

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS PARA A SUSTENTABILIDADE  
CAMPUS DE SOROCABA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

LUCAS FELIPE DE LIMA

**Filmes automontados de nanopartículas de magnetita e polipirrol  
na determinação analítica de metilparabeno**

Sorocaba

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS PARA A SUSTENTABILIDADE  
CAMPUS DE SOROCABA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

LUCAS FELIPE DE LIMA

**Filmes automontados de nanopartículas de magnetita e polipirrol  
na determinação analítica de metilparabeno**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, para obtenção do título de Mestre em Ciências de materiais.

Orientação: Profa. Dr.<sup>a</sup> Marystela Ferreira e co-orientação da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elisabete Alves Pereira

Sorocaba

2020

Lima, Lucas

FILMES AUTOMONTADOS DE NANOPARTÍCULAS DE  
MAGNETITA E POLIPIRROL NA DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE  
METILPARABENO / Lucas Lima. -- 2020.

79 f. : 30 cm.

Dissertação (mestrado)-Universidade Federal de São Carlos, campus  
Sorocaba, Sorocaba

Orientador: Marystela Ferreira

Banca examinadora: Prof<sup>o</sup>. Dra. Adriana de Oliveira Delgado Silva e Prof<sup>o</sup>.  
Dr. William Reis de Araujo

Bibliografia

1. sensores eletroquímicos . 2. análise estatística. 3. materiais não  
metálicos. I. Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo Programa de Geração Automática da Secretaria Geral de Informática (SIn).

DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

Bibliotecário(a) Responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano – CRB/8 6979



# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

## Relatório de Defesa de Dissertação

Candidato: Lucas Felipe de Lima

Aos 20/02/2020, às 13:00, realizou-se na Universidade Federal de São Carlos, nas formas e termos do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, a defesa de dissertação de mestrado sob o título: Filmes Automontados de Nanopartículas de Magnetita e Polipirrol na determinação analítica de metilparabeno, apresentada pelo candidato Lucas Felipe de Lima. Ao final dos trabalhos, a banca examinadora reuniu-se em sessão reservada para o julgamento, tendo os membros chegado ao seguinte resultado:

### Participantes da Banca

Profa. Dra. Adriana de Oliveira Delgado Silva  
Profa. Dra. Marystela Ferreira  
Prof. Dr. William Reis de Araújo

Função	Instituição
Presidente	UFSCar
Titular	UFSCar
Titular	UNICAMP

Conceito
Aprovado
Aprovado
Aprovado

Resultado Final
Aprovado

### Parecer da Comissão Julgadora\*:

- 1) O aluno domina a metodologia científica? *Sim*  
 2) Se o aluno domina o objeto de pesquisa escolhido, considerando o enfoque na área de ciência dos materiais.  
 Com as alternativas:  Sim ( ) atendeu parcialmente

Encerrada a sessão reservada, o presidente informou ao público presente o resultado Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada e, para constar, eu, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana de Oliveira Delgado Silva, representante do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, lavrei o presente relatório, assinado por mim e pelos membros da banca examinadora

*Adriana de O. O. Silva*

Profa. Dra. Adriana de Oliveira Delgado Silva

*Adriana de O. O. Silva*

Representante do PPG: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana de Oliveira Delgado Silva

*Marystela Ferreira*

Profa. Dra. Marystela Ferreira

*William Reis de Araújo*

Prof. Dr. William Reis de Araújo

Certifico que a defesa realizou-se com a participação à distância do(s) membro(s) Marystela Ferreira e, depois das arguições e deliberações realizadas, o(s) participante(s) à distância está(ão) de acordo com o conteúdo do parecer da banca examinadora redigido neste relatório de defesa.

*Adriana de O. O. Silva*

Profa. Dra. Adriana de Oliveira Delgado Silva

(X) Não houve alteração no título da tese ( ) Houve. O novo título passa a ser:





# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

## Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Lucas Felipe de Lima, realizada em 20/02/2020:

*Adriana de O. O. Silva*

Profa. Dra. Adriana de Oliveira Delgado Silva  
UFSCar

*Marystela Ferreira*

Profa. Dra. Marystela Ferreira  
UFSCar

*William Reis de Araújo*

Prof. Dr. William Reis de Araújo  
UNICAMP



Certifico que a defesa realizou-se com a participação à distância do(s) membro(s) Marystela Ferreira e, depois das arguições e deliberações realizadas, o(s) participante(s) à distância está(ão) de acordo com o conteúdo do parecer da banca examinadora redigido neste relatório de defesa.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre estar ao meu lado, nos momentos bons e ruins e principalmente por me dar somente aquilo que preciso no melhor momento.

A minha avó que sempre persistiu e acreditou em meu potencial, mesmo quando todos não acreditavam que eu pudesse alcançar meus objetivos.

Ao meu namorado André Lopes Ferreira, que sempre esteve ao meu lado, me fortalecendo e incentivando a continuar. Graças a sua amizade, companheirismo e persistência.

As minhas amigas de Laboratório, Amanda, Cristiane Carla, Ariana, Bárbara Muniz e Jéssica que sempre me deram suporte emocional, além das boas risadas quando sobrava um tempinho entre os experimentos.

A Professora Adriana de Oliveira Delgado e ao Professor Walter Ruggeri Waldman, que sempre deram bons conselhos na minha vida acadêmica e tornaram o meu mestrado mais agradável e descontraído.

A minha orientadora Professora Marystela e a minha coorientadora Professora Elisabete pela oportunidade de trabalhar juntos por esses anos.

Minha imensa gratidão a Pós-Dóc Cristiane Margarete que sempre me ajudou em dúvidas no laboratório de pesquisa, além de bons conselhos e risadas durante todo o mestrado.

Ao Professor Sérgio Antônio Spinola Machado, que de boa vontade, me auxiliou a sanar diversas dúvidas na área de estatísticas, além de me enviar seu material completo de análise e validação de métodos analíticos.

A Fundação de Amparo à Pesquisa (Fapesp) nº do processo: 2018/04061-8 e a Capes, pela bolsa de mestrado.

Ao LNNano pelas lâminas de ouro que foram fundamentais para o bom andamento do trabalho de pesquisa.

*Os químicos são uma estranha classe de mortais, impelidos por um impulso quase insano a procurar seus prazeres em meio a fumaça e vapor, fuligem e chamas, venenos e pobreza, e no entanto, entre todos esses males, tenho a impressão de viver tão agradavelmente que preferiria morrer a trocar de lugar com o rei da Pérsia.*

**Johann Joachim Becher, Physica Subterrânea (1667)**

*Assim os elementos trocavam entre si suas propriedades, como num instrumento de cordas os sons mudam de ritmo.*

**Livro da Sabedoria, XIX, 18**

## RESUMO

LIMA, Lucas F. Título: Filmes automontados de nanopartículas de magnetita e polipirrol para a determinação analítica de metilparabeno. 2020. 79 f. Defesa (Mestrado em Ciência dos Materiais) – Centro de Ciências e Tecnologia para a Sustentabilidade, Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2020.

Os parabenos são ésteres derivados do ácido para-hidroxibenzóico utilizados como antimicrobianos e bactericidas em cosméticos, produtos de higiene pessoal e limpeza, alimentos e medicamentos. Efeitos colaterais têm sido observados devido à bioacumulação desses compostos na região mamária. Metilparabeno (MeP) é o mais comum e seu uso ou bioacumulação pode causar câncer no útero e ovário, endometriose e outros problemas hormonais em mulheres. O leite materno é, na maioria dos casos, a única fonte de alimentação do recém-nascido e tem uma concentração média de  $22,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de MeP, devido a exposição da mãe a diversos produtos de higiene pessoal e cosméticos. Esse valor é considerado arriscado, pois a quantidade aceitável de parabenos para crianças é de  $10,2 \text{ ng kg}^{-1}$ . Com base neste problema, o presente trabalho teve como objetivo a detecção de MeP em amostras de urina e leite materno comparando o método eletroanalítico de Voltametria de Pulso Diferencial (DPV) com o método oficial de Eletroforese Capilar (CE). A presença de nanopartículas de magnetita com polipirrol ( $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy}$ )<sub>3</sub> depositados na superfície do substrato de ouro (Au) permitiu o aumento da taxa de transferência de carga da molécula alvo. O tamanho das nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  foi avaliado por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR) obtendo-se o valor médio de  $16,28 \pm 2,48 \text{ nm}$  e  $14,8 \text{ nm}$ , respectivamente. Além disso, houve crescimento linear e interação entre  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  e Ppy no filme compósito de LbL, como comprovado nos espectros de UV-vis pelas bandas em 224, 360 e 480 nm e FTIR em 561, 632, 1576, 1419, 1041 e  $936 \text{ cm}^{-1}$ . O método DPV detectou MeP na urina e no leite materno na faixa de  $(16,43 - 131,40) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  e os limites de detecção foram de  $(3,76 \text{ e } 7,11) \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ , respectivamente. Ambos os métodos foram comparados pelo método estatístico Miller-Miller. A boa linearidade no método estatístico indica que o sensor eletroquímico e o método analítico têm resultados muito próximos, mostrando boa precisão entre os dois métodos, o que permite discutir o uso de métodos eletroanalíticos como formas alternativas de métodos oficiais de análise em fluidos biológicos contendo MeP.

Palavras-chave: filmes LbL, Metilparabeno, tratamento estatístico, DPV, CE, Nanopartículas de magnetita, polipirrol.

## ABSTRACT

Parabens are esters derived from *para*-hydroxybenzoic acid used as antimicrobials and bactericides in cosmetics, personal hygiene and cleaning products, food and medicines. Side effects have been observed due to the bioaccumulation of these compounds in the mammary region. Methylparaben (MeP), the most common form, can cause cancer in womb and ovary, endometriosis and other hormonal problems in women. Breast milk is, in most cases, the only source of newborn feeding and it has an average of  $22.0 \mu\text{g L}^{-1}$  of MeP. This value is considered risky, since the acceptable amount of parabens for children is  $10.2 \text{ ng kg}^{-1}$ . Considering this, the present work aims the detection of MeP in samples of urine and breast milk statistically comparing the electroanalytical method of Differential Pulse Voltammetry (DPV) with the official method of Capillary Electrophoresis (CE), using modified electrodes. The magnetite nanoparticles presence with polypyrrole ( $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy}$ )<sub>3</sub> on the gold substrate surface (Au), allowed the increased charge transfer rate of the target molecule. The size of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  was determined by SEM and SPR with an average diameter of  $16.28 \pm 2.48 \text{ nm}$  and  $14.8 \text{ nm}$ , respectively. Besides, a linear growth and good interaction between  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  and Ppy in film LbL were observed, as can be seen in UV-vis spectra by the bands at 224, 360 e 480 nm and FTIR spectra by the bands at 561, 632, 1576, 1419, 1041 e  $936 \text{ cm}^{-1}$ . The DPV method detected MeP in urine and breast milk in a range of  $16.43 \times 10^{-6} - 131.40 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  and limits of detection were  $3.76 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  and  $7.11 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ , respectively. Both methods were compared by statistical method Miller-Miller. The good linearity obtained in the statistical method indicating that the electrochemical sensor and the analytical method presented very close results, showing good accuracy between both methods, which allows discussion concerning the use of electroanalytical methods as alternative forms of official analysis methods in biological fluids containing MeP.

Keywords: LbL film, Methylparaben, statistical treatment, DPV, CE, Magnetite nanoparticles, Polypyrrole.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estrutura molecular do 17 $\beta$ - estradiol.....	16
<b>Figura 2:</b> Processo de fabricação dos filmes ultrafinos pela técnica LbL. O substrato deve estar carregado negativamente. ....	17
<b>Figura 3:</b> Estrutura cristalina da magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). ....	18
<b>Figura 4:</b> Distribuição dos momentos magnéticos da magnetita $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . ....	19
<b>Figura 5:</b> Estrutura química do polipirrol.....	20
<b>Figura 6:</b> Resposta obtida por um Voltamograma de Pulso Diferencial (DPV). $\Delta I$ : variação da corrente ( $\mu\text{A}$ ), E: Potencial (V). ....	22
<b>Figura 7:</b> Esquema simplificado de um equipamento de Eletroforese Capilar (CE). ....	23
<b>Figura 8:</b> Possíveis resultados obtidos a partir da comparação de duas metodologias analíticas; (a) corresponde a um comportamento perfeito em relação a concordância das duas metodologias; (b)-(f) resultados obtidos a partir de vários erros sistemáticos. ....	24
<b>Figura 9:</b> Esquema de interação entre $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np e Ppy no filme LbL. ....	28
<b>Figura 10:</b> Representação de um sistema para a detecção eletroanalítica de MeP. ....	31
<b>Figura 11:</b> Difratoograma para a amostra $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np em substrato de vidro. ....	37
<b>Figura 12:</b> Histograma de distribuição do tamanho das $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np em suspensão. ....	38
<b>Figura 13:</b> Estudo da estabilidade da suspensão de $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np ( $100 \text{ mg mL}^{-1}$ , $\text{pH}=3$ ) em função do número de dias. ....	39
<b>Figura 14:</b> Imagem de MEV do filme <i>cast</i> e do Filme de $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ com o histograma de distribuição do tamanho médio das $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np ....	40
<b>Figura 15:</b> Varreduras angulares de SPR no ouro limpo, após a deposição de bicamadas de PEI/PVS, camadas de $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np e Ppy. Medição com o laser de 670 nm em dois meios (água e ar). ....	41
<b>Figura 16:</b> Espectros de UV-Vis das (A) Suspensões de Ppy (—) e $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np (—) mostrando suas principais bandas. Filme LbL de (B) $(\text{PAH/Ppy})_{10}$ , (C) $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/PVS})_{10}$ e (D) $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np})_{10}$ . Inserção em (B), (C) e (D) apresentam gráfico de absorbância em função do número de bicamadas. ....	42
<b>Figura 17:</b> Espectros de FTIR dos filmes (A) $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_5$ , (B) $(\text{PAH/Ppy})_5$ e (C) $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/PVS})_5$ .....	44
<b>Figura 18:</b> Comparativo entre as diferentes arquiteturas do filme LbL, mostrando a eficiência do eletrodo de $\text{Au}-(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ . ....	45
<b>Figura 19:</b> Comparativo entre diferentes números de bicamadas obtidos para o filme LbL de $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_n$ . ....	46
<b>Figura 20:</b> Voltamogramas obtidos a partir do filme LbL de $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ , utilizando o mesmo eletrodo em dias diferentes, na presença de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{H}_2\text{SO}_4$ ( $n=5$ ). ....	48
<b>Figura 21:</b> Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodos de $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ recém preparados na presença de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{H}_2\text{SO}_4$ ( $n=4$ ), onde $n$ é igual ao número de repetições. ....	49
<b>Figura 22:</b> (A) Voltamogramas de Pulso Diferencial em diferentes valores de pH na presença de $13,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MeP. (B) Valores da corrente de pico em função do valor de pH (filme LbL de $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ ).....	50
<b>Figura 23:</b> Reação de oxidação de MeP. ....	50

<b>Figura 24:</b> Voltamograma de Pulso diferencial da variação do parâmetro <i>interval time</i> de 0,3 s a 1,0 s, fixando o <i>step potential</i> em 0,01 V, o <i>modulation time</i> em 0,05 s e <i>modulation amplitude</i> em 0,1 V, filme LbL de (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np/Ppy) <sub>3</sub> . .....	51
<b>Figura 25:</b> Voltamograma de Pulso diferencial da variação do parâmetro <i>modulation amplitude</i> de 0,02 a 0,20 V, fixando o <i>step potential</i> em 0,01 V, <i>modulation time</i> em 0,05 s e <i>interval time</i> em 0,3 s, filme LbL de (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np/Ppy) <sub>3</sub> . .....	52
<b>Figura 26:</b> Voltamograma de Pulso diferencial da variação do parâmetro <i>modulation time</i> de 0,01 s a 0,10 s, fixando o <i>step potential</i> em 0,01 V, <i>modulation amplitude</i> em 0,20 s e <i>interval time</i> em 0,3 s, filme LbL de (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np/Ppy) <sub>3</sub> . .....	53
<b>Figura 27:</b> (A) Voltamograma de pulso diferencial utilizando o eletrodo de Au funcionalizado com o filme nanoestruturado de (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np/Ppy) <sub>3</sub> , na presença de 3,3, 6,6, 16,4, 32,9, 65,7, 98,6, 131,4 μmol L <sup>-1</sup> de MeP, realizadas em triplicata. (B) Curva analítica de J-J <sub>0</sub> (μA cm <sup>-2</sup> ) em função da concentração de MeP com a aproximação linear da média. ....	54
<b>Figura 28:</b> (A) Voltamograma de pulso diferencial para a amostra de urina diluída (1:10, urina/PBS 0,1 mol L <sup>-1</sup> ). (B) Curva analítica com concentrações crescentes de MeP no intervalo de 16,4 a 131,4 μmol L <sup>-1</sup> , filme LbL de (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np/Ppy) <sub>3</sub> . .....	54
<b>Figura 29:</b> (A) Voltamograma de pulso diferencial para a amostra de leite materno diluída (1:10, leite materno/PBS 0,1 mol L <sup>-1</sup> ). (B) Curva analítica com concentrações crescentes de MeP no intervalo de 16,4 a 131,4 μmol L <sup>-1</sup> , filme LbL de (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np/Ppy) <sub>3</sub> . .....	55
<b>Figura 30:</b> Efeito de matriz na análise eletroanalítica das amostras padrão, urina e leite materno. ....	57
<b>Figura 31:</b> Possíveis interferentes na detecção de MeP .....	58
<b>Figura 32:</b> Eletroferogramas da solução padrão (A) solução padrão (MeOH:H <sub>2</sub> O/ 70:30), (B) urina e (C) leite materno, na ausência e presença de MeP. ....	59
<b>Figura 33:</b> Curvas analíticas (n=3) para concentrações crescentes de MeP em (A) solução padrão, (B)urina e (C) leite materno.....	61
<b>Figura 34:</b> Efeito de matriz na análise eletroforética da amostra padrão, urina e leite materno. ....	62
<b>Figura 35:</b> Gráfico de regressão linear dos valores obtidos pelas técnicas DPV e CE para a detecção de MeP em amostras padrão (A), urina (B) e leite materno (C).....	63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Propriedades físico-químicas dos principais parabenos .....	12
<b>Tabela 2:</b> Concentração máxima de parabenos permitida em cosméticos determinada por alguns países .....	13
<b>Tabela 3:</b> Relação da concentração de metil e propilparabeno em diferentes sexos e faixas etárias, em três países. ....	15
<b>Tabela 4:</b> Condições de montagem dos filmes LbL de (PAH/Ppy) <sub>n</sub> , (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np/PVS) <sub>n</sub> e (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np/Ppy) <sub>n</sub> .....	27
<b>Tabela 5:</b> Comparação entre os valores de corrente de pico dos voltamogramas cíclicos para diferentes números de bicamadas do filme LbL de (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np/Ppy) <sub>n</sub> .....	47
<b>Tabela 6:</b> Resultados dos parâmetros de validação do método eletroanalítico de DPV para determinação de MeP em amostras de urina e leite materno .....	55
<b>Tabela 7:</b> Resultados dos parâmetros de validação do método eletroforético para determinação de MeP por CE .....	61

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>A</b>	Ampère
<b>Au</b>	Ouro
<b>CE</b>	<i>Capillary Electrophoresis</i> (Eletroforese Capilar)
<b>CV</b>	Cyclic voltammetry (Voltametria cíclica)
<b>DLS</b>	<i>Dinamic light scattering</i> (espalhamento dinâmico de luz)
<b>DPV</b>	<i>Differential Pulse Voltammetry</i> (Voltametria de Pulso Diferencial)
<b>E (V)</b>	Potencial (Volts)
<b>ECS</b>	Eletrodo de Calomelano Saturado
<b>EOF</b>	Fluxo Eletrosmótico
<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np</b>	Nanopartículas de magnetita
<b>FRA</b>	<i>Frequency Response Analysis</i> (análise de resposta em frequência)
<b>FTIR</b>	<i>Fourier Transform Infrared Spectrometry</i> (Espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier)
<b>GL</b>	Graus de liberdade
<b>GCE</b>	<i>Glassy Carbon Electrode</i> (Eletrodo de Carbono Vítreo)
<b>HPLC</b>	<i>High performance liquid chromatography</i> (cromatografia líquida de alta eficiência)
<b>I</b>	corrente
<b>IT</b>	<i>Interval time</i> (tempo de interval)
<b>LbL</b>	<i>Layer- by- Layer</i> (camada por camada)
<b>LD</b>	Limite de detecção
<b>LC-MS</b>	<i>Liquid Chromatography-mass Spectrometry</i> (cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa)
<b>LQ</b>	Limite de quantificação
<b>MA</b>	<i>Modulation amplitude</i> (amplitude de modulação)
<b>MEV</b>	Microscopia eletrônica de varredura
<b>MT</b>	<i>Modulation time</i> (tempo de modulação)
<b>N</b>	Número de repetições
<b>NPM</b>	Nanopartículas magnéticas
<b>NPs</b>	Nanopartículas
<b>PBS</b>	<i>Phosphate Buffered Saline</i> (tampão fosfato salino)
<b>PVS</b>	Poli(vinil sulfato de sódio)
<b>Ppy</b>	Polipirrol
<b>SPR</b>	<i>Surface Plasmon Resonance</i> (Ressonância Plasmônica de Superfície)
<b>T</b>	Transmitância
<b>UV-Vis</b>	Ultravioleta visível
<b>ZT</b>	Zeta potential (potencial zeta)

## SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	24
1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. PROBLEMÁTICA.....	11
1.2. PARABENOS.....	11
1.3. PARABENOS COMO DESREGULADORES ENDÓCRINOS.....	13
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1. SENSORES ELETROQUÍMICOS.....	16
2.2. DESENVOLVIMENTO DE FILMES AUTOMONTADOS LBL (LAYER-BY-LAYER).....	17
2.3. MATERIAIS UTILIZADOS PARA A FORMAÇÃO DO FILME LbL DE Ppy E Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np.....	18
2.3.1. NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA.....	18
2.3.2. POLIPIRROL (Ppy).....	19
2.3.3. ESTUDO SINERGÉTICO DO COMPÓSITO FORMADO POR Ppy E Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np.....	20
2.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA A DETECÇÃO DE MEP.....	21
2.4.1. VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL (DPV).....	21
2.4.2. ELETROFORESE CAPILAR (CE).....	22
2.5. COMPARAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS.....	23
3. OBJETIVOS GERAIS.....	25
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1. REAGENTES E PREPARO.....	25
4.2. PREPARO DA SUSPENSÃO DE.....	26
4.3. PREPARO DAS SOLUÇÕES DE POLIELETRÓLITOS.....	26
4.4. PREPARO DOS SUBSTRATOS PARA FABRICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LbL.....	26
4.5. FABRICAÇÃO DOS FILMES LbL.....	27
4.6. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LBL.....	28
4.6.1. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-VIS).....	28
4.6.2. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	28
4.6.3. ESPECTROSCOPIA DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX).....	29
4.6.4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	29
4.6.5. RESSONÂNCIA PLASMÔNICA DE SUPERFÍCIE (SPR).....	29
4.6.6. POTENCIAL ZETA (ZT) E ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ (DLS).....	29
4.6.7. VOLTAMETRIA CÍCLICA (CV).....	30
4.7. INSTRUMENTAÇÃO.....	30
4.7.1. ANÁLISES POR VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL (DPV).....	30
4.7.2. ANÁLISES POR ELETROFORESE CAPILAR (CE).....	31
4.8. PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE.....	32
4.9. PROCEDIMENTO PARA VALIDAÇÃO.....	32
4.9.1. SELETIVIDADE.....	32
4.9.2. SENSIBILIDADE, LINEARIDADE E FAIXA DE TRABALHO.....	33
4.9.3. PRECISÃO.....	33
4.9.4. RECUPERAÇÃO.....	34
4.9.5. LIMITE DE DETECÇÃO (LD) E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (LQ).....	34
4.9.6. ESTUDO DO EFEITO MATRIZ.....	35
4.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36

## 5.1. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np E DOS FILMES LbL

36

5.1.1. CARACTERIZAÇÃO DAS $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -NP POR DRX, DLS, ZT E UV-VIS .....	36
5.1.2. CARACTERIZAÇÃO DO FILME LbL DE $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_n$ POR MEV E SPR .....	39
5.1.3. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LbL POR UV-VIS.....	41
5.1.4. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LbL POR FTIR .....	42
5.1.5. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LbL POR CV .....	45
5.1.5.1. COMPARAÇÃO DOS FILMES LbL FRENTE AO PAR REDOX $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ .....	45
5.1.5.2. ESTUDO DO NÚMERO DE BICAMADAS DO FILME LbL DE .....	46
5.1.5.3. REPRODUTIBILIDADE .....	47
5.2. ANÁLISE ELETROANALÍTICA .....	49
5.2.1. INFLUÊNCIA DO pH NO PROCESSO DE OXIDAÇÃO DO MeP .....	49
5.2.2. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA DPV .....	51
5.2.3. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ELETROANALÍTICO .....	53
5.2.4. EFEITO DE MATRIZ.....	56
5.2.5. ESTUDO DE INTERFERENTES.....	57
5.3. ANÁLISE ELETROFORÉTICA .....	58
5.3.1. VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ELETROFORÉTICA .....	59
5.3.2. EFEITO MATRIZ .....	62
5.4. COMPARAÇÃO ESTATÍSTICA DOS MÉTODOS ANALÍTICOS DE DETERMINAÇÃO DO MeP PELO MÉTODO DE REGRESSÃO LINEAR .....	62
6. CONCLUSÕES .....	65
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	67

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. PROBLEMÁTICA**

O elevado crescimento populacional, associado ao aumento do consumo de produtos industrializados, farmacológicos, cosméticos e de limpeza, se intensifica gradativamente ao longo dos anos, com isso, a necessidade de se utilizar conservantes que mantenham a estabilidade e a manutenção desses produtos torna-se imprescindível. Dentre as principais características que os conservantes devem apresentar encontram-se, estabilidade física, que prioriza as características físicas do produto; química, mantém a integridade da estrutura química utilizada nos ingredientes e a biológica, que pretende manter as características microbiológicas do produto dentro de padrões aceitáveis para consumo (CHEN et al., 2018).

Os conservantes químicos são compostos que retardam o processo de deterioração gerado por microrganismos em diversos produtos, atuando como agentes bactericidas ou antimicrobianos. A eficiência desses compostos está diretamente relacionada a três fatores: grau de dissociação do ácido (pKa), pH do meio e ação específica do conservante (CARREIRA, 2008; DERISSO, 2017).

O aumento da concentração de conservantes em produtos para consumo humano e em resíduos líquidos vêm se intensificando ao longo dos anos. Isso acaba se tornando um problema para a saúde humana e para diversos ecossistemas que são expostos a essas substâncias (LÓPEZ-ORTIZ et al., 2018). Essa situação tem cada vez mais gerado preocupação em diferentes segmentos da comunidade científica, criando uma necessidade de procurar formas alternativas de minimizar impactos toxicológicos gerados em todos os organismos, uma vez que certos agentes antimicrobianos, mesmo que em concentrações na escala de  $\text{ng mL}^{-1}$ , podem gerar distúrbios hormonais que interferem em todo equilíbrio metabólico, ocasionando efeitos deletérios e fetotóxicos (ZHOU; CHEN; DING, 2018).

Uma das principais classes de antimicrobianos que promove intenso desequilíbrio hormonal e é utilizado em inúmeros produtos são os parabenos.

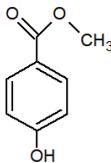
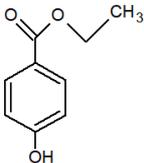
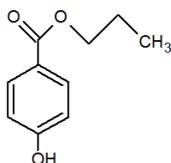
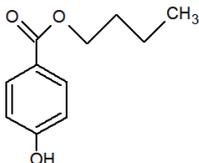
### **1.2. PARABENOS**

Os parabenos são ésteres do ácido para-hidroxibenzóico utilizados como antimicrobianos e bactericidas em uma gama de produtos industrializados, atuando como conservantes. Os primeiros indícios de parabenos, surgiram em meados de 1920, com a finalidade de prolongar a vida útil de medicamentos pelas indústrias farmacêuticas. Atualmente, são amplamente utilizados em cosméticos, produtos de higiene pessoal, produtos de limpeza, alimentos e medicamentos (YIN; ZHU; YANG, 2018).

Em 2013, estudos com aproximadamente 282 tipos de alimentos, das mais diversas categorias (frutas, laticínios, frutos do mar, cereal, carnes, biscoitos, condimentos, entre outros), mostrou que para 99% dos produtos analisados existiam quantidades significativas de parabenos ( $10\text{-}1000\text{ mg L}^{-1}$ ) (LIAO; CHEN; KANNAN, 2013), sendo que os limites toxicológicos para invertebrados aquáticos são de  $24,6\text{ mg L}^{-1}$  para MeP e  $12,6\text{ mgL}^{-1}$  para propilparabeno (DOBBINS et al., 2009). Os valores considerados precursores de cânceres em seres humanos estão no intervalo de  $0,1\text{-}10\text{ mg/Kg}$  de massa corporal (RAZA et al., 2018).

Os principais parabenos encontrados nas mais diversas matrizes são: metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP), propilparabeno (ProP) e o butilparabeno (ButP), que diferem pelo número de carbonos que está ligado ao anel aromático e consequentemente sua solubilidade e atividade antimicrobiana (GOMES, 2016). A Tabela 1 ilustra algumas características físico-químicas dos principais parabenos.

**Tabela 1:** Propriedades físico-químicas dos principais parabenos.

Parabeno	Metilparabeno	Etilparabeno	Propilparabeno	Butilparabeno
<b>Fórmula estrutural</b>				
<b>Fórmula molecular</b>	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_3$
<b>Massa molar (<math>\text{g mol}^{-1}</math>)</b>	152,15	166,18	180,21	194,23
<b>pKa</b>	8,17	8,22	8,35	8,37
<b>Solubilidade em água a <math>25^\circ\text{C}</math> (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	2500	885	500	207

**Fonte:** Adaptado de (DERISSO, 2017).

Algumas das características que classificam os parabenos como antimicrobianos (DERISSO, 2017) são:

- Atividade bactericida para leveduras, bolores e bactérias Gram-positivas;
- Quimicamente estáveis no intervalo de pH (4,5 a 7,5);
- Suficientemente solúveis em água;
- Insípidos, inodoros e incolores;

Como os parabenos estão presentes em uma parcela considerável de produtos para consumo humano, principalmente em cosméticos, alguns países determinaram as concentrações permitidas por meio da legislação, como pode ser observado na Tabela 2.

**Tabela 2:** Concentração máxima de parabenos permitida em cosméticos determinada por alguns países.

<b>Nações e Países</b>	<b>Órgão</b>	<b>Concentração permitida</b>
<b>União Européia</b>	Regulamentação Européia (EC) nº1223/2009	0,4 % (ácido) apenas um éster 0,8% (ácido) para uma mistura de ésteres
<b>Dinamarca</b>	Ministério do meio ambiente Dinamarquês	0,4% (ácido) apenas ésteres 0,8% (ácido) para mistura de ésteres, não devendo ser usados em produtos para menores de 3 anos
<b>EUA</b>	Federação de medicamentos, alimentos e cosméticos	0,4% (m/m) apenas um parabeno 0,8% (m/m) para uma mistura de parabenos
<b>Japão</b>	Legislação Japonesa de Medicamentos	1% apenas um parabenos 1% para uma mistura de parabenos
<b>Canadá</b>	Legislação de alimentos e medicamentos	Sem restrição
<b>Brasil</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária	0,4% (m/m) apenas um parabeno 0,8% (m/m) mistura de parabenos

**Fonte:** Adaptado de (CABALEIRO et al., 2014; RIBEIRO, 2014)

### 1.3. PARABENOS COMO DESREGULADORES ENDÓCRINOS

As substâncias químicas que causam desequilíbrio hormonal no organismo são denominadas desreguladores endócrinos e podem causar danos ao sistema endócrino por três formas diferentes (GOMES, 2016):

- Podem bloquear o receptor hormonal dentro das células, gerando sinais com intensidade diferente das emitidas pelo hormônio.
- Atuam como inibidores competitivos dentro da célula, impedindo que os hormônios se liguem e desempenhem seu papel.
- Afetam o metabolismo, excreção e síntese dos hormônios, alterando sua concentração no organismo.

Nas mulheres, um dos problemas relacionados a elevada concentração de desreguladores endócrinos está associada a disfunções hormonais na glândula tireoide, que pode ser evidenciado na fase adulta. Os hormônios tireoidianos têm papel fundamental no desenvolvimento neurológico do feto, sendo de extrema importância na regulação metabólica, desempenhando funções em todo sistema nervoso, reprodutivo, esquelético e cardiovascular (KOEPE et al., 2013; ZHAO et al., 2018). Além disso, estudos feitos em tumores de mama indicaram concentrações médias de aproximadamente 20 ng de parabenos por grama de tecido cancerígeno, colocando esses compostos na classe de estrogênicos ambientais que se acumulam principalmente nas regiões mamárias. Esses dados podem ser explicados devido à maior utilização de produtos de cuidados pessoais como, cremes, óleos corporais, maquiagem, entre outros produtos, que apresentam em sua composição elevada concentração de parabenos (XUE et al., 2015; HUO et al., 2018).

Nos homens, o aumento de hormônios estrogênicos permite o desenvolvimento de cânceres de próstata, diminuição da mobilidade dos espermatozoides, além do mal funcionamento do sistema glandular, provocado pela diminuição de hormônios androgênicos (JUREWICZ et al., 2017).

Em crianças, o problema é ainda maior quando comparado com homens e mulheres adultas. Estudos com crianças de diferentes países como, China, EUA, Dinamarca, França, Índia e Grécia, ilustram quantidades excessivas de parabenos encontradas em plasma sanguíneo e urina. Isso ocorre porque as crianças na faixa etária entre 0-3 anos, apresentam a mesma fonte de exposição das mães, como produtos de higiene pessoal e alimentos (MOOS et al., 2014; MANCINI et al., 2015; MYRIDAKIS et al., 2015; XUE et al., 2015). Além disso, o leite materno apresenta em média 22,0; 18,0; 10,0 e 5,7  $\mu\text{g L}^{-1}$  de metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno, respectivamente (NOWAK et al., 2018). Esses valores são considerados de risco, uma vez que, a quantidade média de parabenos aceitável para crianças é de aproximadamente 10,2  $\text{ng Kg}^{-1}$  (MYRIDAKIS et al., 2015; CHENG et al., 2017).

A Tabela 3 ilustra a concentração de dois parabenos em homens e mulheres adultas, e crianças com menos de 5 anos.

**Tabela 3:** Relação da concentração de metil e propilparabeno em diferentes sexos e faixas etárias, em três países.

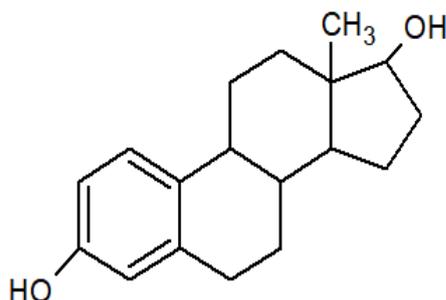
País	Parabeno	Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	Faixa etária/ Matriz	Referência
EUA	Metilparabeno	0,5-1,5x10 <sup>4</sup>	Crianças/ urina	(SAVAGE et al., 2012)
	Propilparabeno	0,1-7,2x10 <sup>3</sup>		
Dinamarca	Metilparabeno	17,7	Homens jovens/ Urina	(HANNE, F.; NIELS, J.; ANDERSSON, A. M., 2011)
	Propilparabeno	3,6		
Noruega	Metilparabeno	9,4	Mulheres/plasma	(SANDANGER et al., 2011)
	Propilparabeno	-		

**Fonte:** (WANG et al., 2013).

Os estudos de bioacumulação de parabenos em diferentes indivíduos e faixas etárias, ainda são escassos, principalmente em países da Ásia, África e no Brasil (ALSHANA; ERTAŞ; GÖĞER, 2015; GOMES, 2016).

A atividade estrogênica que ocorre pela interação de desreguladores endócrinos com os receptores hormonais, pode ser comparada com a mesma intensidade de interação do hormônio 17 β-estradiol, que é o hormônio feminino mais simples encontrado no organismo e é utilizado como padrão para medidas da atividade estrogênica. Sendo assim, os compostos que apresentam singularidade com a estrutura molecular do 17 β-estradiol (Figura 1), tendem a proporcionar atividade estrogênica, como é o caso dos parabenos (JUREWICZ et al., 2017).

**Figura 1:** Estrutura molecular do 17  $\beta$ - estradiol.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Além da existência de uma legislação que determina as concentrações máximas de parabenos em produtos industrializados, torna-se necessária a utilização de métodos simples que possam determinar a concentração desses compostos nas mais diversas matrizes, otimizando tempo e custo de análise. Esses estudos são fundamentais para a determinação e fiscalização de novas leis e de grande relevância para a comunidade acadêmica.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. SENSORES ELETROQUÍMICOS

Os sensores eletroquímicos possuem uma ampla aplicabilidade na detecção qualitativa e/ou quantitativa de inúmeros compostos em diversas matrizes como fármacos, alimentos, fluidos corporais, águas residuais, diagnóstico de doenças, entre outros, e são capazes de detectar quaisquer alterações no meio em que estão sendo inseridos (normalmente em uma solução) e converter na forma de sinais analíticos, que podem ocorrer devido a mudanças na variações na concentração do analito de interesse e alterações no estado de oxidação. As respostas dos sinais ainda podem ser detectadas por meio de propriedades eletroquímicas como diferença de potencial, condutividade elétrica e frequência (CORREA et al., 2014; RODRIGUES, 2016).

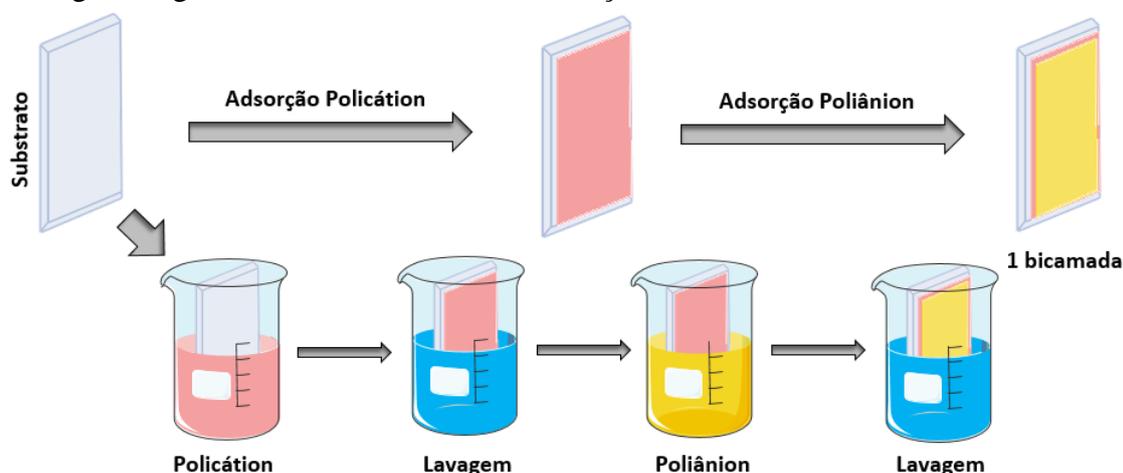
Algumas propriedades são fundamentais para a escolha de um sensor eletroquímico, incluindo a reprodutibilidade, sensibilidade, estabilidade e robustez, porém, deve-se tomar cuidado com grandes perturbações ocasionadas por interferentes químicos presentes na amostra, para que não ocorram alterações na resposta do sinal analítico (CORREA et al., 2014; RODRIGUES, 2016). Com base no que foi mencionado, os sensores podem ser classificados conforme a natureza do analito, tipo de sensor (químico ou biológico), princípio de análise

eletroquímica (potenciométrico, voltamétrico, etc...), mecanismo de reconhecimento e especificidade. Outro aspecto importante na utilização de sensores eletroquímicos ao invés de técnicas analíticas como Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e Eletroforese Capilar (CE), ocorre porque essas técnicas, em maioria, necessitam de tratamento prévio da amostra e utilização de solventes orgânicos, diferentemente dos sensores eletroquímicos.

## 2.2. DESENVOLVIMENTO DE FILMES AUTOMONTADOS LBL (LAYER-BY-LAYER)

Os filmes automontados camada a camada (LbL do inglês *layer-by-layer*) são facilmente fabricados e possibilitam a imobilização e organização molecular sobre o substrato, por meio de forças de Van der Waals e forças eletrostáticas (DECHER, G., 1997; PATERNO; MATTOSO; OLIVEIRA JR, 2001; SANTOS, 2012). O procedimento para fabricação dos filmes é relativamente simples, sendo necessária apenas a utilização de béqueres e materiais que apresentem maior solubilidade em água do que em solventes orgânicos, para que não ocorra evaporação do analito, alterando as concentrações da solução. Inicialmente o substrato é imerso em um béquer contendo uma solução catiônica, durante um tempo pré-estabelecido e posteriormente é transferido para outro béquer contendo água ultrapura, para retirada das moléculas que não foram adsorvidas, em seguida, o substrato é imerso em um béquer contendo uma solução aniônica por determinado tempo, e por fim lavado. Esse procedimento permite a formação da primeira bicamada e a repetição desse processo por “n” vezes, leva a formação de filmes com multicamadas e diferentes propriedades (BARROS, 2015; SANTOS, 2016). A Figura 2 ilustra o procedimento de fabricação dos filmes ultrafinos pelo método LbL.

**Figura 2:** Processo de fabricação dos filmes finos pela técnica LbL. O substrato deve estar carregado negativamente no caso dessa ilustração



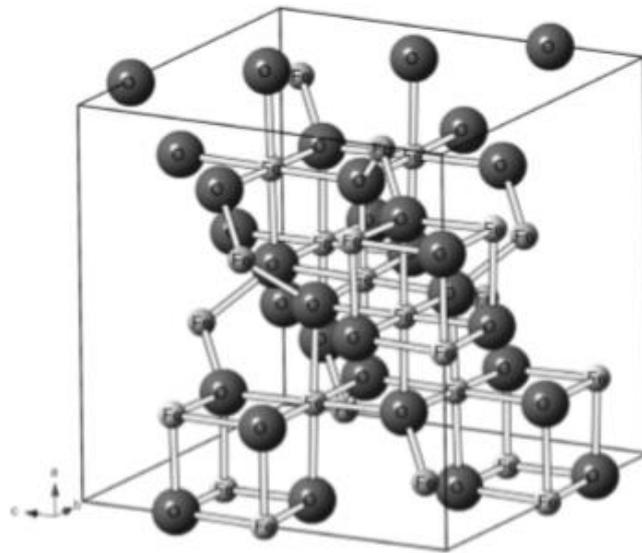
Fonte: Adaptado de (BARROS, 2015)

## 2.3. MATERIAIS UTILIZADOS PARA A FORMAÇÃO DO FILME LbL DE Ppy E $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np

### 2.3.1. NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA

As nanopartículas de magnetita são óxidos de fórmula  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , formadas a partir de processos oxidativos pela adição de sais de  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  em solução básica, sob aquecimento (MIYAZAKI et al., 2013). Em sua composição, existem íons ferro com estados de oxidação II e III. Sua estrutura cristalina é do tipo espinélio invertido, conferindo ligações coordenadas dos íons  $\text{O}^{2-}$  tanto a íons  $\text{Fe}^{2+}$  quanto aos íons  $\text{Fe}^{3+}$ , conforme ilustrado na Figura 3.

**Figura 3:** Estrutura cristalina da magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).



**Fonte:** (OLIVEIRA; FABRIS; PEREIRA, 2013)

A organização predominante dos íons  $\text{Fe}^{3+}$  em posições tetraédricas, impede que exista um momento magnético resultante devido à presença destes íons trivalentes. Entretanto, os sítios octaédricos são ocupados tanto por íons  $\text{Fe}^{3+}$  quanto por íons  $\text{Fe}^{2+}$  que podem ser facilmente oxidados, permitindo que ocorra magnetização de saturação e atribuindo comportamento magnético ao material (U. SCHWERTMANN; R. M. CORNELL, 2000). A Figura 4 ilustra a atribuição desses momentos magnéticos na magnetita.

**Figura 4:** Distribuição dos momentos magnéticos da magnetita  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

Cátions	Sítios Octaédricos	Sítios Tetraédricos	Momento magnético líquido
$\text{Fe}^{3+}$	↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑	↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓	Cancelamento total ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ Cada seta representa Um momento m
$\text{Fe}^{2+}$	↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑	—	

Fonte: Adaptado de (CALLISTER; CALLISTER, 2001).

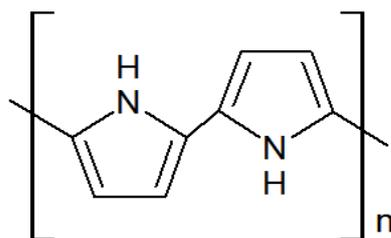
Apesar da magnetita apresentar baixo potencial magnético comportando-se como um superparamagnético, devido a escala nanométrica, ela apresenta elevada polarização de rotação a temperatura ambiente e atua como um doador de elétrons, permitindo que o material seja aplicado em diversos segmentos, como dispositivos microeletrônicos, biomédicos para administração direcionada de fármacos, para o tratamento de doenças, fabricação de sensores eletroquímicos, entre outros (MAJEWSKI; THIERRY, 2007; SU, 2017).

O principal mecanismo de adsorção das nanopartículas de magnetita ocorre via interações eletrostáticas, porém, alguns fatores como a área superficial das nanopartículas, pH, temperatura e tempo de contato são fundamentais para a otimização de um sistema de adsorção utilizando  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Outro aspecto importante é a imobilização de nanopartículas com polímeros condutores, que ao longo dos últimos anos, vem se tornando objetivo de pesquisa devido ao efeito sinérgico do compósito resultante (DENG et al., 2003; MOHAMMED et al., 2017).

### 2.3.2. POLIPIRROL (Ppy)

O polipirrol é um dos polímeros condutores amplamente utilizado na fabricação de sensores e biossensores, pois apresenta características elétricas, ópticas e magnéticas similares a um semicondutor. Além disso, é utilizado na comunidade científica devido à facilidade em sua síntese, estabilidade química e excelentes propriedades mecânicas, decompondo-se em temperaturas superiores a  $300^\circ\text{C}$  (TEIXEIRA et al.,; PATERNO; MATTOSO; OLIVEIRA JR, 2001; BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014). A Figura 5 ilustra a estrutura química do polímero.

**Figura 5:** Estrutura química do polipirrol.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Sua estrutura química é composta por ligações duplas que se intercalam, permitindo que esse polímero se comporte como um híbrido de ressonância. Quando uma solução de polipirrol é adicionada a um dopante em elevada concentração, pode-se observar a formação de espécies polarônicas paramagnéticas, que posteriormente, são convertidas em bi-pólarons, aos quais se estabilizam pelo efeito de ressonância presente nas ligações duplas dos anéis aromáticos (SIMÃO, 2005; BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014). Essas estruturas adquirem uma densidade de carga negativa no grupo amino presente na estrutura do polímero, que serve como polieletrólito anódico no processo de fabricação de filmes automontados (DAIKUZONO et al., 2017).

O fato de ser um excelente condutor e ter propriedades catalíticas o torna muito atraente na detecção eletroquímica (RAMANAVIČIUS; RAMANAVIČIENĖ; MALINAUSKAS, 2006; JAIN; JADON; PAWAIYA, 2017). Ppy já foi utilizado na detecção de MeP em amostras de cosmético por Madakbaş *et al*, onde, eletrodos de GCE (eletrodo de carbono vítreo) foram modificados com Ppy por ligações covalentes, resultando em um limite de detecção de  $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  e recuperação de 94%, utilizando como técnica eletroanalítica a DPV (Voltametria de Pulso Diferencial) (MADAKBAŞ; KAMILOĞLU; YETIMOĞLU, 2015).

### 2.3.3. ESTUDO SINERGÉTICO DO COMPÓSITO FORMADO POR Ppy E $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$

A escolha das nanopartículas de magnetita associadas ao polipirrol, contribui para a formação de um compósito que apresenta características sinérgicas favoráveis no desenvolvimento de novos materiais, com propriedades magnéticas, ópticas e elétricas de extremo interesse na fabricação de filmes ultrafinos, promovendo estabilidade ao material. Essas características são importantes para os estudos eletroquímicos no desenvolvimento de sensores devido ao aumento na troca de elétrons entre a superfície do material funcionalizado e a solução eletrolítica contendo o analito, favorecendo processos oxidativos e

consequentemente, aumento da magnitude do sinal analítico (GUO et al., 2013; BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014; ZAMORA-GÁLVEZ et al., 2016).

Nanopartículas de magnetita e polipirrol têm sido amplamente aplicados em inúmeros trabalhos que demonstram suas propriedades sinérgicas. Dey et al., obtiveram um compósito preparado com Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy e observaram uma elevada constante dielétrica (DEY; DE; DE, 2005). Chen et al., investigaram a interação entre a superfície das Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np e Ppy, demonstrando que o polímero apresenta boa afinidade com a superfície da nanopartícula por meio de técnicas espectroscópicas e microscópicas, comprovando uma boa interação entre os dois materiais (CHEN et al., 2003). Wang et al., investigaram aplicações biomédicas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np com Ppy, encapsulado via polimerização em emulsão (WUANG et al., 2007). Chen et al., prepararam um compósito de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy apresentando efeitos magnéticos e elétricos significativos (CHEN et al., 2003). No entanto, o efeito sinérgico entre Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np e Ppy, ainda não foi relatado em sensores eletroquímicos funcionalizados pela técnica LbL, o que torna interessante o estudo da sinergia entre os materiais e observar o que ocorre na detecção eletroquímica de MeP.

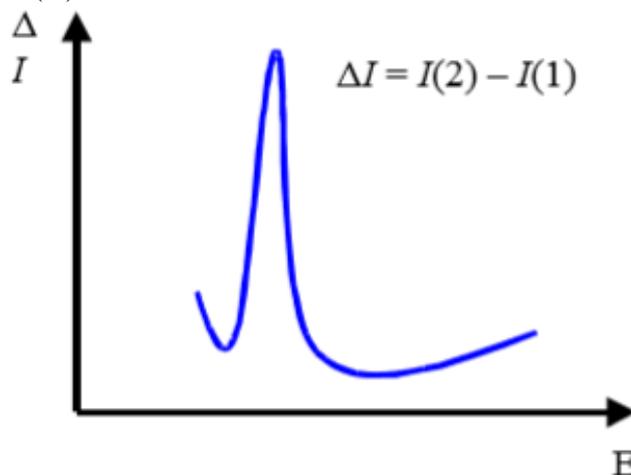
## **2.4.TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA A DETECÇÃO DE MEP**

### **2.4.1. VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL (DPV)**

A DPV foi utilizada para a quantificação de MeP nas amostras analisadas. Em DPV, pulsos são aplicados a um eletrodo de trabalho, resultando em um gráfico de corrente em função do potencial aplicado, cuja magnitude do sinal analítico é proporcional à altura dos picos. Essa técnica é mais sensível que a técnica de voltametria cíclica, tornando-se uma importante ferramenta de trabalho com resultados obtidos em um intervalo de tempo relativamente rápido (SANTOS, 2012).

A DPV pode ser interpretada como a primeira derivada da resposta de um voltamograma diferencial, resultando em um pico. Sendo assim, pode-se obter um gráfico de DPV por meio dos diferentes valores de corrente em função dos potenciais aplicados que são diretamente proporcionais a concentração do analito a ser analisado (BRETT, A.M.O; BRETT, C. M, 1996). A Figura 6 ilustra um exemplo de voltamograma de pulso diferencial e o valor da primeira corrente subtraída da segunda  $\Delta I = I_{(2)} - I_{(1)}$ , em função do potencial aplicado (E).

**Figura 6:** Resposta obtida por um Voltamograma de Pulso Diferencial (DPV).  $\Delta I$ : variação da corrente ( $\mu A$ ), E: Potencial (V).



**Fonte:** (BRETT, A.M.O; BRETT, C. M, 1996)

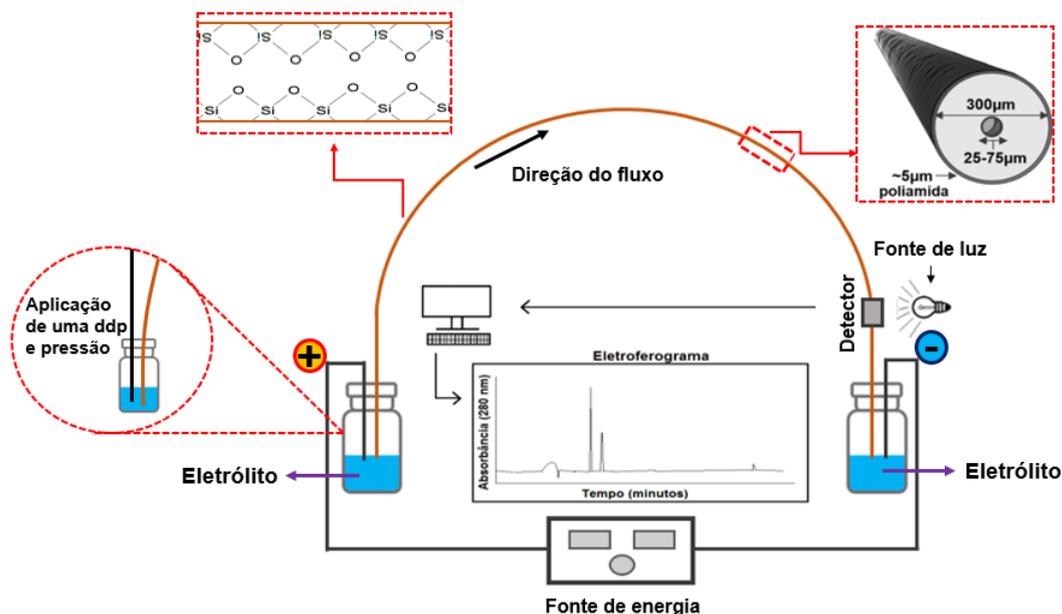
Dentre as técnicas voltamétricas, os resultados obtidos por DPV na detecção de compostos orgânicos apresentam melhores respostas. Esse efeito é resultado do processo de adsorção que ocorre pela superfície do eletrodo, o que torna possível discriminar os efeitos gerados antes e depois da aplicação do pulso (BRETT, A.M.O; BRETT, C. M, 1996).

#### 2.4.2. ELETROFORESE CAPILAR (CE)

A CE é uma das plataformas analíticas de extrema versatilidade e aplicabilidade para diferentes analitos e tipos de amostra. Outra vantagem é que o equipamento não requer colunas específicas para cada tipo de amostra, o que resulta em ganho econômico nas análises. A CE tem como princípio o transporte de partículas eletricamente carregadas, sob a influência de um campo elétrico, envolvendo a aplicação de uma tensão que pode variar de 5 a 30 kV gerando valores de correntes no intervalo de 10 a 100 mA (DEYL, 1979).

A alta eficiência dessa técnica é proporcionada pelo fluxo eletrosmótico (EOF). A corrente elétrica induz a migração da solução pelo capilar, permitindo um fluxo constante e não causando alargamento dos picos (BRYAN, R. J. et al., 1989). Cabe mencionar que outras vantagens da CE em relação às principais técnicas de separação como HPLC e GC incluem: a utilização de um volume reduzido de solventes e amostras (uma vantagem para as análises ambientais) e menores tempos de análise (CALA et al., 2011). A Figura 7 ilustra a representação esquemática da CE.

**Figura 7:** Esquema simplificado de um equipamento de Eletroforese Capilar (CE).



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

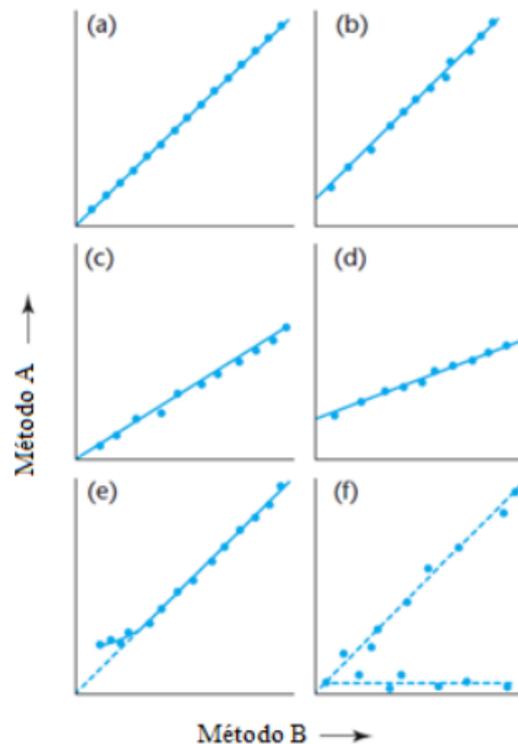
## 2.5. COMPARAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Torna-se fundamental garantir que a metodologia desenvolvida seja adequada e confiável, para ser aplicada na matriz de interesse. Com base nisso, a validação de métodos analíticos é uma ferramenta que permite assegurar a confiabilidade dos resultados em metodologias analíticas. Existem diversas maneiras para validar um método, uma maneira já conhecida e comumente utilizada é a comparação a partir de um procedimento analítico bem consolidado, que permite avaliar erros sistemáticos e aleatórios, mostrando se os resultados obtidos pela técnica utilizada apresentam valores significativamente maiores ou menores em relação ao procedimento padrão (J.C. MILLER; , J.N. MILLER, 2005).

Por meio da metodologia de Miller e Miller é possível comparar adequadamente os resultados obtidos por duas técnicas, construindo o gráfico dos resultados obtidos pelas suas respectivas curvas analíticas. Os resultados obtidos pela técnica padrão devem ser plotados no eixo x, enquanto que os resultados obtidos pela nova metodologia devem ser plotados no eixo y. Se ambas as análises conduzirem aos mesmos resultados, nos diferentes valores de concentração analisados, então o coeficiente linear deverá ser próximo de zero e os valores da tangente e coeficiente de correlação deverão ser próximos de 1. Entretanto, mesmo que os erros sistemáticos sejam evitados, os erros aleatórios acabam se tornando inevitáveis, assegurando que ambas as metodologias dificilmente apresentem exatamente o mesmo valor, nos diferentes níveis de concentração analisados (MILLER; MILLER, 1988; MILLER, 1991; J.C. MILLER;

J.N. MILLER, 2005). A Figura 8 ilustra alguns possíveis resultados obtidos pela comparação de duas metodologias.

**Figura 8:** Possíveis resultados obtidos a partir da comparação de duas metodologias analíticas; (a) corresponde a um comportamento perfeito em relação a concordância das duas metodologias; (b)-(f) resultados obtidos a partir de vários erros sistemáticos.



**Fonte:** (J.C. MILLER; , J.N. MILLER, 2005).

Uma maneira de verificar se os valores da tangente e do intercepto diferem significativamente de 1 e 0 respectivamente, é a utilização de testes estatísticos de significância que apresentam alta confiabilidade, por exemplo, 95%. O teste t pareado de Student é comumente utilizado como ferramenta estatística na comparação entre duas metodologias, provando se os resultados são análogas ou não. Neste teste, os valores de desvio padrão das concentrações analisadas para cada técnica são comparados com os valores críticos tabelados, de acordo com o número de graus de liberdade ( $GL = n - 1$ ,  $\alpha = 0,05$ ) (MILLER; MILLER, 1988).

### 3. OBJETIVOS GERAIS

Desenvolver um sensor eletroquímico funcionalizado com filmes automontados (LbL) de nanocompósito de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np e Ppy em substratos de Au, para a detecção de MeP em fluidos biológicos como leite materno e urina.

#### 3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar e caracterizar as nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np).
- Estudar as três arquiteturas do filme LbL (PAH/Ppy)<sub>n</sub>, ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np/PVS)<sub>n</sub> e ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np/Ppy)<sub>n</sub>, para verificar o efeito sinérgico existente entre as  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np e o Ppy.
- Caracterizar morfologicamente e estruturalmente os filmes que serão empregados como unidades sensoriais.
- Selecionar o pH ótimo e os parâmetros de DPV para obter melhor resposta eletroanalítica.
- Detectar diferentes concentrações de MeP em solução eletrolítica e posteriormente aplicar o sensor a uma amostra real.
- Realizar o estudo de interferentes em amostras reais pela metodologia desenvolvida.
- Validar o método eletroanalítico e eletroforético em solução padrão e fluidos biológicos, por meio dos parâmetros: precisão, exatidão, seletividade, sensibilidade, linearidade, faixa de trabalho, recuperação, limite de detecção e limite de quantificação.
- Comparar estatisticamente os resultados obtidos pela técnica eletroanalítica e eletroforética, por meio do método de Miller-Miller e pelo teste t pareado de Student nas matrizes propostas.

### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4.1. REAGENTES E PREPARO

Todos os reagentes utilizados no preparo das soluções de trabalho foram de grau analítico. Metilparabeno (MeP), dispersão de polipirrol 5% em água (Ppy), cloreto de sódio (NaCl), poli(vinil sulfonato de sódio) (PVS), poli(alilamina hidrocloreada) (PAH), tetraborato de sódio (TBS) e fosfato de potássio dibásico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Cloreto ferroso tetra-hidratado ( $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), cloreto ferrico hexa-hidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) e metanol (grau HPLC) foram adquiridos da J.T.Baker, Cinética e Merck, respectivamente. Todos os reagentes analíticos foram preparados usando água ultrapura (Sartorius Weighing Technology, Alemanha), com uma resistividade de  $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$  à  $25^\circ\text{C}$ .

#### **4.2. PREPARO DA SUSPENSÃO DE Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np**

Para a síntese das nanopartículas de magnetita foi utilizado o método da co-precipitação, que consiste na adição de NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>) a uma solução de 15 mL de Fe<sup>2+</sup> (0,1 mol L<sup>-1</sup>) e 30 mL Fe<sup>3+</sup> (0,1 mol L<sup>-1</sup>), em constante agitação. O pH da solução foi ajustado para 10 e mantida em repouso durante 1 hora à temperatura ambiente. O produto final foi filtrado e analisado por MEV e Raios-X (MIYAZAKI et al., 2013). A suspensão de nanopartículas de magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np) foi feita em água ultrapura, em uma concentração de 1 mg mL<sup>-1</sup>, em pH 3, ajustado com uma solução de HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

#### **4.3. PREPARO DAS SOLUÇÕES DE POLIELETRÓLITOS**

As suspensões de polipirrol (Ppy) e poli(alilamina hidrocloreada) (PAH) foram feitas na concentração de 1 mg mL<sup>-1</sup>, em solução salina 0,5 mol L<sup>-1</sup> de NaCl. A solução de poli(vinil sulfonato de sódio) (PVS) foi preparada em uma concentração de 1 mg mL<sup>-1</sup> em água ultrapura. PVS e Ppy, quando dispersos em água, apresentam cargas negativas, portanto, foram utilizados como polieletrólitos aniônicos. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np (pH = 3) e PAH quando em suspensão, apresentam carga positiva e foram utilizados como polieletrólitos catiônicos.

#### **4.4. PREPARO DOS SUBSTRATOS PARA FABRICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LbL**

Os diferentes substratos utilizados foram submetidos à um processo de limpeza, sendo cada substrato escolhido de acordo com a técnica de caracterização a ser utilizada. Neste trabalho foram utilizados substratos de quartzo para as caracterizações de UV-Vis, silício para as caracterizações por FTIR e MEV, vidro para as caracterizações por DRX e ouro para as medidas de DPV, CV e SPR.

Antes de serem utilizados, os substratos foram submetidos a procedimentos de limpeza descritos a seguir:

- a) Os substratos de vidro e quartzo foram previamente limpos com acetona, água ultrapura e álcool isopropílico. Posteriormente, foram hidrofiliados pela imersão em uma solução básica e uma solução ácida, durante 10 min cada, a uma temperatura de 80° C. A solução básica foi preparada com hidróxido de amônio, peróxido de hidrogênio e água ultrapura (NH<sub>4</sub>OH:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>O) na proporção de 1:1:5 (v/v/v), enquanto a solução ácida foi preparada com ácido clorídrico, peróxido de hidrogênio e água ultrapura (HCl:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>O) na razão de 1:1:6 (v/v/v). Após a hidrofilização os substratos de quartzo foram lavados com água ultrapura e secos com ar comprimido.

- b) Os substratos de silício foram submetidos ao mesmo procedimento utilizado para os substratos de quartzo e vidro, com exceção do tratamento em solução ácida.
- c) Os substratos de ouro foram limpos cuidadosamente com álcool isopropílico, lavados com água ultrapura e secos com ar comprimido.

#### 4.5. FABRICAÇÃO DOS FILMES LbL

Os filmes LbL foram fabricados pela imersão alternada do substrato sólido nas suspensões de cargas opostas. As três arquiteturas montadas foram (PAH/Ppy)<sub>n</sub>, (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/PVS)<sub>n</sub> e (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy)<sub>n</sub>, com n indicando o número de repetições (ou o número de bicamadas depositadas). A Tabela 4 descreve os tempos de imersão, concentrações e pH de cada suspensão para a montagem dos filmes LbL.

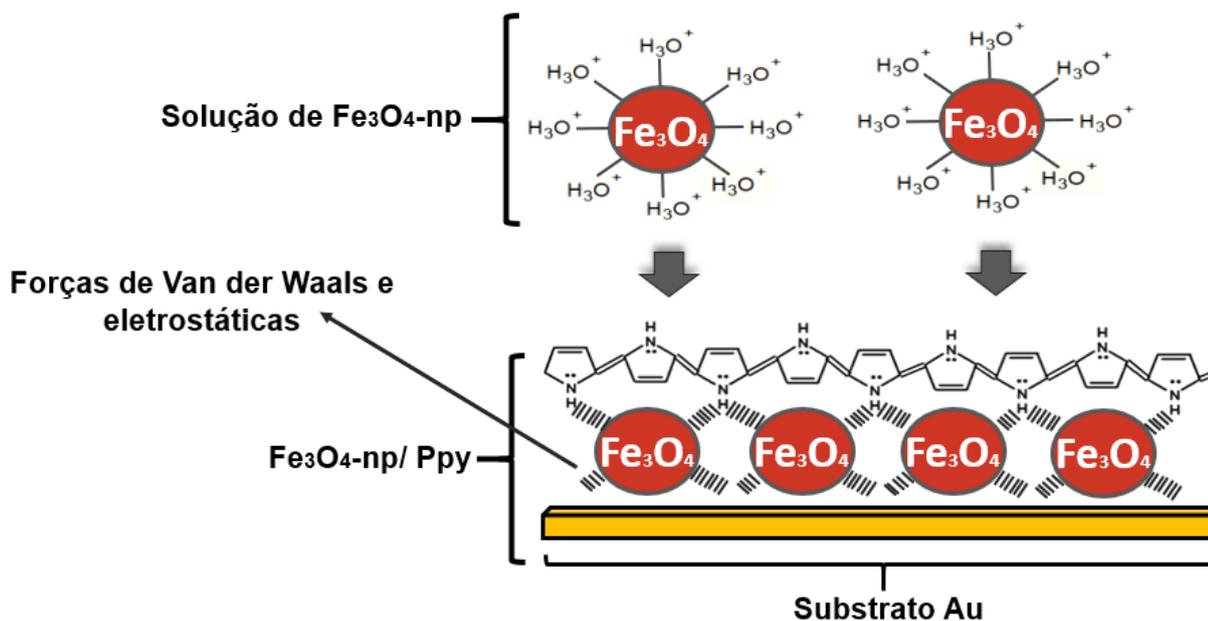
**Tabela 4:** Condições de montagem dos filmes LbL de (PAH/Ppy)<sub>n</sub>, (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/PVS)<sub>n</sub> e (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy)<sub>n</sub>.

Material	Concentração (mg mL <sup>-1</sup> )	Solvente	pH*	Tempo de deposição (min)
PAH	0,5	Solução salina (NaCl, 0,5 mol L <sup>-1</sup> )	6,6	15
Ppy	1,1	Solução salina (NaCl, 0,5 mol L <sup>-1</sup> )	6,6	15
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -np	1,0	Água ultrapura	3,0	3
PVS	1,0	Água ultrapura	6,6	3

\*pH foi ajustado com solução de HCl 0,1 molL<sup>-1</sup>, quando necessário. Condições para (PAH/Ppy) e (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/PVS) foram feitas de acordo com as referências (DAIKUZONO et al., 2017) e (LETTI et al., 2017), respectivamente.

A Figura 9 ilustra uma proposta esquemática da formação das bicamadas do filme Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np e Ppy.

**Figura 9:** Esquema de interação entre  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -np e Ppy no filme LbL.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

#### 4.6. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LbL

##### 4.6.1. ESPECTROSCÓPIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-VIS)

Os materiais utilizados no filme LbL foram monitorados de acordo com sua interação, por meio da formação de bicamadas em substratos de quartzo. Após a formação de cada bicamada, para as três arquiteturas dos filmes estudados, o mesmo foi monitorado por UV-Vis no intervalo de 200 – 600 nm, com o objetivo de verificar a adsorção dos materiais. A deposição do filme foi monitorada utilizando um espectrômetro UV-vis modelo Thermo Scientific Genesys 10, no Laboratório de pesquisa de Nanociência e Nanotecnologia aplicado em Sensoriamento (GPNNS) da UFSCar-Sorocaba.

##### 4.6.2. ESPECTROSCÓPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR, do inglês Fourier Transform Infrared) foi utilizada como ferramenta de caracterização estrutural, para as três arquiteturas do filme LbL e os materiais puros (filmes cast), depositados em substratos de silício. Essa técnica é restrita a espécies moleculares que apresentam diferença de energia rotacional e vibracional. Para as análises, utilizou-se um espectrômetro da marca Thermo Nicolet Nexus 470, do Instituto de Física de São Carlos-USP.

#### **4.6.3. ESPECTROSCOPIA DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)**

A difração de Raio-X (DRX) trata-se de uma medida fundamental para caracterização de cristalitos, pois permite verificar a estrutura cristalina da amostra e sua composição química. As medidas de difração de Raios-X (DRX) foram feitas nas Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np depositadas em substratos de vidro, por um equipamento de raios-X Rigaku Rotaflex, modelo (RU200B-2theta/theta, varredura normal de 5° a 120°), velocidade de 1°/min, tensão de 40 kV e 60 mA, ânodo de Cu, feitas no Instituto de Física de São Carlos-USP.

#### **4.6.4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)**

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma ferramenta simples e importante para a caracterização morfológica de superfícies, contribuindo para a análise das dimensões das Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np adsorvidas no substrato de silício. A imagem gerada por essa técnica é resultado do contraste do feixe de elétrons e a superfície da amostra, variando em relação ao número de elétrons emitidos pela mesma. Essa variação pode ocorrer devido à composição, voltagem da amostra e topografia.

As imagens de MEV das Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np foram feitas utilizando o equipamento modelo Bruker Corp, EUA, com intervalo de varrimento de 0,8 Hz, analisadas pelo software Gwyddion e IMAGEJ, no Instituto de Física de São Carlos-USP.

#### **4.6.5. RESSONÂNCIA PLASMÔNICA DE SUPERFÍCIE (SPR)**

Para analisar o diâmetro médio das nanopartículas de magnetita e a espessura dos filmes LbL depositados em substrato de ouro foi utilizado o equipamento de Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR, do inglês Surface Plasmon Resonance) (Bionavis, Finlândia), com um feixe de luz laser polarizada por dois comprimentos de onda ( $\lambda=670$  e  $\lambda=785$  nm). Lâminas de vidro recobertas com ouro previamente limpas (Bionavis, Finlândia) foram usadas como substrato para os experimentos de SPR. As análises foram feitas no Laboratório de Nanociência e Nanotecnologia aplicado em Sensoriamento (GPNNS) da UFSCar-Sorocaba.

#### **4.6.6. POTENCIAL ZETA (ZT) E ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ (DLS)**

O potencial zeta (ZT do inglês zeta potential) e o espalhamento dinâmico de luz (DLS do inglês dynamic light scattering) foram utilizados para a determinação da carga e do diâmetro das nanopartículas, respectivamente. Para ambas as técnicas, a suspensão de nanopartículas foi diluída 500 vezes em água ultrapura e analisada por um sistema ZetaSizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, UK), com um ângulo de 90 ° à 25 ° C. A concentração das nanopartículas e sua distribuição de tamanho foram determinadas usando uma célula NanoSight LM 10 (laser verde, 532 nm) e uma câmera CMOS, analisadas pelo software NanoSight v. As medidas foram feitas no Laboratório da UNESP-Sorocaba, em parceria com o Prof<sup>o</sup> Dr. Leonardo Fernandes Fraceto.

#### 4.6.7. VOLTAMETRIA CÍCLICA (CV)

O estudo do número de bicamadas que gera a melhor magnitude do sinal analítico devido a troca de elétrons entre os materiais depositados no substrato e o analito estudado foi feito por meio dos estudos de voltametria cíclica (CV do inglês Cyclic Voltammetry). Os filmes LbL de (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy)<sub>n</sub> foram depositados em substratos de ouro com 1, 3, 5 e 7 bicamadas, para verificar a melhor resposta obtida. Para isso, foi realizada uma varredura no intervalo de potencial de -0,4 a 0,9 V, com uma velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup> em uma cela eletrolítica com um eletrodo de referência (Eletrodo de Calomelano Saturado) (ECS) e um contra eletrodo de platina (Pt) com área geométrica de 1,0 cm<sup>2</sup>. A cela eletrolítica é acoplada a um potenciostato/galvanostático PGSTAT 30 da Autolab. Os resultados foram expressos na forma de densidade de corrente (μAcm<sup>-2</sup>) em função do potencial aplicado (V) e foram feitos no Laboratório de Nanociência e Nanotecnologia aplicado em Sensoriamento (GPNNS) da UFSCar-Sorocaba. Além do número de bicamadas, foram feitos estudos de reprodutibilidade *inter-day* e *intra-day*, e a comparação entre as diferentes arquiteturas do filme LbL.

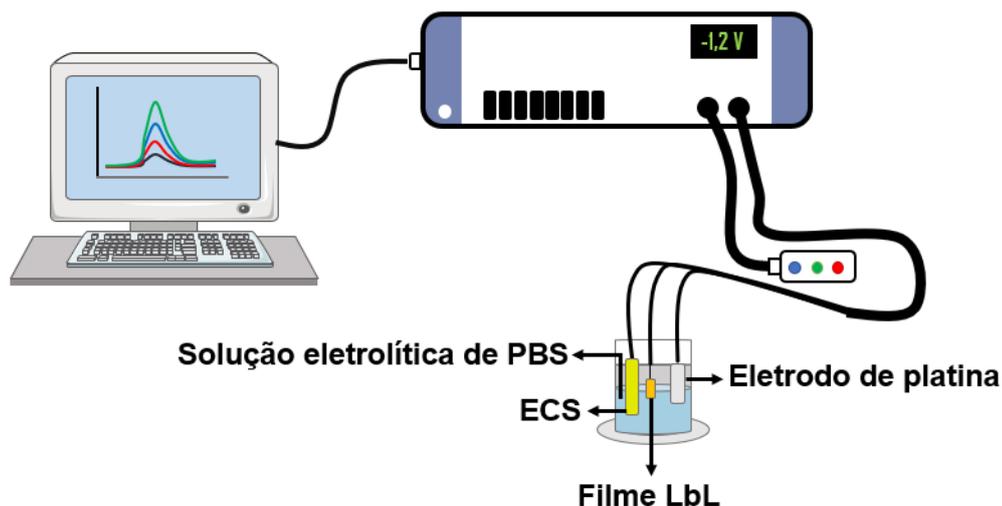
### 4.7. INSTRUMENTAÇÃO

#### 4.7.1. ANÁLISES POR VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL (DPV)

Os eletrodos de ouro (Au) foram fabricados em colaboração com o Laboratório de Microfabricação (LMF)/ CNPEM em Campinas e consistem em um substrato de vidro recoberto com 200 Å de cromo (para melhorar a aderência do ouro) e 1500 Å de ouro depositado via pulverização catódica.

Os estudos por DPV na detecção de MeP foram avaliados em solução eletrolítica de tampão PBS (0,1 mol L<sup>-1</sup>), em diferentes valores de pH (6,0; 6,5; 7,0; 7,5 e 8,0) em uma cela eletrolítica com um eletrodo de referência (Eletrodo de Calomelano Saturado) (ECS) e um contra eletrodo de platina com área de 1 cm<sup>2</sup>. A cela eletrolítica é acoplada a um potenciostato/galvanostato PGSTAT 30 da Autolab. A Figura 10 ilustra uma representação esquemática da organização dos componentes na detecção eletroanalítica.

**Figura 10:** Representação de um sistema para a detecção eletroanalítica de MeP.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

A fim de se obter uma melhor resolução na magnitude do sinal analítico, alguns parâmetros na DPV foram otimizados, como: *interval time* ( $I_t$ ) de (0,3-1,0 s), *modulation amplitude* ( $M_a$ ) de (0,02-0,20 V) e *modulation time* ( $M_t$ ) de (0,01-0,1 s).

Após as otimizações do sistema foram feitas curvas analíticas por adição padrão em amostras de urina e leite materno. Os resultados foram expressos na forma de gráficos de densidade de corrente ( $\mu\text{A cm}^{-2}$ ) em função do potencial aplicado (V) e posteriormente, foram validados e comparados estatisticamente pela metodologia de Miller-Miller com o método padrão de Eletroforese Capilar (CE).

#### 4.7.2. ANÁLISES POR ELETROFORESE CAPILAR (CE)

Os experimentos foram realizados em equipamento de eletroforese capilar, modelo 7100 da Agilent Technologies, equipado com detector *diode-array*, que opera na faixa de 190-600 nm. Os capilares de sílica fundida são da Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, EUA, com 75 $\mu\text{m}$  d.i. e 48,5 cm de comprimento total (40 cm até o detector). A janela de detecção de aproximadamente 0,3 cm foi aberta pela remoção do revestimento de poli-imida do capilar, por aquecimento e posterior remoção com acetona. As medidas foram feitas no Laboratório de Separações aplicados a química ambiental da UFSCar-Sorocaba.

O condicionamento do capilar foi feito pela passagem de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, durante 5 min, seguida da passagem de água ultrapura durante 5 min e solução de TBS 20 x10<sup>-3</sup> molL<sup>-1</sup> por 15 min, no início de cada dia, ou quando efetuada mudança nas condições analíticas. O condicionamento do capilar entre as corridas foi feito pela passagem de TBS por 2 min.

Em CE, os parâmetros como: temperatura (°C), pressão (mbar), tensão (kV) e eletrólito suporte, também foram otimizados. Ao final do processo de otimização do sistema, foi feita a validação do método analítico, verificando a linearidade, seletividade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), reprodutibilidade, repetibilidade e efeito matriz. Por fim, foi feita uma curva analítica para cada matriz, por adição de padrão.

Os resultados obtidos por CE foram utilizados para corroborar a presença do analito nas matrizes, validando o método de sensoriamento determinado eletroquimicamente por DPV.

#### **4.8. PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE**

Soluções estoque de MeP ( $6,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) foram preparadas em metanol/água (7:3, v/v) e estocadas no refrigerador à uma temperatura de 3°C por um período de máximo 30 dias. As amostras de leite materno foram centrifugadas por 10 min à 10000 rpm para separar a gordura do leite, posteriormente, o sobrenadante foi coletado e tratado com ácido acético glacial 98% (10:1, leite/ácido), misturada em vortex e centrifugada por 3 minutos à 4000 rpm, para separar a caseína do soro do leite. Por fim, 1 mL do sobrenadante foi coletado e diluído para um volume final de 10 mL em tampão PBS para as análises por DPV e água para as análises CE.

A amostra de urina foi filtrada por um filtro da Millipore® com 45µm de diâmetro e diluída na mesma proporção e no mesmo meio que a solução de leite materno, para ambas as análises.

#### **4.9. PROCEDIMENTO PARA VALIDAÇÃO**

Dentre os principais parâmetros a serem avaliados em uma validação, encontram-se: precisão, recuperação, sensibilidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), linearidade, faixa de trabalho e efeito matriz (RIBANI et al., 2004; J.C. MILLER; , J.N. MILLER, 2005; RIBEIRO, 2014).

##### **4.9.1. SELETIVIDADE**

A capacidade que o método apresenta em identificar e quantificar o analito de interesse, na presença ou não de interferentes na matriz estudada, é conhecido como seletividade. Para os estudos de seletividade, os resultados obtidos pela técnica voltamétrica e eletroforética foram comparados a partir da análise do branco das amostras de urina e leite materno, em relação aos obtidos para as mesmas amostras fortificadas, com diferentes níveis de concentração de MeP. Além disso, foi feito um estudo dos principais interferentes em medidas voltamétricas como: bissulfito, benzoato, citrato, nitrito e propilparabeno.

#### 4.9.2. SENSIBILIDADE, LINEARIDADE E FAIXA DE TRABALHO

Os parâmetros de sensibilidade, linearidade e faixa de trabalho foram avaliados por meio das curvas analíticas, feitas pelo método de adição de padrão nas amostras de urina e leite materno, fortificadas no intervalo de 16,43 a 131,40  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de MeP.

A curva analítica foi construída com base na faixa linear de trabalho, que corresponde a 5 níveis de concentração, com exceção do valor das medidas de branco, para ambas as amostras e técnicas analíticas. A faixa de trabalho para a análise eletroforética foi delimitada pela faixa de trabalho obtida na análise eletroanalítica.

A linearidade é um parâmetro extremamente importante, que corresponde ao intercepto dos pontos obtidos por meio dos gráficos que representam a correlação entre a área do pico eletroforético em função da concentração do analito, para análise em CE e a densidade de corrente do voltamograma em função da concentração do analito, para análise em DPV. Esses valores de concentração, compreendem todo o intervalo de análise utilizado nas medidas, sem que seja considerado o sinal do branco (amostra sem analito). O eixo x corresponde aos valores de concentração do analito e o eixo y corresponde ao sinal obtido pela técnica analítica. Assume-se que a linearidade deva obedecer a equação 1 (RIBANI et al., 2004).

$$y = ax + b \quad (1)$$

y: resposta obtida pela técnica

x: concentração

b: intersecção com o eixo x, quando  $x = 0$

a: coeficiente angular da reta (sensibilidade).

#### 4.9.3. PRECISÃO

A precisão é um importante parâmetro na validação, que visa determinar a dispersão dos resultados realizados na mesma amostra (RIBANI et al., 2004; RIBEIRO, 2014). A partir da equação 2, torna-se possível avaliar esse parâmetro por meio do valor de desvio padrão relativo (RSD), sendo o valor de SD o desvio padrão, obtido pela equação 3. A repetitividade foi avaliada por meio das análises em triplicata, para cada amostra e concentração da curva analítica obtida pela técnica de DPV e CE.

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad (2)$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{(n - 1)}} \quad (3)$$

x: resposta de cada técnica para cada amostra analisada;

$\bar{X}$ : média aritmética dos valores obtidos pela resposta de cada técnica

n: número de medidas para cada nível de concentração.

Os valores de RSD permitidos para as análises devem ser inferiores a 15 %, conforme descrito pelas metodologias para validação de métodos analíticos (RIBANI et al., 2004).

#### 4.9.4. RECUPERAÇÃO

Os parâmetros para o estudo da recuperação foram avaliados para todos os níveis de concentração da curva analítica. A equação 4 foi utilizada para o cálculo da recuperação.

$$recuperação = \frac{(C_1 - C_2)}{C_3} \times 100 \quad (4)$$

C<sub>1</sub>: concentração do analito medida;

C<sub>2</sub>: concentração do analito na amostra não fortificada;

C<sub>3</sub>: concentração do analito adicionada à amostra fortificada (teórica).

Os resultados próximos de 100% indicam que os valores medidos e os valores de referência são similares. Os valores no intervalo de 95 a 120% são considerados adequados para métodos analíticos (RIBEIRO, 2014).

#### 4.9.5. LIMITE DE DETECÇÃO (LD) E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (LQ)

O limite de detecção (LD) é definido como a concentração mínima em que o analito pode ser detectado, porém não quantificado, diferente do sinal do branco e informada com 95% de confiança. O valor de LD pode ser determinado de acordo com a equação 5.

$$LD = y_B + 3S_B \quad (5)$$

$y_B$  = concentração do analito com o sinal igual ao do branco

$S_B$  = desvio padrão do branco

Entretanto, segundo (MILLER, 1991) os valores obtidos pelo sinal do branco, constituídos por diversos componentes sem a presença da amostra e do analito, não reproduzem as condições reais de análise (MILLER, 1991). Especialmente nas análises eletroanalíticas, onde os valores obtidos da análise do branco das amostras, sempre contém erros devido à interação da superfície do eletrodo/solução analisada, com a ausência do analito. Por esse motivo, os valores de LD das análises eletroanalíticas e eletroforéticas foram calculados com base nas aproximações feitas por Miller-Miller, para evitar a inserção de mais erros durante as medidas de LD. Miller e Miller (2005) propõe a utilização de todos os pontos da curva analítica e o desvio padrão do coeficiente angular da reta, fazendo as considerações descritas a seguir.

$Y_B = a$  (coeficiente linear da curva analítica)

$3S_B = S_{y/x}$  (desvio padrão dos valores calculados dos coeficientes angular e linear)

A equação 6 ilustra a equação final utilizada para o cálculo do LD.

$$LD = b + 3S_{y/x} \quad (6)$$

O valor de  $S_{y/x}$  pode ser calculado por meio da equação 7.

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}} \quad (7)$$

$S_{y/x}$ : desvio padrão dos valores calculados dos coeficientes angular e linear;

$y_i$ : resposta de cada técnica para cada nível de concentração analisado;

$\hat{y}_i$ : valor da resposta de cada técnica calculado pelos coeficientes angular e linear;

$n$ : número de concentrações utilizadas para construção da curva analítica.

O limite de quantificação (LQ) é a menor concentração quantificável de um analito de interesse. A equação 8 demonstra como calcular o LQ, pela metodologia de Miller-Miller.

$$LQ = 3,33 \times LD \quad (8)$$

#### 4.9.6. ESTUDO DO EFEITO MATRIZ

O efeito que os outros componentes da solução geram no sinal analítico é conhecido como efeito matriz. Esse efeito foi avaliado pela comparação das curvas analíticas de ambas as metodologias (eletroforética e voltamétrica) feitas em soluções padrão de MeP, em solventes

(metanol e água para a análise eletroforética, metanol e tampão PBS para análise voltamétrica) e as curvas analíticas feitas por adição padrão nas matrizes (leite materno e urina).

#### 4.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos por ambas as metodologias analíticas foram comparados por meio da estatística de Miller-Miller. A partir da comparação entre as equações da reta por regressão linear, os valores de detecção da metodologia padrão (CE) são graficados no eixo x, enquanto que os resultados obtidos pela nova metodologia (DPV) são graficados no eixo y, para cada amostra analisada, no mesmo intervalo de trabalho. Ao traçar uma reta entre esses valores, espera-se que o coeficiente angular seja próximo de zero, o intercepto e o coeficiente de correlação, sejam próximos de 1 ( $a = 0$ ,  $b = r = 1$ ), indicando que as metodologias são análogas. Além disso, os resultados de detecção de ambas as metodologias foram avaliados pelo *test de student ou test t*. Onde o resultado é comparado com um valor tabelado com 95% de confiança, com base no número de concentrações analisadas para cada amostra (graus de liberdade), conforme ilustrado na equação 9.

$$t = \frac{(\bar{d} \sqrt{n})}{SD} \quad (9)$$

$\bar{d}$ : média aritmética das diferenças entre cada valor de concentração obtido por cada técnica e para cada amostra;

n: número total de concentrações para cada técnica.

SD: desvio padrão calculado pela equação 3.

O *test t* demonstra se os erros obtidos pela comparação das metodologias são pequenos o suficiente para ser explicados por erros aleatórios, ou se os valores obtidos pelas metodologias são significativamente diferentes.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np E DOS FILMES LbL

#### 5.1.1. CARACTERIZAÇÃO DAS FE<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NP POR DRX, DLS, ZT E UV-VIS

As nanopartículas de magnetita foram caracterizadas por diversas técnicas com o intuito de obter seu diâmetro, sua carga superficial, estabilidade durante determinado período de tempo e seu plano cristalográfico.

A Figura 11 ilustra o difratograma para a amostra de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np em substrato de vidro, sintetizadas para fabricação do filme LbL. Pode-se observar que as nanopartículas apresentam picos característicos identificados predominantemente nos planos (311) e (220). Esse indicativo demonstra a predominância da magnetita no estado cubico, com elevado grau de cristalinidade,

conforme observado na literatura (IYENGAR et al., 2014; MOHAMMED et al., 2017). Além disso, o intervalo de difratometria analisado, revela que existem os planos (220), (311), (400), (422), (511) e (440), correspondentes aos espaçamentos interplanares de 0,2967, 0,2532, 0,2099, 0,1715, 0,1616 e 0,1485 nm, respectivamente (IYENGAR et al., 2014). Aplicando a equação de Scherrer (equação 10) no plano 311, foi possível estimar o tamanho dos cristalitos das nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np, sendo esse valor igual a 11 nm, corroborando com os valores médios para a mesma nanopartícula encontrados na literatura (MAJEWSKI; THIERRY, 2007; MIYAZAKI et al., 2013).

$$t = \frac{k \lambda}{B \cos \theta} \quad (10)$$

t= diâmetro médio das nanopartículas

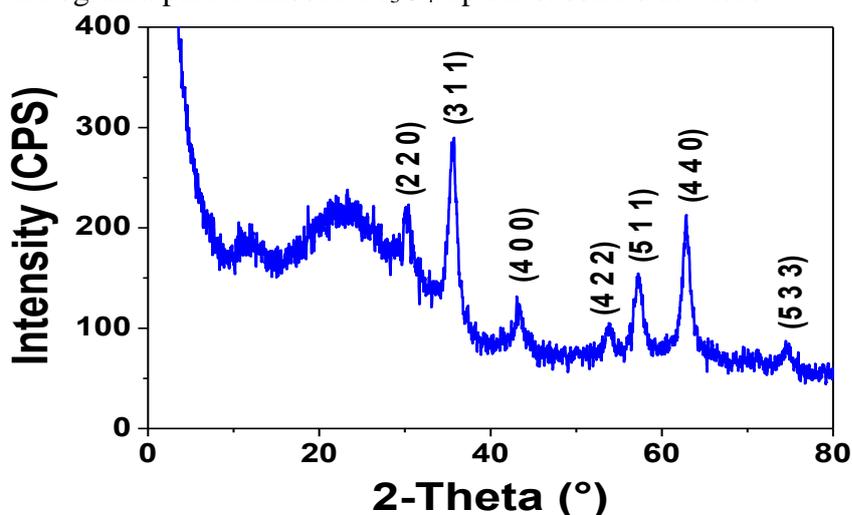
k= constante de proporcionalidade

$\lambda$ = comprimento de onda da radiação k- $\alpha$ Cu

B= alargamento da linha de difração medido a meia altura de sua intensidade máxima

A constante K está relacionada diretamente com a forma geométrica da partícula. Para as medidas de largura de pico a meia altura, os valores de k estão entre 0,84 e 0,89 dependendo da geometria. Caso a geometria não seja conhecida, pode-se admitir o valor de 0,9 (ARAÚJO et al., 2005).

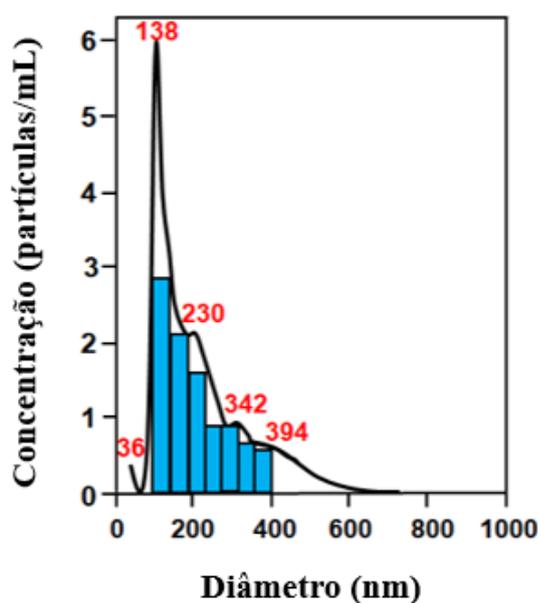
**Figura 11:** Difratograma para a amostra Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np em substrato de vidro.



Posteriormente, utilizando a técnica de DLS foi determinado o tamanho médio das Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np em suspensão à uma concentração de  $2 \times 10^{-3}$  mg mL<sup>-1</sup>. O valor obtido foi de aproximadamente  $198,2 \pm 8,8$  nm, com distribuição centrada em 138 nm (Figura 12). O índice

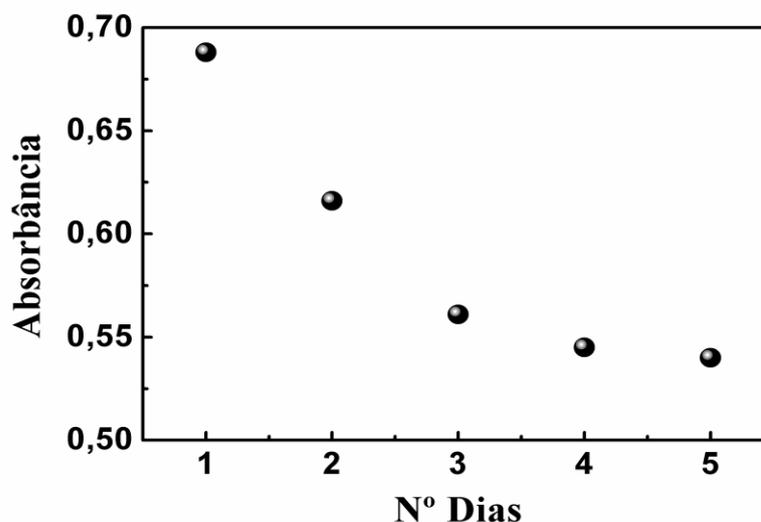
de polidispersão foi de 42,7% (considerado relativamente alto) (OLIVEIRA et al., 2018). Essa ampla variação no diâmetro das partículas pode estar relacionada a ausência de um agente estabilizante na síntese de nanopartículas. Normalmente, uma matriz polimérica é utilizada como estabilizantes para nanopartículas no momento de síntese (MAMEDOV; KOTOV, 2000; ZAMORA-GÁLVEZ et al., 2016), porém, a presença de agentes poliméricos como estabilizantes de síntese, pode prejudicar a troca de elétrons em medidas eletroquímicas (RANGEL et al., 2019). O potencial zeta dessa solução foi de  $+25,2 \pm 0,8\text{mV}$ , um valor relativamente baixo comparado ao esperado para suspensões estáveis (acima de  $+30\text{ mV}$ ) (LEE et al., 2008; GHADIMI; SAIDUR; METSELAAR, 2011).

**Figura 12:** Histograma de distribuição do tamanho das  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  em suspensão.



Tanto o experimento do potencial zeta quanto a análise por DLS confirmaram frágil estabilidade da suspensão de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$ . As suspensões foram preparadas no mesmo dia de fabricação do filme e foram estáveis por tempo suficiente para a montagem completa do filme, verificado pela ausência de grandes agregados nos filmes LbL. A estabilidade das suspensões de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  foi verificada durante 5 dias por espectroscopia de UV-Vis, monitorando a banda de absorção em 360 nm (banda mais evidente na região do visível), conforme ilustrado na Figura 13. A suspensão foi armazenada em frasco âmbar à temperatura ambiente.

**Figura 13:** Estudo da estabilidade da suspensão de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  ( $100 \text{ mg mL}^{-1}$ ,  $\text{pH}=3$ ) em função do número de dias, pela medida de absorbância de UV-Vis no comprimento de onda de 360nm.

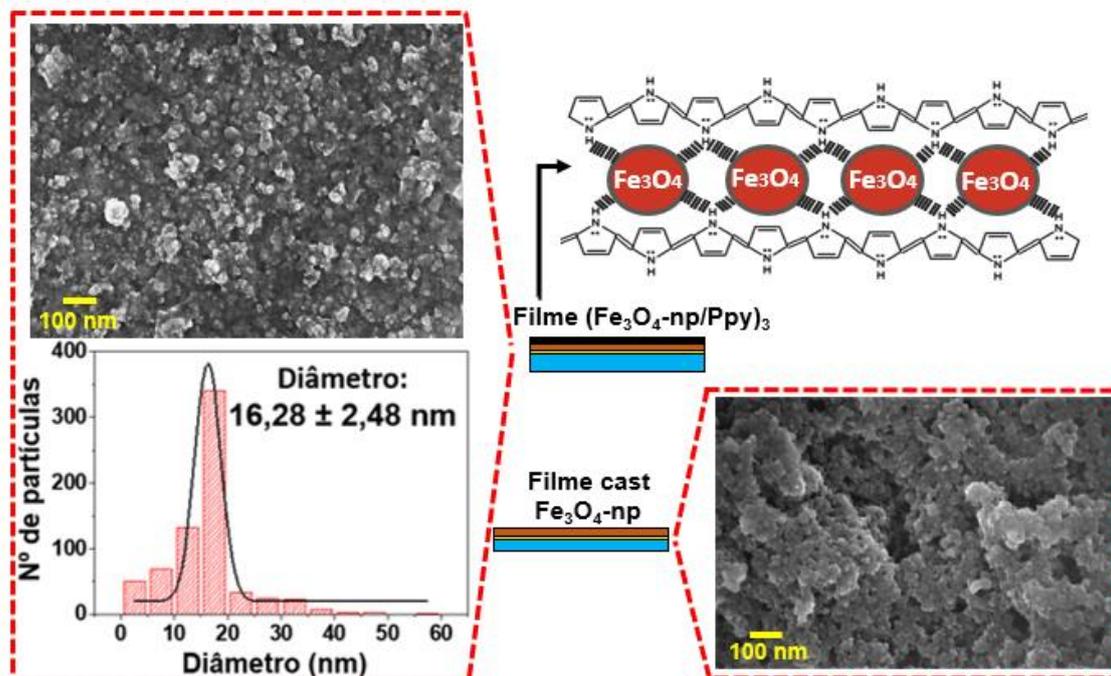


Pode-se observar que a absorbância medida da suspensão de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  no segundo dia, diminui para  $\sim 0,60$ , enquanto que no terceiro dia, a absorbância vai para  $\sim 0,55$  e por fim, a suspensão permanece constante no quarto e quinto dia, o que leva a conclusão de que o ideal é a utilização da suspensão de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$ , no mesmo dia de preparo devido aos maiores valores de absorbância.

### 5.1.2. CARACTERIZAÇÃO DO FILME LbL DE $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_n$ POR MEV E SPR

O estudo para a determinação do diâmetro das  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  foi feito por meio das imagens de MEV e SPR. A Figura 14 ilustra a micrografia de MEV do filme LbL  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$  em comparação com o filme *cast* do material puro. A morfologia das  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  é bastante diferente para o filme LbL, exibindo estruturas menores, enquanto o filme *cast* apresenta grandes agregados. O histograma de distribuição de tamanho das nanopartículas, mostrou diâmetros em torno de  $16,3 \pm 2,5 \text{ nm}$  com um índice de polidispersão de 15,23%, conforme dados obtidos pelo *software* image J. Como mencionado anteriormente, a presença de uma matriz polimérica permite que as nanopartículas esféricas sejam uniformemente distribuídas, sem os limites entre as camadas entre suas bicamadas. Além disso, a presença de um polieletrólito tende a se interpenetrar nas camadas do filme LbL, diminuindo a distância entre as partículas (LETTI et al., 2017). Conseqüentemente, a menor interação eletrostática ocorrerá entre as nanopartículas, diminuindo a formação de aglomerados.

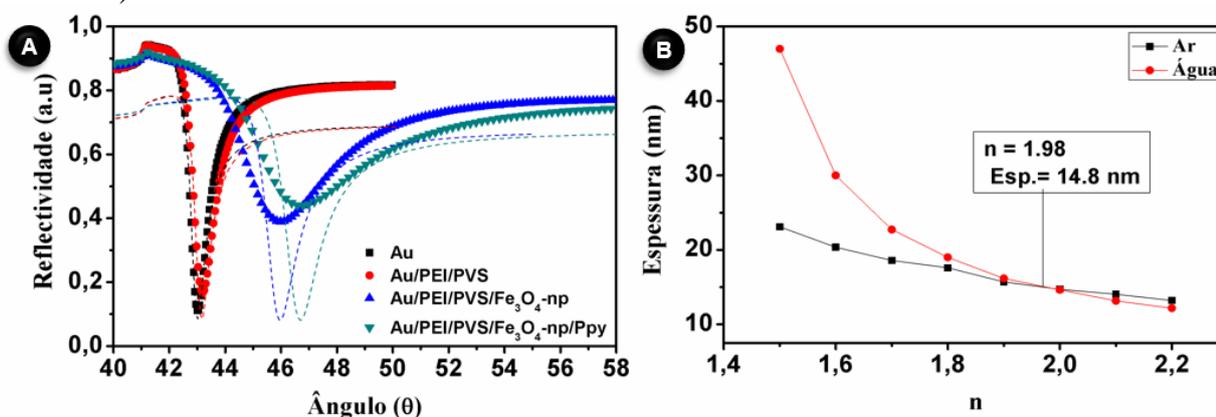
**Figura 14:** Imagem de MEV do filme *cast* e do filme de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$  com o histograma de distribuição do tamanho médio das  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$ .



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

A espessura das camadas no filme LbL foi investigada por SPR. A Figura 15A mostra a varredura angular do laser em 670 nm para as etapas de deposição. Uma bicamada dos polieletrólitos (PAH/PVS) foi montada como um “colchão” para melhorar a adsorção no substrato para as análises de SPR (AMIRJANI; HAGHSHENAS, 2018). A espessura de cada camada foi calculada pelo método de 2 meios (LIANG et al., 2010; GRANQVIST et al., 2013). Resumidamente, as curvas experimentais de SPR obtidas nos dois meios (água e ar) no comprimento de onda de 670 nm, foram ajustadas pelo software Winspall 3.02, para fornecer um gráfico de (d) espessura, (n) índice de refração. O ponto de intersecção representa o valor de n e d. Quando nenhum ponto de intersecção é visível, a relação de dispersão do material para os dois comprimentos de onda é considerada para realizar um deslocamento em uma das linhas contínuas d-n, para alcançar um ponto de intersecção (conforme realizado nas Figuras 15B (LIANG et al., 2010). A espessura calculada da camada de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  foi de 14,80 nm, em uma boa concordância com o tamanho das nanopartículas obtidas pela análise de MEV ( $16,28 \pm 2,48$  nm). A espessura da camada de Ppy foi calculada para 4,26 nm. Os índices de refração obtidos para  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  e Ppy foram 1,98 e 1,46, respectivamente, que corroboram com os valores da literatura (VORK; SCHUERMANS; BARENDRECHT, 1990; MELDRUM; KOTOV; FENDLER, 1994).

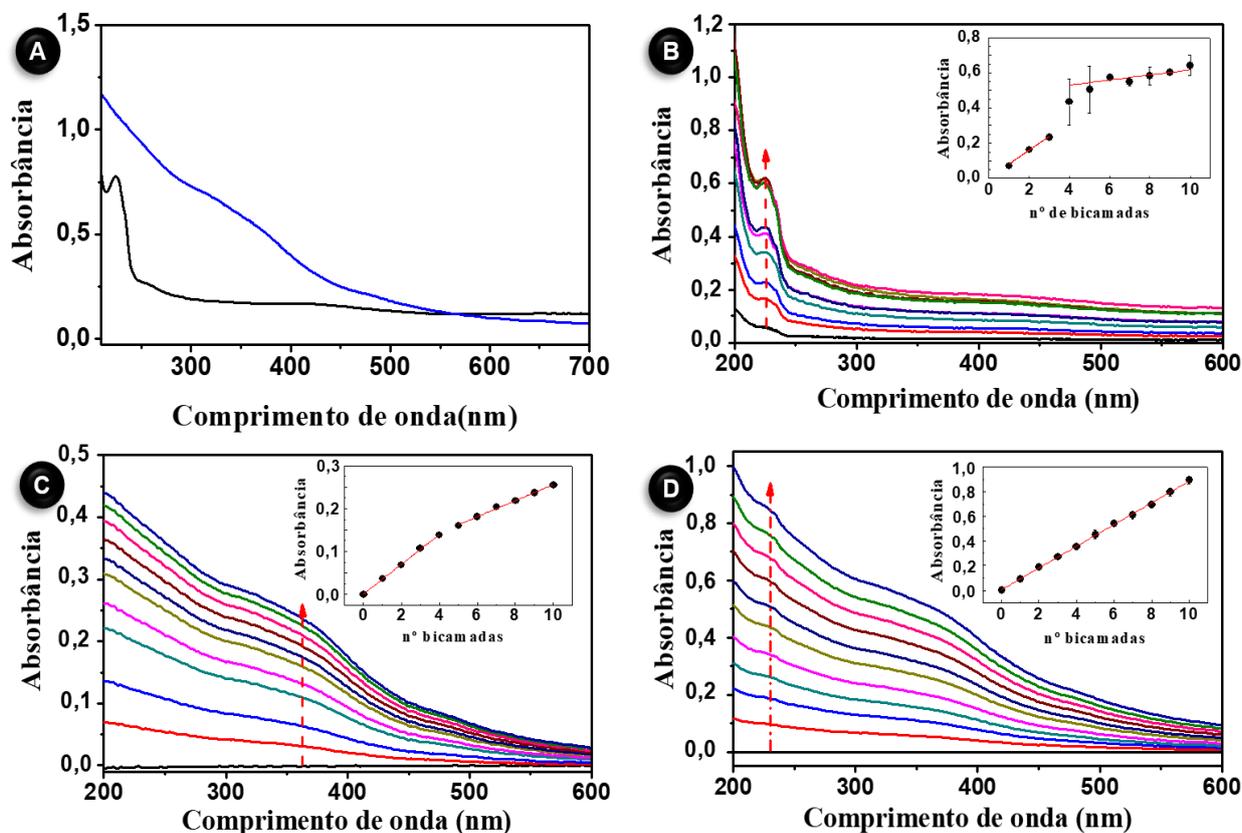
**Figura 15:** Varreduras angulares de SPR no ouro limpo A) após a deposição de bicamadas de PEI/PVS, camadas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np e Ppy. B) Medição com o laser de 670 nm em dois meios (água e ar).



### 5.1.3. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LBL POR UV-VIS

A Figura 16 ilustra os espectros de UV-Vis das suspensões de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np e Ppy. O espectro de Ppy apresentou uma banda em 224 nm, atribuída à transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  do anel de pirrol oriunda da ligação C=C dos orbitais HOMO-LUMO (ZHENG et al., 2004). As bandas de absorção da suspensão de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np em 360 e 480 nm são atribuídas à transição de bandas indiretas em estruturas epinelares invertidas (ENDRÓDI et al., 2013; LETTI et al., 2017). A Figura 16 (B-D) apresenta o espectro de absorção obtido por UV-Vis de cada etapa de deposição dos filmes LbL. O crescimento do filme (PAH/Ppy)<sub>10</sub> foi monitorado na banda característica de Ppy a 224 nm. Como pode ser visto na Figura 16 B, a absorção não apresentou uma relação linear com as 10 bicamadas depositadas. Em vez disso, o gráfico indica um crescimento em dois regimes, provocado pela interação substrato/material nas primeiras camadas, seguido por uma interação material/material. O coeficiente de correlação  $R^2$  para os ajustes lineares aplicados para os dois estágios de crescimento foi  $R^2_1 = 0,974$  e  $R^2_2 = 0,710$ , respectivamente. O crescimento do filme (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/PVS)<sub>10</sub> foi monitorado em 360 nm (característico de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np) e também apresentou dois regimes de crescimento diferentes com  $R^2_1 = 0,998$  e  $R^2_2 = 0,995$  (Figura 16 (C)). Diferente dos filmes anteriores, o filme LbL do nanocompósito (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy)<sub>10</sub> cresceu em um único regime de comportamento linear com  $R^2 = 0,999$ , como apresentado na Figura 16 (D) em 224nm.

**Figura 16:** Espectros de UV-Vis das (A) Suspensões de Ppy (—) e  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  (—). Espectros de UV-vis para os filmes LbL de (B)  $(\text{PAH}/\text{Ppy})_{10}$ , (C)  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}/\text{PVS})_{10}$  e (D)  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}/\text{Ppy})_{10}$ . Inserção em (B), (C) e (D) apresentam os gráficos de absorvância em função do número de bicamadas.



#### 5.1.4. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LbL POR FTIR

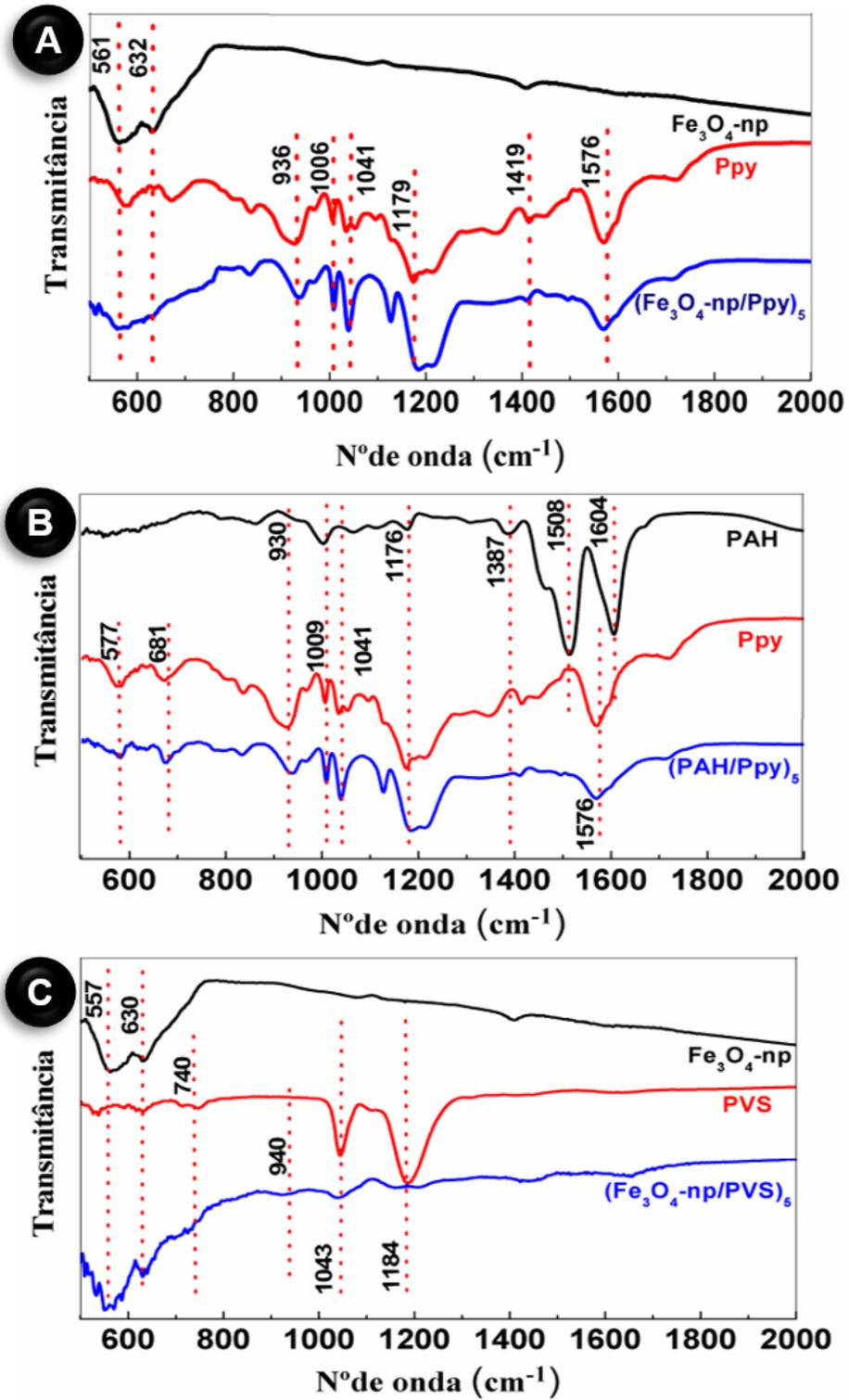
A interação entre os materiais foi avaliada de acordo com sua composição por FTIR. A Figura 17 (A) mostra os espectros de transmissão de FTIR de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  e Ppy (filme *cast*) em comparação com o filme LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}/\text{Ppy})_5$  depositado em substrato de silício. O filme *cast* de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  apresentou bandas em  $561$  e  $632\text{ cm}^{-1}$ , correspondentes as vibrações de Fe-O em regiões tetraédricas e octaédricas (IYENGAR et al., 2014). O filme *cast* de Ppy apresentou bandas características em  $1576\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas ao estiramento C-C do polipirrol (GONZALEZ-TEJERA; HERNANDEZ-FUENTES, ; DE OLIVEIRA; ANDRADE; DE MELO, 2008; YAO et al., 2013). Em  $1419\text{ cm}^{-1}$  e  $1041\text{ cm}^{-1}$  observa-se as bandas características do alongamento C-N e C-C no anel de pirrol, respectivamente (DE OLIVEIRA; ANDRADE; DE MELO, 2008; TIWARI; JAIN; SHARMA, 2008; ZHANG et al., 2008; YAO et al., 2013), e por fim, a região de  $936\text{ cm}^{-1}$  é atribuída a deformação do anel de pirrol (YAO et al., 2013). No filme  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}/\text{Ppy})_5$ , ocorre deslocamento de algumas bandas características do Ppy, como verificado para outros compostos de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  com Ppy (ZHANG et al., 2008). O nitrogênio presente no anel

de pirrol oferece um par de elétrons livres, que por sua vez, interagem eletrostaticamente com os grupos (-OH<sub>2</sub><sup>+</sup>), ligados ao ferro das nanopartículas em pH 3 (RÓZ, ALESSANDRA LUZIA DA et al., 2015). Tanto os espectros de absorção do UV-vis quanto os espectros de FTIR, ilustram a elevada afinidade eletrostática entre o Ppy com as Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np.

A Figura 17 B ilustra os espectros de absorção para o filme LbL de (PAH/Ppy)<sub>5</sub>, além dos espectros do filme cast de PAH e Ppy. As bandas no filme *cast* de PAH em 1508 e 1604 cm<sup>-1</sup>, correspondem as vibrações -CH e -NH, respectivamente. Em 1387 cm<sup>-1</sup> encontram-se as vibrações do tipo -CN (LI et al., 2017, 2018). No filme de (PAH/Ppy)<sub>5</sub> existe uma predominância nas bandas do Ppy em 1576, 1176, 1041, 1009 e 930 cm<sup>-1</sup> enquanto as bandas em 1508 e 1604 cm<sup>-1</sup> do PAH, são mascaradas devido a absorção do PAH no filme ser menor que a do Ppy (DAIKUZONO et al., 2017).

No filme (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/PVS)<sub>5</sub> (Figura 17 C) foi possível observar as bandas em 1184 e 1043 cm<sup>-1</sup>, ambas correspondem as vibrações do grupo sulfônico (SO<sub>2</sub>-O) da molécula de PVS (SAND; YADAV; BEHARI, 2010). A banda em 740 cm<sup>-1</sup> corresponde a vibrações do tipo -CH de grupos vinílicos do PVS, com baixo sinal para o filme LbL de (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/PVS)<sub>5</sub>. Por fim, as bandas em 557 e 630 cm<sup>-1</sup> são referentes a vibrações de Fe-O das nanopartículas de magnetita em regiões tetraedrais e octaedrais, respectivamente (IYENGAR et al., 2014).

**Figura 17:** Espectros de FTIR dos filmes (A)  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_5$ , (B)  $(\text{PAH/Ppy})_5$  e (C)  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/PVS})_5$ .



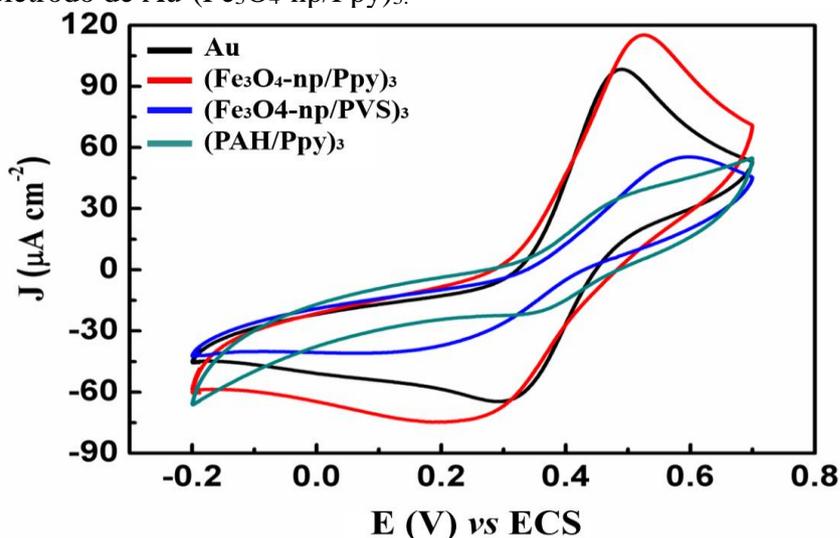
### 5.1.5. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LbL POR CV

#### 5.1.5.1. COMPARAÇÃO DOS FILMES LbL FRENTE AO PAR REDOX $K_3[Fe(CN)_6]$

Baseado nas caracterizações espectroscópicas e Raios-X, o filme LbL de  $(Fe_3O_4-np/Ppy)_n$ , apresentou um efeito sinérgico desejado. Para verificar suas propriedades eletroquímicas, utilizou-se da técnica de CV para comparar as diferentes arquiteturas do filme frente ao par redox  $K_3[Fe(CN)_6]$ .

A Figura 18 apresenta os voltamogramas cíclicos das diferentes arquiteturas do filme LbL. O valor de corrente anódica para o filme de  $(PAH/Ppy)_3$  foi de aproximadamente  $34,37 \mu A cm^{-2}$  e para o filme  $(Fe_3O_4-np/PVS)_3$ , o valor de corrente foi de aproximadamente  $55,92 \mu A cm^{-2}$ , valores inferiores aos obtidos pelo voltamograma no substrato puro de Au ( $\sim 93,97 \mu A cm^{-2}$ ). Enquanto isso, pode-se observar um aumento da corrente de anódica para o filme  $(Fe_3O_4-np/Ppy)_3$  ( $\sim 118,07 \mu A cm^{-2}$ ), resultado do efeito sinérgico fornecido pelos materiais, que potencializam a detecção do MeP em solução. Alguns estudos relatam a eficiência do composto formado por  $Fe_3O_4-np$  e Ppy (DENG et al., 2003; XIAOTUN et al., 2003; JANÁKY et al., 2010; GUO et al., 2013), demonstrando a possibilidade do controle das propriedades eletrocatalíticas, magnéticas e elétricas.

**Figura 18:** Voltametrias cíclicas entre as diferentes arquiteturas do filme LbL, mostrando a eficiência do eletrodo de Au- $(Fe_3O_4-np/Ppy)_3$ .



**Legenda:** intervalo de potencial de -0,20 a 0,70 V, velocidade de varredura de  $50 mV s^{-1}$ , em uma solução eletrolítica contendo  $1,0 \times 10^{-3} mol L^{-1}$  de  $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $0,1 mol L^{-1}$  de  $H_2SO_4$ , após a estabilização do eletrodo pela realização de 10 ciclagens no filme LbL.

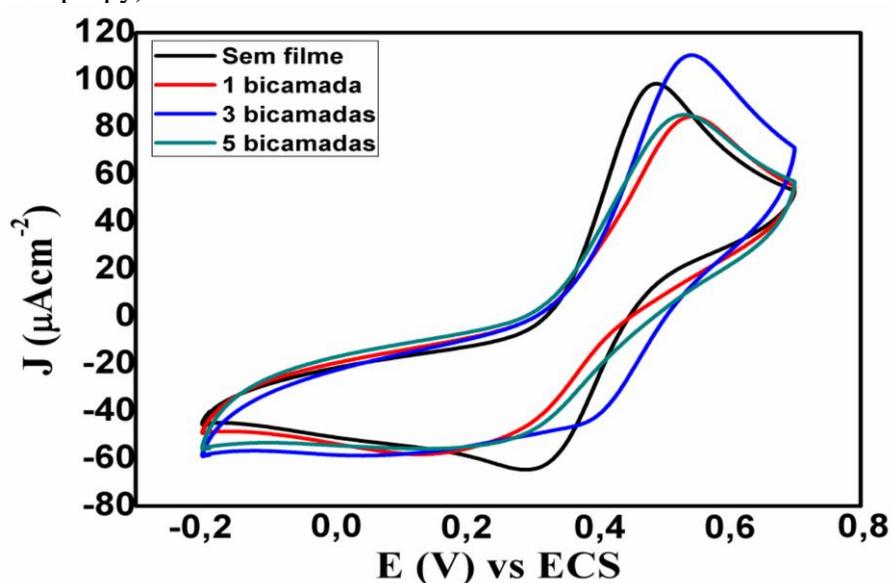
Pelas medidas voltamétricas fica evidente que o filme LbL de  $(Fe_3O_4-np/Ppy)_3$  apresenta maior corrente de pico anódica. Além disso, todas as caracterizações corroboram o fato dessa

arquitetura, apresentar as melhores propriedades. Com base nesses estudos, não foi necessário o estudo sinérgico das três arquiteturas do filme LbL pela técnica de DPV.

### 5.1.5.2. ESTUDO DO NÚMERO DE BICAMADAS DO FILME LbL DE $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$

Após verificar os melhores resultados provenientes do efeito sinérgico das  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np}$  e do Ppy, foi feito um estudo em relação ao número de bicamadas que melhor gera um sinal analítico para o filme LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_n$ . A Figura 19 ilustra os voltamogramas cíclicos com filmes LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_n$ , onde  $n$  é igual a 0, 1, 3 e 5 bicamadas.

**Figura 19:** Voltametrias cíclicas entre diferentes números de bicamadas obtidos para o filme LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_n$ .



**Legenda:** intervalo de potencial de -0,20 a 0,70 V, velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , em uma solução eletrolítica contendo  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  e  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , após a estabilização do eletrodo pela realização de 10 ciclagens no filme LbL.

A Tabela 5 ilustra os valores de corrente de pico em função do número de bicamadas do filme LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_n$

**Tabela 5:** Comparação entre os valores de corrente de pico dos voltamogramas cíclicos para diferentes números de bicamadas do filme LbL de (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy)<sub>n</sub>.

<b>Nº de bicamadas</b>	<b>Densidade de corrente (µAcm<sup>-2</sup>)</b>
<b>0</b>	<b>98,23 ± 2,13</b>
<b>1</b>	<b>84,65 ± 1,54</b>
<b>3</b>	<b>111,04 ± 1,86</b>
<b>5</b>	<b>85,41 ± 1,12</b>

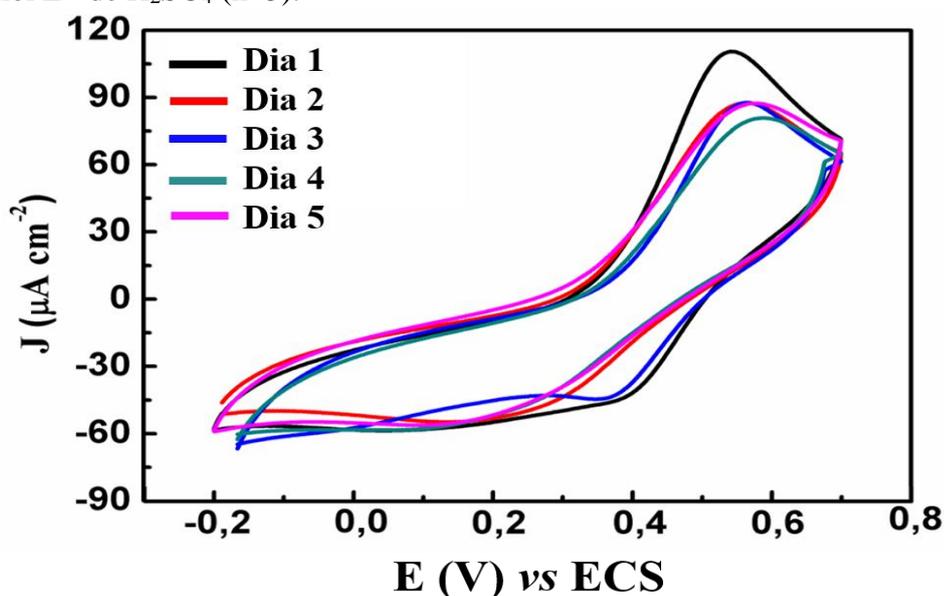
A partir dos resultados ilustrados na Figura 19 e na Tabela 5, nota-se que a maior densidade de corrente é observada para o filme LbL de (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy)<sub>n</sub> com 3 bicamadas (~111.04 ± 1,86 µAcm<sup>-2</sup>). O aumento do número de bicamadas pode estar relacionado ao aumento da resistência na superfície do eletrodo de trabalho, que impede a transferência de elétrons entre a superfície do sensor e a solução eletrolítica. Sendo assim, adotou-se 3 bicamadas do filme LbL de (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy) para as análises futuras.

### **7.1.5.3. REPRODUTIBILIDADE**

Com o objetivo de verificar a reprodutibilidade do filme LbL de (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy)<sub>3</sub>, foram feitos testes *inter-day* e *intra-day*, conforme recomendados pela IUPAC (RIBANI et al., 2004).

Os estudos foram feitos em diferentes dias (n=5), sempre utilizando o mesmo eletrodo, o qual foi armazenado em um *eppendorf* à temperatura ambiente. Antes de cada medida, foram feitas 10 medidas de voltametria cíclica para estabilização do eletrodo. A Figura 20 ilustra os voltamogramas obtidos em diferentes dias.

**Figura 20:** Voltamogramas cíclicos obtidos a partir do filme LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ , utilizando o mesmo eletrodo em dias diferentes, na presença de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  com  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $n=5$ ).

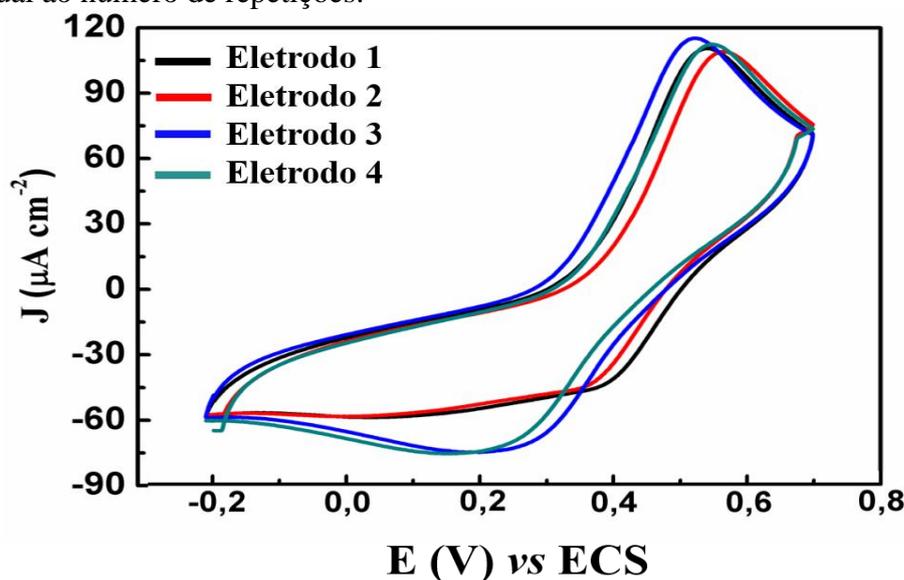


**Legenda:** intervalo de potencial de -0,20 a 0,70 V, velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , em uma solução eletrolítica contendo  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  e  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , após a estabilização do eletrodo pela realização de 10 ciclagens no filme LbL.

A Figura 20 mostra que a corrente faradaica diminuiu acentuadamente após o primeiro dia de análise, com queda média de  $23,29 \pm 1,97 \%$  em relação aos quatro últimos dias. Observa-se também, estabilização do sistema de análise entre o segundo e o quinto dia com valor médio de corrente de aproximadamente  $84,04 \pm 1,42 \mu\text{Acm}^{-2}$  e RSD de 2,57%.

Os testes de *intra-day* foram feitos com eletrodos recém preparados. Os estudos foram feitos no mesmo dia ( $n=4$ ), após a estabilização do eletrodo pela realização de 10 ciclagens no filme LbL. A Figura 21 ilustra os voltamogramas cíclicos dos estudos *intra-day*.

**Figura 21:** Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodos de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$  recém preparados na presença de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  com  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $n=4$ ), onde  $n$  é igual ao número de repetições.



**Legenda:** intervalo de potencial de -0,20 a 0,70 V, velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , em uma solução eletrolítica contendo  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  e  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , após a estabilização do eletrodo pela realização de 10 ciclagens no filme LbL.

Os filmes LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$  apresentaram densidade de corrente média de  $112,54 \pm 1,31 \mu\text{A cm}^{-2}$ , com valor de RSD de aproximadamente 2,35%. Esse valor é satisfatório, considerando o limite permitido de 5% (RIBANI et al., 2004).

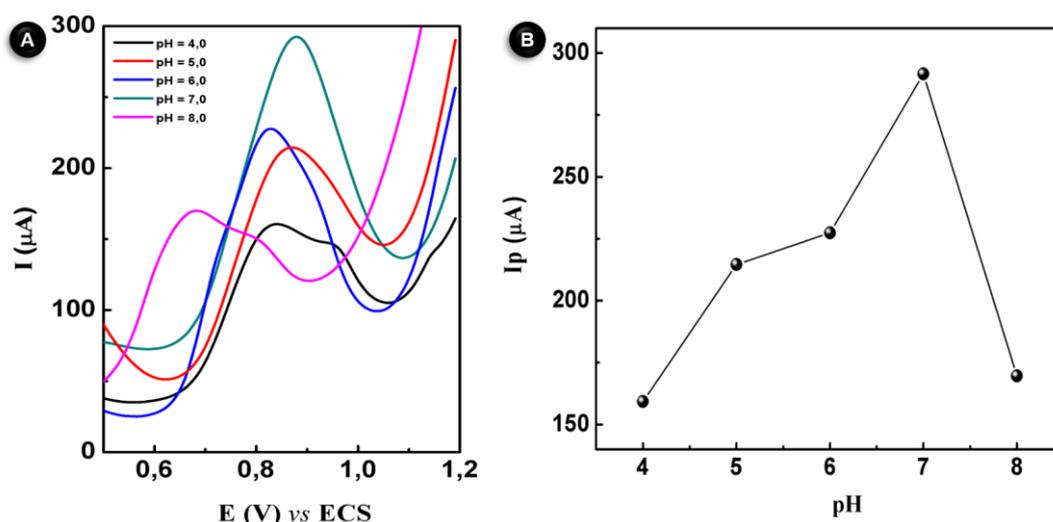
## 5.2. ANÁLISE ELETROANALÍTICA

### 5.2.1. INFLUÊNCIA DO pH NO PROCESSO DE OXIDAÇÃO DO MeP

Após verificar a boa interação entre os materiais, o filme LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$  foi selecionado para as análises de MeP em solução padrão e amostras reais. Antes da quantificação de MeP, algumas condições como *interval time*, *modulation time* e *modulation amplitude* do sistema eletroanalítico foram otimizadas.

O estudo de pH foi feito para verificar a influência do eletrólito no processo de oxidação e determinação de MeP. Verificou-se o comportamento analítico do eletrodo, variando-se o pH do tampão PBS no intervalo de 4 a 8, na presença de  $13,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de MeP. Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 22.

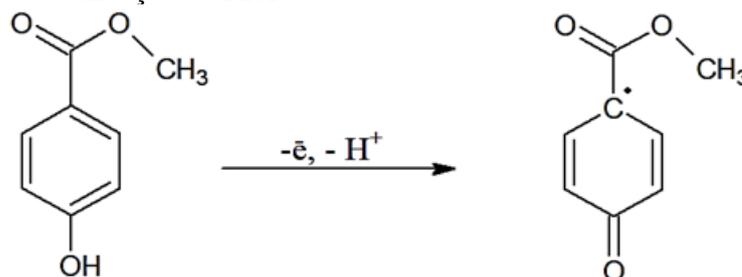
**Figura 22:** (A) Voltamogramas de pulso diferencial em diferentes valores de pH na presença de  $13,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de MeP. (B) Valores da corrente de pico em função do valor de pH (filme LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ )



**Legenda:** Tampão PBS  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  na presença de  $13,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de MeP. Condições na DPV: *step*:  $0,01 \text{ V}$ , *modulation time*:  $0,05\text{s}$ , *modulation amplitude*:  $0,1\text{V}$  e *interval time*:  $0,3\text{s}$ .

À medida que ocorre a variação do valor de pH a corrente de pico e/ou potencial variaram também (Figura 22A), não apresentando comportamento linear, porém, fica evidente que o pH 7 contribui para maior magnitude do sinal analítico, favorecendo a detecção de MeP nas condições propostas (Figura 22B). Outra característica importante observada é que a oxidação do MeP é mais difícil em meios muito ácidos e básicos. Isso ocorre porque no intervalo de pH entre 6,0 a 7,8, o grupo hidroxila presente no anel aromático da molécula de MeP é protonado formando uma quinona, liberando um elétron (HAJIAN et al., 2016; MENDONÇA et al., 2017). Essa condição pode ser verificada devido ao MeP apresentar pKa de 8,2, o que proporciona sua oxidação em valores de pH entre 6,0 a 7,8, conforme ilustrado na Figura 23 (WANG et al., 2015).

**Figura 23:** Reação de oxidação de MeP.



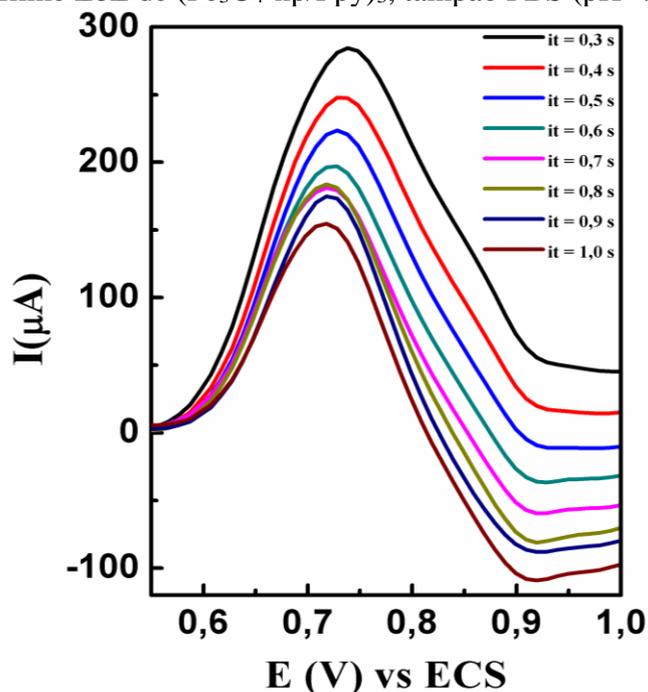
**Fonte:** Elaborado pelo autor.

### 5.2.2. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA DPV

O efeito dos parâmetros experimentais da técnica eletroanalítica de DPV na presença de  $13,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de MeP em tampão PBS pH 7,0 foi estudado com a finalidade de maximizar o sinal analítico utilizando o eletrodo de Au funcionalizado com o filme nanoestruturado de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ .

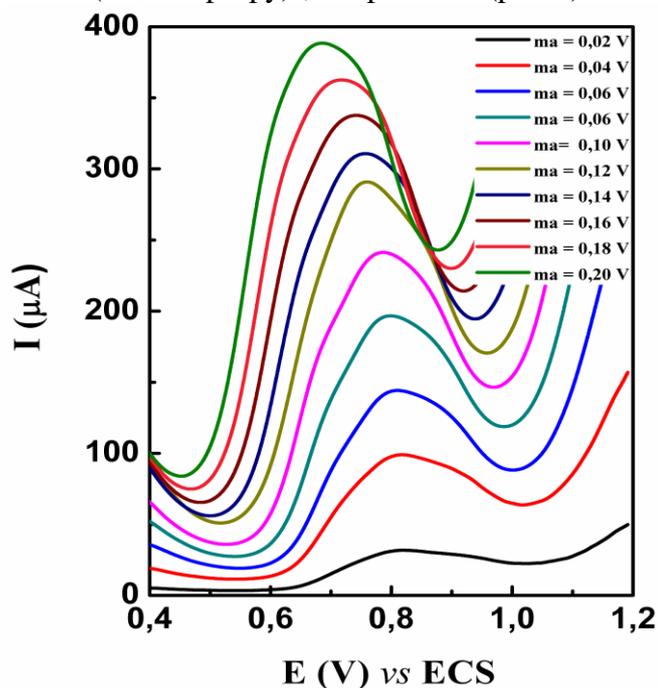
Inicialmente, foi feita a variação do parâmetro *interval time* no intervalo de 0,3 a 1,0 s, fixando-se o *step potential* em 0,01 V, *modulation time* em 0,05 s e *modulation amplitude* em 0,1 V. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 24, na qual pode-se observar diminuição da corrente anódica do voltamograma à medida que os valores de *interval time* aumentam. Adotou-se então, o valor correspondente a 0,3 s devido à maior intensidade de corrente anódica na detecção de MeP.

**Figura 24:** Voltamograma de pulso diferencial da variação do parâmetro *interval time* (it) de 0,3 s a 1,0 s, fixando o *step potential* em 0,01 V, o *modulation time* em 0,05 s e *modulation amplitude* em 0,1 V, filme LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ , tampão PBS (pH=7).



Posteriormente, o parâmetro *modulation amplitude* foi estudado no intervalo de 0,02 a 0,20 V, fixando o *step potential* em 0,01 V, *modulation time* em 0,05 s e *interval time* em 0,3 s, conforme ilustrado na Figura 25.

**Figura 25:** Voltamograma de pulso diferencial da variação do parâmetro *modulation amplitude* (*ma*) de 0,02 a 0,20 V, fixando o *step potential* em 0,01 V, *modulation time* em 0,05 s e *interval time* em 0,3 s, filme LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ , tampão PBS (pH=7).

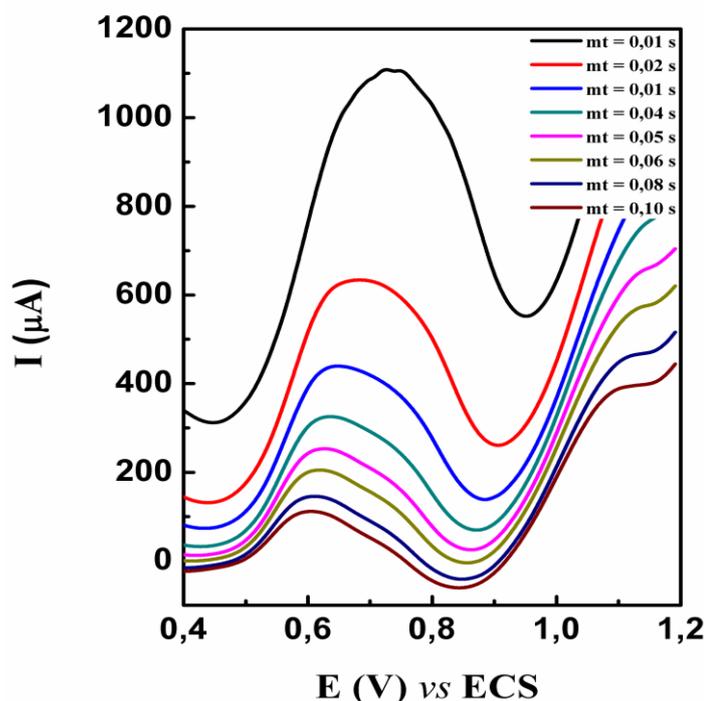


Pode-se observar na Figura 25 que o aumento nos valores de *modulation time* levou a um aumento na corrente anódica e um deslocamento do potencial de pico para valores menos positivos. Sendo assim, o valor correspondente a 0,20 V apresentou um pico de oxidação com maior sinal analítico para a detecção de MeP.

O último parâmetro avaliado foi o *modulation time*, no intervalo de 0,01 a 0,10 s, fixando *step potential* em 0,01 V, *interval time* em 0,3 e o *modulation amplitude* em 0,2 V. Os resultados obtidos encontram-se na Figura 26, onde, pode-se observar um aumento na magnitude do sinal analítico em valores de *modulation time* menores.

A otimização do sistema permitiu um ajuste nos parâmetros eletroanalíticos na DPV para: *interval time* = 0,3 s, *modulation amplitude* = 0,2 V, *modulation time* = 0,01 s e *step potential* = 0,01 V.

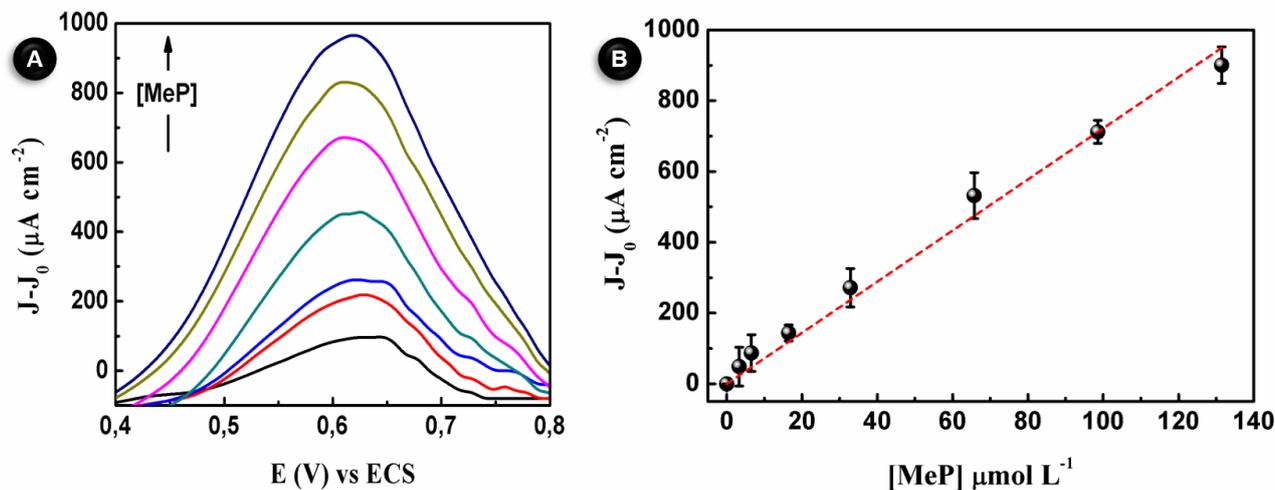
**Figura 26:** Voltamograma de pulso diferencial da variação do parâmetro *modulation time* (*mt*) de 0,01 s a 0,10 s, fixando o *step potential* em 0,01 V, *modulation amplitude* em 0,20 s e *interval time* em 0,3 s, filme LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ , tampão PBS (pH=7).



### 5.2.3. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ELETROANALÍTICO

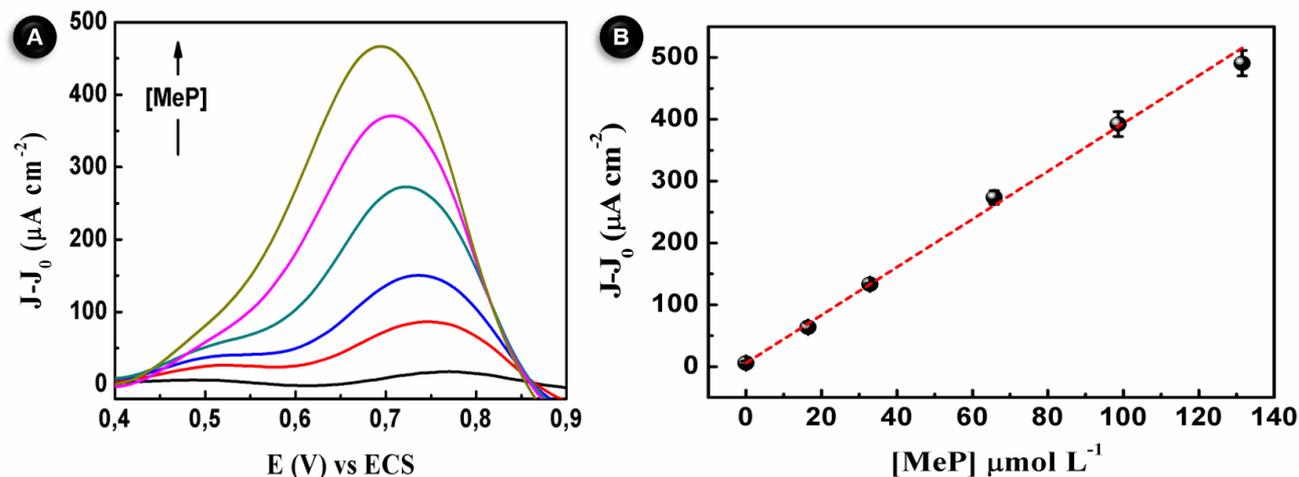
Após a otimização dos parâmetros experimentais em DPV foi feito um estudo de calibração analítica do MeP em tampão PBS (pH 7,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) e em fluidos biológicos (urina e leite materno). A Figura 27 ilustra o voltamograma de pulso diferencial (A) e sua respectiva curva analítica (B), obtidos pela análise da solução padrão de MeP no intervalo de 3,3 a  $131,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . As Figuras 28 e 29 ilustram as curvas analíticas em urina e leite materno, respectivamente, no intervalo de 16,3 a  $131,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . As medidas foram feitas em triplicata utilizando o filme LbL de  $\text{Au}-(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ , após a estabilização total do sensor pela análise de 10 medidas do branco. As curvas obtidas pela adição de diferentes níveis de concentração de MeP foram subtraídas da medida do seu respectivo sinal de branco e divididas pela área efetiva do eletrodo, resultando em uma densidade de corrente por centímetro quadrado ( $J-J_0$  ( $\mu\text{A cm}^{-2}$ )). Os demais parâmetros experimentais da curva estão apresentados na Tabela 6.

**Figura 27:** (A) Voltamograma de pulso diferencial utilizando o eletrodo de Au funcionalizado com o filme nanoestruturado de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ , na presença de 3,3, 6,6, 16,4, 32,9, 65,7, 98,6, 131,4  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de MeP, realizadas em triplicata. (B) Curva analítica de  $J-J_0$  ( $\mu\text{A cm}^{-2}$ ) em função da concentração de MeP com a aproximação linear da média, tampão PBS (pH=7).



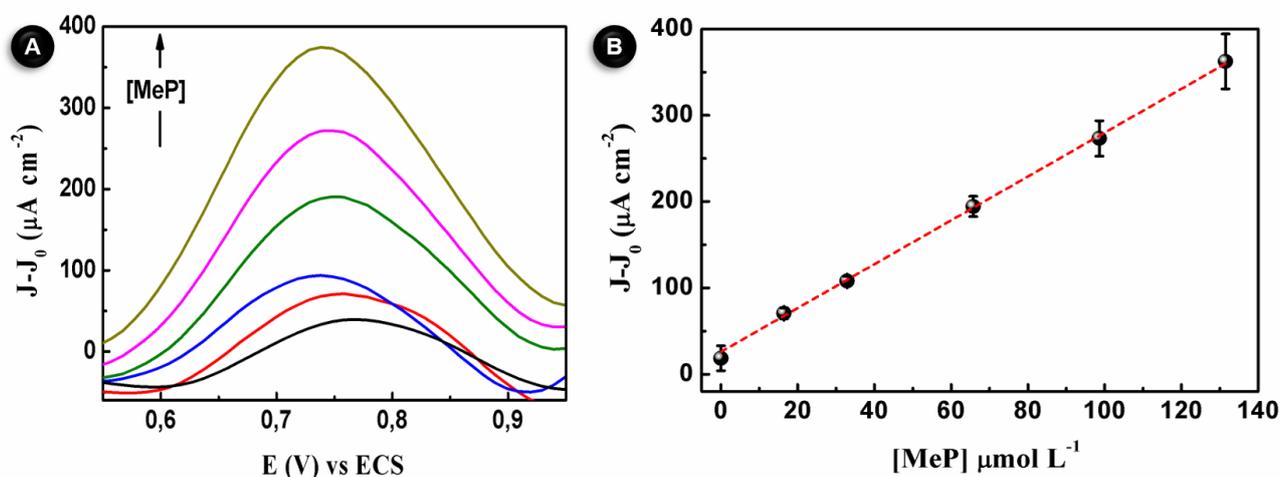
**Legenda:** *interval time* = 0,3 s, *modulation amplitude* = 0,2 V, *modulation time* = 0,01 s e *step potential* = 0,01 V.

**Figura 28:** (A) Voltamograma de pulso diferencial para a amostra de urina diluída (1:10, urina/PBS 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ ). (B) Curva analítica com concentrações crescentes de MeP no intervalo de 16,4 a 131,4  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , filme LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$ .



**Legenda:** *interval time* = 0,3 s, *modulation amplitude* = 0,2 V, *modulation time* = 0,01 s e *step potential* = 0,01 V.

**Figura 29:** (A) Voltamograma de pulso diferencial para a amostra de leite materno diluída (1:10, leite materno/PBS 0,1 mol L<sup>-1</sup>). (B) Curva analítica com concentrações crescentes de MeP no intervalo de 16,4 a 131,4 μmol L<sup>-1</sup>, filme LbL de (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy)<sub>3</sub>.



**Legenda:** *interval time* = 0,3 s, *modulation amplitude* = 0,2 V, *modulation time* = 0,01 s e *step potential* = 0,01 V.

**Tabela 6:** Resultados dos parâmetros de validação do método eletroanalítico de DPV para determinação de MeP em amostras de urina e leite materno utilizando o filme LbL de (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy)<sub>3</sub>.

Parâmetro	PBS	Urina	Leite materno
Faixa de trabalho (μmol L <sup>-1</sup> )	3,30 – 131,40	16,43 – 131,40	16,43 – 131,40
Equação da reta (μmol L <sup>-1</sup> )	y = 7,22 x + 5,95	y = 3,88 x + 5,78	y = 2,58 x + 25,84
Coefficiente de correlação (R <sup>2</sup> )	0,994	0,998	0,997
Sensibilidade (μA cm <sup>-2</sup> )(μmol L <sup>-1</sup> ) <sup>-1</sup>	7,23 ± 0,22	3,88 ± 0,07	2,58 ± 0,06
Precisão (mín-máx) em RSD (%)	2,12 – 4,43	2,78 – 9,85	2,88 – 11,19
Recuperação (mín-máx, %)	94,87 – 112,32	95,62 – 104,99	98,38 – 107,26
LD (μmol L <sup>-1</sup> )	0,0995	0,0376	0,0711
LQ (μmol L <sup>-1</sup> )	0,3312	0,1253	0,2370

Analisando-se as curvas feitas na matriz (Figura 28 e 29) em relação a curva padrão em PBS (Figura 27), verifica-se a diminuição da densidade da corrente de pico na análise das soluções de fluidos biológicos, assim como um deslocamento de potencial de pico para valores de aproximadamente 0,750 V vs ECS. Essas alterações podem ser resultado do efeito da matriz ou pela presença de possíveis interferentes na amostra, proveniente de outros compostos presentes nos fluidos biológicos, uma vez que as matrizes não foram submetidas a procedimentos de micro extração ou pré-concentração, para isolar apenas as moléculas de

interesse. Sendo assim, alguns compostos presentes na matriz biológica podem dificultar a transferência de carga entre a superfície do eletrodo e a solução eletrolítica, fazendo com que a reação de oxidação do MeP ocorra em potenciais maiores.

O cálculo para o limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram feitos pelas equações 6 e 8 respectivamente, descritas no item 4.9.5. Para a curva padrão feita em PBS o LD foi de  $0,0995 \mu\text{mol L}^{-1}$  e LQ foi de  $0,3312 \mu\text{mol L}^{-1}$ ; para as amostras de urina o valor de LD foi  $0,0376 \mu\text{mol L}^{-1}$  e LQ foi  $0,1253 \mu\text{mol L}^{-1}$ ; para as amostras de leite materno LD foi de  $0,0711 \mu\text{mol L}^{-1}$  e o LQ  $0,2370 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Além dos valores de LD e LQ, os resultados de  $R^2$  e recuperação das curvas feitas nas matrizes biológicas apresentaram melhores resultados quando comparados com a metodologia padrão em PBS, em contrapartida, a sensibilidade e precisão do método padrão apresenta valores significativamente melhores.

Os valores de recuperação obtidos para a amostra padrão variam entre 94,87 – 112,32 % com RSD máximo 4,43%, enquanto os valores de recuperação obtidos para a amostra de urina variam entre 95,62 – 104,99%, com RSD máximo de 9,85; para o leite materno a recuperação varia entre 98,38 – 107,26%, com RSD máximo de 11,19.

Os valores obtidos não indicam nenhuma tendência de imprecisão na determinação de MeP nas amostras biológicas analisadas, com exceção da melhor sensibilidade na curva padrão. Além disso, o método mostrou-se bastante preciso, com valores de RSD inferiores a 11,2 %. Todos os parâmetros de validação foram calculados com base na metodologia proposta por Miller e Miller (MILLER; MILLER, 1988; MILLER, 1991; J.C. MILLER; , J.N. MILLER, 2005).

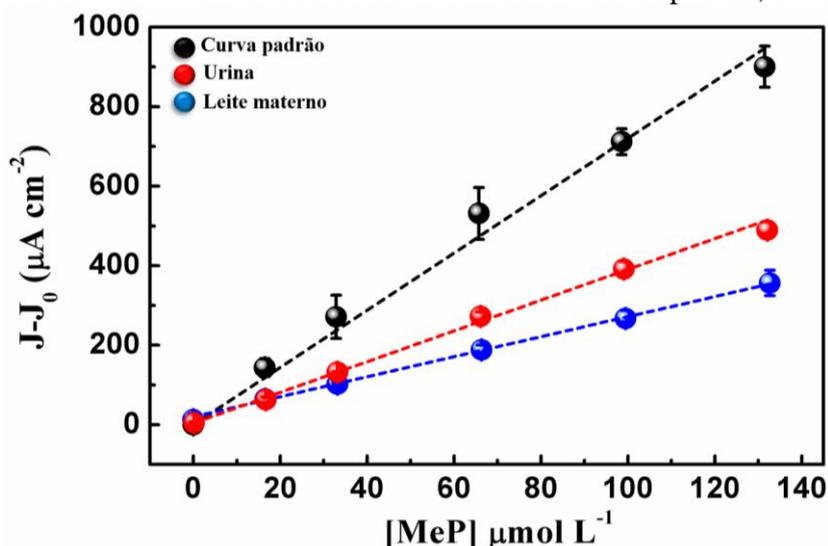
Para verificar se existe diferença entre a curva padrão em relação as curvas analíticas feitas em matriz biológica, tornou-se necessário fazer o estudo do efeito matriz.

#### **5.2.4. EFEITO DE MATRIZ**

As curvas obtidas pela análise na matriz foram comparadas com a curva padrão em PBS, no intervalo de 16,4 a  $131,4 \mu\text{mol L}^{-1}$  (Figura 30). A partir da Figura 30 foi possível identificar a presença de interferentes e/ou erros aleatórios que possibilitam um aumento da resposta em cada nível de concentração para a técnica eletroanalítica de DPV. Também foi possível observar que as curvas são menos íngremes, porém, diferem muito em relação ao sinal obtido por cada concentração analisada, é por isso, que torna-se necessário à validação do método para cada tipo de matriz por meio de uma curva analítica feita na amostra a ser analisada, evitando assim, erros na quantificação do analito devido ao efeito da matriz.

A curva padrão em PBS apresentou uma maior magnitude de sinal, seguido da amostra de urina e por fim, a amostra de leite materno. Possivelmente, o menor sinal obtido para o leite materno é resultado da presença de proteínas do leite, que são adsorvidas no eletrodo e dificultam a troca de elétrons em processos de oxidação. Já para a urina, esse comportamento pode ser explicado pela presença de interferentes, que também dificultam essa troca de elétrons.

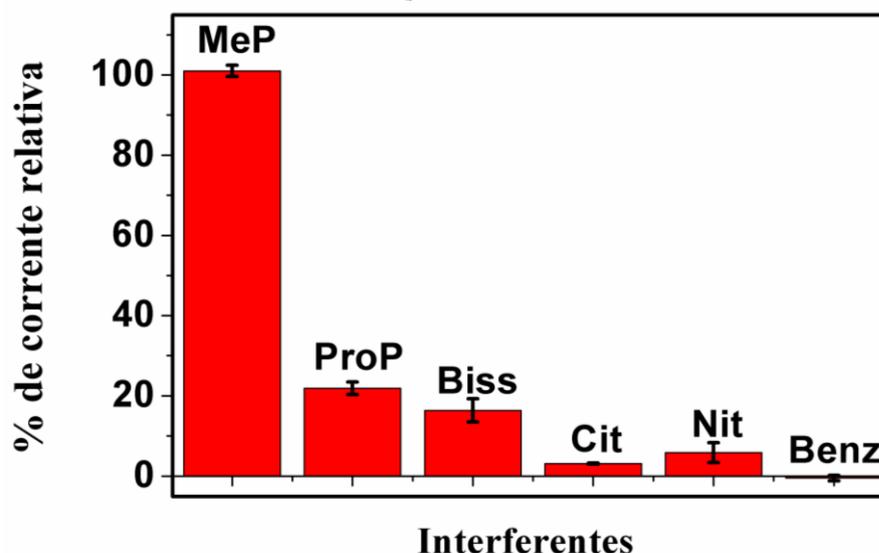
**Figura 30:** Efeito de matriz na análise eletroanalítica das amostras padrão, urina e leite materno.



Devido ao acentuado efeito matriz evidenciado na Figura 30, foi realizado um estudo de seletividade com alguns dos principais conservantes que possivelmente, podem interferir na detecção de MeP.

### 5.2.5. ESTUDO DE INTERFERENTES

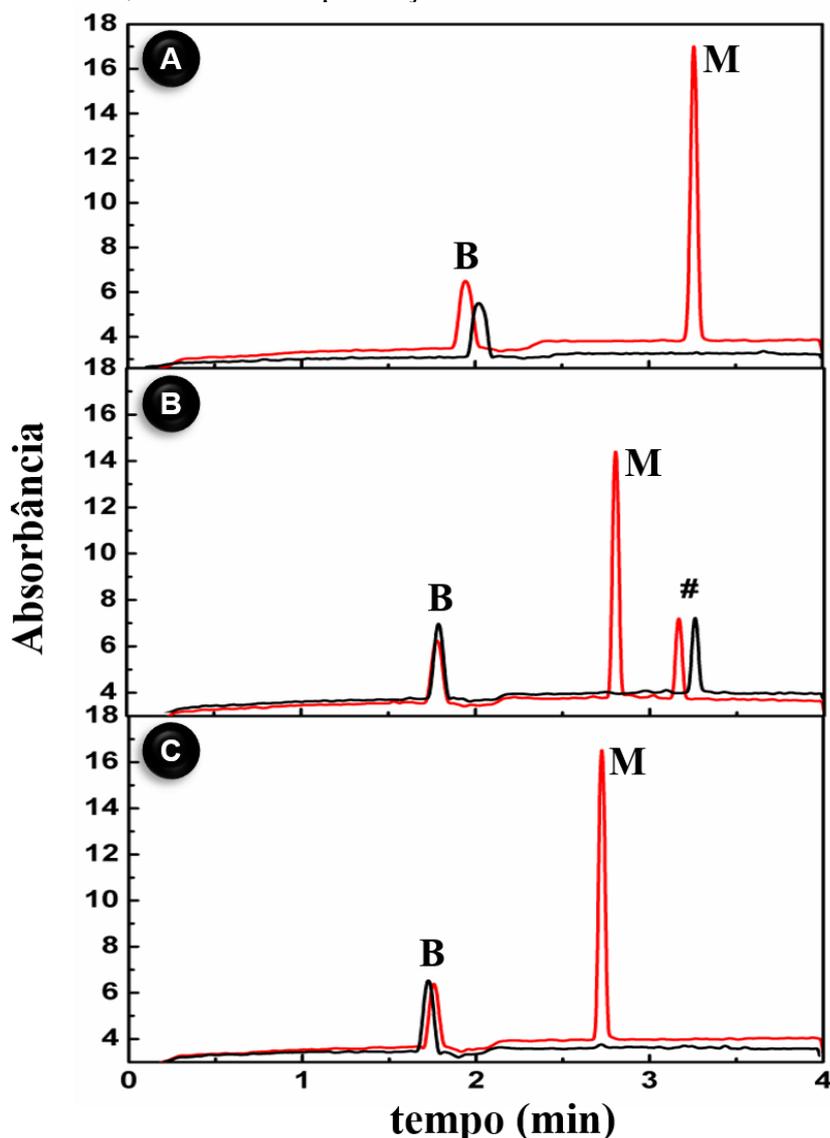
Os estudos de seletividade foram feitos investigando as possíveis moléculas que poderiam interferir na detecção de MeP em amostras de urina e leite materno. As análises foram feitas por DPV em tampão PBS (pH 7,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) e as concentrações dos interferentes foram fixadas em  $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ , adicionadas individualmente. Posteriormente, os possíveis interferentes como: nitrito (nit), bissulfito (biss), citrato (cit), benzoato (benz) e propilparabeno (ProP) foram adicionados individualmente. A Figura 31 apresenta as porcentagens de corrente relativa obtidas para cada composto. Somente propilparabeno e bissulfito apresentaram pico de oxidação na região de 0,57 e 0,65 V, respectivamente, com percentual de interferência de 36% e 20,3%, respectivamente. Entretanto, a magnitude do sinal analítico desses dois conservantes é relativamente pequena quando comparada ao pico de oxidação do MeP.

**Figura 31:** Possíveis interferentes na detecção de MeP

### 5.3. ANÁLISE ELETROFORÉTICA

A CE foi utilizada como ferramenta analítica para a determinação de MeP em amostras padrão e em fluidos biológicos (urina e leite materno). Os parâmetros em CE foram otimizados a partir de uma outra metodologia proposta na literatura (ALSHANA; ERTAŞ; GÖĞER, 2015). Os parâmetros otimizados foram: tensão: 25 kV, injeção: 30mbar x 8s,  $\lambda=298$  nm, temperatura: 25°C, capilar: 48,5 cm (40 cm até o detector) e eletrólito composto por 20 mmolL<sup>-1</sup> de TBS. A Figura 32 apresenta os eletroferogramas do MeP (65,7  $\mu\text{molL}^{-1}$ ) em solução padrão (A), urina (B) e leite materno (C). Pode-se observar a presença de um pico indeterminado no eletroferograma da Figura 32B, na amostra de urina. Esse pico pode ser indicativo de um possível interferente na matriz biológica, o que corrobora o efeito matriz presente nas medidas eletroquímicas. Além disso, pode-se observar uma diminuição na absorbância do sinal analítico nas medidas de CE para a amostra de urina.

**Figura 32:** Eletroferogramas da solução padrão (A) solução padrão (MeOH:H<sub>2</sub>O/ 70:30), (B) urina e (C) leite materno, na ausência e presença de MeP.



**Legenda:** Eletrólito: 20 mmol L<sup>-1</sup> de TBS. M: metilparabeno, # pico desconhecido, B: batimento do fluxo, (—) branco, (—) 65,7 μmol L<sup>-1</sup> de MeP. 25 kV, injeção: 30mbar x 8s, λ=298 nm, temperatura: 25°C, capilar: 48,5 cm (40 cm até o detector).

### 5.3.1. VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ELETROFORÉTICA

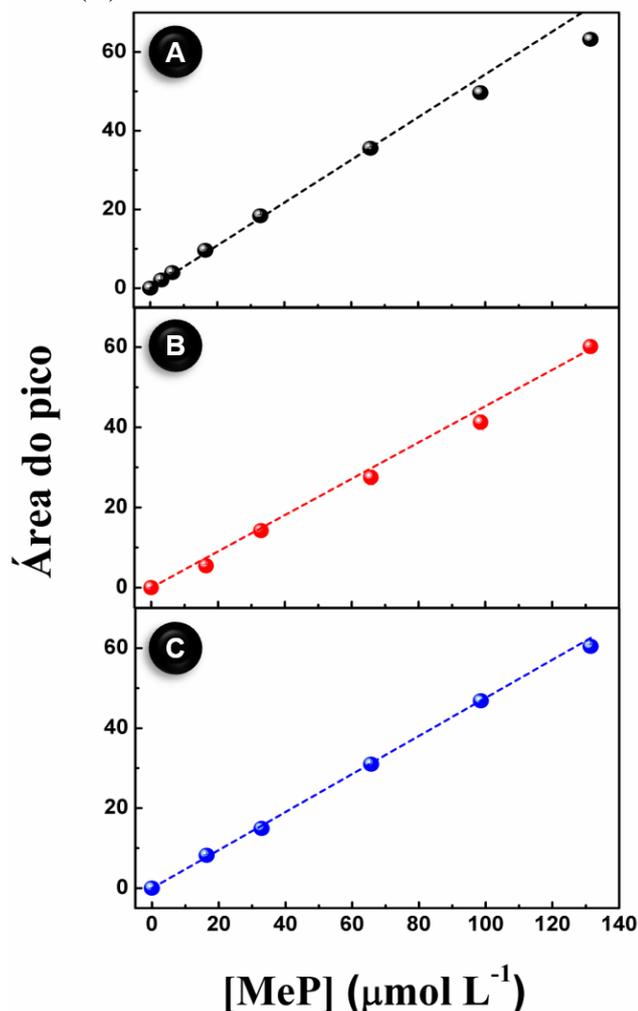
As curvas analíticas de cada matriz, foram obtidas em triplicata, com diferentes níveis de concentração de MeP no intervalo de 3,30 – 131,40 para a solução padrão e de 16,30 – 131,40 para as amostras biológicas (Figura 33). Posteriormente, os resultados foram avaliados de acordo com os valores de recuperação, precisão, LD e LQ, conforme descrito na Tabela 7.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) obtidos pela técnica eletroforética foram calculados pelas equações 6 e 8 respectivamente, descritas no item 7.6.5. O valor de LD

par a curva padrão foi de  $0,0213 \mu\text{mol L}^{-1}$  e LQ de  $0,0709 \mu\text{mol L}^{-1}$ ; para a amostra de urina o LD foi de  $0,0107 \mu\text{mol L}^{-1}$  e LQ de  $0,0358 \mu\text{mol L}^{-1}$ ; por fim, para a amostra de urina o LD foi de  $0,0116 \mu\text{mol L}^{-1}$  e LQ de  $0,0388 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Assim como observado para a metodologia eletroanalítica de DPV, os valores de LD e LQ obtidos pela equação da reta para as curvas analíticas feitas nas matrizes biológicas, foram melhores quando comparadas aos valores obtidos pela metodologia padrão. Além do valor de LD e LQ, o valor de  $R^2$  também foi relativamente melhor, em contrapartida, a sensibilidade, precisão e recuperação do método padrão, apresentaram valores relativamente melhores quando comparados a validação feita para as matrizes biológicas. Todos os parâmetros foram calculados de acordo com o método proposto por Miller e Miller (MILLER; MILLER, 1988; MILLER, 1991; J.C. MILLER; , J.N. MILLER, 2005).

Os valores de recuperação obtidos para as amostras de urina variaram no intervalo de 99,43 – 108,77, com RSD máximo de 5,60%; para o leite materno a recuperação obtida foi entre 95,98 – 106,01 com RSD máximo de 6,48, recomenda-se que os valores de recuperação sejam superiores a 95% e inferiores a 110%, com RSD inferior a 7%. Esses valores já são esperados para técnicas padrão como HPLC, GC e CE (RIBANI et al., 2004, 2004; J.C. MILLER; , J.N. MILLER, 2005). Desta forma o método aplicado para a análise em fluidos biológicos é preciso.

**Figura 33:** Curvas analíticas feitas por CE (n=3) para concentrações crescentes de MeP em (A) solução padrão, (B) urina e (C) leite materno.



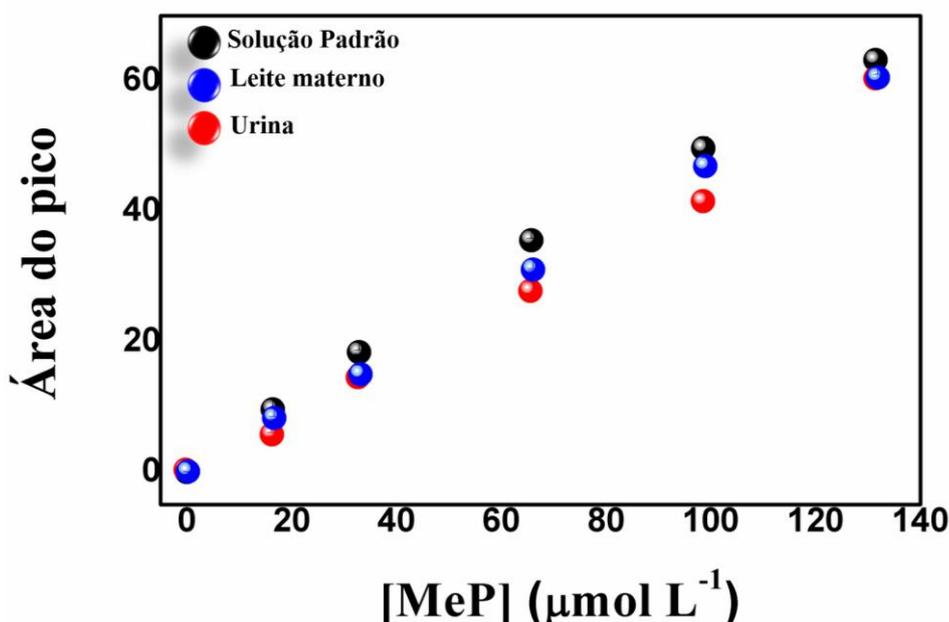
**Tabela 7:** Resultados dos parâmetros de validação do método eletroforético para determinação de MeP por CE.

Parâmetro	Padrão em Água	Urina	Leite materno
Faixa de trabalho ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	3,30 – 131,40	16,43 – 131,40	16,43 – 131,40
Equação da reta ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	$y = 0,60 x + 0,050$	$y = 0,42 x + 0,01$	$y = 0,48 x - 0,047$
Coefficiente de correlação ( $R^2$ )	0,996	0,999	0,997
Sensibilidade ( $\mu\text{A cm}^{-2}$ )( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) <sup>-1</sup>	$0,60 \pm 0,01$	$0,42 \pm 0,01$	$0,48 \pm 0,02$
Precisão (mín-máx) em RSD (%)	0,76 -1,40	0,75 – 5,60	0,32 – 6,48
Recuperação (mín-máx, %)	97,38 – 102,15	99,43 – 108,77	95,98 – 106,01
LD ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	0,0213	0,0107	0,0116
LQ ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	0,0709	0,0358	0,0388

### 5.3.2. EFEITO MATRIZ

Foi feito o estudo do efeito matriz por meio da comparação entre as curvas analíticas do método eletroforético obtidas nas matrizes biológicas (urina e leite materno) e na solução padrão (MeOH: H<sub>2</sub>O/ 70:30), no intervalo de 16,43 a 131,40  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Os resultados encontram-se disponíveis na Figura 34. Pode-se observar que existe a presença de pequenos erros sistemáticos e/ou interferentes, que permitem que a curva padrão, apresente pouca diferença em relação as curvas da urina e leite materno, portanto, o sinal obtido pela curva padrão apresenta uma inclinação com pouca diferença em relação as amostras em matriz biológica.

**Figura 34:** Efeito de matriz na análise eletroforética da amostra padrão, urina e leite materno.



### 5.4. COMPARAÇÃO ESTATÍSTICA DOS MÉTODOS ANALÍTICOS DE DETERMINAÇÃO DO MeP PELO MÉTODO DE REGRESSÃO LINEAR

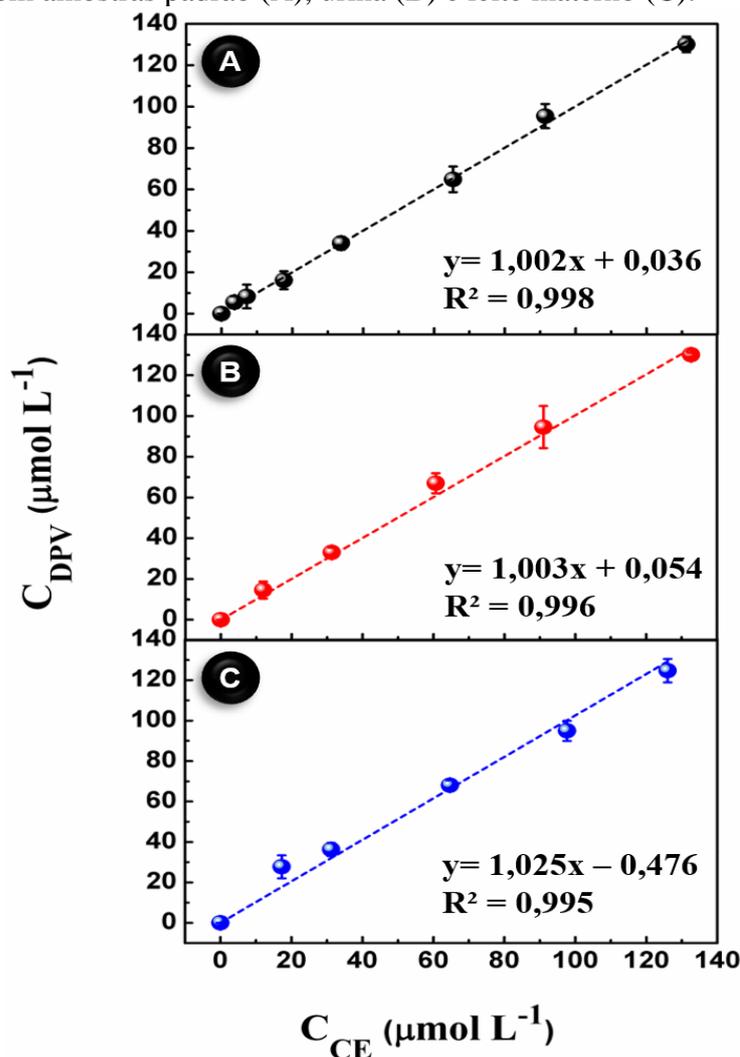
A técnica analítica de CE foi utilizada para determinar a precisão do sensor eletroquímico. Outros trabalhos utilizaram comparação entre métodos eletroquímicos e técnicas cromatográficas (CÁMARA et al., 2010; BOZAL-PALABIYIK; USLU, 2016; MENDONÇA et al., 2017) como ferramenta para verificar a precisão de sensores eletroquímicos (CÁMARA et al., 2010; BOZAL-PALABIYIK; USLU, 2016; MENDONÇA et al., 2017), utilizando a metodologia de Miller-Miller (J.C. MILLER; J.N. MILLER, 2005) porém, não há relatos de estudos que utilizaram como método analítico a CE para tais comparativos, apesar de ser uma técnica instrumental de separação de grande versatilidade e aplicabilidade para diferentes analitos e tipos de amostras. Outra vantagem é que o equipamento não requer colunas

específicas para cada tipo de amostra e utiliza volumes na ordem de  $\pm 10$  nL, o que resulta em ganho econômico nas análises, quando comparada com outras técnicas como HPLC (DE LIMA et al., 2018).

As curvas de regressão linear obtidas a partir da detecção das amostras de MeP ( $n=3$ ), para ambas as técnicas e ambas as amostras, foram utilizadas para construção da curva de regressão linear para as duas metodologias. A partir das curvas analíticas, foi construído um gráfico das respostas obtidas pela metodologia padrão de CE no eixo x e os resultados obtidos pelo método eletroanalítico de DPV no eixo y.

As curvas de regressão linear obtidas encontram-se na Figura 35 para a solução padrão (A), urina (B) e leite materno (C), respectivamente. Estes gráficos foram avaliados considerando-se os valores do seu coeficiente angular a, intercepto b e do coeficiente de correlação  $R^2$ .

**Figura 35:** Gráfico de regressão linear dos valores obtidos pelas técnicas DPV e CE para a detecção de MeP em amostras padrão (A), urina (B) e leite materno (C).



Segundo a metodologia de Miller e Miller, quanto mais próximo de 0 os valores de intercepto e mais próximos de 1 os valores do coeficiente angular, mais preciso é o método que está sendo comparado. Para todas as amostras analisadas, os valores de intercepto e coeficiente angular, aproximam-se dos valores da metodologia proposta.

Por fim, verificou-se a precisão entre os dois métodos pela realização do teste t de student pareado. Os resultados obtidos foram de 1,98 a 95% de confiança para a solução padrão, sendo menor que o valor crítico tabelado, de 2,31 a 95% de confiança para  $n = 9$  ( $GL = 8$ ;  $\alpha = 0,05$ ); 2,30 a 95% de confiança para a amostra de urina, sendo menor que o valor crítico tabelado de 2,45 a 95% de confiança para  $n = 7$  ( $GL = 6$ ;  $\alpha = 0,05$ ) e 2,31 a 95% de confiança para a amostra de leite materno, sendo menor que o valor crítico tabelado de 2,45 a 95% de confiança para  $n = 7$  ( $GL = 6$ ;  $\alpha = 0,05$ ).

De uma forma geral, o desenvolvimento do sensor eletroquímico obtido através de filmes nanoestruturados compostos por  $Fe_3O_4$ -np e Ppy mostraram-se bastante sensíveis na presença de MeP em baixas concentrações molares. O método eletroanalítico de DPV, mostrou-se bastante propício para a detecção de MeP em fluidos biológicos, além de mostrar-se bastante seletivo na presença de possíveis interferentes na matriz. Sendo assim, o método eletroquímico apresenta como vantagem a simplicidade nas análises, baixo custo e rápida detecção, além de apresentar a precisão do método padrão de CE.

## 6. CONCLUSÕES

As Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np apresentaram boa estabilidade quando adsorvidas por meio da técnica de LbL, devido à presença de uma matriz polimérica (Ppy), apresentando diâmetro médio de 15,28 nm determinados por MEV e 14,80 nm determinado por SPR. Quando analisadas de maneira individual no filme *cast* ou em suspensão, as Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np formaram aglomerados com diâmetro médio de 138 nm, conforme observado por DLS. A partir dos resultados obtidos foi verificado que as nanopartículas de magnetita apresentam boa interação e propriedades ópticas e eletroquímica satisfatórias na presença de Ppy, como observado por UV-Vis, FTIR e CV, em comparativo com as três arquiteturas do filme LbL.

Utilizando o eletrodo de Au funcionalizado com o compósito formado por (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy)<sub>n</sub>, verificou-se que a melhor resposta eletroquímica do sensor proposto, ocorreu pela formação de 3 bicamadas, com uma reprodutibilidade *inter-day* de 2,57% e *intra-day* de 2,35%, no intervalo de potencial de -0,2 a 0,7 V com uma velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>, em uma solução eletrolítica contendo 1,0x10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] com 0,1 mol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Esse sensor foi utilizado para otimizar os parâmetros em DPV como: pH, *interval time*, *modulation time* e *modulation amplitude*, na presença de MeP, sendo esses parâmetros otimizados para pH 7, *interval time* = 0,3 s, *modulation amplitude* = 0,2 V, *modulation time* = 0,01 s e *step potential* = 0,01 V, resultando em um melhor sinal analítico com maior sensibilidade.

Após caracterizado o sensor e otimizado o sistema de análise por DPV, o filme LbL de (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy)<sub>3</sub> foi utilizado para detectar MeP em amostras de urina e leite materno, por meio das curvas analíticas por adição de padrão, com valor de LD = 0,0376 μmol L<sup>-1</sup>, LQ= 0,1253 μmol L<sup>-1</sup> e RSD máximo de 9,85% para a amostra de urina e LD = 0,0711 μmol L<sup>-1</sup>, LQ= 0,2370 μmol L<sup>-1</sup> e RSD máximo de 11,19%.

Os estudos de seletividade mostraram que bissulfito de sódio e outros parabens interferem nas medidas eletroanalíticas na detecção de MeP, podendo gerar efeitos de matriz, porém, os voltamogramas de pulso diferencial ilustram que esse interferentes não estavam presentes na matriz biológica, não interferindo no sinal analítico.

A metodologia eletroforética foi utilizada para determinar MeP em urina e leite materno, obtendo-se LD=0,0107 μmol L<sup>-1</sup> LQ= 0,0358 μmol L<sup>-1</sup> e RSD máximo de 5,60% para a amostra de urina e LD= 0,0116 μmol L<sup>-1</sup> LQ= 0,0388 μmol L<sup>-1</sup> e RSD máximo de 6,48%.

Os resultados obtidos por DPV foram comparados estatisticamente com o método padrão de CE, por meio da metodologia de Miller e Miller a partir de gráficos de regressão

linear. Foi verificado que os valores do coeficiente angular e do intercepto obtidos, apresentam boa concordância com o esperado, com pequenos erros aleatórios, e o test t pareado confirmou a equivalência entre as metodologias.

A metodologia eletroanalítica desenvolvida por meio da técnica de DPV demonstrou que o eletrodo de Au funcionalizado com filmes LbL de  $(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-np/Ppy})_3$  apresenta boas condições de aplicação em matrizes complexas e em tempo real para detecção de MeP em fluídos biológicos, sendo uma opção mais rápida, barata e alternativa, quando comparada aos métodos analíticos de CE e HPLC, apresentando precisão equivalente a esses últimos.

## 7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALSHANA, U.; ERTAŞ, N.; GÖĞER, N. G. Determination of Parabens in Human Milk and Other Food Samples by Capillary Electrophoresis after Dispersive Liquid–Liquid Microextraction with Back-Extraction. **Food Chemistry**, v. 181, p. 1–8, ago. 2015.

AMIRJANI, A.; HAGHSHENAS, D. F. Ag Nanostructures as the Surface Plasmon Resonance (SPR)-based Sensors: A Mechanistic Study with an Emphasis on Heavy Metallic Ions Detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 273, p. 1768–1779, nov. 2018.

ARAÚJO, J. C. de et al. Determinação dos parâmetros microestruturais de amostras de caulinitas usando o método de refinamento do perfil de difração de raios X. **Rem: Revista Escola de Minas**, v. 58, n. 4, p. 299–307, dez. 2005.

BALINT, R.; CASSIDY, N. J.; CARTMELL, S. H. Conductive Polymers: Towards a Smart Biomaterial for Tissue Engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 6, p. 2341–2353, jun. 2014.

BARROS, A. D. **Filmes de Nanocompósitos de Polímero Condutor, Nanopartículas de Argila e Nanopartículas de Ouro para Aplicação em Sensores Ambientais**. 2015. UNESP, Sorocaba, 2015.

BOZAL-PALABIYIK, B.; USLU, B. A Novel Electroanalytical Nanosensor Based on MWCNT/Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanoparticles for the Determination of Antiparkinson Drug Ropinirole. **Ionics**, v. 22, n. 1, p. 115–123, jan. 2016.

BRETT, A.M.O; BRETT, C. M. **Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações**. Coimbra: Almedina, 1996.

BRYAN, R. J. et al. **Methods for Air Sampling and Analysis Lewis**. 3° ed. [s.l: s.n.]

CABALEIRO, N. et al. An Overview of Sample Preparation for the Determination of Parabens in Cosmetics. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 57, p. 34–46, maio 2014.

CALA, M. et al. Estudio comparativo por electroforesis capilar y cromatografía líquida de alta eficiencia de catequinas extraídas de cinco variedades de cacao colombiano. **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, v. 35, n. 136, p. 371–379, 2011.

CALLISTER, W. D.; CALLISTER, W. D. **Fundamentals of materials science and engineering: an interactive etext**. New York: Wiley, 2001.

CÁMARA, C. I. et al. Quantitative Analysis of Boldine Alkaloid in Natural Extracts by Cyclic Voltammetry at a Liquid–Liquid Interface and Validation of the Method by Comparison with High Performance Liquid Chromatography. **Talanta**, v. 83, n. 2, p. 623–630, 15 dez. 2010.

CARREIRA, F. C. **DETERMINAÇÃO DE PARABENOS EM ANTITRANSPIRANTES EMPREGANDO VOLTAMETRIA SOB ELETRODO DE DIAMANTE E CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**. 2008. Universidade de Campinas, Campinas, 2008.

CHEN, A. et al. The Preparation of Polypyrrole-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanocomposites by the Use of Common Ion Effect. **Synthetic Metals**, v. 139, n. 2, p. 411–415, set. 2003a.

CHEN, C.-W. et al. Determination of Parabens Using Two Microextraction Methods Coupled with Capillary Liquid Chromatography-UV Detection. **Food Chemistry**, v. 241, p. 411–418, fev. 2018.

CHEN, W. et al. Magnetic and Conducting Particles: Preparation of Polypyrrole Layer on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanospheres. **Applied Surface Science**, v. 218, n. 1–4, p. 216–222, set. 2003b.

CHENG, L. et al. Fetal Exposure to Lead during Pregnancy and the Risk of Preterm and Early-Term Deliveries. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 220, n. 6, p. 984–989, ago. 2017.

CORREA, D. S. et al. Nanostructured Conjugated Polymers in Chemical Sensors: Synthesis, Properties and Applications. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, n. 9, p. 6509–6527, 1 set. 2014.

DAIKUZONO, C. M. et al. Information Visualization and Feature Selection Methods Applied to Detect Gliadin in Gluten-Containing Foodstuff with a Microfluidic Electronic Tongue. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 9, n. 23, p. 19646–19652, 14 jun. 2017.

DE LIMA, L. F. et al. 4-Hydrazinobenzoic Acid as a Derivatizing Agent for Aldehyde Analysis by HPLC-UV and CE-DAD. **Talanta**, v. 187, p. 113–119, set. 2018.

DE OLIVEIRA, H. P.; ANDRADE, C. A. S.; DE MELO, C. P. Electrical Impedance Spectroscopy Investigation of Surfactant-Magnetite-Polypyrrole Particles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 319, n. 2, p. 441–449, mar. 2008.

DECHER, G. Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites. **Science**, v. 277, n. 5330, p. 1232–1237, 1997.

DENG, J. et al. Magnetic and Conducting Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Polypyrrole Nanoparticles with Core-Shell Structure. **Polymer International**, v. 52, n. 7, p. 1182–1187, jul. 2003.

DERISSO, C. R. **Análise de parabenos em amostras de água de rios e de esgoto sanitário da cidade de São Carlos**. 2017. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

DEY, A.; DE, A.; DE, S. K. Electrical Transport and Dielectric Relaxation in Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> - Polypyrrole Hybrid Nanocomposites. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 17, n. 37, p. 5895–5910, 21 set. 2005.

DOBBINS, L. L. et al. Probabilistic ecological hazard assessment of parabens using *Daphnia magna* and *Pimephales promelas*. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 28, n. 12, p. 2744–2753, 2009.

ENDRÓDI, B. et al. Layer by Layer Growth of Electroactive Conducting Polymer/Magnetite Hybrid Assemblies. **Synthetic Metals**, v. 171, p. 62–68, maio 2013.

GHADIMI, A.; SAIDUR, R.; METSELAAR, H. S. C. A Review of Nanofluid Stability Properties and Characterization in Stationary Conditions. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 54, n. 17–18, p. 4051–4068, ago. 2011.

GOMES, F. E. R. **Análise do propilparabeno e do butilparabeno em amostras de água da bacia do Rio Pardo e estudos da sua degradação por fotólise e fotoeletrocatalise e avaliação da toxicidade e e atividade estrogênica.** 2016. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

GONZALEZ-TEJERA, M. J.; HERNANDEZ-FUENTES, I. Electrochemical, FTIR and Morphological Study of Polypyrrole-Polystyrenesu I Phonate Conducting Films. p. 6, [s.d.]

GRANQVIST, N. et al. Characterizing Ultrathin and Thick Organic Layers by Surface Plasmon Resonance Three-Wavelength and Waveguide Mode Analysis. **Langmuir**, v. 29, n. 27, p. 8561–8571, 9 jul. 2013.

GUO, J. et al. Magnetite–Polypyrrole Metacomposites: Dielectric Properties and Magnetoresistance Behavior. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 117, n. 19, p. 10191–10202, 16 maio 2013.

HAIJIAN, A. et al. Nanomolar Detection of Methylparaben by a Cost-Effective Hemoglobin-Based Biosensor. **Materials Science and Engineering: C**, v. 69, p. 122–127, dez. 2016.

HANNE, F.; NIELS, J.; ANDERSSON, A. M. Parabens in urine, serum and seminal plasma from healthy Danish men determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology**, v. 21, p. 262–271, 2011.

HUO, W. et al. Urinary Level of Triclosan in a Population of Chinese Pregnant Women and Its Association with Birth Outcomes. **Environmental Pollution**, v. 233, p. 872–879, fev. 2018.

IYENGAR, S. J. et al. Magnetic, X-Ray and Mössbauer Studies on Magnetite/Maghemite Core–Shell Nanostructures Fabricated through an Aqueous Route. **RSC Adv.**, v. 4, n. 110, p. 64919–64929, 18 nov. 2014.

JAIN, R.; JADON, N.; PAWAIYA, A. Polypyrrole Based next Generation Electrochemical Sensors and Biosensors: A Review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 363–373, dez. 2017.

JANÁKY, C. et al. Visible-Light-Enhanced Electrocatalytic Activity of a Polypyrrole/Magnetite Hybrid Electrode toward the Reduction of Dissolved Dioxygen. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 45, p. 19338–19344, 18 nov. 2010.

J.C. MILLER; , J.N. MILLER. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**, Pearson Education Limited. [s.l.] Edinburgh, 2005.

JUREWICZ, J. et al. Human Semen Quality, Sperm DNA Damage, and the Level of Reproductive Hormones in Relation to Urinary Concentrations of Parabens: **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 59, n. 11, p. 1034–1040, nov. 2017.

KOEPPE, E. S. et al. Relationship between Urinary Triclosan and Paraben Concentrations and Serum Thyroid Measures in NHANES 2007–2008. **Science of The Total Environment**, v. 445–446, p. 299–305, fev. 2013.

- LEE, J.-H. et al. Effective Viscosities and Thermal Conductivities of Aqueous Nanofluids Containing Low Volume Concentrations of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanoparticles. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 51, n. 11–12, p. 2651–2656, jun. 2008.
- LETTI, C. J. et al. The Role of Polymer Films on the Oxidation of Magnetite Nanoparticles. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 246, p. 57–64, fev. 2017.
- LI, H. et al. Non-Covalent Assembly of Poly(Allylamine Hydrochloride)/Triethylamine Microcapsules with Ionic Strength-Responsiveness and Auto-Fluorescence. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 496, p. 228–234, jun. 2017.
- LI, X. et al. Efficient Biosorption of Pb(II) from Aqueous Solutions by a PAH-Degrading Strain *Herbaspirillum Chlorophenicum* FA1. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 57, p. 64–71, jan. 2018.
- LIANG, H. et al. Surface Plasmon Resonance Instrument as a Refractometer for Liquids and Ultrathin Films. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 149, n. 1, p. 212–220, ago. 2010.
- LIAO, C.; CHEN, L.; KANNAN, K. Occurrence of Parabens in Foodstuffs from China and Its Implications for Human Dietary Exposure. **Environment International**, v. 57–58, p. 68–74, jul. 2013.
- LÓPEZ-ORTIZ, C. M. et al. Fate of Parabens and 4-Hydroxybenzoic Acid in Aquifer Materials Columns during Step Experiments with Fresh and Sea Waters. **Journal of Hydrology**, v. 557, p. 335–347, fev. 2018.
- MADAKBAŞ, S.; KAMILOĞLU, S.; YETIMOĞLU, E. K. Determination of Methylparaben by Differential Pulse Voltammetry Using a Glassy Carbon Electrode Modified with Polypyrrole. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 70, n. 6, p. 725–730, jun. 2015.
- MAJEWSKI, P.; THIERRY, B. Functionalized Magnetite Nanoparticles—Synthesis, Properties, and Bio-Applications. **Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences**, v. 32, n. 3–4, p. 203–215, 7 dez. 2007.
- MAMEDOV, A. A.; KOTOV, N. A. Free-Standing Layer-by-Layer Assembled Films of Magnetite Nanoparticles. **Langmuir**, v. 16, n. 13, p. 5530–5533, jun. 2000.
- MANCINI, F. R. et al. Dietary Exposure to Benzoates (E210–E213), Parabens (E214–E219), Nitrites (E249–E250), Nitrates (E251–E252), BHA (E320), BHT (E321) and Aspartame (E951) in Children Less than 3 Years Old in France. **Food Additives & Contaminants: Part A**, p. 1–14, 16 fev. 2015.
- MARANGONI, V. S. et al. The Processing of Polyelectrolyte-Covered Magnetite Nanoparticles in the Form of Nanostructured Thin Films. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 14, n. 4, mar. 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11051-012-0769-9>>. Acesso em: 29 ago. 2018.
- MELDRUM, F. C.; KOTOV, N. A.; FENDLER, J. H. Preparation of Particulate Mono- and Multilayers from Surfactant-Stabilized, Nanosized Magnetite Crystallites. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 17, p. 4506–4510, abr. 1994.

MENDONÇA, C. D. et al. Methylparaben Quantification via Electrochemical Sensor Based on Reduced Graphene Oxide Decorated with Ruthenium Nanoparticles. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 251, p. 739–745, nov. 2017.

MILLER, J. C.; MILLER, J. N. Basic Statistical Methods for Analytical Chemistry Part 1. Statistics of Repeated Measurements A Review. v. 113, p. 6, 1988.

MILLER, J. N. Basic Statistical Methods for Analytical Chemistry. Part 2. Calibration and Regression Methods. A Review. **The Analyst**, v. 116, n. 1, p. 3, 1991.

MIYAZAKI, C. et al. Bending of Layer-by-Layer Films Driven by an External Magnetic Field. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 12, p. 12953–12969, 24 jun. 2013.

MOHAMMED, L. et al. Magnetic Nanoparticles for Environmental and Biomedical Applications: A Review. **Particuology**, v. 30, p. 1–14, fev. 2017.

MOOS, R. K. et al. Rapid Determination of Nine Parabens and Seven Other Environmental Phenols in Urine Samples of German Children and Adults. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 217, n. 8, p. 845–853, nov. 2014.

MYRIDAKIS, A. et al. Phthalate Esters, Parabens and Bisphenol-A Exposure among Mothers and Their Children in Greece (Rhea Cohort). **Environment International**, v. 83, p. 1–10, out. 2015.

NOWAK, K. et al. Parabens and Their Effects on the Endocrine System. **Molecular and Cellular Endocrinology**, mar. 2018. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0303720718301060>>. Acesso em: 23 maio. 2018.

OLIVEIRA, J. L. de et al. Zein Nanoparticles as Eco-Friendly Carrier Systems for Botanical Repellents Aiming Sustainable Agriculture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 6, p. 1330–1340, 14 fev. 2018.

OLIVEIRA, L. C. A.; FABRIS, J. D.; PEREIRA, M. C. Óxidos de ferro e suas aplicações em processos catalíticos: uma revisão. **Química Nova**, v. 36, n. 1, p. 123–130, 2013.

PATERNIO, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; OLIVEIRA JR, O. de. Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: preparação, propriedades e aplicações. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 228–235, 2001.

RAMANAČIUS, A.; RAMANAČIENĖ, A.; MALINAUSKAS, A. Electrochemical Sensors Based on Conducting Polymer—Polypyrrole. **Electrochimica Acta**, v. 51, n. 27, p. 6025–6037, ago. 2006.

RANGEL, D. P. C. et al. Layer-by-layer films of gold nanoparticles and carbon nanotubes for improved Amperometric detection of cholesterol. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 19, 2019.

RAZA, N. et al. Recent Developments in Analytical Quantitation Approaches for Parabens in Human-Associated Samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 98, p. 161–173, jan. 2018.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, out. 2004.

RIBEIRO, G. L. de O. **Desenvolvimento e validação de método analítico para análise de parabenos em tecido de paixe**. 2014. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

RODRIGUES, S. E. B. **DESENVOLVIMENTO DE PLATAFORMAS NANOMÉTRICAS HÍBRIDAS BASEADAS EM POLÍMERO/ENZIMA VISANDO APLICAÇÕES EM BIOSENSORES**. 2016. UFSCar, São Carlos, 2016.

RÓZ, ALESSANDRA LUZIA DA et al. **Nanoestruturas - Princípios e Aplicações**. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. v. 1

SAND, A.; YADAV, M.; BEHARI, K. Preparation and Characterization of Modified Sodium Carboxymethyl Cellulose via Free Radical Graft Copolymerization of Vinyl Sulfonic Acid in Aqueous Media. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 1, p. 97–103, maio 2010.

SANDANGER, T. M. et al. Plasma Concentrations of Parabens in Postmenopausal Women and Self-Reported Use of Personal Care Products: The NOWAC Postgenome Study. **Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology**, v. 21, n. 6, p. 595–600, nov. 2011.

SANTOS, J. C. de C. **Imobilização da enzima glicose oxidase em filmes nanoestruturados para aplicação em biossensores**. 2012. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

SANTOS, J. G. M. **Sensores Voltamétricos de ITO Modificados com Filmes Ultrafinos de Óxidos de Ferro para Detecção de Íons Cobre**. 2016. Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

SAVAGE, J. H. et al. Urinary Levels of Triclosan and Parabens Are Associated with Aeroallergen and Food Sensitization. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 130, n. 2, p. 453- 460.e7, ago. 2012.

SIMÃO, F. R. **Desenvolvimento e caracterização de materiais de eletrodos modificados com polímeros condutores para a determinação eletroanalítica de pesticidas**. 2005. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

SU, C. Environmental Implications and Applications of Engineered Nanoscale Magnetite and Its Hybrid Nanocomposites: A Review of Recent Literature. **Journal of Hazardous Materials**, v. 322, p. 48–84, jan. 2017.

TEIXEIRA, A. O. et al. **Polímeros Condutores: Polipirrole**. [s.d.]

TIWARI, D. C.; JAIN, R.; SHARMA, S. Spectroscopic and Thermogravimetric Analysis of PANI/PPy Composite Polymer Electrode: Its Application to Electrochemical Investigation of Pharmaceutical Formulation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 110, n. 4, p. 2328–2336, 15 nov. 2008.

U. SCHWERTMANN; R. M. CORNELL. **Iron Oxides in the Laboratory: Preparation and Characterization**. [s.l.] WILEY-VCH Verlag GmbH, 2000.

- VORK, F. T. A.; SCHUERMANS, B. C. A. M.; BARENDRECHT, E. Influence of Inserted Anions on the Properties of Polypyrrole. **Electrochimica Acta**, v. 35, n. 2, p. 567–575, fev. 1990.
- WANG, L. et al. Characteristic Profiles of Urinary *p*-Hydroxybenzoic Acid and Its Esters (Parabens) in Children and Adults from the United States and China. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 4, p. 2069–2076, 19 fev. 2013.
- WANG, L. et al. A New Strategy for Enhancing Electrochemical Sensing from MWCNTs Modified Electrode with Langmuir-Blodgett Film and Used in Determination of Methylparaben. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 211, p. 332–338, maio 2015.
- WUANG, S. C. et al. Synthesis and Functionalization of Polypyrrole-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles for Applications in Biomedicine. **Journal of Materials Chemistry**, v. 17, n. 31, p. 3354, 2007.
- XIAOTUN, Y. et al. Magnetic and electrical properties of polypyrrole-coated  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanocomposite particles. **Nanotechnology**, v. 14, n. 6, p. 624, 2003.
- XUE, J. et al. Urinary Levels of Endocrine-Disrupting Chemicals, Including Bisphenols, Bisphenol A Diglycidyl Ethers, Benzophenones, Parabens, and Triclosan in Obese and Non-Obese Indian Children. **Environmental Research**, v. 137, p. 120–128, fev. 2015.
- YAO, T. et al. Preparation of Yolk/Shell Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@polypyrrole Composites and Their Applications as Catalyst Supports. **Chemical Engineering Journal**, v. 225, p. 230–236, jun. 2013.
- YIN, Q.; ZHU, Y.; YANG, Y. Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Followed by Magnetic Solid-Phase Extraction for Determination of Four Parabens in Beverage Samples by Ultra-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 3, p. 797–807, mar. 2018.
- ZAMORA-GÁLVEZ, A. et al. Molecularly Imprinted Polymer-Decorated Magnetite Nanoparticles for Selective Sulfonamide Detection. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 7, p. 3578–3584, 5 abr. 2016.
- ZHANG, H. et al. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Polypyrrole/Au Nanocomposites with Core/Shell/Shell Structure: Synthesis, Characterization, and Their Electrochemical Properties. **Langmuir**, v. 24, n. 23, p. 13748–13752, 2 dez. 2008.
- ZHAO, H. et al. Simultaneous Determination of Bisphenols, Benzophenones and Parabens in Human Urine by Using UHPLC-TQMS. **Chinese Chemical Letters**, v. 29, n. 1, p. 102–106, jan. 2018.
- ZHENG, S. et al. Self-Assembly and Characterization of Polypyrrole and Polyallylamine Multilayer Films and Hollow Shells. **Chemistry of Materials**, v. 16, n. 19, p. 3677–3681, set. 2004.
- ZHOU, H.-T.; CHEN, H.-C.; DING, W.-H. Accurate Analysis of Parabens in Human Urine Using Isotope-Dilution Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 150, p. 469–473, fev. 2018.

## PRODUÇÃO TÉCNICO CIENTÍFICA DURANTE OS 24 MESES DE MESTRADO

### Artigos publicados

**DE LIMA, LUCAS F.**; DAIKUZONO, CRISTIANE M. ; MIYAZAKI, CELINA M. ; PEREIRA, ELISABETE A. ; FERREIRA, MARYSTELA . Layer-by-Layer nanostructured films of magnetite nanoparticles and polypyrrole towards synergistic effect on methylparaben electrochemical detection. APPLIED SURFACE SCIENCE, v. 507, p. 144278, 2019.

**DE LIMA, LUCAS F.**; MACIEL, CRISTIANE C. ; FERREIRA, ANDRÉ L. ; DE ALMEIDA, JÉSSICA C. ; FERREIRA, MARYSTELA . Nickel (II) phthalocyanine-tetrasulfonic-Au nanoparticles nanocomposite film for tartrazine electrochemical sensing. MATERIALS LETTERS, v. 262, p. 127186, 2019.

### Disciplinas Cursadas

- Ciência dos Materiais (Conceito A);
- Capacitação Docente em Ciência dos Materiais 1 (Conceito A);
- Boas Práticas na Pós-Graduação (Conceito A);
- Tópicos Especiais: Projeto de Dissertação (Conceito A);
- Caracterização de Materiais (Conceito A);
- Nanociência e Nanotecnologia de Materiais (Conceito A);

- APRESENTAÇÃO E PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS

**DE LIMA, L. F.**; Alves E.P. ; Ferreira, M. . Methylparaben quantification in biological fluids by electroanalytical sensor based on nanoparticles magnetite and polypyrrole. 2019. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

**DE LIMA, L. F.**; Alves E.P. ; Ferreira, M. . Electroanalytical detection of propylparaben in cosmetic using electrodes modified with Layer-by-Layer composite film. 2019. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

**DE LIMA, LUCAS F.**; PEREIRA, E. A. ; Ferreira, M. . Layer-by-Layer nanostructured films of magnetite nanoparticles and polypyrrole towards synergistic effect on methylparaben electrochemical detection. 2019. (Apresentação de Trabalho/Outra).

**DE LIMA, LUCAS F.;** Ferreira, M. . Methylparaben quantification in residual Waters via electroanalytical sensor LbL based on nanoparticles magnetite and polypyrrole (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy). 2018. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

**DE LIMA, LUCAS F.;** PEREIRA, E. A. . Utilização da técnica de extração por difusão gasosa (GDME) para a determinação de aldeídos de baixa massa molar em bebidas alcoólicas por eletroforese capilar (CE). 2018. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

**DE LIMA, LUCAS F.;** PEREIRA, E. A. ; Ferreira, M. . LAYER BY LAYER FILMS OF POLYPYRROLE AND MAGNETITE NANOPARTICLES IN THE ANALYTICAL DETERMINATION OF METHYLPARABEN. 2018. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

VII Workshop de pesquisa e tecnologia em ciência dos materiais. Layer-by-Layer nanostructured films of magnetite nanoparticles and polypyrrole towards synergistic effect on methylparaben electrochemical detection. 2019. (Outra).

XVIII Brazil MRS meeting. Electroanalytical detection of propylparaben in cosmetic using electrodes modified with Layer-by-Layer composite film. 2019. (Congresso).

XXII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (SIBEE) METHYLPARABEN QUANTIFICATION IN BIOLOGICAL FLUIDS BY ELECTROANALYTICAL SENSOR IBI. Methylparaben quantification in biological fluids by electroanalytical sensor based on nanoparticles magnetite and polypyrrole. 2019. (Simpósio).

25º Congresso de Iniciação Científica (CIC). Utilização da técnica de extração por difusão gasosa (GDME) para a determinação de aldeídos de baixa massa molar em bebidas alcoólicas por eletroforese capilar (CE). 2018. (Congresso).

III Workshop on Environmental nanotechnology. Methylparaben quantification in residual Waters via electroanalytical sensor LbL based on nanoparticles magnetite and polypyrrole (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy). 2018. (Congresso).

VI Workshop de pesquisa e tecnologia em ciência dos materiais. LAYER BY LAYER FILMS OF POLYPYRROLE AND MAGNETITE NANOPARTICLES IN THE ANALYTICAL DETERMINATION OF METHYLPARABEN. 2018. (Congresso).

- RESUMOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSO

DE **LIMA, L. F.;** Alves E.P. ; Ferreira, M. . Methylparaben quantification in biological fluids by electroanalytical sensor based on nanoparticles magnetite and polypyrrole. In: XXII

Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2019, Ribeirão Preto. XXII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2019.

**DE LIMA, L. F.;** Alves E.P. ; Ferreira, M. . Electroanalytical detection of propylparaben in cosmetic using electrodes modified with Layer-by-Layer composite film. In: XVIII Brazil MRS meeting, 2019, Balneário-Camboriú. XVIII Brazil MRS meeting, 2019.

Freitas, A. S. M. ; FERNANDES, F. O. ; **DE LIMA, LUCAS F.** ; DELGADO, A. O. ; RANGEL, E. C. ; CRUZ, N. C. ; Ferreira, M. . Photocolorimetric polymeric sensor coated with thin films deposited by PECVD. In: XIII Simposio Argentino de Polimeros Buenos Aires- 9 al 11 de Octubre 2019, 2019, Buenos Aires. XIII Simposio Argentino de Polimeros Buenos Aires- 9 al 11 de Octubre 2019, 2019.

**DE LIMA, LUCAS F.;** PEREIRA, E. A. ; Ferreira, M. . Layer-by-Layer nanostructured films of magnetite nanoparticles and polypyrrole towards synergistic effect on methylparaben electrochemical detection. In: VII Workshop de Pesquisa em Ciências dos Materiais, 2019, Sorocaba. VII Workshop de Pesquisa em Ciências dos Materiais, 2019.

Ferreira, A. L. ; **DE LIMA, LUCAS F.** ; Ferreira, M. . DEVELOPMENT OF AN OPTICAL BIOSSENSOR BY SURFACE PLASMIC RESONANCE TECHNIQUE (SPR) FOR THE DETERMINATION OF CREATINE KINASE (CK-MB). In: VII Workshop de Pesquisa e Tecnologia em Ciência dos Materiais, 2019, Sorocaba. VII Workshop de Pesquisa e Tecnologia em Ciência dos Materiais, 2019.

**DE LIMA, LUCAS F.;** Ferreira, M. ; PEREIRA, E. A. . LAYER BY LAYER FILMS OF POLYPYRROLE AND MAGNETITE NANOPARTICLES IN THE ANALYTICAL DETERMINATION OF METHYLPARABEN. In: VI Workshop de pesquisa e tecnologia em ciência dos materiais, 2018, Sorocaba. VI Workshop de pesquisa e tecnologia em ciência dos materiais, 2018.

**DE LIMA, LUCAS F.;** Ferreira, M. ; Alves E.P. . Methylparaben quantification in residual Waters via electroanalytical sensor LbL based on nanoparticles magnetite and polypyrrole (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-np/Ppy). In: III Workshop on Environmental nanotechnology, 2018, Sorocaba. III Workshop on Environmental nanotechnology, 2018.

**DE LIMA, LUCAS F.;** Alves E.P. . Utilização da técnica de extração por difusão gasosa (GDME) para a determinação de aldeídos de baixa massa molar em bebidas alcoólicas por eletroforese capilar (CE). In: 25º Congresso de Iniciação Científica e Tecnológica (CIC), 2018, Sorocaba. 25º Congresso de Iniciação Científica e Tecnológica (CIC), 2018.