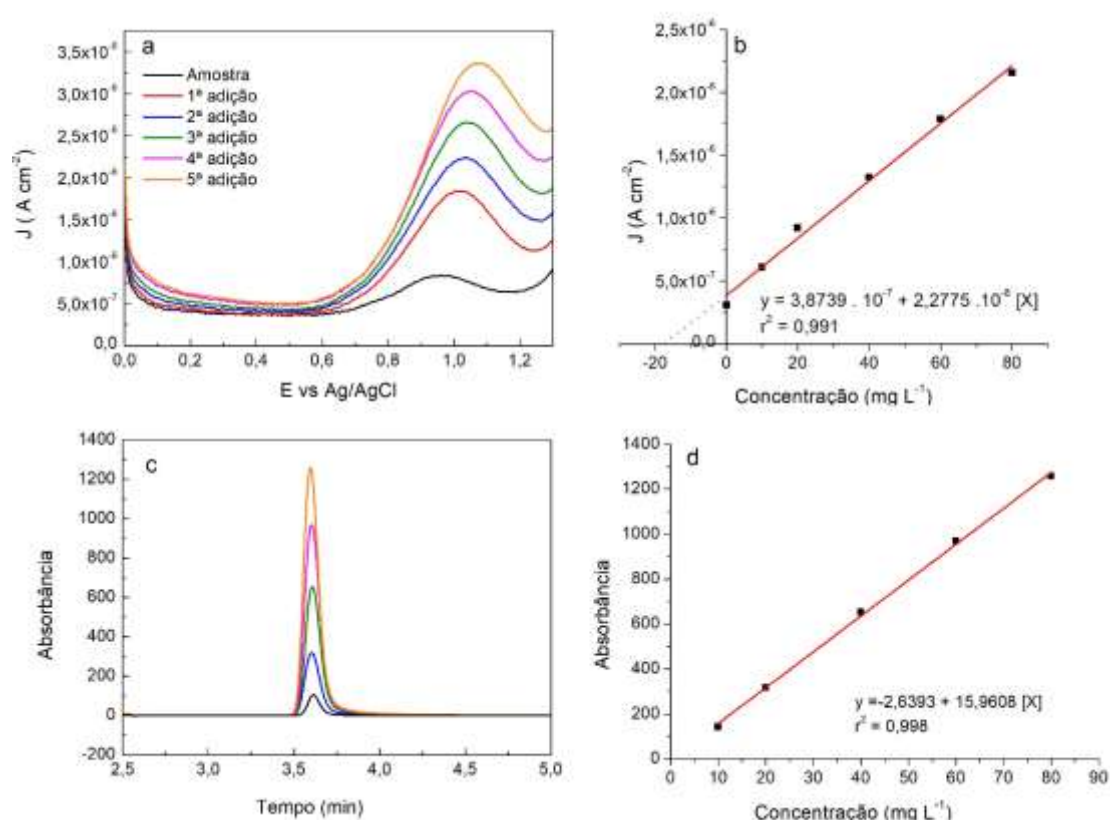
**Tabela 5.** Valores de LOD encontrados na literatura.

<b>Eletrodo</b>	<b>Método</b>	<b>Faixa linear</b> <b>(<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>LOD</b> <b>(<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Referências</b>
<i>PDAC /np-Au PVAI 5i bi</i>	VPD	10 – 60	28,3	<i>Este trabalho</i>
<b>GCE/CNT/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-PPy/Pd</b>	VPD	225×10 <sup>-3</sup> –0,275	0,41	97
<b>GCE/grafeno/PdNP</b>	VPD	9,0×10 <sup>-3</sup> –20	1,01	112
<b>GCE/BCD/grafeno</b>	VPD	2,0–100	173×10 <sup>3</sup>	113
<b>GCE/AuNP-POM-RGO</b>	VPD	0,5×10 <sup>-3</sup> –50×10 <sup>-3</sup>	434	93
<b>GCE/ZnO-MWCNT</b>	VPD	5,18×10 <sup>-3</sup> –6,9	1,3	107
<b>GCE/MWCNT</b>	VPD	0,173–6,0	16,5	92
<b>Grafite /C-nanocomp.</b>	VPD	Não descrita	72385	98
<b>Au-SPE/MIP</b>	VPD/IES	34,5×10 <sup>-6</sup> -3,45×10 <sup>-3</sup>	230	114

Abreviações. **ITO**: óxido de estanho dopado com índio; **GCE**: eletrodo de carbono vítreo; **Au-SPE**: eletrodo impresso em tela dourada; **CNT**: nanotubo de carbono; **PPy**: polipirrol; **BCD**: beta-ciclodextrina; **POM**: polioxometalato; **RGO**: óxido de grafeno reduzido, **MWCNT**: nanotubo de carbono de paredes múltiplas; **MIP**: polímero molecularmente impresso; **EIS**: espectroscopia de impedância eletroquímica.

## 5.7 Determinação de TCS em pasta de dente

As amostras de pasta de dente foram preparadas segundo descrito na metodologia e foram avaliadas por Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) e por Voltametria de Pulso diferencial (VPD). Na **Figura 35** são apresentadas a curva de adição de padrão à amostra de pasta de dente contendo TCS utilizando a método de VPD e HPLC, respectivamente.



**Figura 35.** Curva de adição de padrão à amostra de pasta de dente. (a) VPD em ampão PBS pH = 9,5; amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura de 60 mV s<sup>-1</sup> e adições sucessivas de 250 µL de padrão na concentração de 1 g L<sup>-1</sup>. (b) Relação linear entre a densidade de corrente ( $J_{pa}$ ) e as concentrações de padrão adicionadas. (c) Curva de dição de padrão obtida por HPLC, amostra foi diluída em vials contendo de 1,5 mL com fase móvel (acetonitrila: água, 70:30, v/v). (d) relação linear entre a absorbância e a concentração de TCS.

O cálculo para a concentração de TCS estimada pelo método eletroanalítico, é encontrado segundo dados experimentais na relação linear entre a densidade de corrente ( $J_{pa}$ ) e as concentrações de padrão adicionadas (**Figura 35.b e 35.d**) e o valores são apresentados na **Tabela 6**.

**Tabela 6.** Valores encontrados na mostra de pasta de dente contendo 0,03% em massa de TCS ( $2,5 \text{ g L}^{-1}$ ). VPD em tampão PBS pH = 9,5; amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura de  $60 \text{ mV s}^{-1}$  e adições sucessivas de 250  $\mu\text{L}$  de padrão na concentração de  $1 \text{ g L}^{-1}$ .

Amostra ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Equação da Reta	Concentração
TCS por VPD	$y = 3,8739x10^{-7} + 2,2775x10^{-8}x$	$2,05 \text{ gL}^{-1}$
TCS por HPLC	$122,4884 = 4,559 + 3,299 x$	$2,4 \text{ gL}^{-1}$

HPLC amostra foi diluída em vials contendo de 1,5 mL, fase móvel acetonitrila: água, 70:30, v/v).

Assim também, na **Figura 35.d** é apresentada a curva analítica encontrada por cromatografia na faixa de concentração de 10 a  $80 \text{ mg L}^{-1}$ , obtendo a equação da reta conforme descrito na **Tabela 6**. O valor de  $r^2 = 0,998$  mostra a linearidade entre a concentração medida e a área do pico, assim o método pode ser aplicado como referência para avaliar o desempenho do método eletroquímico.

As concentrações encontradas de  $2,4 \text{ g L}^{-1}$  e  $2,05 \text{ g L}^{-1}$  por HPLC e VPD respectivamente, foram bem semelhantes e muito próximas a descrita no rótulo da pasta de dente (0,03% de TCS em relação a massa de creme dental –  $2,7 \text{ g L}^{-1}$ ). Assim, o método empregado utilizando o eletrodo de ITO modificado com PDAC/ np-Au PVAI 5bi é adequado para a detecção e quantificação de TCS em amostras de matriz complexa como a pasta de dente.



## 6. Conclusão

As nanopartículas de ouro aplicadas em sensores químicos e bioquímicos desempenham papéis diferentes nos sistemas eletroquímicos, tais como catálise eletroquímica, aumento na transferência de elétrons e imobilização de biomoléculas. Tais papéis são baseados nas propriedades únicas das nanopartículas de ouro.

Como observado, nanopartículas de ouro podem ser sintetizadas na presença de polímeros, permanecendo na forma de suspensões coloidais estáveis. As np-Au sintetizadas na presença de PVAI, apresentam diâmetro de 7-9 nm e potencial zeta ligeiramente negativo devido ao excesso de citrato.

Devido à cobertura do polímero, as partículas são estáveis e quando utilizadas para a deposição de filmes ultrafinos, mantêm sua estrutura individualizada. Os filmes apresentam melhores respostas eletroquímicas em comparação ao eletrodo modificado apenas com nanopartículas sintetizadas com citrato de sódio, tanto para caracterização do par redox ferri/ferrocianeto quanto para oxidação do TCS padrão.

O desenvolvimento do sensor eletroquímico para a determinação de TCS em amostras naturais de água do lago se mostrou eficaz e pode subsequentemente ser utilizado como método de monitoramento ambiental. O sensor proposto, PDAC /np-Au PVAI com 5 bicamadas, apresentou faixa linear de 10 a 60  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e limite de detecção de 0,021  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

Uma característica relevante deste sensor eletroquímico é mostrado pelos testes de recuperação pois esta relacionado a exatidão do método,

apresentando valores de 91, 103 e 103% para recuperações em concentrações de 2, 5 e 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Isto ocorreu possivelmente pois as np-Au tem efeito eletrocatalítico permitindo a oxidação efetiva de TCS. Essas características tornam este sensor uma ferramenta adequada e significativa para a determinação de TCS em amostras de águas de abastecimento urbano.

Observou-se também pelos resultados apresentados na determinação de TCS em creme dental - sendo as concentrações encontradas de 2,4  $\text{g L}^{-1}$  por HPLC e 2,05  $\text{g L}^{-1}$  por DPV bem próximas da real declarada no rótulo do creme dental escolhido para análise (2,7  $\text{g L}^{-1}$ ) - que o eletrodo modificado com PDAC/ npAu PVAIE 5bi é eficaz em matrizes complexas, que pode ser uma ferramenta utilizada na determinação e quantificação analítica de TCS em diferentes tipos de amostras.

## 7. Referências

1. Baruah, B. & Miller, T. A. Polyoxovanadate fabricated gold nanoparticles: Application in SERS. *J. Colloid Interface Sci.* **487**, 209–216 (2017).
2. Daniel, M. C. & Astruc, D. Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications Toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. *Chem. Rev.* **104**, 293–346 (2004).
3. Wang, P., Lin, Z., Su, X. & Tang, Z. Application of Au based nanomaterials in analytical science. *Nano Today* (2016).
4. Luo, X., Morrin, A., Killard, A. J. & Smyth, M. R. Application of nanoparticles in electrochemical sensors and biosensors. *Electroanalysis* **18**, 319–326 (2006).
5. Thokchom, B., Kim, K., Park, J. & Khim, J. Ultrasonically enhanced electrochemical oxidation of ibuprofen. *Ultrason. Sonochem.* **22**, 429–436 (2015).
6. Machado, K. C. *et al.* A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. *Sci. Total Environ.* **572**, 138–146 (2016).
7. Chiavazza, E. *et al.* Electrocatalysis in the oxidation of acetaminophen with an electrochemically activated glassy carbon electrode. *Electrochim. Acta* **192**, 139–147 (2016).
8. Regiart, M. *et al.* An ordered mesoporous carbon modified electrochemical sensor for solid-phase microextraction and determination of triclosan in environmental samples. *Sensors Actuators, B Chem.* **232**, 765–772 (2016).
9. 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 $\alpha$ -ethinylestradiol. *J. Electroanal. Chem.* **755**, 215–220 (2015).
10. Santhoshkumar, J., Rajeshkumar, S. & Venkat Kumar, S. Phyto-assisted synthesis, characterization and applications of gold nanoparticles – A review. *Biochem. Biophys. Reports* **11**, 46–57 (2017).
11. Hutter, E. & Fendler, J. H. Exploitation of localized surface plasmon resonance. *Adv. Mater.* **16**, 1685–1706 (2004).
12. Wang, C., Shi, Y., Yang, D. & Xia, X. Combining Plasmonics and Electrochemistry at the Nanoscale. *Curr. Opin. Electrochem.* (2017).

13. Fang, C., Dharmarajan, R., Megharaj, M. & Naidu, R. Gold nanoparticle-based optical sensors for selected anionic contaminants. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **86**, 143–154 (2017).
14. Idris, A. O., Mabuba, N. & Arotiba, O. A. Electroanalysis of selenium in water on an electrodeposited gold-nanoparticle modified glassy carbon electrode. *J. Electroanal. Chem.* **758**, 7–11 (2015).
15. Rajaram, R. & Mathiyarasu, J. An electrochemical sensor for homocysteine detection using gold nanoparticles incorporated reduced graphene oxide. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* (2018).
16. Ma, J. *et al.* Synthesis of carbon supported palladium nanoparticles catalyst using a facile homogeneous precipitation-reduction reaction method for formic acid electrooxidation. *Appl. Surf. Sci.* **257**, 10483–10488 (2011).
17. Wang, L. *et al.* High-selective and sensitive voltammetric sensor for butylated hydroxyanisole based on AuNPs-PVP-graphene nanocomposites. *Talanta* **138**, 169–175 (2015).
18. Madrakian, T., Haghshenas, E. & Afkhami, A. Simultaneous determination of tyrosine, acetaminophen and ascorbic acid using gold nanoparticles/multiwalled carbon nanotube/glassy carbon electrode by differential pulse voltammetric method. *Sensors Actuators B Chem.* **193**, 451–460 (2014).
19. Liu, G. *et al.* Discrimination of dopamine from ascorbic acid and uric acid on thioglycolic acid modified gold electrode. *Anal. Methods* **4**, 609 (2012).
20. Turkevich, J., Stevenson, P. C. & Hiller, J. a Study of the Nucleation and Growth Processes I N the Synthesis of Colloidal Gold. *Discuss. Faraday Soc.* **11**, 55–75 (1951).
21. Wulandari, P., Nagahiro, T., Fukada, N., Kimura, Y. & Niwano, M. Journal of Colloid and Interface Science Characterization of citrates on gold and silver nanoparticles. *J. Colloid Interface Sci.* **438**, 244–248 (2015).
22. Abedini, A. *et al.* A review on radiation-induced nucleation and growth of colloidal metallic nanoparticles. 1–10 (2013).
23. Polte, J. Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles – a new perspective. 6809–6830 (2015). doi:10.1039/c5ce01014d
24. Ji, X., Song, X., Li, J., Bai, Y. & Yang, W. Size Control of Gold Nanocrystals in Citrate Reduction : The Third Role of Citrate. 1957–1962 (2007).

25. Doyen, M., Bartik, K. & Bruylants, G. Journal of Colloid and Interface Science UV – Vis and NMR study of the formation of gold nanoparticles by citrate reduction : Observation of gold – citrate aggregates. *J. Colloid Interface Sci.* **399**, 1–5 (2013).
26. Joshita, D., Cholimi, S., Pujiyanto, A., Tenaga, B. & Nasional, N. Antioxidant activity of gold nanoparticles using gum arabic as a stabilizing agent AGENT. (2014).
27. Teixeira, P. R. *et al.* Photochemically-assisted synthesis of non-toxic and biocompatible gold nanoparticles. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **148**, 317–323 (2016).
28. He, Z. & Alexandridis, P. Ionic liquid and nanoparticle hybrid systems : Emerging applications. *Adv. Colloid Interface Sci.* **244**, 54–70 (2017).
29. Manojkumar, K., Sivaramakrishna, A. & Vijayakrishna, K. A short review on stable metal nanoparticles using ionic liquids, supported ionic liquids, and poly(ionic liquids). *J. Nanoparticle Res.* **18**, 1–22 (2016).
30. Ahmad, B., Hafeez, N., Bashir, S., Rauf, A. & Mujeeb-ur-Rehman. Phytofabricated gold nanoparticles and their biomedical applications. *Biomed. Pharmacother.* **89**, 414–425 (2017).
31. Scholten, J. D., Leal, C. & Dupont, J. Transition Metal Nanoparticle Catalysis in Ionic Liquids. (2012).
32. Astruc, D. *Transition - metal Nanoparticles in Catalysis : From Historical Background to the State - of - the Art.* (2008).
33. Kukreti, S. & Kaushik, M. International Journal of Biological Macromolecules Exploring the DNA damaging potential of chitosan and citrate-reduced gold nanoparticles : Physicochemical approach. *Int. J. Biol. Macromol.* **115**, 801–810 (2018).
34. Mao, H. *et al.* Biosensors and Bioelectronics Poly ( ionic liquids ) functionalized polypyrrole / graphene oxide nanosheets for electrochemical sensor to detect dopamine in the presence of ascorbic acid. *Biosens. Bioelectron.* **70**, 289–298 (2015).
35. Wei, F. *et al.* A novel functionalized porous polythiophene polymer network for Au catalyst deposition. **212**, 251–255 (2018).
36. Xu, T., Qi, Y., Zhao, X. & Zhang, Q. Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects Controlled fabrication of nanostructures by assembling Au nanoparticles on functionalized polymeric spheres. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **498**, 139–145 (2016).

37. Ahmed, M., Narain, R. & Tg, A. Rapid Synthesis of Gold Nanorods Using a One-Step Photochemical Strategy. **26**, 18392–18399 (2010).
38. Maton, C., Vos, N. De & Stevens, C. V. Ionic liquid thermal stabilities: decomposition mechanisms and analysis tools. 5963–5977 (2013).
39. Zhang, Q. & Shreeve, J. M. Energetic Ionic Liquids as Explosives and Propellant Fuels: A New Journey of Ionic Liquid Chemistry. (2014).
40. Ludwig, R. Probing molecular interaction in ionic liquids by low frequency spectroscopy: Coulomb energy, hydrogen bonding and dispersion forces. **16**, (2014).
41. Justyna, Ł., Paszkiewicz, M., Krukowska, A., Malankowska, A. & Zaleska-medynska, A. Ionic liquids for nano- and microstructures preparation . Part 1 : Properties and multifunctional role. **230**, 13–28 (2016).
42. Xin, B. & Hao, J. Imidazolium-based ionic liquids grafted on solid surfaces. 7171–7187 (2014).
43. Neouze, M. & Tielens, F. Ionic nanoparticle networks: development and perspectives in the landscape of ionic liquid based materials. 10929–10936 (2014).
44. Khatri, O. P. *et al.* Self-Assembly of Ionic Liquid ( BMI-PF 6 ) -Stabilized Gold Nanoparticles on a Silicon Surface : Chemical and Structural Aspects. 7785–7792 (2008).
45. He, Z. & Alexandridis, P. Nanoparticles in ionic liquids: interactions and organization. 18238–18261 (2015).
46. Capek, I. Polymer decorated gold nanoparticles in nanomedicine conjugates. *Adv. Colloid Interface Sci.* **249**, 386–399 (2017).
47. Mecerreyes, D. Polymeric ionic liquids: Broadening the properties and applications of polyelectrolytes. *Prog. Polym. Sci.* **36**, 1629–1648 (2011).
48. Liliana C. Tomé, David J. S. Patinha, Rui Ferreira, Helga Garcia, Cristina Silva Pereira, Carmen S. R. Freire, Luís Paulo N. Rebelo, and I. M. M. Cholinium-based Supported Ionic Liquid Membranes a Sustainable Route for Carbon Dioxide Separation.pdf. (2014).
49. Patinha, D. J. S. *et al.* New Low-Toxicity Cholinium-Based Ionic Liquids with Per fl uoroalkanoate Anions for Aqueous Biphasic System Implementation. (2016).
50. Freire, M. G., Cla, F. M., Coutinho, A. P. & Marrucho, I. M. Aqueous biphasic systems : a boost brought about by using ionic liquids. 4966–4995 (2012).

51. Mecerreyes, D. Progress in Polymer Science Polymeric ionic liquids : Broadening the properties and applications of polyelectrolytes. *Prog. Polym. Sci.* **36**, 1629–1648 (2011).
52. Yuan, J., Mecerreyes, D. & Antonietti, M. Progress in Polymer Science Poly ( ionic liquid ) s : An update. *Prog. Polym. Sci.* **38**, 1009–1036 (2013).
53. Chen, H. & Elabd, Y. A. Polymerized Ionic Liquids : Solution Properties and Electrospinning. 3368–3373 (2009).
54. Zhang, J. *et al.* Toughening benzoxazines with hyperbranched polymeric ionic liquids : Effect of cations and anions. **133**, 37–44 (2018).
55. Mallakpour, S. & Sirous, F. Progress in Organic Coatings Surface coating of alfa - Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles with poly ( vinyl alcohol ) as biocompatible coupling agent for improving properties of bio-active poly ( amide-imide ) based nanocomposites having l -phenylalanine linkages. *Prog. Org. Coatings* **85**, 138–145 (2015).
56. Charan, K. T. P. *et al.* Poly ( ionic liquids ) as “ smart ” stabilizers for metal nanoparticles. *Eur. Polym. J.* **60**, 114–122 (2014).
57. Holbrey, J. D. & Seddon, K. R. Ionic Liquids. **1**, 223–236 (1999).
58. Lee, S.; Ringstrand, B. S.; Stone, D. A.; Firestone, M. A. Electrochemical Activity of Glucose Oxidase on a Poly(ionic liquid). 2311–2317 (2012).
59. Wang, Q. & Yun, Y. Nonenzymatic sensor for hydrogen peroxide based on the electrodeposition of silver nanoparticles on poly ( ionic liquid ) -stabilized graphene sheets. 261–268 (2013).
60. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A. . *Fundamentos de Química Analítica.* (2009).
61. Harris, D. *Quantitative Chemical Analysis.* **8**, (2015).
62. Brett, C. M. A., Maria, A. N. A. & Brett, O. Principles , Methods , and Applications.
63. Zuman, P. & Zuman, P. Electrolysis with a Dropping Mercury Electrode : J . Heyrovsky ' s Contribution to Electrochemistry Electrolysis with a Dropping Mercury Electrode : J . Heyrovsk ´ y ' s Contribution to Electrochemistry. **8347**, (2010).
64. Pacheco, W. F., Semaan, F. S., Almeida, V. G. K. De, Ritta, A. G. S. L. & Aucélio, Q. Artigo Voltamétrias : Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos Voltammetry : A Brief Review About Concepts Voltamétrias : Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **5**, 516–537 (2013).

65. Bard, A. J., Faulkner, L. R., York, New, C., Brisbane, W. & Toronto, S. E. *ELECTROCHEMICAL METHODS Fundamentals and Applications. Electrochemistry. I. Faulkner, Larry R* (1944).
66. Chillawar, R. R., Tadi, K. K. & Motghare, R. V. Voltammetric Techniques at Chemically Modified Electrodes 1. **70**, 399–418 (2015).
67. G.A. Mabbott. An Introduction to Cyclic Voltammetry. 697–702 (1983). doi:J. Chem. Educ.
68. Wang, J. *ANALYTICAL ELECTROCHEMISTRY*. (John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey., 2006).
69. Scholz, F. *Electroanalytical Methods Guide to Experiments and Applications*. (2010).
70. Zanello, P. *Inorganic Electrochemistry Theory, Practice and Application*. (2003).
71. Montaseri, H. & Forbes, P. B. C. A review of monitoring methods for triclosan and its occurrence in aquatic environments. **85**, 221–231 (2016).
72. Liebenberg, W., Yang, W. & Villiers, M. M. De. Improving the aqueous solubility of triclosan by solubilization , complexation , and in situ salt formation Improving the aqueous solubility of triclosan by solubilization ,. (2003).
73. Nag, S. K., Sarkar, S. Das & Manna, S. K. Triclosan- an antibacterial compound in water , sediment and fish of river Triclosan – an antibacterial compound in water , sediment and fish of River Gomti , India Subir Kumar Nag , Soma Das Sarkar & Sanjib Kumar Manna. *Int. J. Environ. Health Res.* **00**, 1–10 (2018).
74. Fiss, E. M., Rule, K. L. & Vikesland, P. J. Formation of Chloroform and Other Chlorinated Byproducts by Chlorination of Triclosan-Containing Antibacterial Products. 2387–2394 (2007).
75. Yueh, M. & Tukey, R. H. Triclosan : A Widespread Environmental Toxicant with Many Biological Effects. (2016). doi:10.1146/annurev-pharmtox-010715-103417
76. Dhillon, G. S., Kaur, S., Pulicharla, R. & Brar, S. K. Triclosan : Current Status , Occurrence , Environmental Risks and Bioaccumulation Potential. 5657–5684 (2015).
77. Parolini, M., Pedriali, A. & Binelli, A. Application of a Biomarker Response Index for Ranking the Toxicity of Five Pharmaceutical and Personal Care Products ( PPCPs ) to the Bivalve *Dreissena polymorpha*. 439–447 (2013).



78. Buth, J. M., Ross, M. R., Mcneill, K. & Arnold, W. A. Chemosphere Removal and formation of chlorinated triclosan derivatives in wastewater treatment plants using chlorine and UV disinfection. *Chemosphere* **84**, 1238–1243 (2011).
79. Muth-köhne, E., Wichmann, A., Delov, V. & Fenske, M. Neurotoxicology and Teratology The classification of motor neuron defects in the zebra fish embryo toxicity test ( ZFET ) as an animal alternative approach to assess developmental neurotoxicity. *Neurotoxicol. Teratol.* **34**, 413–424 (2012).
80. Szychowski, K. A., Sitarz, A. M. & Wojtowicz, A. K. TRICLOSAN INDUCES FAS RECEPTOR-DEPENDENT APOPTOSIS IN MOUSE NEOCORTICAL NEURONS IN VITRO. *Neuroscience* **284**, 192–201 (2015).
81. Park, B. K. *et al.* Effects of Triclosan on Neural Stem Cell Viability and Survival. **24**, 99–107 (2016).
82. Sahu, V. K., Karmakar, S., Kumar, S., Shukla, S. P. & Kumar, K. Triclosan toxicity alters behavioral and hematological parameters and vital antioxidant and neurological enzymes in *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquat. Toxicol.* **202**, 145–152 (2018).
83. Tabari, S. A., Esfahani, M. L., Hosseini, S. M. & Rahimi, A. Neurobehavioral toxicity of triclosan in mice. *Food Chem. Toxicol.* **130**, 154–160 (2019).
84. Pullaguri, N., Nema, S., Bhargava, Y. & Bhargava, A. *ur na.* *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 103311 (2019).
85. Nassan, F. L. *et al.* Urinary triclosan concentrations and semen quality among men from a fertility clinic. *Environ. Res.* **177**, 108633 (2019).
86. Jurewicz, J. *et al.* Triclosan exposure and ovarian reserve ☆. **89**, 168–172 (2019).
87. Calafat, A. M., Ye, X., Wong, L., Reidy, J. A. & Needham, L. L. Urinary Concentrations of Triclosan in the U . S . Population : 2003 – 2004. **116**, 2003–2004 (2008).
88. Kosatsky, T. Science of the Total Environment Use of antibacterial toothpaste is associated with higher urinary triclosan concentrations in Asian immigrant women living in Vancouver , Canada ☆. *Sci. Total Environ.* **671**, 897–904 (2019).
89. Skarha, J. *et al.* Cross-sectional associations between urinary triclosan and serum thyroid function biomarker concentrations in women. *Environ. Int.* 0–1 (2018).

90. Paterno, L. G. & Soler, M. a G. Layer-by-Layer enabled nanomaterials for chemical sensing and energy conversion. *Jom* **65**, 709–719 (2013).
91. Amiri, M., Shahrokhian, S., Psillakis, E. & Marken, F. Electrostatic accumulation and determination of triclosan in ultrathin carbon nanoparticle composite film electrodes. *Anal. Chim. Acta* **593**, 117–122 (2007).
92. Yang, J., Wang, P., Zhang, X. & Wu, K. Electrochemical sensor for rapid detection of triclosan using a multiwall carbon nanotube film. *J. Agric. Food Chem.* **57**, 9403–9407 (2009).
93. Yola, M. L., Atar, N., Eren, T., Karimi-Maleh, H. & Wang, S. Sensitive and selective determination of aqueous triclosan based on gold nanoparticles on polyoxometalate/reduced graphene oxide nanohybrid. *RSC Adv.* **5**, 65953–65962 (2015).
94. Wu, T., Li, T., Liu, Z., Guo, Y. & Dong, C. Talanta Electrochemical sensor for sensitive detection of triclosan based on graphene / palladium nanoparticles hybrids. *Talanta* **164**, 556–562 (2017).
95. Karimi-maleh, H. *et al.* A Novel DNA Biosensor Based on a Pencil Graphite Electrode Modified with Polypyrrole / Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes for Determination of 6 - Mercaptopurine Anticancer Drug. 3634–3639 (2015).
96. Online, V. A., Atar, N., Eren, T., Karimi-maleh, H. & Wang, S. RSC Advances Sensitive and selective determination of aqueous triclosan based on gold nanoparticles on polyoxometalate / reduced graphene oxide nanohybrid. 65953–65962 (2015).
97. Zheng, J., Zhang, M., Ling, Y., Xu, J. & Hu, S. Fabrication of one dimensional CNTs/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@PPy/Pd magnetic composites for the accumulation and electrochemical detection of triclosan. *J. Electroanal. Chem.* #pagerange# (2018).
98. Libansky, M., Zima, J., Barek, J. & Dejmekova, H. Construction of an electrochemical cell system based on carbon composite film electrodes and its application for voltammetric determination of triclosan. *Electroanalysis* **26**, 1920–1927 (2014).
99. Kern, W. & Puotinen, D. a. Cleaning solutions based on hydrogen peroxide for use in silicon semiconductor technology. *Rca Rev.* **31**, 187–206 (1970).
100. Decher, G., Hong, J. D. & Schmitt, J. Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. *Thin Solid Films* **210–211**, 831–835 (1992).

101. Priyadarshini, E. & Pradhan, N. Sensors and Actuators B: Chemical Gold nanoparticles as efficient sensors in colorimetric detection of toxic metal ions: A review. *Sensors Actuators B. Chem.* **238**, 888–902 (2017).
102. Li, J.-B. *et al.* One-dimensional assembly of polymeric ionic liquid capped gold nanoparticles driven by electrostatic dipole interaction. *RSC Adv.* **5**, 7994–8001 (2015).
103. Of, P. M. & Twelve, C. O. F. The lattice. **538**, (1925).
104. Zheng, X. *et al.* Anticorrosive ultrathin film derived from bio-based urushiol–Ti by layer-by-layer self-assembly. *Chem. Eng. J.* **245**, 265–275 (2014).
105. NICHOLSON, R. S. Theory and Application of Cyclic Voltammetry for Measurement of Electrode Reaction Kinetics. *Chem. Dep. Michigan State Univ. East Lansing, Mich* **37**, 1351–1355 (1965).
106. Dai, H. *et al.* Electrochimica Acta Electrochemical detection of triclosan at a glassy carbon electrode modifies with carbon nanodots and chitosan. *Electrochim. Acta* **80**, 362–367 (2012).
107. Moyo, M., Florence, L. R. & Okonkwo, J. O. Sensors and Actuators B: Chemical Improved electro-oxidation of triclosan at nano-zinc oxide-multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrode. *Sensors Actuators B. Chem.* **209**, 898–905 (2015).
108. Arnot, J. A., Pawlowski, S. & Champ, S. Science of the Total Environment A weight-of-evidence approach for the bioaccumulation assessment of triclosan in aquatic species. *Sci. Total Environ.* 1–13 (2017).
109. Brito, N. M., Junior, O. D. P. A., Polese, L. & RIBEIRO, M. L. Validação De Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão. *Pestic. R.Ecotoxicol. e Meio Ambient.* **13**, 129–146 (2003).
110. Analíticos, M. Doq-Cgcre-008. (2016). doi:doq-cgcre-008
111. Lahcen, A. A., Baleb, A. A., Baker, P., Iwuoha, E. & Amine, A. Synthesis and electrochemical characterization of nanostructured magnetic molecularly imprinted polymers for 17- $\beta$ -Estradiol determination. *Sensors Actuators, B Chem.* **241**, 698–705 (2017).
112. Wu, T., Li, T., Liu, Z., Guo, Y. & Dong, C. Electrochemical sensor for sensitive detection of triclosan based on graphene/palladium nanoparticles hybrids. *Talanta* **164**, 556–562 (2017).
113. Li, B., Qiu, Z., Wan, Q., Liu, Y. & Yang, N. B-Cyclodextrin Functionalized Graphene Nano Platelets for Electrochemical Determination of Triclosan. *Phys. Status Solidi Appl. Mater. Sci.* **211**, 2773–2777 (2014).
114. Motia, S. *et al.* Science of the Total Environment Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer for sensitive triclosan detection in wastewater and mineral water. *Sci. Total Environ.* **664**, 647–658 (2019).

## 8. Anexo I

Microchemical Journal 152 (2020) 104421



Contents lists available at ScienceDirect

Microchemical Journal

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/microc](http://www.elsevier.com/locate/microc)



### Au nanoparticle-poly(ionic liquid) nanocomposite electrode for the voltammetric detection of triclosan in lake water and toothpaste samples



Priscila R. Teixeira<sup>a</sup>, Taynara R. Machado<sup>a</sup>, Fabricio Machado<sup>a</sup>, Fernando F. Sodré<sup>a</sup>,  
Jonatas G. Silva<sup>b</sup>, Brenno A.D. Neto<sup>a</sup>, Leonardo G. Paterno<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Química, Universidade de Brasília, 70910-900 Brasília-DF, Brazil

<sup>b</sup> Universidade Federal do Oeste da Bahia, 47810-059 Barreiras-BA, Brazil

#### ARTICLE INFO

##### Keywords:

Gold nanoparticles  
Layer-by-layer  
Poly(ionic liquid)  
Triclosan  
Voltammetric sensor

#### ABSTRACT

Triclosan (TCS), a powerful bactericide agent found in personal care products, has been recently recognized as a contaminant of emerging concern, with endocrine disrupting chemical activity, and whose detection in environmental, biological and/or PCP samples is of great concern nowadays. Therefore, this contribution describes indium-doped tin oxide (ITO) substrates modified with Au nanoparticle-poly(ionic liquid) (Au-PIL) nanocomposite films for the voltammetric detection of TCS in lake water and toothpaste samples. The electroanalytical performance evaluated by cyclic voltammetry (CV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS), and differential pulse voltammetry (DPV), shows the modified electrode oxidizes TCS at much higher oxidation currents than bare ITO. At optimized conditions, the analytical method is linear ( $R^2 > 0.99$ ) in the selected working range ( $10\text{--}60\ \mu\text{mol L}^{-1}$ ), presents a sensitivity of  $57.1\ \mu\text{A cm}^{-2}/\text{mol L}^{-1}$  and a limit of detection of  $0.098\ \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $28.3\ \mu\text{g L}^{-1}$ ). TCS determinations are successfully carried out in spiked lake water samples showing that the electrode response is not affected by such a complex matrix. The concentration of TCS found in a commercial brand toothpaste, simultaneously determined by voltammetry and HPLC, is similar (95% confidence level, *t*-test) between both techniques and comparable to that described in the product package.

#### 1. Introduction

Triclosan (TCS, 5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol), is a powerful bactericide agent found in personal care products (PCP) such as toothpaste, shampoo, and liquid soap. Although TCS has a vast commercial utility, it has been recently recognized as a contaminant of emerging concern, with endocrine disrupting chemical activity, thus posing serious risk to human and aquatic wildlife [1,2]. Determination of TCS in environmental, biological and/or PCP samples became, therefore, of paramount importance nowadays [3].

Determination of TCS has been usually carried out by chromatography-based techniques, including liquid chromatography-tandem ultraviolet/fluorescence detection [4], liquid chromatography-tandem mass spectrometry [5], and gas chromatography-tandem mass spectrometry [6] to cite a few. In parallel, electroanalytical methods have also been developed for this purpose, since they provide both a faster and lower-cost analysis, thus being suitable for on-site and off-site monitoring of drinking and source waters, rivers, and lakes [7].

The electroanalytical detection of TCS has been performed mainly through amperometry and voltammetry techniques employing

modified working electrodes. Nanomaterials are ideal candidates for the electrode modification since they typically increase the surface area and enhance the electrocatalytic activity of the bare electrode [7]. Combinations of different nanomaterials have been proposed including carbon nanotubes with iron oxide nanoparticles, polypyrrole and palladium nanoparticles [8], graphene and palladium nanoparticles [9], mesoporous carbon and chitosan [10], graphene and beta cyclodextrin [11], gold nanoparticles, polyoxometalate and reduced graphene oxide [12], zinc oxide nanoparticles and carbon nanotubes [13], multiwalled carbon nanotubes [14], carbon nanoparticles and chitosan [15], and carbon nanocomposites [16]. Apart from these approaches, TCS detection has also been performed with molecularly imprinted polymers [17,18], non-specific polymeric sensor arrays [19], and boron doped diamond electrodes [20].

Owing to their bulky counter ions, poly(ionic liquids) (PIL) are recognized for exhibiting glass transition temperatures lower than conventional polyelectrolytes, thereby providing them with higher ionic conductivity and wider electrochemical window [21]. Moreover, PIL are capable of acting as soft templates for the synthesis of metallic nanoparticles with controlled morphology besides preventing them

\* Corresponding author.

E-mail address: [lpaterno@unb.br](mailto:lpaterno@unb.br) (L.G. Paterno).

<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104421>

Received 2 October 2019; Received in revised form 10 November 2019; Accepted 11 November 2019

Available online 12 November 2019

0026-265X/ © 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.