

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**“DETERMINAÇÃO E DEGRADAÇÃO  
ELETROQUÍMICA DO ESTROGÊNIO NATURAL  
ESTRONA USANDO ANODOS DE DIAMANTE  
DOPADO COM BORO”**

**Ricardo Francisco Brocenschi\***

Tese apresentada como parte dos requisitos  
para obtenção do título de DOUTOR EM  
CIÊNCIAS, área de concentração: FÍSICO-  
QUÍMICA.

**Orientador: Prof. Dr. Romeu Cardozo Rocha Filho**

**\*bolsista CNPq**

**SÃO CARLOS - SP  
2013**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

B863dd

Brocenschi, Ricardo Francisco.

Determinação e degradação eletroquímica do estrogênio natural estrona usando anodos de diamante dopado com boro / Ricardo Francisco Brocenschi. -- São Carlos : UFSCar, 2014.  
197 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.

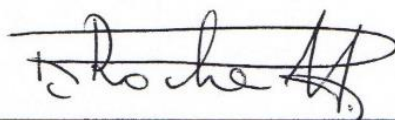
1. Eletroquímica. 2. Eletrodo de diamante dopado com Boro (DDB). 3. Perturbadores endócrinos. 4. Estrona. 5. Degradação eletroquímica de estrogênios. 6. Detecção eletroquímica de estrona. I. Título.

CDD: 541.37 (20<sup>a</sup>)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
*Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia*  
*Departamento de Química*  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**Curso de Doutorado**

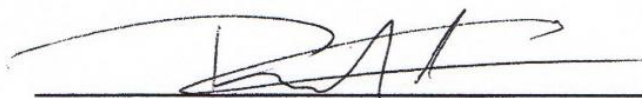
---

*Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de tese de doutorado do candidato **Ricardo Francisco Brocenschi**, realizada em 06 de dezembro de 2013:*



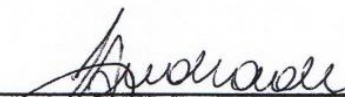
---

Prof. Dr. Romeu Cardozo Rocha Filho



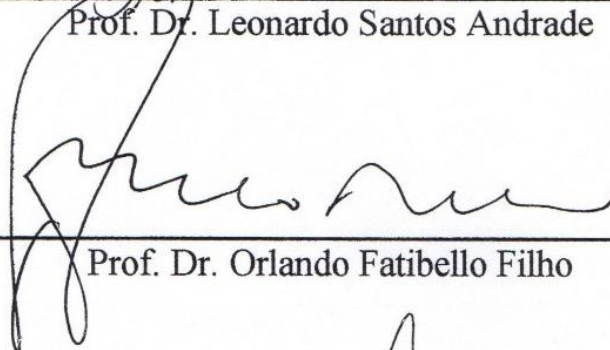
---

Prof. Dr. Rodrigo Del Río Quero



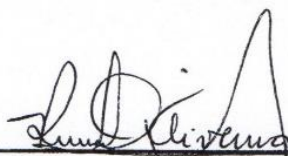
---

Prof. Dr. Leonardo Santos Andrade



---

Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho



---

Profa. Dra. Regina Vincenzi Oliveira

Dedico este trabalho a meus pais, Alberto e  
Luisa, e aos meus irmãos Sirlene e Emerson

“...Mas o homem que vem de cruzar de novo a *Porta da muralha* jamais será ao que partira para essa viagem. Será, daí por diante, mais sábio, embora menos arraigado em suas convicções, mais feliz, ainda que menos satisfeito consigo mesmo, mais humilde em concordar com a própria ignorância, embora esteja em melhores condições para compreender a afinidade entre as palavras e as coisas, entre o raciocínio e o insondável mistério que ele procura, sempre em vão, compreender.”

Aldous Huxley

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a meus pais, que me apoiaram durante toda minha vida, permitindo que me tornasse o ser humano que sou hoje.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Romeu C. Rocha Filho, pela paciência, ensinamentos e amizade, que teve durante nossa árdua e bem sucedida jornada. Com igual consideração, agradeço aos Profs. Drs. Sonia R. Biaggio e Nerilso Bocchi, co-orientadores informais e amigos, que também participaram deste processo de aprendizagem e amadurecimento.

Ao Prof. Dr. Greg M. Swain, deixo os agradecimentos sinceros por tão bem me receber durante o período do doutorado sanduíche na Universidade Estadual de Michigan. Foi um período de grande crescimento profissional e cultural.

Não posso deixar de agradecer à Dra. Regina V. Oliveira, pela amizade e auxílio no desenvolvimento prático da presente tese. Da mesma maneira agradeço à Dra. Bianca Ferreira, que muito me auxiliou na análise de resultados.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFSCar, pela infraestrutura, que permitiu o desenvolvimento desta tese. Agradeço às agências de fomento: CAPES, pela bolsa de doutorado sanduíche, e CNPq, pela bolsa de doutorado.

Por fim, não posso de deixar de agradecer aos meus irmão Emerson e Sirlene por toda a ajuda e apoio e incentivo durante esses anos; também meus cunhados Vanessa e Edgar pelo suporte e amizade.

Aos meus sobrinhos Letícia, Luís Gustavo, Vinícios e Manuela por fazer meus dias mais felizes e lembrar-me os prazeres da infância.

Aos meus grandes amigos moradores (Juliane, Pamela, Ana Claudia, Flávia, Karina, Glicério, Bitão, Gustavo, João, Érica, Pablo, Anna Paula e Priscila) e visitantes (não vou citar nomes para não cometer a injustiça de esquecer de

alguém) da Republica Granja do Torto, pelas grandes experiências e sonhos compartilhados.

Ao Fabio pelo apoio, paciência e incentivo nos meses que estive fora.

A todos os amigos que deixei em Lansing e East Lansing – USA, em especial: Eddie, Boris, Lars, Hovig, Fabi, Amin, Bruna, Cathy, Gabriel, Russ e Dina.

Aos amigos do LaPE, CLAE e do laboratório do Professor Swain pelos bons momentos compartilhados.

E a todos que seguiram comigo este caminho, e que de uma maneira ou outra apoiaram e incentivaram este trabalho.

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 – Estruturas químicas dos estrogênios estrona, 17 $\beta$ -estradiol, estriol, 17 $\alpha$ -etinilestradiol e dietilestilbestrol.....	3
TABELA 1.2 – Quantidade média diária de estrógenos excretada na urina de humanos (adaptado de BILA & DEZOTTI <sup>2</sup> e REIS FILHO <sup>5</sup> ). .....	6
TABELA 1.3 – Poder de oxidação dos anodos utilizados durante a oxidação eletroquímica em meio ácido <sup>78</sup> .....	22
TABELA 2.1 – Programa da eluição gradiente com metanol e água, na separação da estrona e seus intermediários. ....	40
TABELA 3.1 – Resumos dos dados de voltametria cíclica (vide Figura 3.6) para K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> /K <sub>4</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> 1 mmol L <sup>-1</sup> em H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 mol L <sup>-1</sup> .....	53
TABELA 3.2 – Dados de voltametria cíclica ( $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ) para estrona 2,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em soluções aquosas de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> de diferentes concentrações (vide Figura 3.10).....	60
TABELA 3.3 – Dados voltamétricos obtidos para estrona 4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 mol L <sup>-1</sup> e valores das constantes de velocidade aparentes de reação obtidos por diferentes métodos. ....	71
TABELA 3.4 – Dados para a adsorção da estrona sobre os eletrodos de carbono. ....	74
TABELA 3.5 – Parâmetros investigados e resultados obtidos com a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV) em comparação à de voltametria de pulso diferencial (DPV) para a determinação da estrona utilizando o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente .....	85



TABELA 3.6 – Valores de <i>LD</i> relatados na literatura e os obtidos nesta tese para a determinação de estrona utilizando diferentes eletrodos de carbono modificados e BDD.....	88
TABELA 3.7 – Resultados obtidos para a determinação de estrona ( $n = 3$ ) em diferentes matrizes de água por método LC e o eletroquímico por <i>SWV</i> usando um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente.....	90
TABELA 3.8 – Figuras de mérito obtidas para a detecção da estrona (E1) usando um sistema FIA-EC com um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente. ....	98
TABELA 3.9 – Resultados de repetibilidade intra e entre-dias para a detecção de estrona ( $n = 5$ ) usando um sistema FIA-EC com um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente. ....	99
TABELA 3.10 – Valores de recuperação encontrados para a molécula de estrona (E1) em duas matrizes de água ( $n = 5$ ) usando um sistema FIA-EC com um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente.....	100
TABELA 3.11 – Precisão e exatidão da curva analítica da estrona ( $n = 3$ ). ....	106
TABELA 3.12 – Resultados associados à validação do método de LC/UV-vis para a determinação de estrona. ....	107
TABELA 3.13 – Precisão e exatidão intra- e entre-dia, para a análise dos QCs ( $n = 5$ ) em 3 dias alternativos. ....	108
TABELA 3.14 – Constantes cinéticas de pseudo-primeira ordem ( $k_{ap}$ ) obtidas para a degradação eletroquímica ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ) de estrona $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ( $1,85 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7, a $25 \text{ } ^\circ\text{C}$ ), usando diferentes valores de vazão ( $q_V$ ) em um reator em fluxo com um eletrodo de Nb/BDD. ....	113

TABELA 3.15 – Constantes cinéticas de pseudo-primeira ordem ( $k_{ap}$ ) obtidas para a degradação eletroquímica de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $1,85 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7, a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ), na vazão de  $2 \text{ L min}^{-1}$ , usando um reator em fluxo com um eletrodo de Nb/BDD a três densidades de corrente ( $j$ ) distintas..... 115

TABELA 3.16 – Íons detectados por MS e seus respectivos íons produtos MS/MS, para as moléculas intermediárias de  $[\text{M-H}]^-$  formadas na degradação eletroquímica de estrona em pH 3,0 com um eletrodo de Nb/BDD. .... 151

TABELA 3.17 – Íons detectados por MS e seus respectivos íons fragmentos MS/MS, para as moléculas intermediárias de  $[\text{M-H}]^-$  formadas na degradação eletroquímica de estrona em pH 7 com um eletrodo de Nb/BDD. .... 157

TABELA 3.18 – Íons detectados por MS e seus respectivos íons produtos MS/MS, para as moléculas intermediárias de  $[\text{M-H}]^-$  formadas na degradação eletroquímica de estrona em pH 10 com um eletrodo de Nb/BDD. .... 161

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 – Representação esquemática das principais vias de entrada de hormônios em sistemas aquáticos. Adaptada de REIS FILHO <i>et al.</i> <sup>5</sup> ; LINTELMANN <i>et al.</i> <sup>6</sup> . .....	5
FIGURA 1.2 – Mecanismos de atuação dos CDEs (figura reproduzida da ref. 12). .....	8
FIGURA 1.3 – Esquema geral do processo de deposição de filmes de diamante, a partir de uma fase gasosa, pelo método <i>DQV</i> (figura reproduzida da ref. 15). ..	10
FIGURA 2.1 – Representação do sistema de FIA de linha única. ....	32
FIGURA 2.2 – Representação esquemática do detector eletroquímico usado na detecção da estrona por FIA: a) entrada da solução; b) saída da solução; c) eletrodo de referência; d) contra-eletrodo (tubo de aço); e) anel de silicone ( <i>O-ring</i> ); f) eletrodo de BDD; g) parafuso metálico (contato elétrico com o eletrodo de trabalho). Figura reproduzida de ANDRADE <i>et al.</i> <sup>34</sup> . ....	34
FIGURA 2.3 – Representação do sistema usado na eletroxidação da estrona. 1 – reservatório, 2 – reator eletroquímico, 3 – fonte de energia, 4 – bomba, 5 – rotâmetro, e 6 – válvula de controle. ....	36
FIGURA 2.4 – a) Partes do reator eletroquímico do tipo filtro-prensa: (1) contra-eletrodo de aço inoxidável; (2) eletrodo de trabalho; e (3) placas de silicone para vedação. b) Reator eletroquímico do tipo filtro-prensa montado. ....	37
FIGURA 3.1 – Micrografia de MEV da superfície de um eletrodo de BDD (8000 ppm). [Micrografia feita por Liang Liang – MSU, que autorizou o seu uso neste tese].....	44

FIGURA 3.2 – Imagens de AFM para eletrodos de a) carbono vítreo (GC), b-c) BDD com dopagem de 8000 ppm; d-e) BDD com dopagem de 2000 ppm.....	46
FIGURA 3.3 – Espectros de Raman para os eletrodos de carbono investigados: a) GC; b) BDD (8000 ppm).....	48
FIGURA 3.4 – Voltamogramas cíclicos ( $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ) obtidos em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ usando os eletrodos ( $A = 0,32 \text{ cm}^{-2}$ ) de BDD (8000 ppm) e GC. ....	49
FIGURA 3.5 – Representação de reações eletródicas de a) esfera externa e b) esfera interna (adaptada de BARD & FAULKNER <sup>100</sup> – P. 116).....	51
FIGURA 3.6 – Voltamogramas cíclicos ( $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ) obtidos em solução aquosa de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ $1 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para os eletrodos de BDD e GC. Área geométrica: $0,32 \text{ cm}^{-2}$ .....	52
FIGURA 3.7 – Corrente de pico anódico ( $I_{pa}$ ) em função da a) velocidade de varredura ( $\nu$ ) e b) da raiz quadrada da velocidade de varredura ( $\nu^{1/2}$ ) para os eletrodos de BDD e GC (indicados nas figuras). Dados extraídos dos voltamogramas obtidos em diferentes valores de $\nu$ (gráficos não apresentados) nas mesmas condições descritas na Figura 3.6.....	53
FIGURA 3.8 – Voltamogramas cíclicos ( $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ) obtidos a) com os eletrodos de BDD tratado catodicamente (8000 ppm) e GC (indicados na figura) na presença de estrona $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ em $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e voltamogramas cíclicos para sucessivas ciclagens com os eletrodos de b) GC e c) BDD. ....	56
FIGURA 3.9 – Perfis voltamétricos obtidos (com correção de linha de base) por DPV para estrona $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com o eletrodo de BDD (8000 ppm) a) como recebido, b) submetido a pré-tratamento anódico, c) submetido a pré-tratamento catódico e d) comparativo entre os três casos. Condições da DPV: $a = 50 \text{ mV}$ , $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ e $t = 50 \text{ ms}$ . ....	59

FIGURA 3.10 – Voltamogramas cíclicos ( $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ) obtidos com o eletrodo de BDD (8000 ppm) para solução aquosa de $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (a) e para estrona $2,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em soluções aquosas de $\text{H}_2\text{SO}_4$ de diferentes concentrações: $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (b); $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (c); $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ (d); $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (e). .....	61
FIGURA 3.11 – Voltamogramas cíclicos obtidos para soluções de estrona $2,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ com o eletrodo de BDD (8000 ppm) tratado catodicamente em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ com diferentes adições volumétricas de metanol. ....	62
FIGURA 3.12 – a) Voltamogramas cíclicos ( $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ) para estrona $2,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH (indicados na figura) usando um eletrodo de BDD (8000 ppm) tratado catodicamente. b) Dependência do potencial de pico de oxidação da estrona com o pH. Área geométrica do eletrodo: $0,32 \text{ cm}^2$ . ....	63
FIGURA 3.13 – a) Voltamogramas obtidos em diferentes velocidades de varredura ( $40, 60, 80, 100, 120, 150, 200$ e $250 \text{ mV s}^{-1}$ ) para estrona $4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ usando o eletrodo de BDD. b) Dependência da corrente de pico de oxidação com a velocidade de varredura. c) Dependência da corrente de pico de oxidação com a raiz quadrada da velocidade de varredura. d) Logaritmo da corrente de pico de oxidação em função do logaritmo da velocidade de varredura. ....	66
FIGURA 3.14 – Dependência do potencial de pico de oxidação, $E_p$ , com: a) a velocidade de varredura, $\nu$ , ou b) o logaritmo da velocidade de varredura, $\ln \nu$ , para a oxidação de estrona $4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ usando os eletrodos de BDD e GC (indicados na figura). ....	68
FIGURA 3.15 – Gráfico de Koutecký-Levic para a oxidação da estrona $4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ usando um eletrodo rotatório de carbono vítreo. Área do eletrodo: $0,07 \text{ cm}^2$ . ....	70

FIGURA 3.16 – Relação cronocoulométrica entre a carga de oxidação e a raiz quadrada do tempo na ausência (símbolo aberto) e presença (símbolo fechado) de estrona  $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  para os eletrodos de a) GC e b) BDD. A carga oxidativa foi aplicada durante 5 s, após um pulso de potencial de 0,6 V para 1,2 V vs. Ag/AgCl (KCl  $3 \text{ mol L}^{-1}$ ). ..... 73

FIGURA 3.17 – a) Influência do valor da amplitude do pulso diferencial (indicado na figura) nos perfis voltamétricos de *DPV* ( $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t = 10 \text{ ms}$ ) para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  obtidos com o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente; b) correspondente dependência da corrente de pico com a amplitude de pulso. .... 78

FIGURA 3.18 – a) Influência do valor da velocidade de varredura de potencial (indicado na figura) nos perfis voltamétricos de *DPV* ( $a = 50 \text{ mV}$ ,  $t = 10 \text{ ms}$ ) para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  obtidos com o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente; b) correspondente dependência da corrente de pico da estrona com a velocidade de varredura. .... 79

FIGURA 3.19 – Dependência da corrente de pico de oxidação da estrona com o tempo de duração do pulso para aquisição dos perfis voltamétricos de *DPV* ( $a = 50 \text{ mV}$ ,  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ ) para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  com o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente. .... 80

FIGURA 3.20 – a) Influência da frequência de aplicação dos pulsos de potencial (valores indicados na figura) no aspecto geral nos perfis voltamétricos de *SWV* ( $a = 40 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ) obtidos para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  com um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente. b) Dependência da corrente de pico com a frequência de aplicação dos pulsos de potencial. c) Dependência do potencial de pico com o logaritmo da frequência de aplicação dos pulsos de potencial. .... 82

FIGURA 3.21 – a) Influência da variação da amplitude do pulso de potencial (valores indicados na figura) nos perfis voltamétricos de SWV ( $f = 10 \text{ s}^{-1}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ) obtidos para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  com um eletrodo de BDD (8000 ppm) pré-tratado catodicamente. b) Dependência da corrente de pico com a amplitude do pulso de potencial. .... 83

FIGURA 3.22 – Dependência da corrente de pico de oxidação da estrona com o incremento da varredura de potencial para aquisição de perfis voltamétricos de SWV ( $f = 10 \text{ s}^{-1}$  e  $a = 25 \text{ mV}$ ) para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  com o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente..... 84

FIGURA 3.23 – a) Voltamogramas de pulso diferencial ( $a = 50 \text{ mV}$ ,  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$  e  $t = 10 \text{ ms}$ ) e b) de onda quadrada ( $f = 10 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ ) para diferentes concentrações de estrona em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ . Insetos: respectivas curvas analíticas obtidas para a estrona por DPV e SWV..... 86

FIGURA 3.24 – Curvas hidrodinâmicas  $I$  vs.  $E$  e  $Q$  vs.  $E$  para estrona  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  (volume injetado =  $250 \mu\text{L}$ ) obtidas usando um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente. Inseto: corrente de fundo nos potenciais investigados. Cada dado representa a média de três injeções. A solução transportadora era  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , a uma vazão de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ . ..... 93

FIGURA 3.25 – Valores de corrente e carga anódica para a oxidação de estrona  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  obtidos por detecção amperométrica com o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente para diferentes volumes de injeção ( $n = 3$ ). A solução transportadora era  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , a um *fluxo* de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ . ..... 94

FIGURA 3.26 – a) Resultados de FIA-EC para múltiplas injeções de duas diferentes concentrações de estrona (indicadas na figura), e b) resposta amperiométrica de uma solução de  $0,6 \mu\text{mol L}^{-1}$  estrona em um sistema FIA, em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , usando um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente,  $E_{\text{app}} = 1,15 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1})$ . O volume injetado de estrona foi de  $250 \mu\text{L}$  e a solução carreadora era  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , a um fluxo de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ ..... 96

FIGURA 3.27 – Curva analítica ( $n = 3$ , registrado com 2 min de intervalo) obtida usando um eletrodo de BDD pré-tratado com polarização catódica ( $E_{\text{app}} = 1,15 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1})$ ), para a estrona nas concentrações em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ :  $0,060, 0,080, 0,10, 0,20, 0,40, 0,80, 1,0, 1,5$  and  $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Volume injetado foi de  $250 \mu\text{L}$  e a solução transportadora era  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , a uma vazão de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ ..... 98

FIGURA 3.28 – Curvas hidrodinâmicas  $I$  vs.  $E$  para diferentes estrogênios (indicados na figura)  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  (volume injetado =  $250 \mu\text{L}$ ) obtidas usando um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente. Fase móvel: tampão fosfato ( $20 \text{ mmol L}^{-1}$ ; pH 3,0) /acetonitrila ( $55:45 \text{ V/V}$ ), a um fluxo de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ .... 102

FIGURA 3.29 – Separação cromatográfica usando um sistema LC-EC com detecção eletroquímica (eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente) dos estrogênios naturais, (1) estriol, (2)  $17\beta$ -estradiol, (4) estrona, e os sintéticos, (3)  $17\alpha$ -etinilestradiol, e (5) dietilestilbestrol, respectivamente, todos na concentração  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Fase móvel: tampão fosfato ( $20 \text{ mmol L}^{-1}$ ; pH 3) / acetonitrila ( $55:45 \text{ V/V}$ ), a vazão de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ . Detecção usando  $E = 1,35 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1})$ ..... 104

FIGURA 3.30 – Curva de analítica obtida para a estrona pelo método de LC/UV-vis ( $\lambda = 280 \text{ nm}$ ) validado. Fase móvel: ACN/ $\text{H}_2\text{O}$   $50/50 \text{ V/V}$ , a um fluxo de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ , volume injetado =  $50 \mu\text{L}$ ..... 106



FIGURA 3.31 – Oxidação anódica ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ) usando eletrodo de Nb/BDD: estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ ,  $0,5 \text{ L}$ , pH 6–7 e  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ .  
a) Absorbância vs. diferentes tempos de eletrólise ( $q_V = 2,0 \text{ L min}^{-1}$ ): 0, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30 e 40 min (condições cromatográficas indicadas no item 3.5.1).  
b) Concentração relativa da estrona ( $[\text{E1}]_{\text{rel}} = [\text{E1}]_t / [\text{E1}]_0$ ) vs. tempo de análise para diferentes valores de vazão (indicados na figura) durante as eletrólises. c) Análise cinética, supondo reação com cinética de pseudo-primeira ordem, para diferentes valores de vazão (indicados na figura). ..... 110

FIGURA 3.32 – Decaimento da concentração relativa da estrona ( $[\text{E1}]_{\text{rel}} = [\text{E1}]_t / [\text{E1}]_0$ ) em função do (a) tempo de eletrólise e da (b) carga aplicada por unidade de volume da solução ( $Q_{\text{ap}}$ ) para a eletrólise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ), na vazão de  $2 \text{ L min}^{-1}$ , usando o eletrodo de Nb/BDD a três densidades de corrente distintas. .... 115

FIGURA 3.33 – Decaimento da concentração da estrona ( $[\text{E1}]$ ) (a) e da sua concentração relativa ( $[\text{E1}]_{\text{rel}} = [\text{E1}]_t / [\text{E1}]_0$ ) (b) em função do tempo para a eletrólise de soluções de estrona de diferentes concentrações (indicadas nas figuras) em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ), na vazão de  $2 \text{ L min}^{-1}$ , usando o eletrodo de Nb/BDD na densidade de corrente de  $10 \text{ mA cm}^{-2}$ . ..... 120

FIGURA 3.34 – Decaimento da concentração relativa da estrona ( $[\text{E1}]_{\text{rel}} = [\text{E1}]_t / [\text{E1}]_0$ ) em função do tempo para eletrólises de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) de diferentes valores de pH e na ausência ou presença de NaCl (indicados na figura), na vazão de  $2 \text{ L min}^{-1}$ , usando o eletrodo de Nb/BDD na densidade de corrente de  $10 \text{ mA cm}^{-2}$ . ..... 121

FIGURA 3.35 – a) Absorbância (condições cromatográficas indicadas no item 3.5.1) vs. diferentes tempos de eletrólise (0, 2, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 e 60 min) para oxidação anódica de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ ,  $0,5 \text{ L}$ , pH 6–7 e  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ , usando eletrodo de  $\beta\text{-PbO}_2$  ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $q_V = 2,0 \text{ L min}^{-1}$ ). b) Concentração relativa de estrona ( $[\text{E1}]_{\text{rel}} = [\text{E1}]_t / [\text{E1}]_0$ ) vs. tempo de eletrólise usando os eletrodos de  $\beta\text{-PbO}_2$  e Nb/BDD (indicados na figura)..... 124

FIGURA 3.36 – Cromatograma de íons totais (TIC) da solução de estrona em pH 3, previamente à eletrólise. .... 127

FIGURA 3.37 – a) XIC (cromatograma de íon extraído) de  $m/z$  269; b) respectivo espectro de massas (MS); c) espectro MS/MS dos íons fragmentos de  $m/z$  269. .... 129

FIGURA 3.38 – Provável mecanismo de fragmentação do íon  $m/z$  269. .... 129

FIGURA 3.39 – Cromatograma de íons totais (TIC) para a solução eletrolisada de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3), após 5 min de eletrólise ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ )..... 130

FIGURA 3.40 – (a) cromatograma de íons totais (TIC) para a molécula intermediária de  $m/z$  285; (b) espectro MS/MS dos íons fragmentos de  $m/z$  285. Análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3), após 5 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ )..... 132

FIGURA 3.41 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de  $[\text{M-H}]^-$  com  $m/z$  285..... 133

FIGURA 3.42 – (a) cromatograma de íons totais (TIC) para a molécula intermediária de $m/z$ 349; (b) espectro MS/MS dos íons fragmentos de $m/z$ 349. Análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ em $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3), após 5 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	135
FIGURA 3.43 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de $[\text{M}-\text{H}]^-$ $m/z$ 349. ....	136
FIGURA 3.44 – (a) cromatograma de íons totais (TIC) para a molécula intermediária de $m/z$ 303; (b-c) espectro MS/MS dos íons produtos de $m/z$ 303 nos $t_r = 8,2$ e $9,7$ min, respectivamente. Análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ em $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3), após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	137
FIGURA 3.45 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de $[\text{M}-\text{H}]^-$ $m/z$ 303 com $t_r = 8,2$ min.....	138
FIGURA 3.46 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de $[\text{M}-\text{H}]^-$ $m/z$ 303 com $t_r = 9,7$ min.....	139
FIGURA 3.47 – (a) TIC (cromatograma de íons totais) para a molécula intermediária de $m/z$ 397; (b) espectro MS/MS dos íons produtos de $m/z$ 397. Análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ em $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3), após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	140
FIGURA 3.48 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de $[\text{M}-\text{H}]^-$ $m/z$ 397.....	141

FIGURA 3.49 – (a) TIC (cromatograma de íons totais) para a molécula intermediária de $m/z$ 399; (b) espectro MS/MS dos íons produtos de $m/z$ 390. Análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ em $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3), após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	143
FIGURA 3.50 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de $[\text{M-H}]^-$ $m/z$ 399. ....	144
FIGURA 3.51 – (a) TIC (cromatograma de íons totais) para a molécula intermediária de $m/z$ 357; (b) espectro MS/MS dos íons produtos de $m/z$ 357. Análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ em $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3), após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	146
FIGURA 3.52 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de $[\text{M-H}]^-$ $m/z$ 357. ....	147
FIGURA 3.53 – Variação da área dos picos cromatográficos (XIC) referentes às moléculas intermediárias de $[\text{M-H}]^-$ $m/z$ X (valores de X indicados na figura) em função do tempo de eletrólise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ em $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3) com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	148
FIGURA 3.54 – Mecanismo parcial proposto para a degradação eletroquímica da estrona em solução de $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ácida (pH 3) com um eletrodo de Nb/BDD.....	150

FIGURA 3.55 – Variação da área dos picos cromatográficos (XIC) referentes às moléculas intermediárias de $[M-H]^-$ $m/z$ X (valores de X indicados na figura) em função do tempo de eletrólise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ em $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7) com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	154
FIGURA 3.56 – Mecanismo (parcial) proposto para a degradação eletroquímica da estrona em solução de $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ácida (pH 7) com um eletrodo de Nb/BDD.....	156
FIGURA 3.57 – Variação da área dos picos cromatográficos (XIC) referentes às moléculas intermediárias de $[M-H]^-$ $m/z$ X (valores de X indicados na figura) em função do tempo de eletrólise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ em $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 10) com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	158
FIGURA 3.58 – Mecanismo (parcial) proposto para a degradação eletroquímica da estrona em solução de $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ácida (pH 10) com um eletrodo de Nb/BDD.....	160
FIGURA 3.59 – Mecanismo (parcial) proposto para a degradação eletroquímica da estrona em solução de $\text{Na}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ácida (pH 7) com um eletrodo de $\beta\text{-PbO}_2$ .....	162
FIGURA A.1 – a) XIC e b) MS do íon $m/z$ 269 ( $t_r = 11,0 - 11,3 \text{ min}$ ), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ (pH 3), após 5 e 10 min de eletrólise, respectivamente, com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	180
FIGURA A.2 – a) XIC e b) MS do íon $m/z$ 285 ( $t_r = 9,10 - 10,8 \text{ min}$ ), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ (pH 3), após 10 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ). .....	181

FIGURA A.3 – a) XIC e b) MS do íon $m/z$ 349 ( $t_r = 6,78 - 7,24$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 10 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	182
FIGURA A.4 – a) XIC e b-c) MS do íon $m/z$ 303 ( $t_r = 8,00 - 8,34$ min e $9,67 - 10,0$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	183
FIGURA A.5 – a) XIC e b) MS do íon $m/z$ 397 ( $t_r = 4,85 - 5,40$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	184
FIGURA A.6 – a) XIC e b) MS do íon $m/z$ 399 ( $t_r = 4,90 - 5,43$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	185
FIGURA A.7 – a) XIC e b) MS do íon $m/z$ 357 ( $t_r = 8,60 - 8,96$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	186
FIGURA A.8 – a) XIC e b) MS do íon $m/z$ 359 ( $t_r = 9,50 - 9,74$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	187
FIGURA A.9 – a) TIC, e b) MS/MS do íon $m/z$ 359 ( $t_r = 9,65 - 9,90$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 50 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ). ....	188
FIGURA A.10 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula intermediária de $[\text{M}-\text{H}]^-$ $m/z$ 359. ....	189

FIGURA A.11 – a) XIC e b) do íon $m/z$ 333 ( $t_r = 4,94 - 5,91$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	190
FIGURA A.12 – a) TIC e b) MS/MS do íon $m/z$ 333 ( $t_r = 4,94 - 5,91$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ). .....	191
FIGURA A.13 – a) XIC e b) MS do íon $m/z$ 375 ( $t_r = 7,46 - 7,70$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 50 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	192
FIGURA A.14 – a) TIC e b) MS/MS do íon $m/z$ 375 ( $t_r = 5,71 - 6,34$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 50 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ). .....	193
FIGURA A.15 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula intermediária de $[\text{M-H}]^-$ $m/z$ 375. ....	194
FIGURA A.16 – a) XIC e b) MS do íon $m/z$ 317 ( $t_r = 8,05 - 8,00$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).....	195
FIGURA A.17 – a) TIC e b) MS/MS do íon $m/z$ 375 ( $t_r = 7,46 - 7,70$ min), para análise de solução de estrona $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ; $V = 0,5 \text{ L}$ ; $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ). .....	196
FIGURA A.18 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula intermediária de $[\text{M-H}]^-$ $m/z$ 317. ....	197

## RESUMO

DETERMINAÇÃO E DEGRADAÇÃO ELETROQUÍMICA DO ESTROGÊNIO NATURAL ESTRONA USANDO ANODOS DE DIAMANTE DOPADO COM BORO – Diferentes técnicas eletroquímicas foram usadas para caracterizar o eletrodo de diamante dopado com boro (BDD) e para a determinação de estrona. Após otimização de parâmetros, os valores de limite de detecção obtidos usando a voltametria de pulso diferencial ( $0,27 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e a voltametria de onda quadrada ( $0,096 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) com o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente foram comparáveis àqueles na literatura. Um valor ainda menor foi obtido quando se utilizou detecção amperométrica em um sistema de injeção em fluxo – FIA-EC ( $0,050 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), dada a redução de interferências da corrente capacitiva pela aplicação de um potencial fixo, fluxo contínuo (transporte de massa e renovação de superfície do eletrodo). Em todos os casos, o eletrodo de BDD apresentou-se bastante estável (repetibilidade intra-dia e entre-dias) e diferentes matrizes não tiveram influências significantes na detecção da estrona. Conseqüentemente, as técnicas investigadas se mostraram promissoras para esse propósito, com excelentes precisão e exatidão. Na degradação eletroquímica de estrona em um reator em fluxo, devido ao alto poder oxidante do eletrodo de BDD, obteve-se um decaimento rápido da concentração de estrona, dependente das variáveis investigadas (densidade de corrente, vazão volumétrica e pH); melhores resultados foram obtidos a pH 3. Os intermediários formados durante eletrólises de estrona em diferentes pHs (3, 7 e 10) foram investigados por LC-MS/MS, sendo que rotas inéditas de degradação (parcial) foram propostas, no intuito de entender melhor a influência do pH na formação dos intermediários. Além disso, a degradação eletroquímica de estrona utilizando o eletrodo de BDD foi ainda comparada com a obtida com um eletrodo de  $\beta\text{-PbO}_2$ , também com estudo mecanístico inédito.



## ABSTRACT

ELECTROCHEMICAL DETERMINATION AND DEGRADATION OF THE NATURAL ESTROGEN ESTRONE USING BORON-DOPED DIAMOND ANODES – Different electrochemical techniques were used to characterize the boron-doped diamond (BDD) electrode and to determine estrone. After parameters optimization, the detection limits obtained using differential pulse voltammetry ( $0.27 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) and square-wave voltammetry ( $0.096 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) with a cathodically pretreated BDD electrode were comparable to values reported in the literature. An even smaller value was obtained when amperometric detection was used with a flow injection system – FIA-EC ( $0.050 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), because there is a reduction of capacitive current interferences when a fixed potential is applied, as the continuous flow rate (surface cleaning and mass transport effect). In all cases, the BDD electrode presented a stable response (inter- and intra-day repeatabilities) and different matrices did not have significant influence on the detection of estrone. Consequently, the investigated techniques are promising for this purpose, with excellent accuracy and precision. In the electrochemical degradation of estrone studies in a flow reactor a rapid decay of estrone concentration was attained, due to the high oxidation power of the BDD electrode. This decay is dependent on the studied parameters (current density, flow rate, and pH); best results were attained at pH 3. Intermediate products formed during electrolyses of estrone at different pH (3, 7, and 10) were investigated by LC-MS/MS; thus, inedited (partial) degradation pathways were proposed, aiming at understanding the influence of pH on the generation of intermediates. Finally, electrochemical degradation of estrone at pH 7 using the BDD electrode was compared with the one attained with a  $\beta\text{-PbO}_2$  electrode, also with an inedited mechanistic study.

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>– Introdução .....</b>	<b>1</b>
1.1	– Caracterização do problema.....	1
1.2	– Estado da arte .....	2
1.3	– Mecanismo de ação dos CDEs.....	7
1.4	– Diamante .....	9
1.4.1	– Diamante dopado com boro .....	12
1.5	– Detecção eletroquímica dos perturbadores endócrinos.....	14
1.6	– Tratamentos utilizados na degradação dos perturbadores endócrinos.	17
1.7	– Oxidação eletroquímica dos poluentes orgânicos: fundamentos e aplicação .....	19
1.8	– Objetivos .....	25
<b>2</b>	<b>– Material e Métodos.....</b>	<b>26</b>
2.1	– Caracterização e detecção eletroquímica.....	26
2.1.1	– Eletrodos.....	26
2.1.2	– Célula eletroquímica .....	26
2.1.3	– Reagentes e soluções .....	27
2.1.4	– Tratamento de superfície dos eletrodos .....	27
2.1.5	– Equipamentos e técnicas de caracterização .....	28
2.1.6	– Metodologia eletroanalítica.....	30
2.2	– Degradação eletroquímica da estrona utilizando um eletrodo de Nb/BDD.....	35
2.2.1	– Ensaio eletroquímico com anodo de Nb/BDD: Características e sistema eletroquímico utilizado .....	35
2.2.2	– Análise dos experimentos realizados com o anodo de Nb/BDD .....	37

2.2.3	– Identificação de intermediários reacionais e proposta de mecanismo de degradação da estrona por LC-MS/MS .....	39
<b>3</b>	<b>– Resultados e Discussão.....</b>	<b>42</b>
3.1	– Caracterização superficial do eletrodo de BDD e GC .....	42
3.2	– Caracterização eletroquímica dos eletrodos de BDD e GC .....	48
3.3	– Eletroquímica do estrogênio natural estrona .....	55
3.3.1	– Pré-tratamento eletroquímico do eletrodo de BDD .....	57
3.3.2	– Estudo do efeito do eletrólito H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> em diversas concentrações	60
3.3.3	– Estudo da influência do pH.....	62
3.3.4	– Estudo de fatores que influenciam o comportamento eletroquímico da estrona .....	65
3.3.5	– Estudo da adsorção da estrona nos eletrodos de GC e BDD.....	71
3.4	– Detecção da estrona.....	77
3.4.1	– Detecção da estrona utilizando voltametria de pulso diferencial ( <i>DPV</i> ) .....	77
3.4.2	– Detecção da estrona utilizando voltametria de onda quadrada ( <i>SWV</i> ).....	80
3.4.3	– Curvas analíticas para a detecção da estrona por <i>DPV</i> e <i>SWV</i> ...	84
3.4.4	– Detecção da estrona utilizando o sistema FIA.....	91
3.5	– Estudo de degradação da molécula estrona utilizando um eletrodo de Nb/BDD.....	104
3.5.1	– Desenvolvimento de método cromatográfico LC/UV-vis.....	105
3.5.2	– Degradação eletroquímica da estrona.....	109
3.5.3	– Estudo de identificação de alguns intermediários reacionais e proposta da rota de degradação da estrona.....	126
<b>4</b>	<b>– Conclusões .....</b>	<b>164</b>
	<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>168</b>
	<b>Apêndice.....</b>	<b>180</b>

### 1 – Introdução

#### 1.1 – Caracterização do problema

A presença de novos contaminantes (muitas vezes denominados de poluentes emergentes) em ambientes aquáticos tem gerado preocupação de órgãos internacionais e nacionais relacionados à saúde e ao meio ambiente (por ex., a Organização Mundial de Saúde – OMS e, no Brasil, o Conselho Nacional dos Recursos Hídricos – CNRH). No final de 2006, o CNRH, por meio de sua Moção nº 40, destacou que “pesquisas relacionadas a novos contaminantes de meios aquáticos” e “técnicas avançadas para tratamento de água para abastecimento, visando atender à nova gama de contaminantes existentes no meio” deveriam ser priorizadas para investimento.

Entre os novos contaminantes, destacam-se os compostos desreguladores endócrinos. Segundo documento exarado pela OMS, um composto desregulador endócrino (CDE) é definido como “uma substância ou mistura que altera a(s) função(ões) do sistema endócrino e conseqüentemente causa efeitos adversos na saúde de um organismo intacto, ou sua progênie, ou (sub)populações”<sup>1</sup>. A presença de CDEs no meio ambiente, em especial nos corpos de água, é uma preocupação crescente da sociedade e de instituições governamentais e internacionais, como claramente revisto por BILA & DEZOTTI<sup>2</sup>. Esta preocupação decorre do fato de que os CDEs podem afetar a saúde, o crescimento e a reprodução de seres humanos e outros animais. Assim, estes compostos necessitam ser detectados e quantificados, ao mesmo tempo que, quando presentes em concentrações acima das recomendadas, necessitam ser degradados por meio de técnica avançada de tratamento.

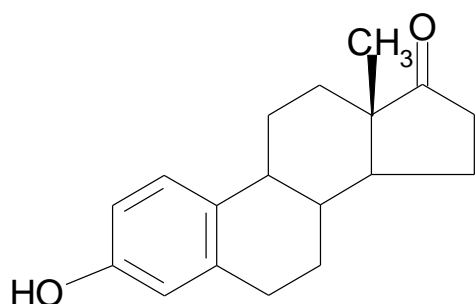
### 1.2 – Estado da arte

Do ponto de vista ambiental, os estrogênios, naturais e sintéticos, e alguns xenoestrogênios<sup>2</sup> são as classes de desreguladores endócrinos que vêm merecendo maior destaque, uma vez que suas ocorrências no ambiente e seus possíveis efeitos sobre a biota somente agora vêm sendo elucidados. Os estrogênios naturais mais conhecidos incluem, por exemplo, estrona (E1), 17 $\beta$ -estradiol (E2) e estriol (E3). Já entre os estrogênios sintéticos destacam-se o 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) e o dietilestilbestrol (DES), comumente utilizados como contraceptivos orais (vide Tabela 1.1).

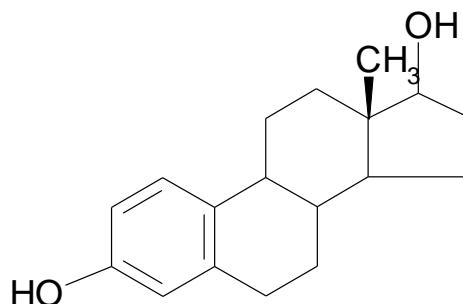
Atualmente, existem evidências convincentes de que a exposição de animais silvestres a níveis elevados de CDEs pode resultar em deficiências reprodutivas e de desenvolvimento, tais como má formação genital, comportamento de acasalamento aberrante e insuficiência reprodutiva, entre outras. Além disso, o impacto dos CDEs em animais abrange, também, um desenvolvimento anormal da função tireóide em pássaros e peixes, além de diminuição da fertilidade e alterações sexuais e imunológicas em crustáceos, peixes, pássaros e répteis. Em humanos, há evidências de que diversas condições patológicas (tais como os cânceres de mama, testículo e próstata e disfunções reprodutivas) sofram influências hormonais<sup>1</sup>.

TABELA 1.1 – Estruturas químicas dos estrogênios estrona, 17 $\beta$ -estradiol, estriol, 17 $\alpha$ -etinilestradiol e dietilestilbestrol.

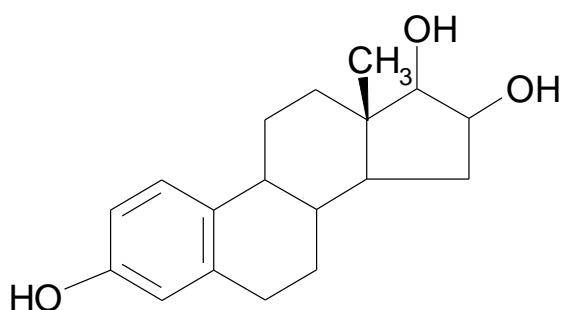
---



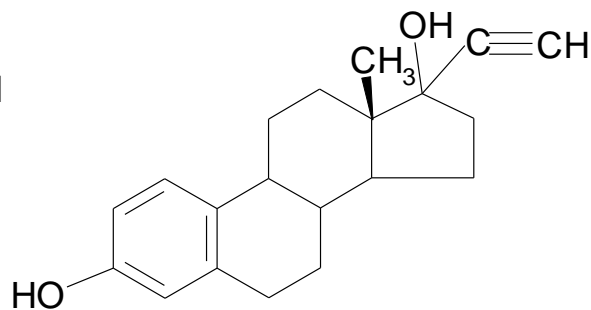
Estrona (E1)



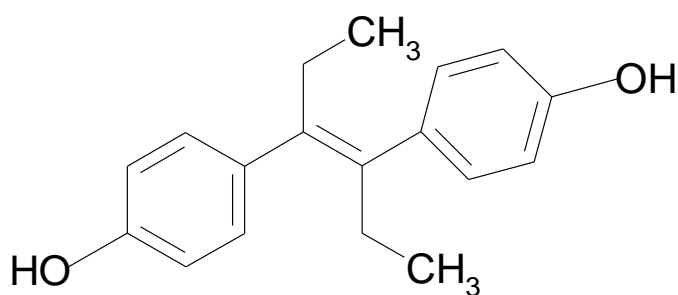
17 $\beta$ -Estradiol (E2)



Estriol (E3)



17 $\alpha$ -Etinilestradiol (EE2)



Dietilestilbestrol (DES)

---

O principal meio de exposição a CDEs se dá por meio da ingestão de alimentos contaminados. Especificamente no caso dos seres humanos, tem sido estimado que mais de 90% dos CDEs são absorvidas desta maneira<sup>2</sup>.

As principais fontes de CDEs em águas superficiais são os efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETE) e/ou, no caso de países onde parte significativa das águas residuais não é tratada, o esgoto bruto despejado nos corpos aquáticos receptores. Assim, quando as águas residuais são tratadas, a presença ou não de estrogênios naturais e sintéticos nas águas resultantes está diretamente relacionada à eficiência dos processos de tratamento de efluentes e de esgotos, e ainda tem sido relatado que ela ocorre na faixa de concentração de  $\mu\text{g L}^{-1}$  a  $\text{ng L}^{-1}$  <sup>1,3</sup>.

JANEX-HABIBI *et al.*<sup>4</sup> relataram a ocorrência e o destino de quatro estrogênios e cinco compostos alquilfenólicos em treze ETEs européias (diferentes países) com diversos tipos de processos de tratamento. Segundo estes autores, do ponto de vista do impacto ambiental, a redução das concentrações dos CDEs decorrente dos processos de tratamento permite que seja obedecida a regulamentação ambiental, dependendo do fator de diluição atingido ao se descartar o efluente tratado.

As águas subterrâneas, fontes de água potável que podem ser contaminadas por infiltração química através do solo, geralmente não requerem muitos estágios de tratamento. Mas, frequentemente, essas águas são sujeitas a etapas de desinfecção, como, por exemplo, cloração. Na Figura 1.1 é ilustrado como ocorre a contaminação das águas por hormônios.

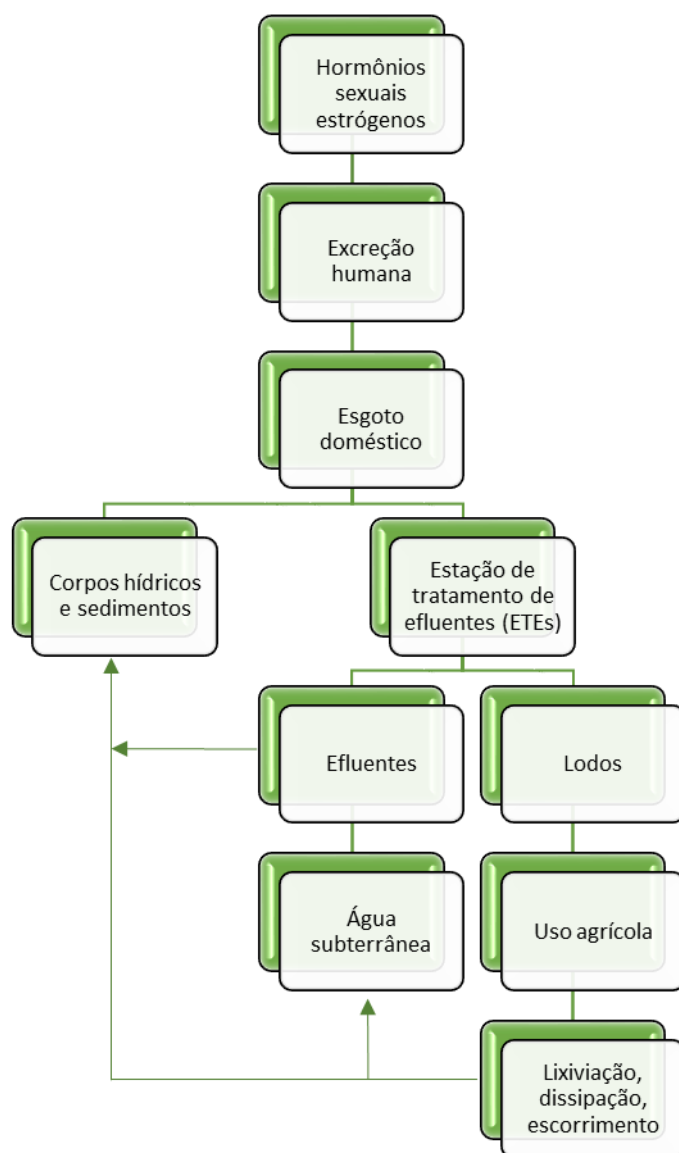


FIGURA 1.1 – Representação esquemática das principais vias de entrada de hormônios em sistemas aquáticos. Adaptada de REIS FILHO *et al.*<sup>5</sup>; LINTELMANN *et al.*<sup>6</sup>.

Os estrogênios E1, E2 e EE2 têm recebido uma atenção especial, pois são contínua e diariamente excretados no esgoto e não são completamente removidos nas ETEs. Desta forma, esses CDEs são lançados continuamente nos sistemas aquáticos e podem ser encontrados nas águas superficiais, muitas vezes usadas como suprimento de água potável<sup>2</sup>. Os estrogênios naturais são excretados por mulheres e animais fêmeas, e também, em menor quantidade, por homens, conforme apresentado na Tabela 1.2. Essa excreção ocorre em grande parte na



forma de conjugados polares inativos, predominantemente como glicuronídeos e sulfatos<sup>5</sup>.

TABELA 1.2 – Quantidade média diária de estrógenos excretada na urina de humanos (adaptado de BILA & DEZOTTI<sup>2</sup> e REIS FILHO<sup>5</sup>).

Estrógeno	Excreção masculina / $\mu\text{g}$	Excreção feminina, na menstruação / $\mu\text{g}$	Excreção feminina, na gravidez / $\mu\text{g}$	Excreção feminina, na menopausa / $\mu\text{g}$	Excreção feminina / $\mu\text{g}$
17 $\beta$ -estradiol (E2)	1,6	3,5	259	2,3	-
Estrona (E1)	3,9	8,0	600	4,0	-
Estriol (E3)	1,5	4,8	6000	1,0	-
17 $\alpha$ - Etinilestradiol (EE2)	-	-	-	-	35

Os estrogênios sintéticos como o EE2, usados em anticoncepcionais e terapias de reposição hormonal, merecem uma atenção especial por serem mais estáveis e resistentes à biodegradação.

Como já elucidado, estrogênios presentes nos efluentes causam efeitos relevantes aos seres vivos. Recentemente, SILVA *et al.*<sup>7</sup> realizaram um estudo comparativo da exposição de peixes Zebra a uma mistura de perturbadores endócrinos presentes no rio Douro (Portugal), e uma solução padrão de EE2 100 ng L<sup>-1</sup> por 21 dias. Em ambos os casos, constatou-se efeitos causados pelos CDEs; contudo, os autores destacam o grupo de peixes machos expostos às amostras reais, devido à redução de esperma. Peixes jovens da espécie *Rutilus rutilus* foram expostos por 150 dias a concentrações gradativas de efluentes de ETE contendo CDEs naturais e sintéticos, o que também resultou na feminização de peixes machos<sup>8</sup>. Em seguida, esses peixes foram expostos a águas naturais por mais 150 dias, sendo que, como resultado, houve a redução da proteína vitelogenina no

plasma; contudo, não se observou a alteração no sistema sexual feminizado, indicando que o desenvolvimento da anomalia no sistema reprodutivo não foi revertida. Em outro estudo feito com peixes (espécie *Pimephales promelas*) expostos a baixas concentrações de EE2, foi observada a síntese da vitelogenina após apenas três semanas de exposição<sup>9</sup>.

### 1.3 – Mecanismo de ação dos CDEs

O sistema endócrino é um mecanismo complexo que coordena e regula a comunicação entre as células, constituído por combinações de glândulas e hormônios, sendo responsável pelas funções biológicas normais, como reprodução, desenvolvimento embrionário, crescimento e metabolismo<sup>5</sup>. Esse sistema é acionado por reações das células nervosas a algum estímulo externo (exemplos: fome, medo, etc.). Em outras palavras, o sistema nervoso envia um sinal desencadeador à hipófise para liberar um determinado hormônio, o qual atuará sobre uma glândula endócrina específica, estimulando a produção e liberação do seu hormônio específico para a corrente sanguínea ou para ação local. Esses últimos hormônios produzidos levam instruções às células-alvos, onde se ligarão a receptores específicos. O conjunto receptor-hormônio interpreta a mensagem hormonal e faz a transdução, isto é, a transformação do sinal numa reação química que determinará o efeito hormonal<sup>10</sup>. Segundo NOGUEIRA<sup>11</sup>, o receptor interpreta a mensagem hormonal e faz a tradução mediante um de dois processos distintos:

- ordena aos genes que produzam novas proteínas, o que causa efeitos a longo prazo, como é o caso, por exemplo, do crescimento ou maturação sexual e reprodutiva;
- altera a atividade de proteínas existentes na célula, provocando uma resposta rápida por parte do organismo, que repercute, por exemplo, no aumento do ritmo cardíaco ou na variação do nível de açúcar no sangue.

A desregulação endócrina ocorre, quando os CDEs interagem com os receptores de hormônio, alterando a resposta padrão do sistema endócrino e, conseqüentemente, as funções vitais nos seres vivos. Na Figura 1.2 são ilustrados dois mecanismos possíveis de atuação dos perturbadores endócrinos.

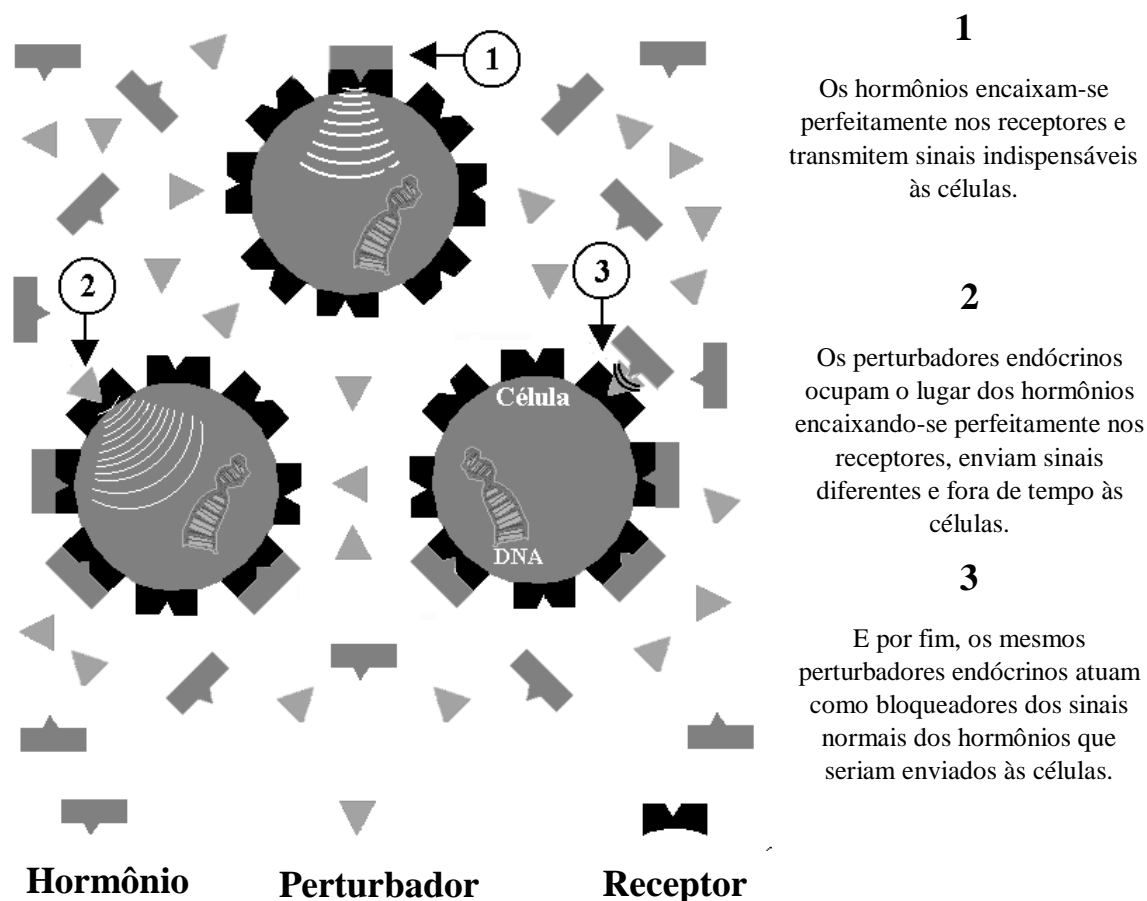


FIGURA 1.2 – Mecanismos de atuação dos CDEs (figura reproduzida da ref. 12).

A alteração do sistema endócrino pode estar associada a interferências na síntese, secreção, transporte, ligação e ação ou eliminação de hormônios naturais do organismo, conduzindo a uma nova resposta hormonal, fraca ou forte, que resulta num sinal inexato para o corpo. Alguns CDEs podem levar o organismo a desencadear, de um modo exagerado ou em tempo inapropriado, a um estímulo falso (efeito agonista). Outros podem bloquear os

receptores específicos a determinado hormônio, reduzindo ou anulando os estímulos em certas partes do organismo que normalmente lhe são sensíveis (efeito antagonista)<sup>11</sup>.

### 1.4 – Diamante

O diamante, além de seu atrativo como pedra preciosa, exhibe, entre diversas propriedades, a mais alta condutividade térmica à temperatura ambiente, transparência em uma janela ampla de comprimentos de onda, rigidez e inércia à maioria dos reagentes químicos<sup>13</sup>. Também é conhecido por ser o material mais duro de formação natural, isto é, não pode ser riscado por nenhum outro material, exceto por ele mesmo. Apesar dessa gama ampla de propriedades excepcionais, o sonho de obter diamante sintético somente foi alcançado e concretizado na década de 1950<sup>14</sup>. As condições básicas necessárias para a formação do diamante natural é o aquecimento do grafite sob extrema pressão, conhecido como técnica de crescimento sob alta pressão e temperatura (*high pressure / high temperature growth technique*; HPHT). Conforme relatado por MAY<sup>13</sup>, a General Electric foi a primeira empresa a produzir diamante industrial. O processo baseava-se em comprimir grafite em uma prensa hidráulica a dezenas de milhares de atmosferas sob aquecimento acima de 2000 K na presença de um catalisador metálico adequado. Devido à sua alta dureza e resistência, esse tipo de diamante industrial é amplamente utilizado em processos industriais, como, por exemplo, no corte e usinagem de componentes mecânicos e em polimento ótico. O inconveniente em relação à técnica HPHT é a formação de diamante como monocristais com grande variação de tamanho (de nanômetros a milímetros), o que limita suas aplicações. Nessa mesma década, em 1952, foi realizada pela primeira vez a síntese de diamante por deposição química por vapor (DQV), usando um fluxo de metano sobre uma grade de diamante aquecida, contudo, com baixa taxa de crescimento e quantidade significativa de grafite. Após anos de

pesquisa e aprimoramento dos reatores de DQV associados a filamento quente e de plasma por micro-ondas, filmes finos de diamantes são sintetizados usando-se diferentes protocolos<sup>15</sup>. A deposição do filme de diamante em um reator de DQV (Figura 1.3) pode ser feito em diferentes substratos, inclusive no próprio diamante, a partir da ativação de uma fase gasosa introduzida de reator.

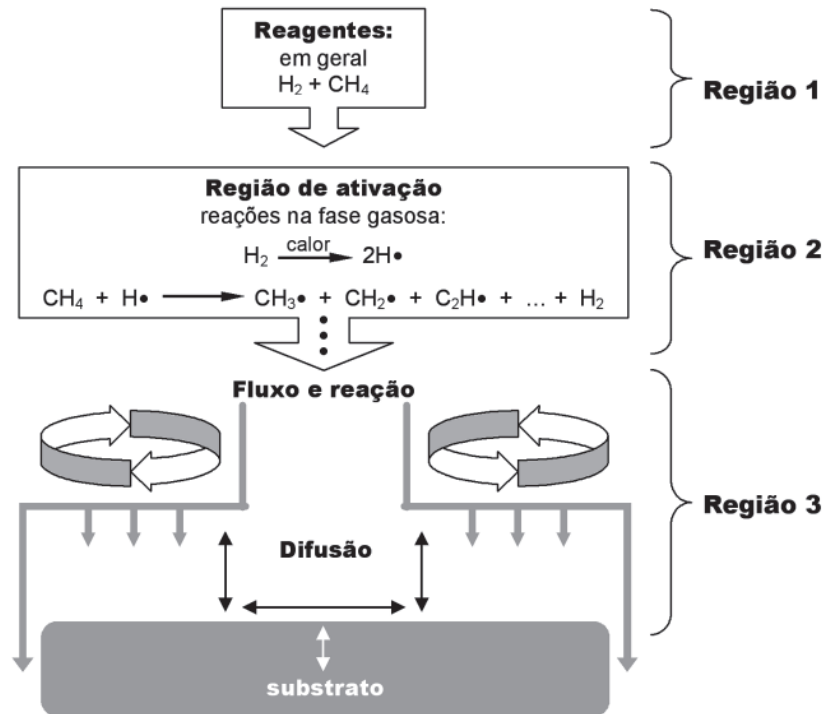


FIGURA 1.3 – Esquema geral do processo de deposição de filmes de diamante, a partir de uma fase gasosa, pelo método DQV (figura reproduzida da ref. 15).

Os gases injetados no reator (região 1) passam pela região de ativação (região 2), onde ocorre, inicialmente, a formação de hidrogênio atômico, e, em seguida, radical metila, principal precursor do crescimento do diamante por DQV. Embora ocorra a formação de outros radicais, eles têm participação secundária no mecanismo, sendo o hidrogênio atômico e o radical metila as principais espécies envolvidas no processo de crescimento do diamante. A ativação da mistura gasosa pode ser feita de diferentes maneiras: filamento quente de tungstênio, plasma de micro-ondas, plasma de rádio-frequência, chama de óxi-

acetileno, entre outras<sup>15</sup>. Por difusão (região 3), as espécies chegam até o substrato, com o início do processo de nucleação por uma camada intermediária de carбето, formada pela reação entre o substrato e o radical metila, ou a partir de grãos de diamante pelo método de semeadura. Independentemente do substrato possuir ou não diamante previamente depositado no substrato, ocorrerá a camada intermediária de carбето.

Os filmes podem ser depositados em diferentes substratos, sendo silício, molibdênio, tungstênio, platina e quartzo os mais comuns. No entanto, deve-se considerar a tolerância às altas temperaturas de deposição (700 – 900 °C) e a similaridade do coeficiente de expansão térmica com o do diamante ( $1,1 \times 10^{-6} \text{ K}^{-1}$ )<sup>16</sup>.

Os filmes de diamante podem ser sintetizados com duas morfologias distintas: microcristalina e nanocristalina. A distinção entre essas duas estruturas está relacionada ao diâmetro de grãos, sendo de aproximadamente  $\geq 2,0 \text{ }\mu\text{m}$  e  $\leq 100 \text{ nm}$ , para filmes microcristalino e nanocristalino, respectivamente. Essas morfologias podem ser obtidas usando-se diferentes gases precursores de síntese. Geralmente, comumente para os filmes microcristalinos usa-se uma mistura de metano e hidrogênio, enquanto para filmes nanocristalinos, é possível usar uma mistura de somente metano e argônio<sup>16</sup>.

Quando um filme de diamante é apropriadamente dopado, passa a ser condutor, sem perder todas as propriedades mencionadas, o que o torna, um ótimo candidato em diferentes áreas da Química, em especial, a Eletroquímica.

### 1.4.1 – Diamante dopado com boro

O filme de diamante sintético, quando dopado com boro, pode adquirir propriedade condutora em um intervalo de semicondutor à semimetálico, dependendo do nível de dopagem<sup>17</sup>. O boro é incorporado no filme durante a síntese, geralmente por um composto volátil de boro, como, por exemplo, trimetil borato, em proporções variando entre 10 – 10000 ppm. Dessa forma, a resistividade do eletrodo resultante está diretamente atrelada ao nível de dopagem com boro no filme, variando desde  $10^4 \Omega \text{ cm}$  (para um teor de boro próximo a  $10^{18} \text{ cm}^{-3}$ ) até décimos e mesmo milésimos de  $\Omega \text{ cm}$  (para teor de boro nos filmes próximo a  $10^{21} \text{ cm}^{-3}$ )<sup>18</sup>. Filmes de diamante dopado com boro (BDD) para aplicações em Eletroquímica devem apresentar, primeiramente, condutividade estável, robustez química e processo de produção econômico. Eletrodos de BDD, fabricados pelo método de DQV, apresentam características promissoras para serem usados em uma ampla gama de aplicações eletroquímicas, por exemplo: tratamentos de águas, eletrossíntese orgânica e inorgânica e eletroanálise.

A versatilidade de aplicações do filme de BDD deve-se, principalmente, às suas excelentes propriedades eletroquímicas. Em soluções aquosas, por exemplo, o eletrodo de BDD possui<sup>19</sup>: (i) corrente de fundo (*background current*) baixa e estável, (ii) ampla janela de potencial, (iii) repetibilidade de sinal para diversas moléculas redox, sem necessidade do uso de extensos pré-tratamentos, (iv) microestrutura da superfície e morfologia estáveis acima da janela de potencial, e (v) fraca adsorção de moléculas polares na superfície do eletrodo, com terminações de hidrogênio, ao contrário do comumente observado para outros materiais.

Essas características do eletrodo de BDD são superiores às de muitos outros materiais à base de carbono, como é o caso dos eletrodos de carbono vítreo e HOPG (grafite pirolítico altamente orientado – *highly oriented pyrolytic graphite*)<sup>17,20</sup>, e o tornam um excelente candidato para uso no monitoramento e

tratamento de águas. Isso ocorre, em parte, devido à superfície do eletrodo de BDD ser relativamente não polar, quando com terminações em hidrogênio, e por não possuir sistema estendido de elétrons  $\pi$ , que pode promover as interações  $\pi$ - $\pi$  com uma molécula adsorvida.

Filmes de BDD recém-produzidos comumente possuem a superfície com terminações em hidrogênio, dada a atmosfera rica em hidrogênio nos reatores. SUFFREDINI *et al.*<sup>21</sup> chamaram atenção para a grande influência do tipo de terminação superficial do eletrodo BDD sobre a sua resposta eletroquímica para alguns analitos. Por exemplo, no caso de clorofenóis, esta resposta só é significativa se a superfície do eletrodo tiver predominância de terminações de hidrogênio, o que pode ser conseguido por pré-tratamento eletroquímico adequado. Posteriormente, SALAZAR-BANDA *et al.*<sup>22</sup> relataram que filmes de BDD originalmente terminados em hidrogênio sofrem variação nas suas respostas eletroquímicas quando expostos ao ar por longos tempos, sendo que a extensão desta variação depende do nível de dopagem do eletrodo. Isto foi explicado como decorrente de um aumento das terminações por grupos de oxigênio, em substituição a terminações por hidrogênio, o que ocorre em maior grau à medida que a dopagem do BDD decresce. Mais recentemente, em diversos trabalhos desenvolvidos na própria UFSCar<sup>23-33</sup>, constatou-se que a resposta eletroquímica de eletrodos de BDD para diferentes analitos, em especial a resposta eletrooxidativa, é melhorada se a superfície do eletrodo é preferencialmente terminada em hidrogênio. Em outros casos<sup>34-36</sup>, melhor resultado foi obtido com superfície terminada preferencialmente em grupos de oxigênio. Para ambos comportamentos, o tipo preferencial de terminação superficial adequado tem sido obtido por polarizações eletroquímicas, anódica (terminações em oxigênio) ou catódica (terminações em hidrogênio)<sup>22,37</sup>.



### 1.5 – Detecção eletroquímica dos perturbadores endócrinos

Segundo o Atlas de Saneamento 2011<sup>38</sup>, divulgado pelo IBGE no início de outubro de 2013, o Brasil continua com um grande déficit de infraestrutura em saneamento. Em 2008, apesar de 99,4 % dos municípios contarem com serviço de abastecimento de água por rede geral de distribuição, somente 29,0% dos municípios coletavam e tratavam o esgoto doméstico, 26,0% só dispunham do serviço de coleta e em 45,0% dos municípios o esgoto não era coletado. Mesmo na Região Sudeste, apenas 48,0% dos municípios tinham coleta e tratamento de esgoto, 47,0% somente coletavam e em 5,0% dos municípios não havia sequer o serviço de coleta. Tendo em vista esses parâmetros, além de haver necessidade dos municípios brasileiros avançarem no tratamento do esgoto doméstico, eles devem buscar tecnologias eficientes para a detecção e tratamento dos CDEs, os quais, em geral, são resistentes aos processos de tratamento utilizados atualmente.

Muitos trabalhos encontrados na literatura apresentam resultados promissores na detecção e quantificação de CDEs utilizando técnicas de cromatografia líquida (LC) com diferentes tipos de detectores<sup>39-45</sup>.

SODRÉ *et al.*<sup>44</sup> desenvolveram e validaram um método de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS) para a determinação de estrogênios e xenoestrogênios em águas superficiais, atingindo limites de quantificação entre 0,1 e 3,1 ng L<sup>-1</sup>. O método estudado foi empregado com sucesso na determinação dos níveis de estrogênios e xenoestrogênios em amostras coletadas no Rio Atibaia (Estado de São Paulo), com concentrações variando de 2,2 a 39 ng L<sup>-1</sup>. DI CARRO *et al.*<sup>42</sup> estudaram a determinação de cinco CDEs (4-*n*-nonilfenol, bisfenol A, estrona, 17β-estradiol e 17α-etinilestradiol) em águas, utilizando LC-ESI/MS/MS com diferentes colunas. Obtiveram limites de quantificação e detecção entre 0,14 e 0,30 ng mL<sup>-1</sup> e 0,46 e 0,98 ng mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Em amostras reais (águas de entrada e saída da

planta de tratamento de água potável de Liguria – Itália), os CDEs (exceto 17 $\alpha$ -etinilestradiol) foram detectados somente na água de entrada.

Muitas vezes usa-se cromatografia gasosa (CG) acoplada a outras técnicas para a identificação dos CDEs; contudo, a derivação desses compostos é uma etapa necessária para melhorar a seletividade e sensibilidade. Normalmente, essa etapa é realizada em blocos de aquecimento, banhos de areia ou fornos, por 30-90 min, em altas temperaturas<sup>40,46</sup>. A técnica CG-MS fornece informações analíticas úteis para a identificação e quantificação desses compostos. Entretanto, requer procedimentos de tratamento prévio das amostras (por exemplo, pré-purificação, fracionamento, hidrólise e derivação), os quais limitam e tornam complexas as análises em amostras reais. Nesse mesmo viés, detecção por fluorescência e UV também têm sido utilizada<sup>47</sup>. Quando compara-se os métodos LC e CG, o mais sensível e preciso é o LC. Por outro lado, LC acoplado a detector eletroquímico (LC-EC), além de ter um menor custo em comparação aos detectores mais comumente utilizados, permite obter altos níveis de precisão e detectabilidade<sup>48</sup>.

Diferentes tipos de eletrodos são utilizados como detector eletroquímico acoplado a LC na detecção dos mais diferentes compostos orgânicos. Como detector em LC ou simplesmente como sensor eletroanalítico, os eletrodos mais comumente utilizados são os de carbono vítreo<sup>48-51,45</sup>, HOPG<sup>52</sup>, BDD<sup>19,32,34,36,53,54</sup> e outros carbonos tipo diamante (*diamond-like carbon* – DLC)<sup>36,55,56</sup>. Até onde pudemos averiguar, inexistem trabalhos na literatura que relatem a detecção de hormônios naturais e sintéticos via a técnica LC-EC utilizando um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente.

VEGA *et al.*<sup>51</sup>, usando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono como sensor acoplado a um aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência (LC-EC), estudaram a detecção de compostos fenólicos com atividade estrogênica, entre eles o 17 $\beta$ -etinilestradiol, para o qual obtiveram um limite de detecção de 0,340  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Já SANTOS *et al.*<sup>57</sup> usaram um eletrodo

de BDD para a determinação de estriol, por voltametria de onda quadrada, em um produto farmacêutico e em urina de uma mulher grávida. Em condições experimentais otimizadas, obtiveram uma resposta linear entre a corrente do pico de oxidação e a concentração, com um limite de detecção de  $0,17 \mu\text{mol L}^{-1}$ ; ademais, obtiveram bons resultados na determinação de estriol em um produto farmacêutico (comprimido) e em urina, sem qualquer pré-tratamento da amostra.

PIWOWARSKA *et al.*<sup>48</sup> determinaram compostos estrogênicos (entre eles E1, E2 e E3) em amostras de 1 mL de soro de uma mulher grávida, também usando LC-EC com um eletrodo de carbono vítreo como sensor anódico para a detecção desses compostos. Baixos limites de detecção e quantificação foram obtidos, variando nas faixas  $0,18 - 0,30 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $0,23 - 0,92 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

Métodos de determinação de fármacos usando eletrodos de BDD também foram desenvolvidos em colaboração com nosso grupo de pesquisa ou em outros laboratórios. ANDRADE *et al.*<sup>34</sup> desenvolveram e validaram um método de LC multidimensional para a determinação simultânea de sulfametoxazol (SMX) e trimetoprima (TMP) em leite bovino. Usaram uma coluna de limpeza (RAM) em linha acoplada com detecção amperométrica com um eletrodo de BDD. As amostras pré-preparadas de leite desnatado foram injetadas diretamente em uma coluna RAM octil-BSA para remover proteínas que, caso contrário, poderiam interferir na análise do leite. SMX e TMP foram detectados amperometricamente em  $1,25 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1})$ . Resultados com boa linearidade foram obtidos nas faixas de concentração de  $50 - 800 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $25 - 400 \mu\text{g L}^{-1}$  para SMX e TMP, respectivamente, com limites de detecção de  $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Cabe destacar que não foi observado nenhum envenenamento do eletrodo de BDD durante os experimentos, com várias horas de duração.

ANDRADE *et al.*<sup>32</sup> também desenvolveram um método baseado em sistema de multicomutação de parada de fluxo (FIA por multicomutação) para a

determinação simultânea de SMX e TMP em formulações farmacêuticas por voltametria de pulso diferencial com um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente (a fim de se obter terminações superficiais de hidrogênio). Baixos limites de detecção ( $16,5 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $18,3 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e quantificação ( $55,1 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $61,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) foram obtidos para SMX e TMP, respectivamente.

Conforme exposto acima, são diversas as formas de se detectar e quantificar compostos orgânicos; contudo, mesclar e associar essas técnicas pode levar a uma redução do custo de análise, uma vez que reagentes, tempo e equipamentos são parâmetros e ferramentas fundamentais para obtenção de bom desempenho com alta sensibilidade. Cabe destacar que os processos de oxidação e detecção de estrogênios, naturais e sintéticos, estão diretamente alinhados às características do material de eletrodo; como já mencionado, as propriedades do eletrodo de BDD o tornam também um excelente candidato no uso como um detector eletroquímico.

### 1.6 – Tratamentos utilizados na degradação dos perturbadores endócrinos

Apesar dos compostos desreguladores endócrinos serem detectados no ambiente em baixas concentrações ( $\text{ng L}^{-1}$  –  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), ainda geram grande preocupação, por serem biologicamente ativos e poderem desencadear diferentes reações em organismos aquáticos com receptores enzimáticos compatíveis.

Existem diversos métodos para o tratamento de poluentes orgânicos antes de serem descartados no ambiente. No caso de efluentes aquosos, os principais métodos são<sup>58</sup>:

- Físico-químicos: adsorção, coagulação, filtração e troca iônica;
- Químicos: ozonização e emprego de íons hipoclorito;
- Processos oxidativos avançados (POAs): emprego de reagente de Fenton e fotocatalise;

- Biológicos: lodo ativado, emprego de culturas mistas (aeróbias e anaeróbias) e de culturas isoladas (fungos e bactérias);
- Enzimáticos;
- Eletroquímicos: eletrocoagulação, redução eletroquímica, oxidação eletroquímica, eletrooxidação indireta por oxidantes e processos foto-assistidos.

Apesar dos métodos biológicos serem mais frequentemente empregados, relatos de estudos de biodegradação de vários CDEs revelam que as taxas de remoção são, em geral, insignificantes <sup>4</sup> ou na faixa de 5 a 100% para sistemas convencionais de lodo ativado associados ou não a processos químicos<sup>59-73</sup>. Entretanto, cabe ressaltar que em todos estes trabalhos os efluentes continham o 17 $\beta$ -estradiol e que, em muitos deles, longos períodos de tempo de tratamento foram requeridos.

Os processos oxidativos (O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, fotocatalise com TiO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, Cl<sub>2</sub>) e a ozonização têm se mostrado tecnologias bastante promissoras para a oxidação do 17 $\beta$ -estradiol visando o tratamento de água e esgoto doméstico.

JIANG *et al.*<sup>74</sup> estudaram a degradação oxidativa do estrogênio natural 17 $\beta$ -estradiol (E2) por MnO<sub>2</sub> em solução aquosa, bem como a provável rota de degradação. Encontraram que E2 pode ser degradado pelo MnO<sub>2</sub>, com uma velocidade de degradação que afastou-se daquela de uma cinética de pseudo-primeira-ordem devido ao acúmulo dos produtos da reação na superfície do óxido e uma mudança gradual na distribuição de sítios superficiais para sítios menos ativos. A quantidade de MnO<sub>2</sub> teve um efeito positivo na oxidação do E2, e ambas a velocidade inicial de reação e a adsorção do E2 na superfície do óxido aumentaram com o decréscimo do pH.

ZHANG & ZHOU<sup>75</sup> relataram que a fotodegradação dos estrogênios E1 e E2, auxiliada pelo catalisador TiO<sub>2</sub>, é possível usando radiação solar; entretanto, a fotodegradação foi mais eficiente usando radiação UV, devido à forte absorvância de energia UV pelos EDCs. Na presença de radiação solar, este

processo também independia da concentração inicial e da matriz, sugerindo o grande potencial desta técnica no tratamento de outros poluentes orgânicos presentes em águas residuárias ou naturais.

LIN *et al.*<sup>76</sup> relataram uma investigação do processo de oxidação de E1, E2 e dietil-estilbestrol (DES) em soluções aquosas (pH 3-9) via ozonização, com eficiência de degradação de 94% para E1 e 100% para E2 e DES no pH 9. Durante a oxidação dos estrogênios, observou-se decréscimo do pH e aumento da condutividade elétrica. A quantidade de CO<sub>2</sub> gerada foi medida em diferentes intervalos para investigar o grau de mineralização e a relação entre a eficiência de mineralização e a eficiência de degradação. Depois de 10 min, a eficiência de degradação para os três estrogênios foi de quase 100%, porém a mineralização para E1, E2 e DES foi de somente 6,06%, 13,6% e 47,1%, respectivamente.

Embora essas técnicas apresentem resultados promissores, há alguns inconvenientes, tais como, no caso da ozonização, seu alto custo de produção além das limitações por transferência de massa do O<sub>3</sub> gasoso à fase aquosa. Já no caso da fotocatalise, os principais inconvenientes são aqueles de ordem prática, ou seja, das dificuldades de aplicação em larga escala, de penetração da radiação no meio reacional e de separação dos catalisadores que são utilizados na forma de finas suspensões. Nesse sentido, os métodos de tratamento eletroquímico configuram-se como uma alternativa promissora. Dependendo do material de eletrodo, compostos aromáticos podem ser diretamente mineralizados em um processo onde o principal reagente envolvido é o elétron, que é um reagente limpo e, em geral, não são necessários reagentes extras<sup>58</sup>.

### 1.7 – Oxidação eletroquímica dos poluentes orgânicos: fundamentos e aplicação

No tratamento eletroquímico de efluentes, o processo oxidativo dos poluentes orgânicos pode ocorrer de diferentes formas na superfície do eletrodo,

removidos por<sup>77</sup>: (i) eletrólise direta, onde ocorre a troca direta de elétrons entre o poluente e a superfície do anodo, sem envolver nenhuma outra substância; (ii) eletrólise indireta, onde, neste caso, não há troca direta de elétrons com a superfície do anodo, mas com espécies eletroativas presentes na solução. Neste caso, por oxidação indireta mediada por radicais hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ) e/ou por outras espécies oxidantes advindas de sais inorgânicos. Deste modo, a eletrólise pode ser um processo reversível ou irreversível, e o agente redox também pode ser gerado por ambos os processos, anódico e catódico.

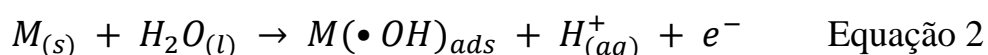
No processo de oxidação dos poluentes orgânicos por eletrólise direta, eles são oxidados somente depois de sua adsorção na superfície do eletrodo utilizado como anodo, com a transferência direta de elétrons, seguindo a equação abaixo, onde  $R_{ads}$  e  $P_{ads}$  representam o reagente e o produto adsorvido, respectivamente.



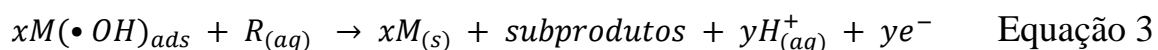
Segundo PANIZZA & CERISOLA<sup>77</sup>, a eletrooxidação direta de poluentes orgânicos pode ser realizada em potenciais de eletrodo abaixo do da reação de desprendimento de oxigênio (RDO); no entanto, dependendo da atividade eletrocatalítica do material utilizado como anodo, a velocidade de reação pode apresentar baixa velocidade de oxidação. Os materiais que se destacam por apresentarem altas taxas de reação eletroquímica são os metais nobres Pt e Pd, assim como os anodos de  $\text{IrO}_2$ ,  $\text{Ru}_x\text{Ti}_y\text{O}_2$ ,  $\text{Ir}_x\text{Ti}_y\text{O}_2$  e  $\text{PbO}_2$ . Porém, em potenciais de eletrodo abaixo do da RDO, observa-se um decréscimo da atividade catalítica desses anodos, causado por efeito de envenenamento devido à formação de uma camada polimérica na superfície do eletrodo. Esse efeito de desativação, também depende de outras variáveis como as propriedades de adsorção da superfície do anodo, a concentração do poluente e a natureza do composto orgânico de interesse juntamente com as de seus intermediários de

degradação. O decréscimo da atividade eletrocatalítica é menos pronunciado, em especial, para os eletrodos que apresentam fraca adsorção.

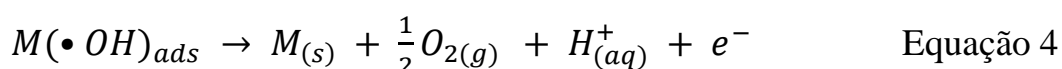
A eletrooxidação dos poluentes orgânicos envolve a transferência de oxigênio da água para os poluentes. Inicialmente, aplicando-se potenciais acima da RDO ( $E > 1,23 \text{ V} / \text{EPH}$ ), a oxidação da água leva à formação de radicais  $\bullet\text{OH}$  adsorvidos nos sítios ativos M do eletrodo, conforme apresentado abaixo<sup>78</sup>:



Esses radicais  $\bullet\text{OH}$  adsorvidos na superfície do eletrodo reagem com a molécula orgânica de interesse (R) presente na solução aquosa:



Esta reação de eletrooxidação dos compostos orgânicos compete com reação de descarga anódica desses radicais, formando oxigênio molecular:



A atividade eletrocatalítica dos radicais  $\bullet\text{OH}$  está diretamente atrelada ao tipo de sua interação com a superfície do eletrodo (M). Como regra geral, quanto mais fraca a interação dos radicais  $\bullet\text{OH}$  com o material de anodo, menor a atividade eletroquímica para a RDO (reação 4 é pouco pronunciada), favorecendo a oxidação dos compostos orgânicos (reação 3). KAPALKA *et al.*<sup>78</sup> classificaram diferentes materiais de eletrodo utilizados como anodo considerando seus poderes de oxidação – vide Tabela 1.3. O potencial de oxidação dos anodos, que corresponde ao potencial inicial da RDO, está diretamente atrelado ao sobrepotencial de evolução de oxigênio e à entalpia de adsorção dos radicais hidroxila na superfície do anodo. Portanto, o poder de oxidação de um



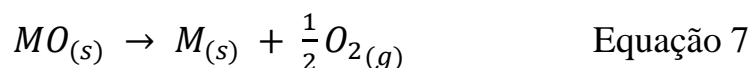
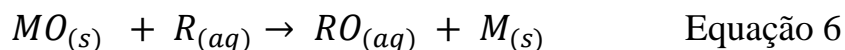
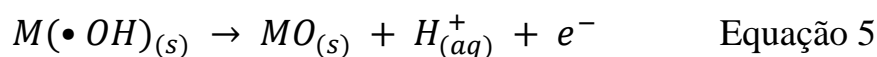
anodo será maior quanto mais alto for o sobrepotencial para a RDO. Desse modo, um anodo de baixo poder oxidante é caracterizado pela forte interação do radical  $\bullet\text{OH}$  com o eletrodo, levando a uma alta atividade eletroquímica para a RDO (baixo sobrepotencial do anodo) e uma baixa reatividade química para a oxidação da molécula orgânica (baixa eficiência de corrente para oxidação de compostos orgânicos).

Em certos materiais de eletrodo, a interação dos radicais  $\bullet\text{OH}$  com a superfície pode ser tão forte, que passa a fazer parte da estrutura cristalina do óxido, formando espécies com estados de oxidação superiores, como, por exemplo, o composto  $\text{IrO}_2$  que passa a  $\text{IrO}_3$  (Equação 5). Esses óxidos, são conhecidos como materiais “ativos”, por participarem efetivamente da reação de oxidação do composto orgânico, devido à formação do par redox  $\text{MO}/\text{M}$  (Equação 6), que compete com a RDO (Equação 7). Em contrapartida, os materiais cujo radicais  $\bullet\text{OH}$  estão fraca e fisicamente adsorvidos na superfície do eletrodo são conhecidos como “não-ativos”<sup>79,80</sup>.

TABELA 1.3 – Poder de oxidação dos anodos utilizados durante a oxidação eletroquímica em meio ácido<sup>78</sup>

Anodo	Potencial de oxidação / V	Sobrepotencial para a RDO / V	Entalpia de adsorção para a espécie $\text{M}(\bullet\text{OH})$	Poder de oxidação do anodo
$\text{RuO}_2\text{-TiO}_2$ (ADE*- $\text{Cl}_2$ )	1,4 – 1,7	0,18	Quimiossorção	
$\text{IrO}_2\text{-Ta}_2\text{O}_5$ (ADE*- $\text{O}_2$ )	1,5 – 1,8	0,25		
Ti-Pt	1,7 – 1,9	0,3		
Ti/ $\text{PbO}_2$	1,8 – 2,0	0,5		
Ti/ $\text{SnO}_2\text{-Sb}_2\text{O}_3$	1,9 – 2,2	0,7		
p-Si/BDD	2,2 – 2,6	1,3	Fisiossorção	

\*ADE: anodo dimensionalmente estável



Como pode ser visto na tabela acima, o eletrodo de BDD apresenta um alto poder de oxidação. Assim, o uso de eletrodos de BDD para oxidação anódica de poluentes tóxicos e biologicamente refratários tem recebido grande atenção, conforme revisado por PANIZZA & CERISOLA<sup>77,81</sup> e ALFARO *et al.*<sup>82</sup>. Entretanto, pouca atenção tem sido dada ao tratamento eletroquímico de efluentes/soluções que contêm estrogênios naturais. Na literatura, encontrou-se apenas alguns trabalhos (e somente nos últimos anos) relacionados à degradação eletroquímica de alguns estrogênios utilizando eletrodos de BDD<sup>83-85</sup>, Ti-Pt<sup>85,86</sup>, Ti/IrO<sub>2</sub> (DSA)<sup>85</sup> e Ti/SnO<sub>2</sub><sup>87</sup>.

MURUGANANTHAN *et al.*<sup>83</sup> estudaram algumas variáveis na degradação eletroquímica do 17β-estradiol (E2): concentração inicial de E2, densidade de corrente aplicada, eletrólito suporte (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub> e NaCl), pH inicial do eletrólito (pH 2-10) e anodos usados (BDD, Pt e carbono vítreo). Usando BDD, observaram que a eletrólise realizada em alto potencial anódico resulta na completa oxidação de E2, sendo que cinética para o processo de degradação foi de pseudo-primeira-ordem, observada através do decaimento da concentração do E2 em função da densidade de corrente aplicada (12,5 mA cm<sup>-2</sup> ≤ *I*<sub>appl</sub> ≤ 50 mA cm<sup>-2</sup>). Em relação ao pH, em pH 10, obtiveram 100% de degradação de E2 após apenas 7,5 min de eletrólise. Segundo os autores, a rápida degradação em pH 10 pode ser atribuída ao valor de p*K*<sub>a</sub> de E2, 10,4. No estudo comparativo dos anodos utilizados, observou-se um curto período de tempo de

eletrólise na degradação do E2 quando se utilizou o BDD (30 min); porém, para os eletrodos de carbono vítreo e Pt, tempos maiores foram necessários (120 min) e, mesmo assim, as moléculas de E2 não foram totalmente degradadas (22% e 90%, respectivamente).

Em outro trabalho, YOSHIHARA & MURAGANANTHAN<sup>84</sup> estudaram a degradação anódica dos CDEs 17 $\beta$ -estradiol (E2) e bisfenol A (BFA), utilizando um eletrodo de BDD e investigando o efeito das mesmas variáveis já estudadas por MURUGANANTHAN *et al.*<sup>83</sup>. Os estudos cinéticos sugerem que a reação de eletroxidação destes CDEs é controlada pela densidade de corrente e obedecem a uma cinética de pseudo-primeira ordem. A eletrólise feita em pH 10 foi mais rápida para ambos CDEs; segundo os autores, isso pode ser atribuído aos valores de  $pK_a$  das moléculas (10,4, para E2, e 9,59 e 10,20, para BFA). Nenhum efeito significativo foi observado para os eletrólitos suporte  $Na_2SO_4$  e  $NaNO_3$ , indicando que ânions  $S_2O_8^{2-}$  não são capazes de degradar os intermediários mais resistentes. Por outro lado, uma eficiência de mineralização muito baixa foi observada quando  $NaCl$  foi utilizado como eletrólito suporte. Em estudo comparativo de eletrodos de trabalho (BDD, Pt e carbono vítreo) em condições similares, o BDD apresentou melhores resultados para a mineralização dos compostos.

Em trabalho publicado recentemente por CHEN & HUANG<sup>85</sup> sobre a eletrodegradação de estriol (E3), alguns parâmetros operacionais ([E3], densidade de corrente e temperatura) na eletrodegradação do E3 foram investigados utilizando eletrodos de BDD, Ti/Pt e Ti/IrO<sub>2</sub>. Os estudos cinéticos apresentaram cinética de pseudo-primeira ordem para o eletrodo de BDD. No estudo comparativo entre eletrodos, o decaimento relativo de E3 foi consideravelmente rápido, 100% em apenas 8 min, utilizando o eletrodo de BDD, enquanto para os eletrodos de Ti/Pt e Ti/IrO<sub>2</sub> foram necessários 30 min, isto é, um tempo aproximadamente quatro vezes maior em relação ao para o eletrodo de BDD.

### 1.8 – Objetivos

Considerando o exposto acima, os objetivos desta tese são:

- 1) Desenvolver método eletroanalítico para a determinação do estrogênio natural estrona (compostos desreguladores endócrinos), em baixa concentração em meio aquoso;
- 2) Investigar a degradação eletroquímica de estrona, utilizando anodos de diamante dopado com boro, na ausência e na presença de íons cloreto na solução, com estudo mecanístico.

## 2 – Material e Métodos

### 2.1 – Caracterização e detecção eletroquímica

#### 2.1.1 – Eletrodos

Os eletrodos de BDD utilizados como eletrodos de trabalho foram produzidos na Suíça, pela empresa “*Adamant Technologies S.A.*” ou pelo “*Centre Suisse d’Electronique et d’Microtechnique*”. Medidas comparativas foram realizadas com um eletrodo de carbono vítreo (CG) produzido no Japão, pela empresa *Tokai Ltd.* Os eletrodos utilizados apresentam área geométrica de  $0,32 \text{ cm}^2$ , com valor estimado de dopagem de 8000 ppm de boro. Como eletrodo auxiliar, utilizou-se um placa de platina com área de aproximadamente  $2 \text{ cm}^2$ . Como eletrodo de referência, utilizou-se um eletrodo de Ag/AgCl ( $\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$ ), produzido no próprio laboratório (LaPE – Laboratório de Pesquisas em Eletroquímica, DQ-UFSCar).

#### 2.1.2 – Célula eletroquímica

As medidas eletroquímicas foram realizadas em uma célula eletroquímica de um único compartimento, com capacidade para aproximadamente 50 mL de solução eletrolítica, contendo uma tampa com entradas para três eletrodos e outra para a adição do analito.

### 2.1.3 – Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados nos experimentos eram de pureza analítica (PA), e todas as soluções foram preparadas em água destilada e deionizada (Milli-Q®).

Na caracterização eletroquímica dos eletrodos, utilizou-se uma solução do par  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  (Mallinckrodt 99,96% / Sigma Aldrich 99,99%) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  (EMD Chemicals Inc. 95 – 98%). As soluções estoque de estrona (Sigma 99%), por outro lado, foram preparadas nas concentrações de  $1,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e  $1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , em metanol, por questão de solubilidade.

Foi preparada uma solução-tampão de Britton-Robinson (B-R)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , utilizando-se ácido acético (Merk 100%), ácido bórico (Acros Organics 99,5%) e ácido fosfórico (Mallinckodt 85%), todos em concentração de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; a correção de pH foi feita com uma solução de hidróxido de sódio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Também preparou-se uma solução-tampão de fosfato de potássio monobásico anidro (Synth 99%)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; neste caso, correções de pH foram feitas com soluções de hidróxido de potássio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e de ácido sulfúrico (J.T. Baker 98% *m/m*) em diferentes concentrações.

### 2.1.4 – Tratamento de superfície dos eletrodos

As terminações na superfície de eletrodos de BDD podem apresentar grande influência na sua resposta eletroquímica. Com base em alguns estudos realizados pelo grupo<sup>22,34,37,24–27,88,53,36,30–33</sup>, optou-se realizar a polarização catódica nos eletrodos de BDD. Conseqüentemente, no início de cada dia de trabalho, eram realizados pré-tratamentos anódico e catódico, nesta ordem, antes de realizar as medidas de caracterização do eletrodo e detecção da estrona. Assim,

no pré-tratamento anódico, aplicava-se uma densidade de corrente ( $j$ ) de  $500 \text{ mA cm}^{-2}$  durante  $60 \text{ s}$  ( $q_a = 9,6 \text{ C}$ ). Em seguida, no pré-tratamento catódico, aplicava-se  $j = -500 \text{ mA cm}^{-2}$  em um intervalo de tempo seis vezes maior que o utilizado no pré-tratamento anódico,  $360 \text{ s}$  ( $q_c = -57,6 \text{ C}$ ); espera-se que, com este intervalo de tempo maior de pré-tratamento catódico, seja garantida a retirada de grupos oxigenados da superfície do eletrodo, substituídos simplesmente por terminações de hidrogênio. A polarização anódica, neste caso, foi utilizada para oxidar eventuais compostos orgânicos contaminantes presentes na superfície do eletrodo.

O procedimento de limpeza para o eletrodo de GC foi seguido de acordo com um protocolo já estabelecido no laboratório do Professor Greg M. Swain<sup>55</sup>. Antes de cada medida, realizava-se o polimento da superfície do eletrodo com alumina em ordem decrescente de tamanho de grãos ( $1,0$ ,  $0,3$  e  $0,05 \mu\text{m}$ ). A alumina era umedecida com água ultrapura e o polimento era realizado em feltros de polimento individuais (Buehler Ltd.). Depois de cada etapa de polimento, o eletrodo recebia um tratamento de limpeza em água deionizada em um banho ultrassônico por  $10 \text{ min}$ . Ao final da etapa de limpeza, repetia-se o procedimento por mais  $20 \text{ min}$  no banho ultrassônico, agora contendo isopropanol ultrapuro.

### 2.1.5 – Equipamentos e técnicas de caracterização

A seguir, estão descritos as técnicas e equipamentos usados na parte deste trabalho desenvolvida no laboratório do Prof. Swain na Universidade Estadual de Michigan (MSU):

- MEV – a morfologia dos eletrodos foi examinada usando um microscópio eletrônico de varredura da Jeol (JSM-7500, Jeol Ltd., Japão), com um canhão de campo de emissão de aceleração com voltagem de  $5 \text{ kV}$ . Um

segundo detector de elétrons foi usado para detectar a imagem da superfície.

- AFM – a topografia dos filmes foi investigada usando um microscópio Nanoscope II da Digital Instruments (EUA) no modo de contato. Imagens foram adquiridas à temperatura ambiente. Agulhas de  $\text{Si}_3\text{N}_4$  foram montadas em vigas de ouro (pernas triangulares de 120  $\mu\text{m}$ , constante de mola de 0,38  $\text{N m}^{-1}$ ).
- RAMAN – a microestrutura dos filmes foi analisada por espectroscopia de Raman. Os respectivos espectros foram obtidos à temperatura ambiente usando um espectrômetro Chromex Raman 2000, equipado com um laser Nd:AYG ( $\lambda = 532 \text{ nm}$ ). As amostras foram expostas a um laser de 17 mW (tamanho do ponto de ca. 3  $\mu\text{m}$ ) para um tempo de integração de 10 s. Os sinais foram coletados em um detector de dispositivo de carga acoplada (*charge-coupled device* – CCD) na temperatura de  $-38 \text{ }^\circ\text{C}$ . A calibração do espectrômetro foi realizada com um pedaço de cristal de diamante, padrão do tipo IIa.
- Caracterização da resposta eletroquímica do eletrodo utilizando o par  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ , do comportamento eletroquímico da estrona em diferentes superfícies de eletrodo e sua detecção usando um sistema em fluxo foram realizadas com um potenciostato 650B (CH Instruments, EUA).

Nos experimentos para a detecção eletroquímica da estrona (Brasil), foram feitos estudos utilizando as voltametrias cíclica, de pulso diferencial e de onda quadrada. Para tanto, foi utilizado um potenciostato/galvanostato PGSTAT30 – Echochemie, interfaciado a um microcomputador para aquisição e registro de dados.



Nas pesagens, utilizou-se uma balança analítica Sartorius modelo CP225D, para a estrona, e uma balança analítica Mettler Toledo modelo AB204, para os demais reagentes sólidos.

As medidas de pH das soluções foram feitas utilizando-se um pHmetro Micronal modelo B374.

### 2.1.6 – Metodologia eletroanalítica

#### 2.1.6.1 – Voltametrias cíclica, de pulso diferencial (*differential pulse voltammetry* – DPV) e de onda quadrada (*square wave voltammetry* – SWV)

Inicialmente, utilizou-se a técnica de voltametria cíclica para obter o perfil voltamétrico do eletrodo de BDD em solução de eletrólito suporte e do estrogênio natural estrona através do pico de oxidação em uma determinada região de potencial, além da escolha do melhor eletrólito suporte e seu pH. Também, investigou-se as potencialidades de uso das técnicas eletroquímicas de SWV e DPV no desenvolvimento de um procedimento para a determinação eletroanalítica da estrona. Alguns parâmetros físicos das técnicas SWV [frequência de aplicação do pulso ( $f$ ), amplitude de potencial ( $a$ ) e incremento de varredura ( $\Delta E$ )] e DPV [velocidade ( $v$ ), amplitude de potencial ( $a$ ) e tempo de modulação do pulso ( $t$ )] foram minuciosamente otimizados visando obter melhores respostas de sinal de corrente do processo de oxidação da estrona na superfície do eletrodo de BDD.

Para a realização dessas medidas, nos testes iniciais, adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  da solução estoque ( $1,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) em 40 mL do eletrólito suporte na célula eletroquímica. Antes de cada medida ser realizada, a solução foi agitada por 3 min; os ensaios foram realizados em triplicata.

Uma vez otimizados os parâmetros, as curvas analíticas passaram a ser obtidas pela adição de alíquotas de 50  $\mu\text{L}$  da solução padrão ( $1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) à célula eletroquímica já contendo o eletrólito suporte. O limite de detecção ( $LD$ ) foi calculado a partir da relação sinal de resposta e de ruído, usando a seguinte equação:

$$LD = 3 (\text{sinal} / \text{ruído}) \quad \text{Equação 8}$$

O estudo de repetibilidade intra-dia foi realizado através de medidas voltamétricas consecutivas ( $n = 10$ ) de três concentrações diferentes de cada analito.

O estudo de repetibilidade entre-dias foi realizado através de medidas voltamétricas ( $n = 3$ ) de três concentrações diferentes em 5 dias diferentes.

No estudo de recuperação, diferentes matrizes aquosas (água MilliQ, de torneira e de represa) foram avaliadas e fortificadas com estrona em três níveis de concentração: 0,4, 1,4 e 1,7  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . As amostras da água de represa foram coletadas em uma represa localizada na Universidade Federal de São Carlos – campus São Carlos. Para as amostras de água de torneira, analisadas pelo método eletroquímico, não realizou-se nenhuma filtração ou tratamento prévio; as amostras coletas no lago foram apenas filtradas em um filtro com tamanho de poro de 1  $\mu\text{m}$ . Previamente ao uso do sistema LC, filtrou-se previamente as amostras em um filtro de tamanho de poro de 0,22  $\mu\text{m}$ , para evitar entupimento da coluna analítica de separação.

O desempenho do método eletroquímico na detecção da estrona foi analisado comparativamente com um método de LC/UV-vis. O procedimento desenvolvido por LIN *et al.*<sup>76</sup> foi utilizado como método comparativo na detecção da estrona; com algumas adaptações. A coluna cromatográfica empregada foi uma Phenomenex C18 (15,0 cm x 0,46 cm, Luna Phenomenex® 5  $\mu\text{m}$ ; 100 Å). A fase

móvel foi uma mistura de acetonitrila e água, ACN:H<sub>2</sub>O 60:40 (V/V); usou-se uma vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>, com volume de injeção de 50 µL. O comprimento de onda ( $\lambda$ ) selecionado no detector UV-vis foi de 280 nm.

#### 2.1.6.2 – Detecção amperométrica da estrona utilizando um sistema de análise por injeção em fluxo (*flow injection analysis – FIA*)

A detecção amperométrica da estrona foi realizada utilizando um sistema FIA-EC, composto por um sistema propulsor, um amortecedor de pulso (*pulse dampener*), um injetor, um detector eletroquímico e tubos de polietileno de 0,8 mm de diâmetro interno. Um esquema do sistema de FIA é apresentado na Figura 2.1.

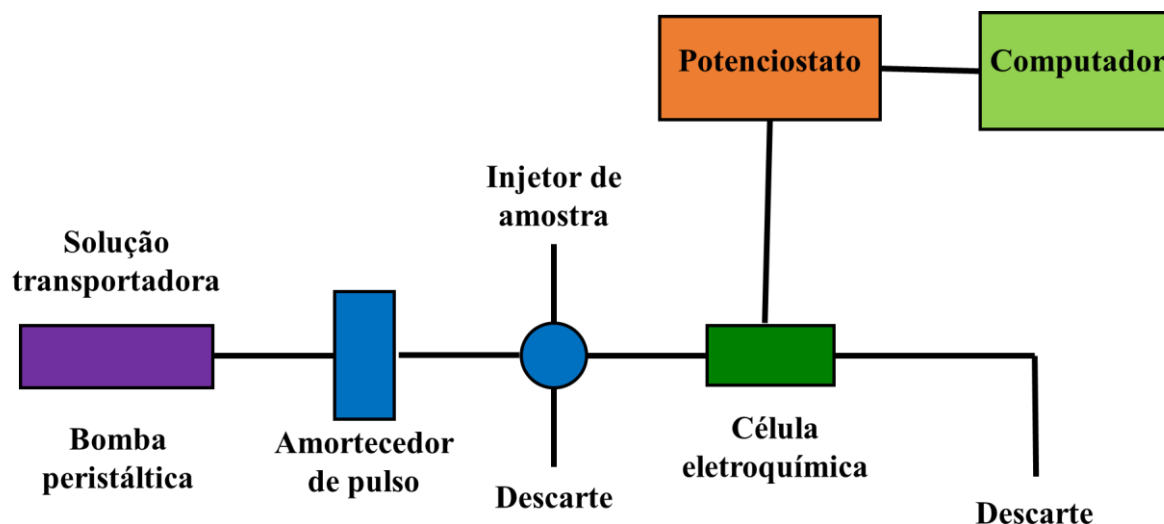


FIGURA 2.1 – Representação do sistema de FIA de linha única.

O sistema propulsor era uma bomba peristáltica Ismatec. As amostras e soluções de referência foram injetadas no sistema em fluxo utilizando um injetor comutador manual construído em acrílico. O amortecedor de pulso foi usado para minimizar o ruído causado pela bomba peristáltica.

A detecção e quantificação amperométrica da estrona utilizando o sistema de FIA foram realizadas utilizando um detector eletroquímico, construído com base em modelo projetado pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. Lúcio Angnes (IQ-USP) e modificado em nosso laboratório<sup>32,34</sup>. Na Figura 2.2 é apresentado um desenho da célula eletroquímica usada, do tipo *wall jet*. Nesta figura, (a) é a entrada da solução na célula eletroquímica, (b) a saída da solução para o descarte, e (c) a entrada para um eletrodo de referência miniaturizado de Ag/AgCl (KCl 3 mol L<sup>-1</sup>) (modelo 66-EE009, da Cypress Systems, uma divisão da ESA Biosciences, EUA). O contra-eletrodo (d), um tubo de aço, foi acoplado no buraco da saída da solução para o descarte (b). O anel de silicone (e) e o eletrodo de BDD (f) foram fixados entre os dois blocos de acrílico, deixando uma área exposta deste eletrodo de 0,32 cm<sup>2</sup>. O contato elétrico com o eletrodo de BDD foi feito por meio de um parafuso de aço (g), em contato com a superfície recoberta de ouro do substrato do eletrodo.

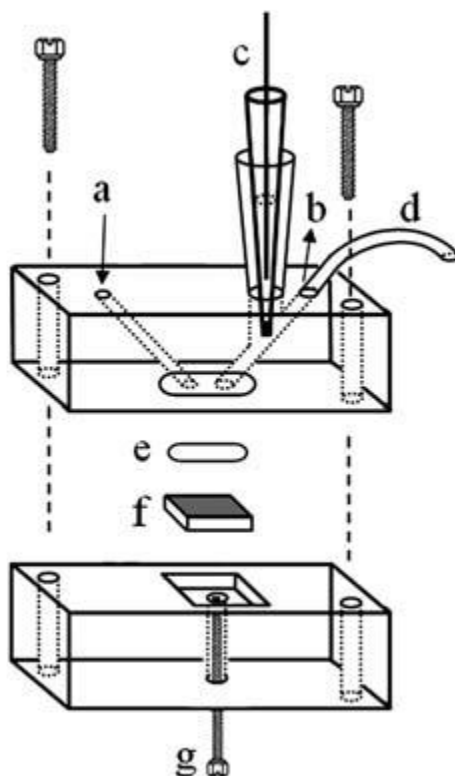


FIGURA 2.2 – Representação esquemática do detector eletroquímico usado na detecção da estrona por FIA: **a)** entrada da solução; **b)** saída da solução; **c)** eletrodo de referência; **d)** contra-eletródo (tubo de aço); **e)** anel de silicone (*O-ring*); **f)** eletrodo de BDD; **g)** parafuso metálico (contato elétrico com o eletrodo de trabalho). Figura reproduzida de ANDRADE *et al.*<sup>34</sup>.

As análises amperométricas foram realizadas utilizando como fase móvel (vazão = 1 mL min<sup>-1</sup>) uma solução aquosa de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup>, pH 0,3.

Para a obtenção das curvas de calibração, primeiramente foi preparada uma solução estoque de estrona 200 μmol L<sup>-1</sup> em metanol. Em seguida, por diluição da solução estoque, soluções de trabalho de estrona foram preparadas em metanol nas concentrações de 6,00, 8,00, 10,0, 20,0, 40,0, 80,0, 100, e 200 μmol L<sup>-1</sup>. Finalmente, soluções padrão de calibração nas concentrações de 60, 80, 100, 200, 400, 800, 1000, e 2000 nmol L<sup>-1</sup> em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup> (pH 0,3), foram preparadas individualmente para a construção da curva de calibração. As amostras de controle de qualidade (CQ) foram preparadas em três níveis de concentração:

100, 1000 e 1700 nmol L<sup>-1</sup>. As soluções usadas na obtenção da curva de calibração também foram usadas para o estudo de recuperação da estrona em matrizes aquáticas: água de torneira e rio. As amostras da água de rio foram coletadas no *Red Cedar River*, localização: +42° 42' 38,70", -84° 28' 39,09", Universidade Estadual de Michigan (MSU) – East Lansing, EUA, no mês de setembro de 2012. As amostras de água de torneira foram usadas sem nenhuma filtração ou tratamento prévio; as amostras coletadas no rio foram filtradas apenas em um filtro com tamanho de poro de 1 µm.

### 2.2 – Degradação eletroquímica da estrona utilizando um eletrodo de Nb/BDD

#### 2.2.1 – Ensaios eletroquímicos com anodo de Nb/BDD: Características e sistema eletroquímico utilizado

Os ensaios de eletrooxidação de soluções contendo estrona foram realizados em solução aquosa Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A faixa de pH foi ajustada com soluções aquosas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ou NaOH. O volume total de solução de estrona 500 µg L<sup>-1</sup> utilizado na eletrólise foi de 500 mL. O sistema eletroquímico em fluxo (Figura 2.3) era composto por: (1) um reservatório termostaticado por um banho; (2) reator eletroquímico; (3) fonte de energia IMPAC (modelo 3645 A); (4) bomba centrífuga de rotor magnético; (5) rotâmetro para controlar a vazão; e (6) válvula de controle de vazão.

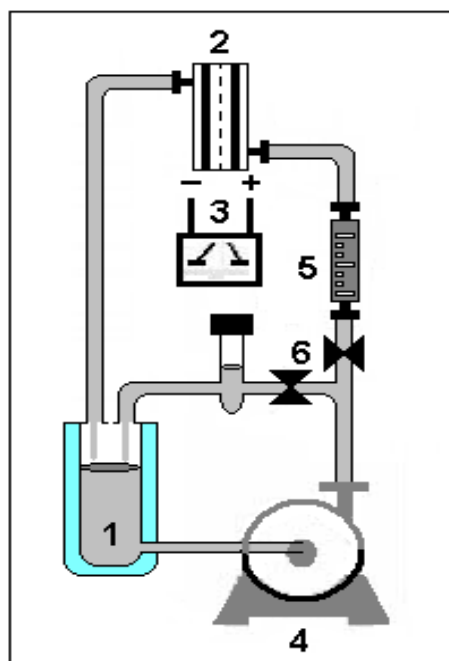


FIGURA 2.3 – Representação do sistema usado na eletroxidação da estrona. 1 – reservatório, 2 – reator eletroquímico, 3 – fonte de energia, 4 – bomba, 5 – rotâmetro, e 6 – válvula de controle.

O reator do tipo filtro-prensa (Figura 2.4) era composto por dois contra-eletrodos de aço inoxidável (1), um eletrodo de Nb/BDD (2), fixado em uma placa de acrílico com cola do tipo epóxi, e duas placas de silicone (3), usadas para vedação.

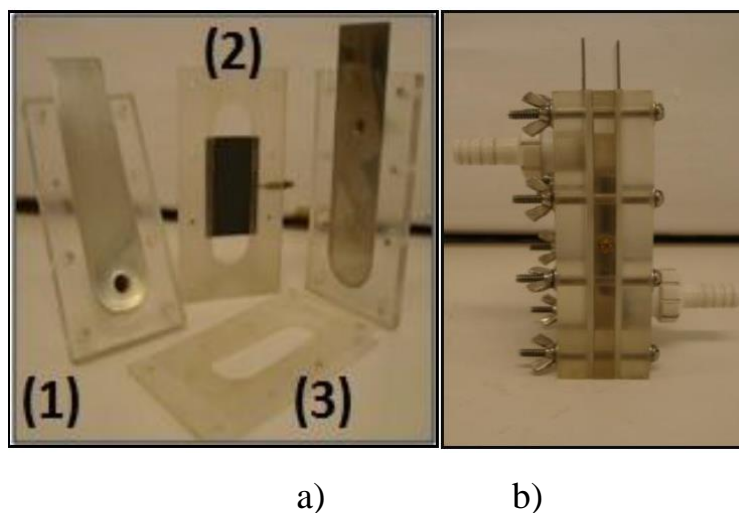


FIGURA 2.4 – **a)** Partes do reator eletroquímico do tipo filtro-prensa: (1) contra-eletrodo de aço inoxidável; (2) eletrodo de trabalho; e (3) placas de silicone para vedação. **b)** Reator eletroquímico do tipo filtro-prensa montado.

O eletrodo de Nb/BDD, fabricado pela empresa *Condias* (Alemanha), apresenta área geométrica em cada face de 2,5 cm x 3,0 cm (área total = 15 cm<sup>2</sup>). O filme de diamante dopado com boro (dopagem na faixa 2500 – 4000 ppm) estava depositado sobre um substrato de nióbio. Antes da realização de cada experimento, este eletrodo era submetido a um pré-tratamento anódico em solução aquosa de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>, aplicando-se  $j = 30 \text{ mA cm}^{-2}$  por 15 min, para a oxidação de possíveis compostos orgânicos aderidos à superfície do eletrodo.

### 2.2.2 – Análise dos experimentos realizados com o anodo de Nb/BDD

Inicialmente, pensava-se em analisar a eletrooxidação da estrona através das técnicas de DQO (demanda química de oxigênio), COT (carbono orgânico total) e LC/UV-vis. No entanto, após constatar que a solubilidade máxima da estrona em meio aquoso é de aproximadamente 1 mg L<sup>-1</sup>, optou-se por solubilizar previamente a estrona em metanol e, em seguida, adicionar pequenas alíquotas dessa solução no reator até atingir a concentração desejada.



Contudo, embora o metanol proporcionasse solubilidade para a molécula em meio aquoso, ele competia diretamente pelos radicais  $\bullet\text{OH}$  produzidos durante a eletrooxidação. Em testes preliminares, isto foi confirmado por meio de experimentos realizados em diferentes valores de concentração, densidade de corrente e vazão, sendo que, em todos os casos, a cinética de degradação manteve-se constante. Além disso, as moléculas de metanol, por possuírem carbono em sua estrutura química, introduzem erros nas análises de DQO e COT. Desse modo, procurou-se investigar a degradação da estrona em baixas concentrações ( $< 1 \text{ mg L}^{-1}$ ), seguindo metodologia proposta por MURUNAGATAN *et al.*<sup>83</sup>. Assim, a solução estoque de estrona foi preparada em água ultrapura MilliQ, adicionando estrona em excesso e borbulhando  $\text{N}_2$  na solução por 1 h. Em seguida, a solução foi filtrada para deixar a solução livre do remanescente não-solúvel. A concentração final de estrona foi confirmada por método validado de LC/UV-vis. A solução de trabalho, portanto, foi obtida pela diluição da solução estoque de estrona em água deionizada. Portanto, o problema de solubilidade da estrona foi resolvido, mas, por outro lado, surgiu um novo problema: a concentração inicial de estrona estava próxima dos limites de detecção dos métodos de DOQ e COT disponíveis. Desse modo, optou-se por estudar a cinética do decaimento da concentração da estrona apenas pela técnica de LC/UV-vis. Assim, seguindo-se critérios vigentes da ANVISA (guia de validação de métodos analíticos e bioanalíticos, RE nº 899, 29 de maio de 2003), foi validado um método cromatográfico de LC/UV-vis para monitorar a degradação da estrona. Alguns dos parâmetros cromatográficos são:

- coluna analítica: C18 (15,0 cm x 0,46 cm, Luna Phenomenex<sup>®</sup> 10  $\mu\text{m}$ ; 100  $\text{\AA}$ );
- fase móvel: ACN:H<sub>2</sub>O 60:40 (V/V);
- volume de injeção: 50  $\mu\text{L}$ ;
- vazão: 1  $\text{mL min}^{-1}$ ;
- $\lambda = 280 \text{ nm}$ .

Na validação do método cromatográfico, utilizou-se um equipamento de HPLC da Shimadzu (Kyoto, Japão), com bomba LC-10ATVP, válvula seletora de solvente FCV-10AL, auto-injetor SIL 10AVP, desgasificador DGU-14A, detector UV-vis SPD-6AV, interfaciado (SCL10AVP) a um microcomputador (Class-VP software - Shimadzu) para aquisição de registro de dados.

Nos estudos de decaimento relativo da concentração da estrona com o tempo de eletrólise, foram investigados alguns parâmetros que poderiam influenciar diretamente na cinética de degradação da molécula: vazão,  $j$ , concentração, pH e a presença de íons cloreto. Em seguida, em caráter comparativo, o desempenho do eletrodo de Nb/BDD na eletrólise da estrona foi comparado com o do eletrodo de  $\beta$ -PbO<sub>2</sub>.

### 2.2.3 – Identificação de intermediários reacionais e proposta de mecanismo de degradação da estrona por LC-MS/MS

Os ensaios de identificação de alguns dos intermediários formados durante a eletrooxidação da estrona foram realizados por LC-MS/MS. A formação desses intermediários foi avaliada em pH 3, 7 e 10. De modo a avaliar a possível interferência de espécies oxidantes de cloro (cloro ativo) na formação dos intermediários, os mesmos experimentos também foram realizados na presença de íons cloreto. Investigou-se ainda se há formação de intermediários semelhantes na eletrólise da estrona com um eletrodo de  $\beta$ -PbO<sub>2</sub>.

As análises foram realizadas após tempos definidos de eletrólise (0, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 min), recolhendo alíquotas de 10 mL da solução. O método para trabalho das amostras foi de extração em fase sólida (SPE). Inicialmente, os cartuchos de C18 (Sampliq C18 Agilent) foram ativados com 10 mL de metanol e água no pH desejado. Após a filtragem de 10 mL da amostra de interesse sob vácuo, os cartuchos foram lavados com 3,0 mL de água, para garantir a completa

remoção de sais. Por fim, decorridos 5 min de secagem a vácuo, os compostos foram eluídos em 3,0 mL de metanol e, posteriormente, o solvente orgânico foi evaporado a vácuo (*speedvaq*) por 10 h a 45 °C. Finalmente, as amostras foram resuspendidas em 200 µL de metanol e água (1:1 V/V), respectivamente, e injetadas no LC-MS/MS.

Os ensaios de separação e detecção dos intermediários e da estrona foram realizados em um equipamento de LC (Agilent Technologies), com uma bomba quaternária (Agilent 1200) e um auto-injetor de amostra de alta performance (Agilent 1200) acoplado a um espectrômetro de massas (3200 QTRAP, Quadrupolo íon trap linear).

Na separação dos compostos, foi usada uma coluna C18 15,0 cm x 0,46 cm, Luna Phenomenex® 10 µm; 100 Å), acoplada a uma pré-coluna do mesmo material. A vazão foi de 1 mL min<sup>-1</sup>, no modo de eluição gradiente (Tabela 2.1) dos solventes metanol e água, com volume de injeção de 5 µL.

TABELA 2.1 – Programa da eluição gradiente com metanol e água, na separação da estrona e seus intermediários.

Tempo (min)	Vazão (µL min <sup>-1</sup> )	Fração de metanol (%)	Fração de água (%)
0	1,00	10	90
0,5	1,00	10	90
10	1,00	100	0.0
12	1,00	100	0,0
13	1,00	10	90
16	1,00	10	90

No presente estudo, a fonte de ionização *electrospray* (ESI) foi operada no modo negativo, com cortina de gás de 10 psi, *ionSpray* de -4,5 kV, potencial de desagrupamento (*declustering potential*) de -48 V e potencial de

entrada  $-5$  V. Além disso, a temperatura do capilar foi de  $700$  °C. A energia de colisão, usada na etapa de fragmentação (MS/MS), foi de  $-45$  eV. Inicialmente, as análises foram feitas no modo de varredura total de íons no intervalo de razão massa / carga ( $m/z$ )  $100 - 400$ .

### 3 – Resultados e Discussão

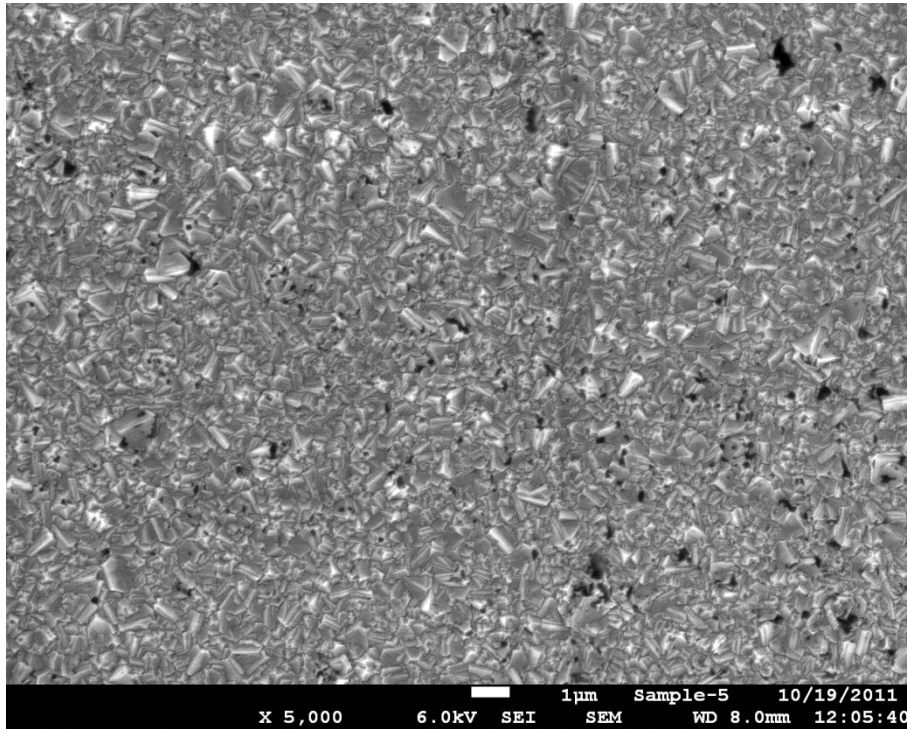
Neste capítulo, os dados estão organizados e apresentados em três tópicos: (i) caracterização física, morfológica e eletroquímica do eletrodo de BDD; (ii) detecção do hormônio estrona com o eletrodo de BDD utilizando diferentes técnicas eletroquímicas; (iii) degradação da estrona utilizando como anodo o eletrodo de BDD.

Entender as propriedades do eletrodo de BDD, possibilita analisar em um âmbito amplo suas potencialidades de aplicação. Por outro lado, como já apontado, os hormônios, incluindo a estrona, apresentam alta potencialidade de perturbação endócrina, com comportamentos eletroquímicos similares, influenciados pelo anel fenólico em suas estruturas. Assim, estudou-se o comportamento eletroquímico da estrona usando um eletrodo de BDD; em alguns casos, este comportamento foi comparado com aquele obtido com um eletrodo de GC. Por fim, as potencialidades do uso de um eletrodo de BDD na detecção e degradação da estrona foram estudadas em meio aquoso.

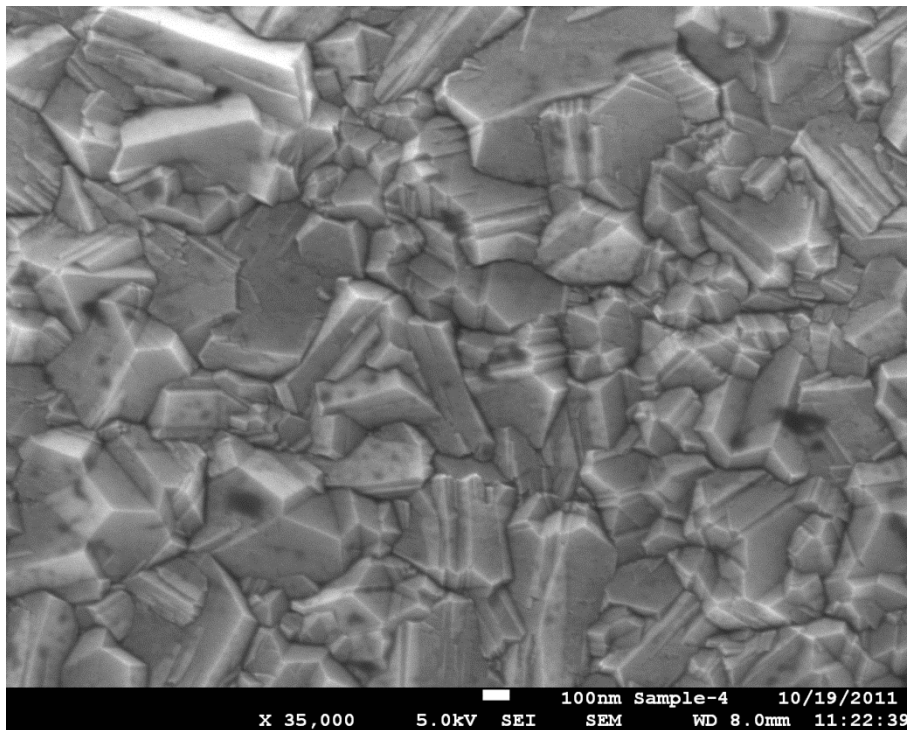
#### 3.1 – Caracterização superficial do eletrodo de BDD e GC

Geralmente, filmes policristalinos de BDD preparados pelo processo de deposição química de vapor (DQV), apresentam em sua morfologia altos valores de tamanhos de partículas e consecutivamente uma superfície altamente irregular<sup>89</sup>. Na Figura 3.1 está apresentada a microscopia de MEV para um filme policristalino de BDD, com aumentos de 5 e 35 mil vezes. Em virtude da nucleação secundária promovida pela incorporação de boro em altos níveis, correspondente a uma alta dopagem (aproximadamente 8000 ppm), observa-se claramente que os filmes de BDD apresentam uma estrutura piramidal com faces bem definidas, alta rugosidade e tamanho nominal de partícula variando entre 100 e 800 nm. Estudos relacionados à influência de diferentes níveis de dopagem de

boro em filmes de BDD mostram que o aumento do teor de boro acarreta uma redução do tamanho de grãos<sup>90</sup>. Os valores de tamanho de grãos para filmes de BDD com valores de dopagem de 100 ppm foram  $> 200$  nm; com o aumento da dopagem (500 – 6567 ppm), observou-se a redução do tamanho de partículas para valores ainda menores, em aproximadamente 15 nm. Neste trabalho, constatou-se que os valores de tamanhos de grão para um filme de BDD são superiores àqueles relatados na literatura, como já descrito anteriormente. Por outro lado, conforme estudo realizado por HUPERT *et al.*<sup>16</sup>, os filmes microcristalinos e nanocristalinos de BDD apresentam tamanhos médios de grãos de 2  $\mu\text{m}$  e 15 nm, respectivamente. Essas diferenças estão relacionadas a variações nos métodos de síntese. No caso dos filmes microcristalinos, a morfologia é caracterizada por uma estrutura de crescimento colunar, típico para filmes depositados a partir de misturas de gás metano e hidrogênio. Para filmes nanocristalinos, por outro lado, a síntese ocorre a partir de misturas de gás metano e argônio, acarretando em uma superfície mais lisa. Esses são exemplos típicos de como alguns parâmetros influenciam na morfologia desses filmes, outros como pressão, temperatura e razão entre os gases também devem ser considerados.



a)



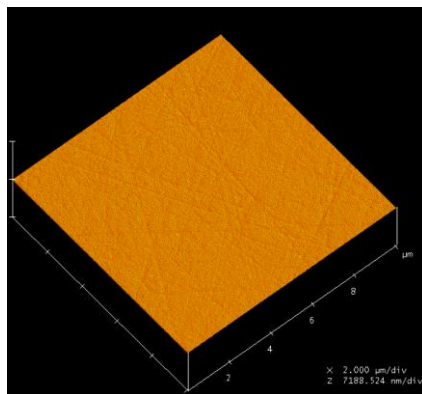
b)

FIGURA 3.1 – Micrografia de MEV da superfície de um eletrodo de BDD (8000 ppm). [Micrografia feita por Liang Liang – MSU, que autorizou o seu uso neste tese].

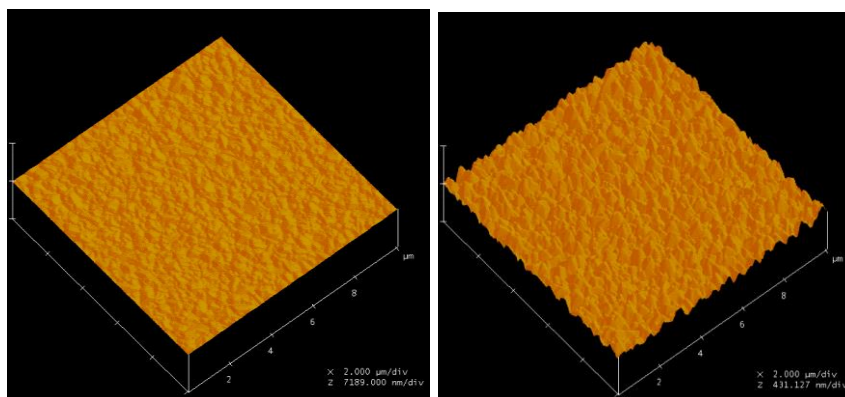
As micrografias de MEV fornece informações importantes em relação à morfologia da superfície dos filmes microcristalinos de BDD, no entanto são qualitativas. Neste sentido, imagens de microscopia de força atômica (AFM) foram realizadas para os eletrodos de BDD e GC, no intuito de fornecer informações quantitativas para os materiais, principalmente no que diz respeito ao tamanho de grãos ( $d$ ) e rugosidade quadrática da superfície ( $\sigma_{\text{rms}}$ ). Como é possível analisar na Figura 3.2a, o eletrodo de GC apresenta uma superfície lisa ( $\sigma_{\text{rms}} = 3,7$  nm). Na superfície do eletrodo de GC também observa-se alguns riscos na superfície, que são relacionados ao processo de polimento realizado, antes de cada medida, para limpeza da superfície.

Os filmes de BDD, por outro lado, apresentam morfologia diferente em comparação com a do eletrodo de GC (vide Figura 3.2b-c), possuindo um tamanho de grãos e rugosidade da superfície significativamente maiores. Para este filme, os valores de  $d$  e  $\sigma_{\text{rms}}$  foram  $617 \pm 82$  nm e 33 nm, respectivamente. Para avaliar se a dopagem dos filmes de BDD realmente influenciava na rugosidade e tamanho de grãos, o mesmo experimento foi realizado para um eletrodo de BDD com dopagem de boro de aproximadamente 2000 ppm (Figura 3.2d-e). Neste caso, os valores obtidos para  $d$  e  $\sigma_{\text{rms}}$  foram  $1360 \pm 180$  nm e 90,6 nm, respectivamente. Com base nesse dados, fica claro que o aumento da dopagem ou a adição de impurezas nos filmes de BDD reduz a rugosidade e o tamanho de grãos da superfície, sugerindo que os filmes de BDD apresentam características mais estáveis e cristalinas para teores relativamente altos de boro. Essas morfologias apresentadas são similares àquelas previamente relatadas para outros filmes de BDD<sup>90</sup>.

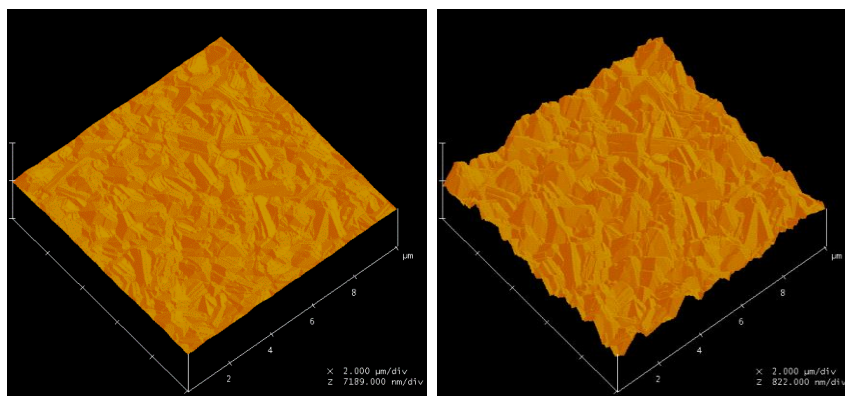




a)



b)c)



d)e)

FIGURA 3.2 – Imagens de AFM para eletrodos de **a)** carbono vítreo (GC), **b-c)** BDD com dopagem de 8000 ppm; **d-e)** BDD com dopagem de 2000 ppm.

Para melhor entender as propriedades do filme de BDD usado neste estudo, ele foi caracterizado por Raman e via eletroquímica, comparando os resultados com aqueles obtidos com o eletrodo de GC.

A espectroscopia Raman é amplamente utilizada por ser uma ferramenta analítica não destrutiva para caracterizar uma variedade de materiais à base de carbono, permitindo detectar variações no comportamento das ligações C-C e micro-estruturais devido a tratamentos plasma, ataques químico, incorporação de impurezas, dopantes e outros<sup>90</sup>. Os dois materiais de eletrodo usados no presente trabalho apresentam ligações do tipo  $sp^2$  e  $sp^3$ , como pode ser depreendido dos respectivos espectros de Raman (vide Figura 3.3). Geralmente, um monocristal de grafite apresenta apenas uma alta frequência de Raman de primeira ordem em  $1580\text{ cm}^{-1}$ , conhecido como pico  $G^{91-93}$ . Para grafites cristalinos finos ou desordenados com tamanho de partícula pequeno, outro pico aparece em aproximadamente  $1358\text{ cm}^{-1}$ , conhecido como pico  $D^{93-95}$ . O eletrodo de GC aqui investigado apresenta dois picos no intervalo de número de onda de  $1150-1800\text{ cm}^{-1}$ , com um máximo em  $1357\text{ cm}^{-1}$  (pico D) e outro em  $1582\text{ cm}^{-1}$  (pico G).

O diamante, por outro lado, devido às ligações  $sp^3$ , possui um único modo de fônons de Raman ativo de primeira ordem, que aparece como um sinal forte em  $1332\text{ cm}^{-1}$ <sup>90,96-99</sup>; este pico é observado em  $1324\text{ cm}^{-1}$  para o espectro dos filmes de BDD, o qual apresenta uma região com espalhamento entre  $1500-1600\text{ cm}^{-1}$ , que é comumente associado à presença de fases que não são diamante ou que contêm carbono com ligações  $sp^2$ . Por outro lado, a larga banda em aproximadamente  $1200\text{ cm}^{-1}$  deve-se, provavelmente, a uma contribuição de formas nanocristalinas no filme<sup>89</sup>.

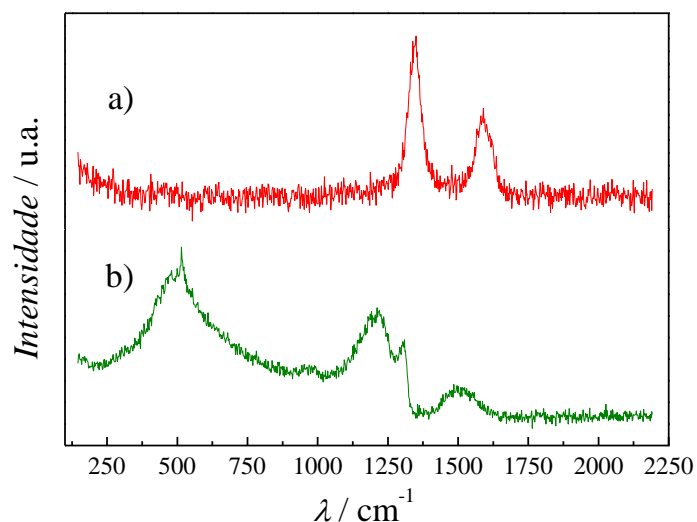


FIGURA 3.3 – Espectros de Raman para os eletrodos de carbono investigados: a) GC; b) BDD (8000 ppm).

### 3.2 – Caracterização eletroquímica dos eletrodos de BDD e GC

Para a caracterização eletroquímica dos eletrodos de BDD e GC, inicialmente investigou-se as suas janelas de potencial em solução aquosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , compreendendo a região de potencial desde a da reação de desprendimento de hidrogênio (RDH) até a da reação de desprendimento de oxigênio (RDO), i.e., a faixa de potencial em que a corrente observada é predominantemente capacitiva, sem que ocorra a decomposição da água. Conforme pode ser visto na Figura 3.4, para os eletrodos de BDD e GC esta janela de potencial é relativamente ampla. No entanto, diferenças significantes entre os dois materiais podem ser observadas, especialmente quanto às respectivas correntes capacitivas e potenciais da RDH e RDO, especialmente para o eletrodo de BDD. Comumente, os eletrodos de GC são amplamente utilizados em detecção eletroquímica de diversos compostos devido à sua ampla janela de potencial e baixo custo, contudo eles são susceptíveis a contaminações e queda de sinal,

observada através da queda de corrente com o decorrer do uso, fazendo-se necessário tratamento da superfície, geralmente polimento, após curtos intervalos de tempo. No caso do eletrodo de GC, a janela de potencial ocorre entre  $-0,8$  e  $1,25$  V *vs.* Ag/AgCl ( $\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$ ), com um pico de redução em  $-0,15$  V. Provavelmente, esse processo faradaico pode estar relacionado com funcionalidades carbono-oxigênio redox-ativas existentes em sítios de planos de borda do grafite<sup>96,97,99</sup>.

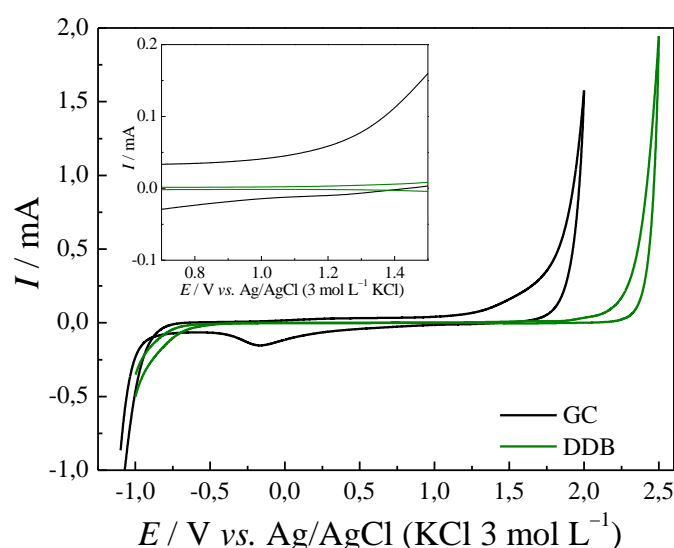


FIGURA 3.4 – Voltamogramas cíclicos ( $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ) obtidos em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  usando os eletrodos ( $A = 0,32 \text{ cm}^2$ ) de BDD (8000 ppm) e GC.

No caso do eletrodo de BDD, a janela de potencial é mais ampla, com corrente de fundo (capacitiva) consideravelmente menor em relação ao eletrodo de GC. Por exemplo, no potencial de  $1,0$  V *vs.* Ag/AgCl ( $\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$ ), a corrente capacitiva anódica para o eletrodo de BDD é  $2,3 \mu\text{A}$ , enquanto para o eletrodo de GC é de  $45 \mu\text{A}$ . Os baixos valores de corrente capacitiva para os eletrodos de BDD constituem-se em uma característica atraente que pode ser vantajosa para se atingir razões de sinal/ruído significativamente menores em

aplicações eletroanalíticas. Anteriormente, ALEHASHEM *et al.*<sup>98</sup>, ao analisar reações de transferência de carga com eletrodos de BDD, sugeriram que essas características podem ser atribuídas, em grande parte, à ausência de quantidades significativas de funcionalidades superficiais de oxigênio eletroativas, mas também a um menor número de portadores de carga. Como já comentado, o eletrodo de BDD possui uma ampla janela de potencial, pois a RDH e RDO ocorrem a partir de  $-0,7$  V e  $1,9$  V *vs.* Ag/AgCl (KCl  $3$  mol L<sup>-1</sup>), o que corresponde a uma janela de aproximadamente  $2,3$  V.

Em virtude da importância da caracterização eletroquímica do eletrodo de BDD, é necessário, previamente, entender os tipos de reações que ocorrem na superfície do eletrodo, analisar como pares redox sofrem reações de oxi-redução, bem como as interações com a superfície. Neste sentido, distinguir conceitos de reações eletródicas de esfera interna e esfera externa é de extrema importância. Essa terminologia foi adaptada da usada para descrever reações de transferência de elétrons de compostos de coordenação. Segundo BARD & FAULKNER<sup>100</sup> – p. 116, reações eletródicas de esfera externa são reações entre duas espécies em que as esferas de coordenação originais são mantidas no complexo ativado; em outras palavras, ocorre transferência de elétrons de um sistema de ligação principal para um outro. As reações eletródicas de esfera interna, por sua vez, ocorrem em um complexo ativado que os íons compartilham um ligante, isto é, ocorre transferência de elétrons no interior de um sistema de ligação principal. Ainda segundo definições constantes em BARD & FAULKNER<sup>100</sup>, reações eletródicas de esfera externa são aquelas em que o reagente e produto não interagem fortemente com o superfície do eletrodo, e mantêm-se separados do eletrodo por pelo menos uma camada de solvente (vide Figura 3.5a); a redução heterogênea do  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$  é um exemplo típico deste tipo de reação, sendo que o reagente na superfície do eletrodo é essencialmente o mesmo que aquele no seio da solução. As reações eletródicas de esfera interna, por sua vez, apresentam forte interação do reagente, intermediários ou produtos

com o eletrodo, isto é, tais reações envolvem adsorção específica na superfície do eletrodo de espécies envolvidas na reação (Figura 3.5b). Espera-se, dessa forma, que as reações eletródicas de esfera externa sejam menos dependentes do material do eletrodo do que as reações eletródicas de esfera interna<sup>100</sup>.

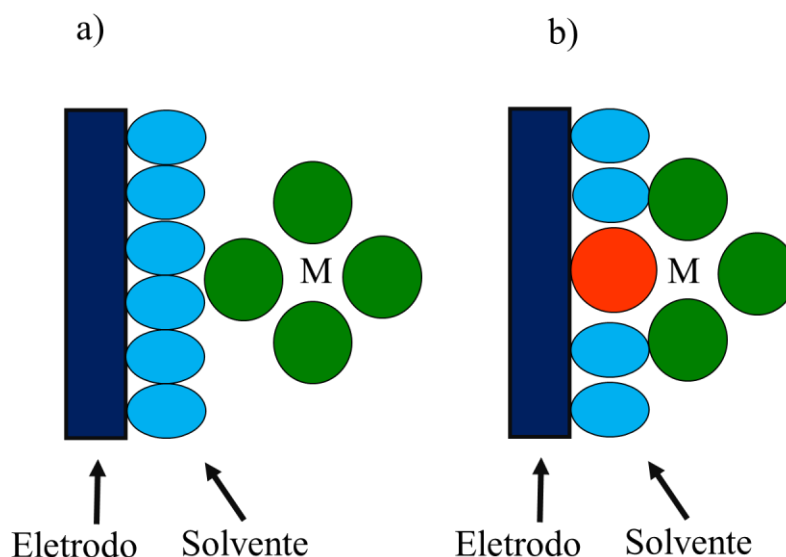


FIGURA 3.5 – Representação de reações eletródicas de a) esfera externa e b) esfera interna (adaptada de BARD & FAULKNER<sup>100</sup> – P. 116).

O par redox  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  é bem conhecido por ser um sistema de esfera interna sensível às propriedades eletrônicas, microestrutura da superfície, e química superficial dos eletrodos de carbono  $\text{sp}^2$  e  $\text{sp}^3$ <sup>17,54,99,101–103</sup>. Neste contexto, voltamogramas cíclicos foram obtidos para o par redox  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  com os eletrodos de BDD e GC (Figura 3.6), e algumas de suas características derivadas estão resumidas na Tabela 3.1. Os voltamogramas bem definidos e picos agudos são indicativos de que a reação é controlada por difusão semi-infinita do reagente à superfície do eletrodo. Por outro lado, para cada eletrodo, a corrente do pico de oxidação para o par  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  variou linearmente com a velocidade de varredura ( $\nu$ ) – vide Figura 3.7a, e com a raiz quadrada da velocidade de varredura ( $\nu^{1/2}$ ) em um intervalo de 100 a 500  $\text{mV s}^{-1}$  (Figura 3.7b).

No entanto, os valores de  $R^2$ , para os eletrodos de GC e BDD, foram de 0,9858 e 0,9856 para  $I_{pa}$  vs.  $\nu$ , respectivamente, e 0,9997 para ambos no caso de  $I_{pa}$  vs.  $\nu^{1/2}$ . O que caracteriza, portanto, que o processo de oxidação é controlado por difusão linear semi-infinita e não por adsorção das espécies na superfície do eletrodo (o mesmo ocorre para o processo catódico). Na Figura 3.6, a diferença entre potenciais de pico de oxidação e redução ( $\Delta E_p$ ) é de 60 mV para ambos os eletrodos e as correspondentes razões  $I_{pa}/I_{pc}$  são todas próximas de 1 (os mesmos resultados foram observados para  $\nu = 100$  a  $500 \text{ mV s}^{-1}$ ).

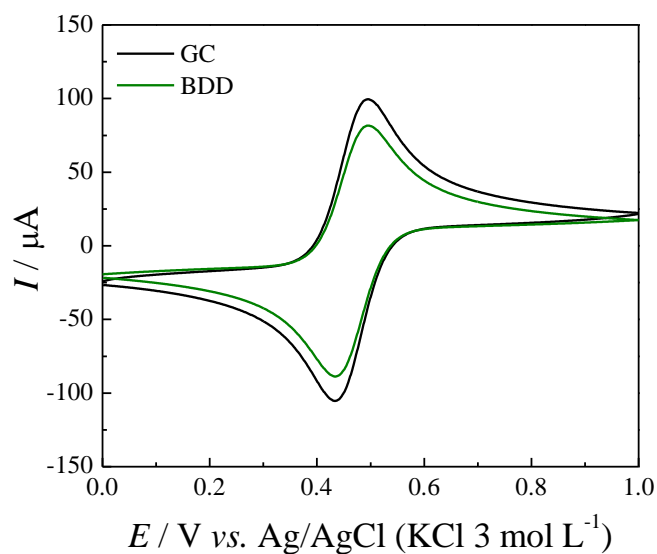


FIGURA 3.6 – Voltamogramas cíclicos ( $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ) obtidos em solução aquosa de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$   $1 \text{ mmol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  para os eletrodos de BDD e GC. Área geométrica:  $0,32 \text{ cm}^{-2}$ .

TABELA 3.1 – Resumos dos dados de voltametria cíclica (vide Figura 3.6) para  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  1 mmol  $\text{L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$ .

Eletrodo*	$D_0 / (10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1})$	$\Delta E_p / \text{ mV}$	$I_{pa} / \mu\text{A}$
Carbono Vítreo		60	110
BDD	$1,4 \pm 0,4$	60	93

\* Área Geométrica = 0,32  $\text{cm}^2$ .

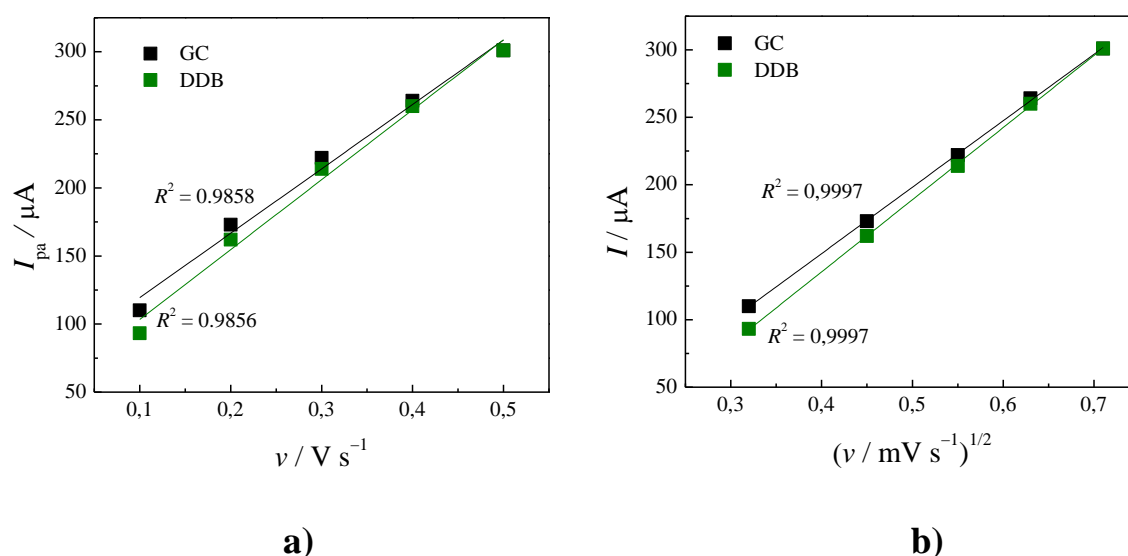


FIGURA 3.7 – Corrente de pico anódico ( $I_{pa}$ ) em função da **a)** velocidade de varredura ( $v$ ) e **b)** da raiz quadrada da velocidade de varredura ( $v^{1/2}$ ) para os eletrodos de BDD e GC (indicados nas figuras). Dados extraídos dos voltamogramas obtidos em diferentes valores de  $v$  (gráficos não apresentados) nas mesmas condições descritas na Figura 3.6.

Com os valores dos coeficientes angulares das retas mostradas na Figura 3.7b, é possível calcular o coeficiente de difusão (vide Tabela 3.1) para a espécie  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  usando a seguinte equação<sup>100</sup>:



$$I_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A D_0^{1/2} c_0^* v^{1/2} \quad \text{Equação 9}$$

onde  $I_p$  é a corrente de pico (em A),  $A$  a área do eletrodo (em  $\text{cm}^2$ ),  $D_0$  o coeficiente de difusão (em  $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ),  $c_0^*$  a concentração da espécie reduzida no seio da solução (em  $\text{mol cm}^{-3}$ ) e  $v$  a velocidade de varredura de potencial (em  $\text{V s}^{-1}$ ). Dessa forma, o valor do coeficiente de difusão encontrado para a reação de redução da espécie  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  na superfície dos eletrodos de BDD e GC foi de  $13,5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ . Este valor tem a mesma ordem de grandeza de outros relatados anteriormente<sup>37,100</sup>.

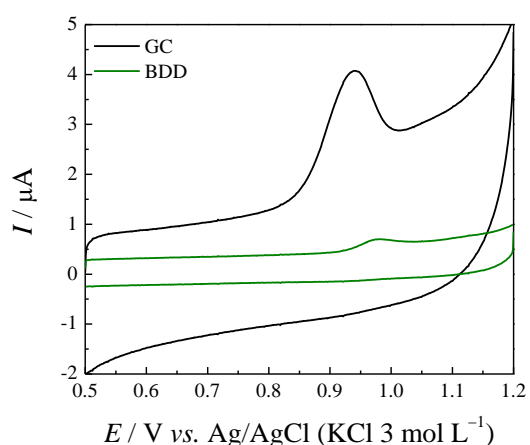
Conforme destacado anteriormente por GRANGER *et al.*<sup>104</sup>, há diversos fatores conhecidos que influenciam na cinética de reações de oxirredução em eletrodos à base carbono com configuração  $\text{sp}^2$  em sua estrutura: (i) fração de planos de borda expostos (propriedades eletrônicas); (ii) limpeza da superfície, bem como o tipo de eletrólito e a concentração usada; (iii) presença de monocamadas de moléculas adsorvidas. O eletrodo de GC foi polido antes de se realizar cada experimento e o eletrodo de BDD foi submetido a polarizações anódica e catódica para estabilização do tipo de terminação superficial do eletrodo (hidrogênio). Assim, uma nova superfície do eletrodo de GC exposta antes de cada experimento pode ser uma possível explicação para o baixo valor de  $\Delta E_p$ <sup>17</sup>. Para o eletrodo de BDD, mesmo que indiretamente, a polarização anódica possibilitou a limpeza do eletrodo através da oxidação de qualquer espécie orgânica na superfície (necessária apenas uma vez ao dia), enquanto que, após a polarização catódica, a repetibilidade da resposta eletroquímica está associada à introdução de espécies hidrofóbicas (terminações em hidrogênio) na superfície do eletrodo de BDD. GRANGER *et al.*<sup>104</sup> relataram ainda que a cinética de reações com o eletrodo de BDD também é influenciada por suas propriedades físico-químicas. Em especial, no caso dos valores de  $\Delta E_p$ , observou-se um

comportamento altamente sensível às terminações da superfície do eletrodo, com os menores valores sendo obtidos em eletrodos limpos e com superfícies terminadas em hidrogênio. Os autores relatam ainda que a introdução de terminações de oxigênio na superfície do eletrodo de BDD (via lavagem ácida) causou aumento nos valores de  $\Delta E_p$  de mais de 125 mV, mas que são reversivelmente reduzidos aos valores originais após a remoção das terminações de oxigênio por tratamento por plasma de hidrogênio<sup>104</sup>. Atualmente sabe-se que a exposição de eletrodos de BDD ao ar leva à introdução de terminações de oxigênio na sua superfície, sendo que este efeito é mais evidente com eletrodos de BDD contendo baixos teores de boro, como relatado por SALAZAR-BANDA *et al.*<sup>22</sup>.

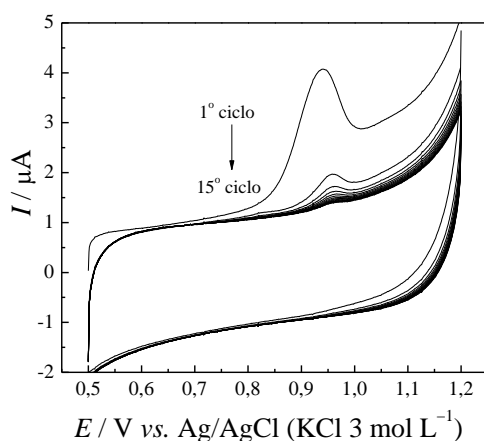
### 3.3 – Eletroquímica do estrogênio natural estrona

A técnica de voltametria cíclica foi empregada como teste preliminar para a avaliação da resposta eletroquímica da estrona, a fim de observar a presença de processos de oxidação ou de redução da mesma sobre a superfície do eletrodo de BDD. Como pode ser observado na Figura 3.8, os comportamentos voltamétricos para a oxidação de estrona  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  nos eletrodos de GC e BDD são bastante similares, com picos de oxidação irreversíveis em 0,94 V e 0,98 V, respectivamente. Para estes eletrodos, a intensidade da corrente de pico de oxidação diminui no segundo e sucessivos ciclos. No entanto, a corrente de resposta diminui mas não desaparece (vide Figura 3.8b-c), como é observado para o caso do bisfenol A, por exemplo<sup>105</sup>. Esta redução de intensidade da resposta de corrente pode ser um indicativo de perda de sítios ativos disponíveis para a reação<sup>84</sup>. Isto é causado provavelmente pela adsorção de produtos intermediários ou produtos formados durante a reação. NGUNDI *et al.*<sup>105</sup> atribuíram este tipo de comportamento à adsorção na superfície

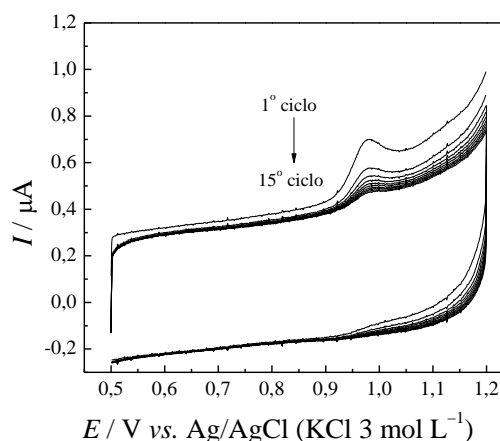
do eletrodo de produtos de reação como dímeros e polímeros, semicondutores ou isolantes, ou quinonas que não apresentam eletroatividade. A corrente de resposta do eletrodo pode ser recuperada pela agitação da solução, com a remoção dos produtos de reação e renovação da solução na superfície do eletrodo; isso é válido para casos onde não há fortes interações dos produtos de adsorção com a superfície do eletrodo. Neste trabalho, agitou-se a solução por alguns segundos antes de cada experimento, obtendo-se respostas eletroquímica reprodutíveis.



a)



b)



c)

FIGURA 3.8 – Voltamogramas cíclicos ( $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ) obtidos **a)** com os eletrodos de BDD tratado catódicamente (8000 ppm) e GC (indicados na figura) na presença de estrona  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e voltamogramas cíclicos para sucessivas ciclagens com os eletrodos de **b)** GC e **c)** BDD.

### 3.3.1 – Pré-tratamento eletroquímico do eletrodo de BDD

Polarizações anódica e catódica do eletrodo de BDD configuram um pré-tratamento eficaz para a limpeza e ativação do eletrodo<sup>37,57,83,84</sup>. Na Figura 3.9, são apresentados os perfis voltamétricos obtidos por DPV na detecção do estrogênio natural estrona, utilizando o eletrodo de BDD como recebido (sem pré-tratamento) e após seu pré-tratamento eletroquímico (polarização anódica e/ou catódica).

Analisando-se a Figura 3.9a, observa-se dois picos anódicos em torno dos potenciais de eletrodo 0,30 V e 1,05 V, que podem ser decorrentes do tipo de terminação superficial do eletrodo, e outro pico em torno de 0,84 V, que corresponde à oxidação da estrona, visto que não há nenhum processo faradaico nessa região para a solução tampão B-R 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Os mesmos picos foram constatados usando o eletrodo pré-tratado anodicamente, exceto o pico em torno de 1,05 V (Figura 3.9b). Neste caso, houve deslocamento do potencial de pico para regiões mais positivas de potencial, devido ao aumento das terminações de oxigênio na superfície do eletrodo, havendo uma tendência de deslocamento do pico para potenciais mais positivos e próximos daquele do início da RDO. Para o eletrodo pré-tratado catodicamente (Figura 3.9c), foram observados picos similares aos do eletrodo pré-tratado anodicamente, contudo com maior estabilidade e repetibilidade dos picos. Por exemplo, para o eletrodo tratado catodicamente, observou-se um decaimento da intensidade de corrente correspondente à oxidação da estrona de apenas 9%, com valores de corrente estáveis já no segundo ciclo; quando foi realizado o tratamento anódico, os valores de intensidade de corrente caíram 23% até o quarto ciclo, sem apresentar estabilidade de sinal. Embora não se possa afirmar quais são os tipos de terminações associadas à superfície do eletrodo de BDD, em todos os casos observou-se o pequeno pico anódico na região entre 0,3 V e 0,5 V; em contraste, após a polarização anódica e/ou catódica, não foi constatado o pico anódico na

região de 1,05 V (Figura 3.9d). Por outro lado, após a polarização anódica, notou-se um decréscimo da corrente de pico de oxidação da estrona de 77%, decorrente da presença de terminações superficiais de oxigênio no eletrodo de BDD, dificultando o processo de oxidação das hidroxilas presentes nas moléculas de estrona. No tratamento catódico, a incorporação de terminações superficiais de hidrogênio na superfície do eletrodo de BDD, tornando-a, portanto, mais hidrofóbica, resultou em uma redução de corrente de resposta de apenas 24%; mesmo com uma redução de sinal em relação ao eletrodo de BDD como recebido, o tratamento catódico possibilita manter a superfície do eletrodo sempre hidrogenada, hidrofóbica e, principalmente, estável nas medidas eletroquímicas.

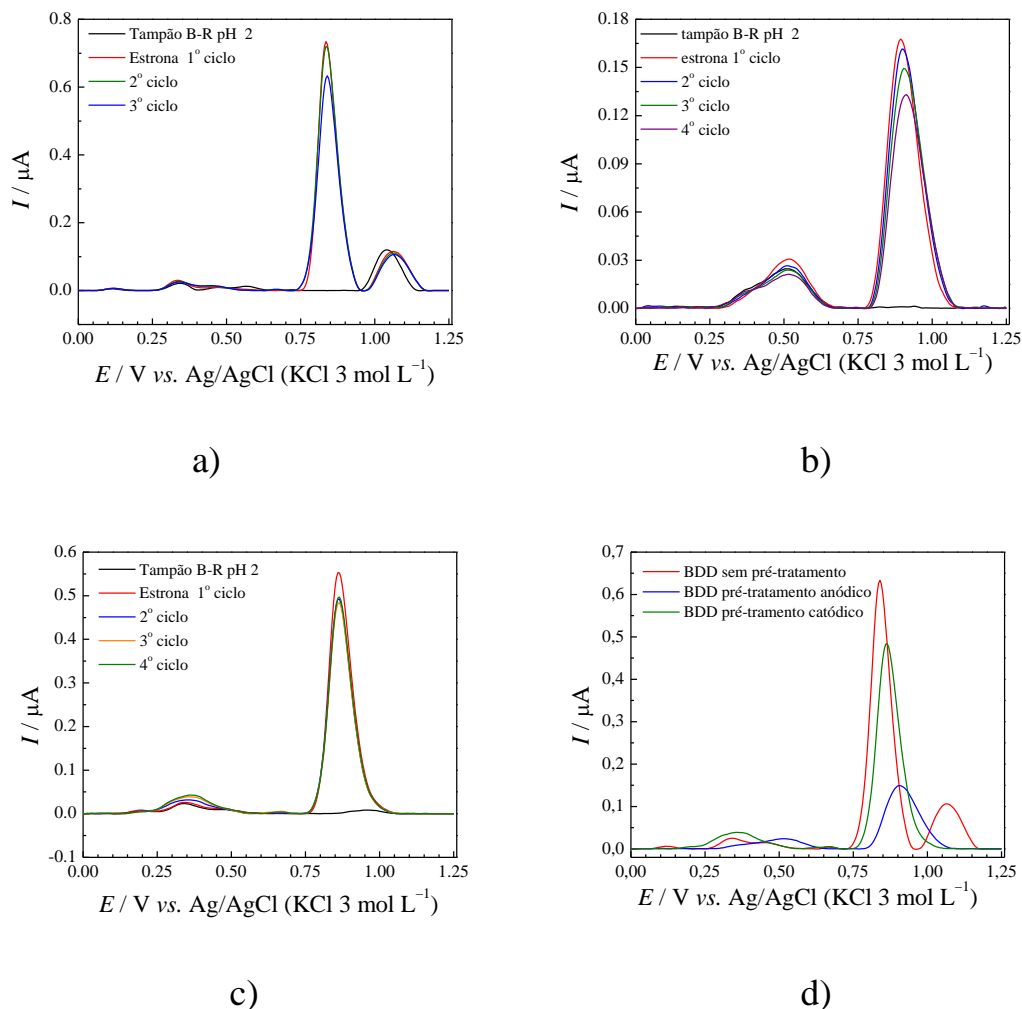


FIGURA 3.9 – Perfis voltamétricos obtidos (com correção de linha de base) por DPV para estrona  $2,8 \mu mol L^{-1}$  em tampão B-R  $0,1 mol L^{-1}$  com o eletrodo de BDD (8000 ppm) **a)** como recebido, **b)** submetido a pré-tratamento anódico, **c)** submetido a pré-tratamento catódico e **d)** comparativo entre os três casos. Condições da DPV:  $a = 50 mV$ ,  $v = 50 mV s^{-1}$  e  $t = 50 ms$ .

Embora seja possível que apenas a realização ou não de pré-tratamento tenha influenciado no comportamento eletroquímico da espécie em estudo, investigou-se também o efeito do eletrólito, visto que, a priori, picos voltamétricos também podem estar associados a contaminantes dos ácidos usados

na preparação do tampão B-R. Assim, estudos foram realizados com diferentes eletrólitos (tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ); contudo, observou-se, em todos os casos, o mesmo pico anódico na região entre  $0,3 \text{ V}$  e  $0,4 \text{ V}$ . Nos estudos realizados com o tampão fosfato (não apresentados), observou-se um aumento de corrente de fundo. Por outro lado, nos estudos realizados com  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , constatou-se maior estabilidade no valor da corrente de pico ( $I_p$ ) na detecção da estrona; conseqüentemente, optou-se por estudar mais a fundo o eletrólito  $\text{H}_2\text{SO}_4$  em diferentes concentrações.

### 3.3.2 – Estudo do efeito do eletrólito $\text{H}_2\text{SO}_4$ em diversas concentrações

Estudou-se soluções aquosas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  em diferentes concentrações como eletrólito alternativo. Na Figura 3.10 são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos (os parâmetros obtidos são resumidos na Tabela 3.2) para a estrona  $3,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  utilizando um eletrodo de BDD tratado catodicamente, em função das diferentes concentrações de soluções de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

TABELA 3.2 – Dados de voltametria cíclica ( $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ) para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em soluções aquosas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  de diferentes concentrações (vide Figura 3.10).

$\text{H}_2\text{SO}_4 / \text{mol L}^{-1}$	$E_p / \text{V}$	$I_p / \mu\text{A}^*$	Desvio padrão**
0,010	0,92	0,57	0,070
0,10	0,94	0,81	0,010
0,25	0,97	1,1	0,023
0,50	1,00	0,98	0,047

\*  $I_p = I_{\text{total}} - I_{\text{branco}}$ . \*\*  $n = 10$ .

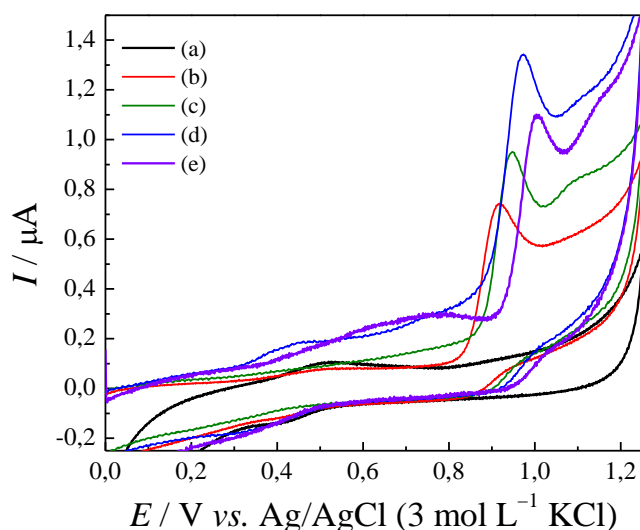


FIGURA 3.10 – Voltamogramas cíclicos ( $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ) obtidos com o eletrodo de BDD (8000 ppm) para solução aquosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  (a) e para estrona  $2,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  em soluções aquosas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  de diferentes concentrações:  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  (b);  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (c);  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  (d);  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  (e).

Analisando os voltamogramas apresentados nesta figura, verifica-se que os perfis voltamétricos para as diferentes concentrações de eletrólito suporte são parecidos. Contudo, estes voltamogramas apresentaram diferentes intensidades de  $I_{\text{pico}}$  (referente à estrona) e deslocamento do pico para potenciais mais positivos à medida que a concentração de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  é aumentada. As maiores intensidades de corrente de pico foram para as concentrações  $0,25$  e  $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ . Em virtude desse resultado, estas concentrações foram utilizadas para as demais medidas no decorrer do trabalho.

Outro fator que pode influenciar na resposta eletroquímica em estudo é o solvente orgânico usado na preparação da solução estoque de estrona; neste trabalho, utilizou-se o metanol. Na Figura 3.11 são mostrados os perfis voltamétricos ( $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ) obtidos para soluções de estrona  $2,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  com diferentes adições volumétricas de metanol. Observou-se nesses perfis que a adição do metanol à solução eletrolítica não interfere no valor



da corrente de pico da estrona; assim, não há qualquer problema decorrente do solvente de sua solução estoque ser o metanol. Por não haver reações redox em potenciais mais negativos, como indicado, nos demais estudos a janela de potencial foi reduzida de 0 V a 1,25 V para 0,70 V a 1,25 V.

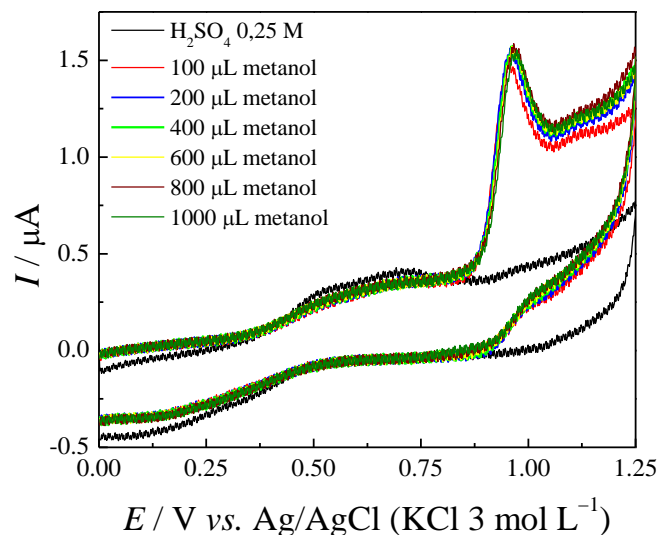


FIGURA 3.11 – Voltamogramas cíclicos obtidos para soluções de estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  com o eletrodo de BDD (8000 ppm) tratado catodicamente em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  com diferentes adições volumétricas de metanol.

### 3.3.3 – Estudo da influência do pH

Uma investigação do efeito do pH da solução no comportamento voltamétrico pode fornecer importante informação sobre os processos de transferência de elétron. Assim, analisou-se o efeito do pH sobre a corrente de pico e potencial para o processo de oxidação da estrona (Figura 3.12).

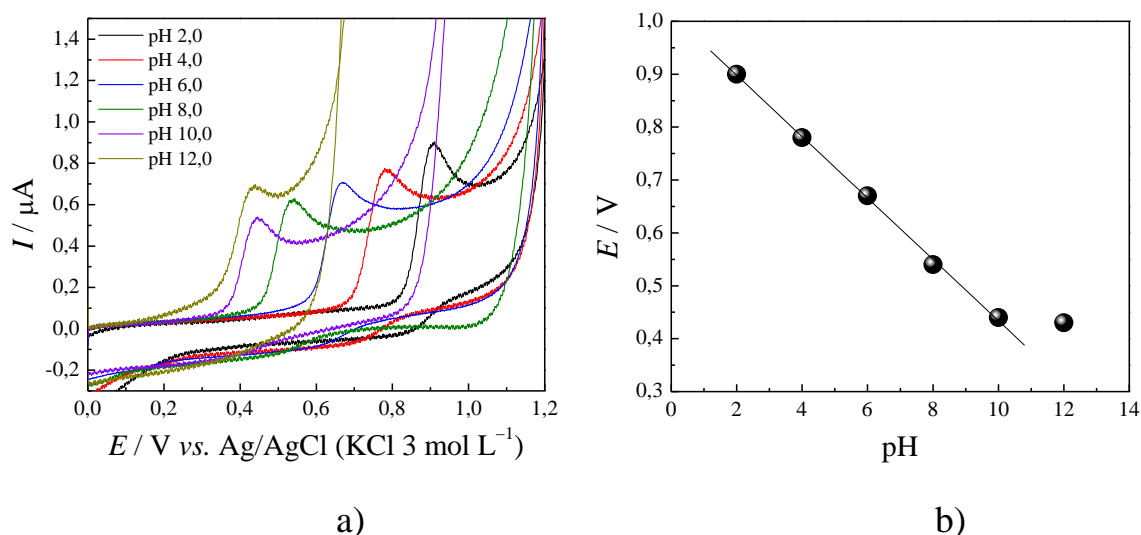


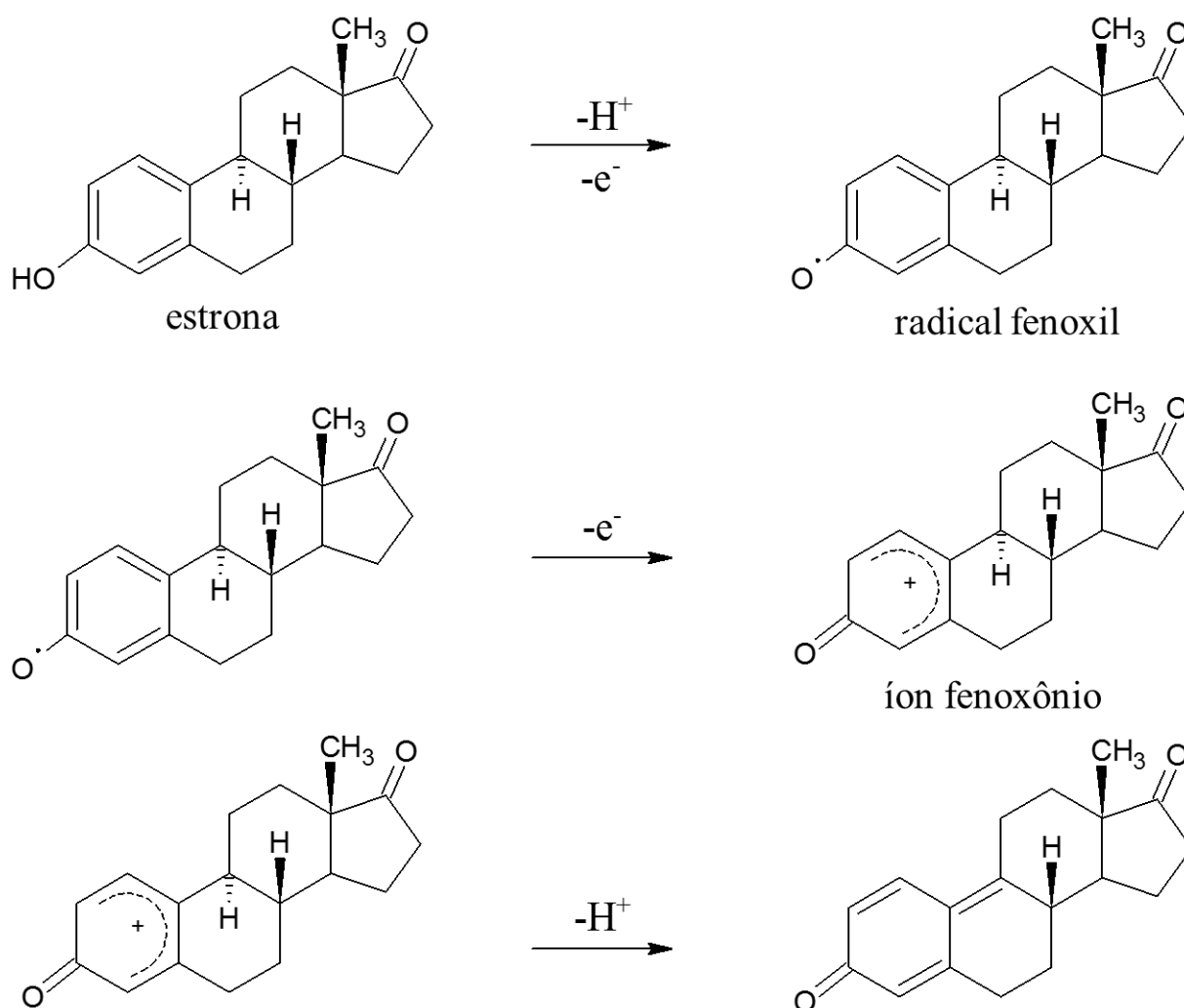
FIGURA 3.12 – **a)** Voltamogramas cíclicos ( $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ) para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em diferentes valores de pH (indicados na figura) usando um eletrodo de BDD (8000 ppm) tratado catodicamente. **b)** Dependência do potencial de pico de oxidação da estrona com o pH. Área geométrica do eletrodo:  $0,32 \text{ cm}^2$ .

À medida que o valor de pH aumenta de 2 até 10, o pico da corrente de oxidação decresce, enquanto o potencial do pico desloca-se para regiões de valores menos positivos, obedecendo a seguinte equação:

$$E_p / V = 1,014 - 0,058 \text{ pH} \quad (R^2 = 0,9994) \quad \text{Equação 10}$$

Para  $\text{pH} > 10$ , a corrente e o potencial de pico de oxidação permanecem relativamente constantes. Esta mudança no coeficiente angular da curva  $E_p$  vs. pH para  $\text{pH} > 10$  é consistente com o valor de  $\text{pK}_a$  da estrona  $(10.34)^{106}$ . Por outro lado, a partir do valor do coeficiente angular ( $-0,058 \text{ V}$ ) conclui-se que o número de elétrons transferidos no processo de oxidação da estrona é igual ao número de prótons. A oxidação de moléculas fenólicas não dissociadas envolve dois elétrons, enquanto para moléculas dissociadas (fenolatos) envolve apenas um elétron<sup>107</sup>. Assim, a resposta da corrente (pico)

decrece para valores de pH acima de 10. Previamente, NGUNDI *et al.*<sup>105</sup> estimaram o número de elétrons transferidos e propuseram um mecanismo de oxidação para o estradiol. As moléculas de estradiol e estrona diferem apenas em um grupo funcional ligado ao anel ciclo-pentano, hidroxila para o estradiol e carbonila para a estrona. Por esta razão, sugerimos que o mecanismo para a oxidação anódica da estrona é similar aquele proposto para outros estrogênios (vide Esquema 3.1)<sup>105</sup>.



ESQUEMA 3.1 – Mecanismo de reação proposto para a oxidação eletroquímica da estrona.

### 3.3.4 – Estudo de fatores que influenciam o comportamento eletroquímico da estrona

O perfil de oxidação da estrona em diferentes materiais de eletrodo (BDD e GC) apresenta uma dependência da velocidade de varredura, o que fornece importantes informações sobre comportamento eletroquímico da molécula. Como pode ser visto na Figura 3.13a, para o eletrodo de BDD, o potencial de pico referente à oxidação da estrona é deslocado para potenciais mais positivos com o aumento da velocidade de varredura, confirmando o caráter irreversível para sua reação de oxidação; comportamento similar foi observado para o eletrodo de GC. A corrente de pico para estrona  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  para os eletrodos de GC e BDD varia linearmente com a velocidade de varredura, em um intervalo de 40 a  $250 \text{ mV s}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9990$  e  $0,9895$ , respectivamente – Figura 3.13b). Por outro lado, respostas similares foram observadas para as correntes de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial (vide Figura 3.13c), com valores de  $R^2$  de  $0,9775$  e  $0,9984$ , respectivamente. A boa linearidade, simultânea em ambos os casos, é um indicativo que a reação é limitada por processos de adsorção e/ou difusão na região interfacial dos eletrodos. O fato dos valores de coeficiente linear serem diferentes de zero pode ser um indicativo de processos de adsorção. Geralmente, os eletrodos de GC são conhecidos por apresentar um processo de adsorção significativo; esta deve ser a razão, neste caso, de um melhor coeficiente de correlação para o gráfico  $I_p$  vs.  $v$ .

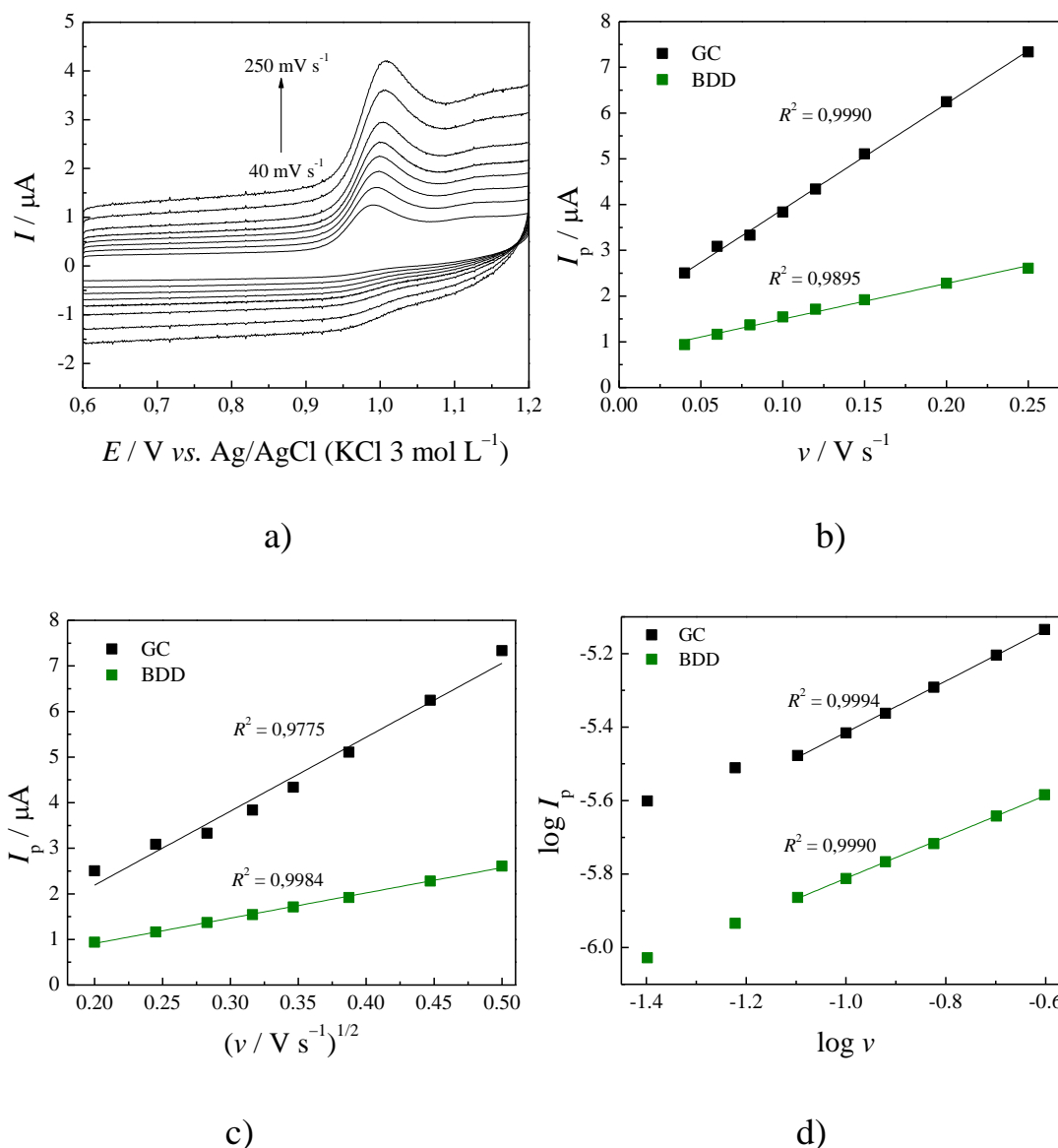


FIGURA 3.13 – **a)** Voltamogramas obtidos em diferentes velocidades de varredura (40, 60, 80, 100, 120, 150, 200 e 250  $\text{mV s}^{-1}$ ) para estrona  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  usando o eletrodo de BDD. **b)** Dependência da corrente de pico de oxidação com a velocidade de varredura. **c)** Dependência da corrente de pico de oxidação com a raiz quadrada da velocidade de varredura. **d)** Logaritmo da corrente de pico de oxidação em função do logaritmo da velocidade de varredura.

Adicionalmente, gráficos de  $\log I_p$  vs.  $\log v$  foram obtidos para os eletrodos de BDD e GC, a fim de verificar se há indícios de processos de adsorção

e/ou difusão na oxidação da estrona (Figura 3.13d). Foram obtidas relações lineares para ambos eletrodos, sendo que as equações correspondentes são  $\log I = -4,72 + 0,70 \log v$  ( $R^2 = 0,9994$ ) e  $\log I = -5,52 + 0,56 \log v$  ( $R^2 = 0,9990$ ), respectivamente. Valores de coeficiente linear das retas igual a 0,5 indicam que o processo é controlado por difusão, enquanto valores igual a 1 indicam que o processo é controlado por adsorção. Dessa forma, dados os valores efetivamente obtidos, fica claro que o processo de oxidação da estrona é governado por ambos os processos, adsorção e difusão, especialmente para o eletrodo de GC; no caso no eletrodo de BDD, a adsorção é baixa ou praticamente inexistente.

O coeficiente de transferência de elétrons,  $\alpha$ , também foi calculado para os eletrodos de BDD e GC usando equação válida para sistemas irreversíveis<sup>100</sup>:

$$|E_p - E_{p/2}| = \frac{1,857RT}{\alpha nF} = \frac{47,7}{\alpha n} \text{ mV} \quad (\text{a } 25 \text{ }^\circ\text{C}) \quad \text{Equação 11}$$

onde  $E_{p/2}$  é o potencial onde a corrente é igual à metade do valor da corrente de pico de oxidação,  $n$  é o número de elétrons,  $F$  a constante de Faraday e  $R$  a constante dos gases. Os valores de  $E_p$  e  $E_{p/2}$  foram obtidos em diferentes velocidades de varredura (40 até 250  $\text{mV s}^{-1}$ ) e as diferenças médias dos potenciais (62 e 36 mV) foram usadas para determinar os valores experimentais de  $\alpha$  para os eletrodos de GC e BDD: 0,38 e 0,66, respectivamente.

Conforme discutido acima, com o aumento da velocidade de varredura nas medidas de voltametria cíclica, há também um deslocamento dos potenciais de pico para valores mais positivos. De acordo com a teoria de Laviron, a relação entre o potencial de pico e a velocidade de varredura para uma reação de oxidação anódica irreversível, quando R está adsorvido ( $R_{\text{ads}} \rightarrow O + e^-$ ), é<sup>100</sup>:

$$E_p = E^{o'} - \frac{RT}{\alpha nF} \ln \left( \frac{RTk^o}{\alpha nFv} \right) \quad \text{Equação 12}$$

ou

$$E_p = E^{o'} - \frac{RT}{\alpha nF} \ln \frac{RT}{\alpha nF} - \frac{RT}{\alpha nF} \ln k^o + \frac{RT}{\alpha nF} \ln v \quad \text{Equação 13}$$

onde  $\alpha$  é o coeficiente de transferência de elétrons,  $k^o$  a constante aparente da velocidade de reação na superfície do eletrodo,  $v$  a velocidade de varredura e  $E^{o'}$  o potencial formal. A relação  $E_p$  vs.  $\ln v$  no processo de oxidação da estrona sobre os eletrodos deve ser linear, sendo que a partir do coeficiente angular ( $RT/\alpha nF$ ) obtém-se o valor experimental de  $\alpha$  (Figura 3.14b); note-se, todavia, que o valor de  $k^o$  só pode ser calculado se o valor de  $E^{o'}$  é conhecido (este valor pode ser calculado por meio do coeficiente linear da reta do gráfico  $E_p$  vs.  $v$  – vide Figura 3.14a). Baseado neste método, os respectivos valores encontrados para os eletrodos de GC e BDD foram:  $E^{o'} = 0,952$  e  $0,993$  V; coeficientes lineares de  $0,996$  e  $1,02$  V; coeficientes angulares de  $0,0148$  e  $0,0083$  V, respectivamente. Conseqüentemente, os valores de  $k^o$  obtidos, associados à reação anódica irreversível para a estrona pré-adsorvida nos eletrodos de GC e BDD, são  $3,80$  e  $4,65$  s<sup>-1</sup>, respectivamente.

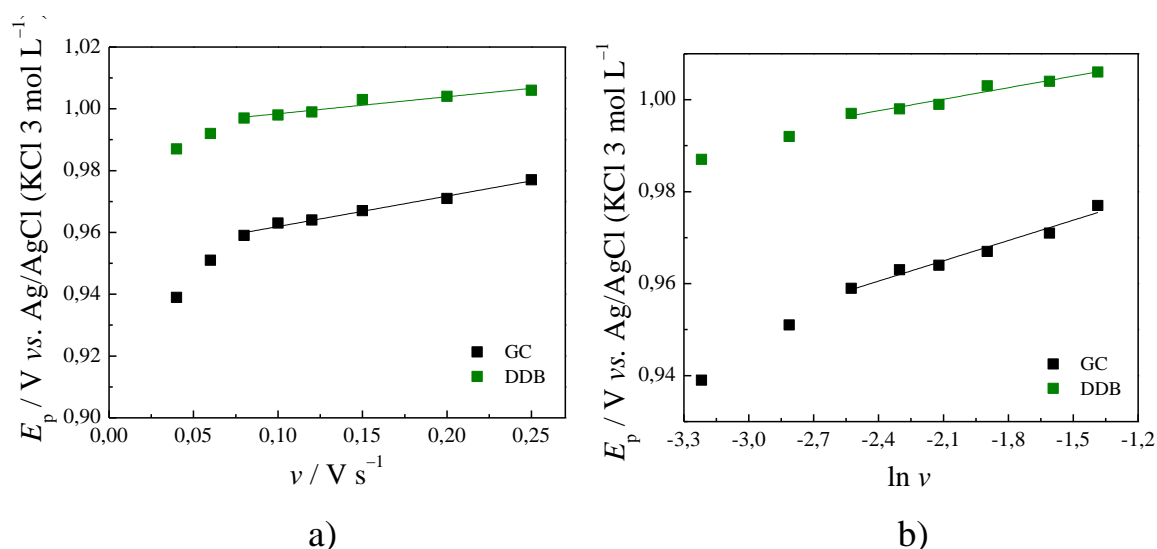


FIGURA 3.14 – Dependência do potencial de pico de oxidação,  $E_p$ , com: **a)** a velocidade de varredura,  $v$ , ou **b)** o logaritmo da velocidade de varredura,  $\ln v$ , para a oxidação de estrona  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  usando os eletrodos de BDD e GC (indicados na figura).

Esses valores de  $k^o$  são consideravelmente altos, comparados com os comumente obtidos para o par  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ , por exemplo,  $k^o = 4.69 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$ <sup>37</sup>. Neste método, não se considera o coeficiente de difusão, uma vez que os produtos estão pré-adsorvidos na superfície do eletrodo, fazendo com que a taxa de transferência de elétrons seja extremamente rápida. Em suma, o método é válido apenas para reações que apresentam processo de adsorção. Até aqui, há apenas indícios dos eletrodos apresentarem processos mistos de adsorção e difusão e, dessa forma, faz-se necessário também calcular valores de  $k^o$  considerando o coeficiente de difusão. Para tal, realizou-se um experimento de varredura linear (VL) de potencial utilizando um eletrodo de disco rotatório de GC (EDR) para determinar o coeficiente de difusão da estrona sem nenhuma influência significativa do processo de adsorção na superfície do eletrodo (dados não apresentados). A velocidade de rotação do eletrodo,  $\omega$ , foi mantida fixa em quatro valores: 400, 900, 1600 e 2000 rpm; para a VL, os parâmetros foram:  $\Delta E = 0,2 - 1,2 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}\text{)}$ ,  $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$  e área do eletrodo =  $0,07 \text{ cm}^2$ . Dessa forma, as correntes de pico obtidas pela VL nas diferentes rotações foram analisadas em função de  $\omega^{1/2}$  (Figura 3.15) e a equação de Koutecký-Levic usada para o cálculo do coeficiente de difusão<sup>100</sup>:

$$\frac{1}{I} = \frac{1}{I_k} + \frac{1}{0.62nFAD_0^{2/3}\omega^{1/2}\nu^{-1/6}C_0^*} \quad \text{Equação 14}$$

onde  $I_k$  é a corrente elétrica (A) na ausência de qualquer efeito de transferência de massa, que é, neste caso, a corrente que fluiria sob limitação cinética se o transporte de massa fosse eficiente o bastante para manter a concentração na superfície do eletrodo igual à do seio da solução,  $n$  é o número de elétrons,  $A$  a área do eletrodo ( $\text{cm}^2$ ),  $D_0$  o coeficiente de difusão ( $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ),  $\omega$  a velocidade de rotação ( $\text{rpm} = \text{min}^{-1}$ ),  $C_0^*$  a concentração ( $\text{mol cm}^{-3}$ ) e  $\nu$  a velocidade de



varredura ( $V s^{-1}$ ). Portanto, o valor de  $D_0$  encontrado no processo de oxidação da estrona usando o eletrodo de disco rotatório foi de  $4,70 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 s^{-1}$ .

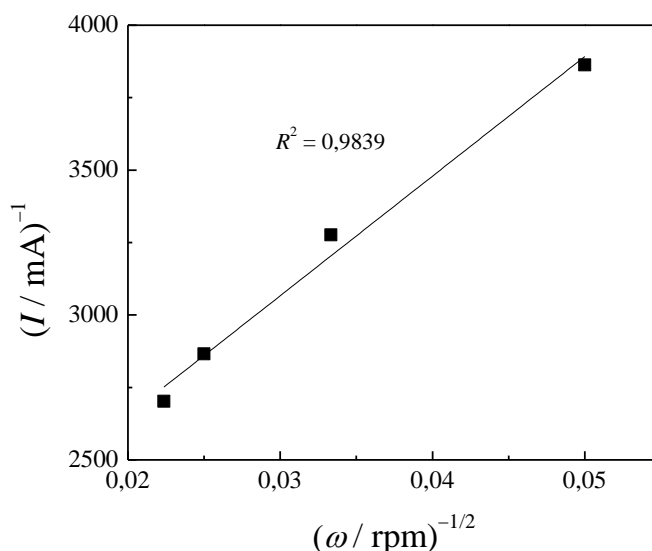


FIGURA 3.15 – Gráfico de Koutecký-Levic para a oxidação da estrona  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  usando um eletrodo rotatório de carbono vítreo. Área do eletrodo:  $0,07 \text{ cm}^2$ .

Conhecido o valor de  $D_0$  no processo de oxidação da estrona, é possível calcular a constante da velocidade da reação para um sistema irreversível, no processo de oxidação ( $R \rightarrow O + e^-$ ), sem possíveis processos de adsorção na superfície do eletrodo. A equação que descreve esse processo é<sup>100</sup>:

$$E_p = E^{0'} + \frac{RT}{\alpha F} \left[ 0,78 + \ln \left( \frac{D_0^{1/2}}{k^0} \right) + \ln \left( \frac{\alpha F v}{RT} \right)^{1/2} \right] \quad \text{Equação 15}$$

ou

$$E_p = E^{0'} + 0,78 \frac{RT}{\alpha n F} + \frac{1}{2} \frac{RT}{\alpha n F} \ln D_0 - \frac{RT}{\alpha n F} \ln k^0 - \frac{1}{2} \frac{RT}{\alpha n F} \ln \frac{RT}{\alpha n F} + \frac{1}{2} \ln v \quad \text{Equação 16}$$

onde  $\alpha$  é o coeficiente de transferência de elétrons,  $k^0$  a constante de velocidade aparente da reação na superfície do eletrodo,  $v$  a velocidade de varredura,  $E^0$  o potencial formal e  $D_0$  o coeficiente de difusão. Os valores dos demais parâmetros já foram elucidados anteriormente nos cálculos realizados para um sistema controlado por adsorção (vide Figura 3.14). Os valores de  $k^0$  obtidos para os eletrodos de GC e BDD foram de  $1,97 \times 10^{-3}$  e  $1,99 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ , respectivamente. Na Tabela 3.3 estão listados os parâmetros e os respectivos valores de  $k^0$  obtidos pelos diferentes métodos.

TABELA 3.3 – Dados voltamétricos obtidos para estrona  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e valores das constantes de velocidade aparentes de reação obtidos por diferentes métodos.

Eletrodo	$E^0 / \text{V}$	$E_p / \text{V}$	$RT/anF$	$k^{0*} / \text{s}^{-1}$	$k^{0**} / \text{cm s}^{-1}$
GC	0,952	0,996	0,0148	3,80	$1,97 \times 10^{-3}$
BDD	0,993	1,02	0,0083	4,65	$1,99 \times 10^{-3}$

\*influência do processo de adsorção; \*\*apenas influência do processo de difusão.

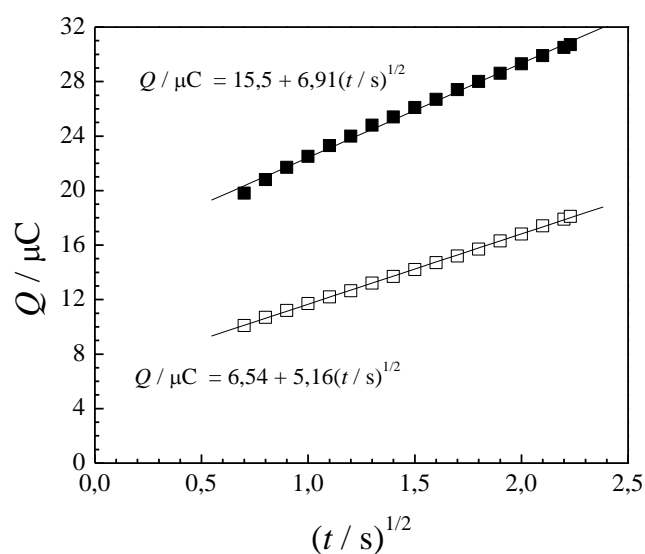
### 3.3.5 – Estudo da adsorção da estrona nos eletrodos de GC e BDD

A adsorção da estrona foi investigada utilizando a técnica de cronocoulometria. Neste caso, a carga total da eletrólise é dada pelas equações<sup>17,108,100</sup>:

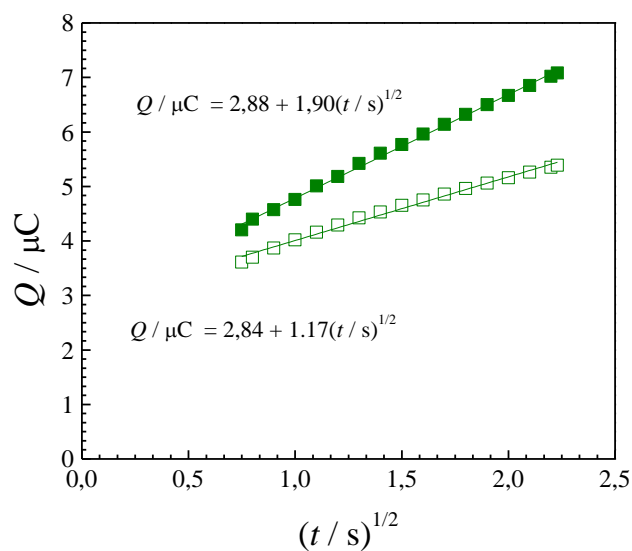
$$Q_{\text{total}} = Q_f + Q_{\text{dl}} + Q_{\text{ads}} \quad \text{Equação 17}$$

$$Q_{\text{total}} = \frac{2nFAD^{1/2}ct^{1/2}}{\pi^{1/2}} + Q_{\text{dl}} + nFA\Gamma \quad \text{Equação 18}$$

onde  $\Gamma$  é o excesso superficial do adsorvido ( $\text{mol cm}^{-2}$ ) e os outros termos têm seus significados usuais. O primeiro termo na expressão corresponde à carga faradaica associada à corrente controlada por difusão linear semi-infinita, o segundo termo é a carga referente à dupla camada elétrica, e o terceiro termo representa a carga associada com qualquer analito adsorvido na superfície do eletrodo<sup>17</sup>. Na Figura 3.16 são apresentadas as curvas cronocoulométricas  $Q$  vs.  $t^{1/2}$  para a oxidação da estrona com os eletrodos de GC e BDD, obtidas usando  $n = 2$ ,  $A = 0,32 \text{ cm}^2$  e  $c = 4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . A diferença entre os coeficientes lineares obtidos na presença e ausência da estrona é igual a  $Q_{\text{ads}}$ , isto é, a carga requerida para oxidar instantaneamente a estrona adsorvida sem influência da carga da dupla camada elétrica. Dessa forma, foi possível estimar a adsorção de estrona na superfície de ambos os eletrodos – vide Tabela 3.4. Uma suposição feita na interpretação desses dados é que a corrente de fundo (branco) não é afetada na presença de estrona. Esta suposição pode acarretar em um erro embutido, pois o fato da estrona ser “carregada” pode contribuir para o balanço da carga interfacial da dupla camada elétrica.



a)



b)

FIGURA 3.16 – Relação cronocoulométrica entre a carga de oxidação e a raiz quadrada do tempo na ausência (símbolo aberto) e presença (símbolo fechado) de estrona  $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  para os eletrodos de **a)** GC e **b)** BDD. A carga oxidativa foi aplicada durante 5 s, após um pulso de potencial de 0,6 V para 1,2 V vs. Ag/AgCl ( $\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$ ).

Na literatura, foram encontrados dois trabalhos discutindo a adsorção da estrona, um deles sobre eletrodo à base de pasta de carbono (CPE)<sup>109</sup> e o outro sobre nanotubos de carbono de multi-paredes (MWNT)<sup>110</sup>, na presença ou ausência do surfactante cetiltrimetil-amônio (CTAB). Os valores obtidos para a superfície recoberta pela estrona adsorvida na ausência de surfactante foram de 60 pmol cm<sup>-2</sup> e 28 pmol cm<sup>-2</sup>, para CPE e MWNT, respectivamente. Depois da adição do surfactante, os valores de adsorção sobre a superfície dos eletrodos aumentaram para 568 pmol cm<sup>-2</sup> e 204 pmol cm<sup>-2</sup>, respectivamente, devido à interação entre a cauda hidrofóbica do CTBA e a parte hidrofóbica da estrona, bem como as interações eletrostáticas da carga positiva do CTBA e o grupo fenol com carga negativa da estrona. Como já mostrado por MCDERMOTT & MCCREERY<sup>111</sup>, os eletrodos de CG são ricos em planos de borda e apresentam correntes no mínimo 50 vezes maiores que os eletrodos de plano basal HOPG; por esta razão, os eletrodos de GC apresentam uma forte adsorção da estrona. Para a adsorção de quinona sobre eletrodos de GC e HOPG, por exemplo, MCDERMONT & MCGREERY<sup>20</sup> relatam que a adsorção depende de um efeito eletrônico, tal como a atração eletrostática por átomos de carbono parcialmente carregados próximos de um defeito (por exemplo, um sítio na borda). Um comportamento similar pode ser proposto para explicar a alta adsorção da estrona na superfície do eletrodo de CG. Provavelmente, a forte fisiossorção da estrona decorre da presença de grupos funcionais polares de carbono-oxigênio presentes nos sítios defeituosos da superfície dos eletrodos de GC, os quais provêm as fortes interações dipolo-dipolo e íon-dipolo<sup>17</sup>.

TABELA 3.4 – Dados para a adsorção da estrona sobre os eletrodos de carbono.

Eletrodo	$Q_{\text{ads}} / \mu\text{C}$	$\Gamma / (\text{pmol cm}^{-2})$
Carbono vítreo	10,3	167
BDD	0,04	0,65

O eletrodo de BDD, por outro lado, apresenta  $\Gamma$  para adsorção de estrona consideravelmente menor, o que indica que este tipo de interação molécula-superfície está diretamente relacionada à composição do material. O valor obtido para o excesso superficial da estrona sobre o eletrodo de BDD é  $0,65 \text{ pmol cm}^{-2}$ , o que corresponde a menos de 0,4% do valor encontrado para o eletrodo de CG, indicando que interações molécula-superfície são praticamente inexistentes. Este comportamento pode ser explicado tendo por base as diferenças de tipo e densidade dos grupos funcionais. Como já conhecido, não há um sistema estendido de elétrons  $\pi$  sobre a superfície do eletrodo de BDD, o que acarreta em apenas uma fraca adsorção das moléculas polares sobre a superfície do eletrodo, sem perda de sinal por desativação dos sítios ativos<sup>16</sup>. Isto ocorre em especial para os eletrodos de BDD com terminações de hidrogênio em suas superfícies; no entanto, se o nível de dopagem com boro for baixo, os eletrodos de BDD podem apresentar perda significativa dessas terminações de hidrogênio devido à oxidação da superfície por exposição ao oxigênio do ar<sup>22</sup>. Em um mesmo experimento investigativo de adsorção, comparável àqueles elucidados neste trabalho (dados não apresentados), para eletrodos de BDD com níveis de dopagem próximos à 2000 ppm, o valor obtido para o excesso superficial da estrona foi de  $12 \text{ pmol cm}^{-2}$ , o que mostra, portanto, a influência da natureza do eletrodo sobre suas propriedades eletrônicas e estabilidade eletroquímica. Este foi, portanto, o principal motivo da escolha de um eletrodo de 8000 ppm, visando alta estabilidade para as medidas eletroquímicas, sem problemas de queda de sinal decorrentes da contaminação da superfície durante as análises, garantindo bom desempenho analítico no uso do eletrodo como detector. Vale a pena, neste ponto, voltar a discutir as constantes da velocidade de reação ( $k^0$ ). Como visto acima, é nítida a diferença de adsorção da estrona na superfície dos distintos eletrodos; em um caso, GC, ocorre forte adsorção ( $\Gamma = 167 \text{ pmol cm}^{-2}$ ), no outro, BDD, pode-se considerar que adsorção praticamente inexistente ( $\Gamma = 0,65 \text{ pmol cm}^{-2}$ ). Portanto, os valores de  $k^0$  para ambos os eletrodos devem ser analisados separadamente. No

caso do eletrodo de CG, deve-se considerar a Equação 12 para calcular  $k^0$ , por considerar que a espécie orgânica em estudo já está diretamente adsorvida na superfície do eletrodo, sem considerar o coeficiente de difusão ( $D_0$ ). No caso do eletrodo de BDD, por não considerar espécies adsorvidas na superfície do material, deve-se usar a Equação 9, na qual o termo  $D_0$  é considerado. Isto é confirmado pelas voltametrias apresentadas para o par  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  (Figura 3.6) e estrona (Figura 3.8) nos diferentes eletrodos. As semelhanças nos perfis voltamétricos entre os eletrodos de GC e BDD para o par  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ , distinguindo-se apenas pelas densidades de corrente, muito provavelmente decorrente de diferentes áreas eletroativas, mas sem nenhum processo de adsorção. Isto é verdade apesar dos distintos pré-tratamento realizados nos eletrodos de GC e BDD, tratamento de limpeza (polimento) e hidrogenação (superfície hidrofóbica), respectivamente. Por outro lado, os processos cinéticos observados em ambos eletrodos durante a oxidação da estrona são evidentemente distintos, destaca-se principalmente os valores de densidade de corrente (mesmo subtraindo a corrente de fundo) e o deslocamento de potencial de pico do processo de oxidação. Assim, as constantes para os eletrodos de GC e BDD, calculados e válidos por diferentes equações são  $3,8 \text{ s}^{-1}$  e  $1,99 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-2}$ .

É importante lembrar que o eletrodo de BDD foi submetido a um pré-tratamento catódico, isto é, a superfície se encontra predominantemente terminada em hidrogênio, sendo válida a teoria utilizada para os cálculos de  $k^0$ . Caso contrário, se a superfície fosse terminada em sistemas  $\pi$ - $\pi$  conjugados, haveria a necessidade de realizar um novo estudo para esses cálculos, uma vez que provavelmente aumentaria a adsorção da estrona sobre a superfície do eletrodo.

### 3.4 – Detecção da estrona

#### 3.4.1 – Detecção da estrona utilizando voltametria de pulso diferencial (DPV)

No desenvolvimento de um método eletroanalítico empregando DPV, faz-se necessário o estudo de alguns parâmetros que podem influenciar na resposta eletroquímica: amplitude de pulso ( $a$ ), velocidade de varredura ( $v$ ) e tempo de duração de pulso ( $t$ ). Na Figura 3.17 são apresentados os perfis voltamétricos obtidos por DPV para a estrona em função da variação da amplitude do pulso. Observou-se um aumento de magnitude de  $I_p$  com o aumento da amplitude de pulso diferencial, juntamente com um deslocamento do potencial de pico para valores menos positivos (Figura 3.17a). Entretanto, com o aumento de  $I_p$  houve também um aumento na largura dos picos, que implica diretamente na diminuição da resolução do método. Por outro lado, nota-se uma linearidade do aumento de  $I_p$  em função da amplitude de pulso até 50 mV (Figura 3.17b), sendo este, portanto, o valor escolhido para as demais medidas realizadas com essa técnica.



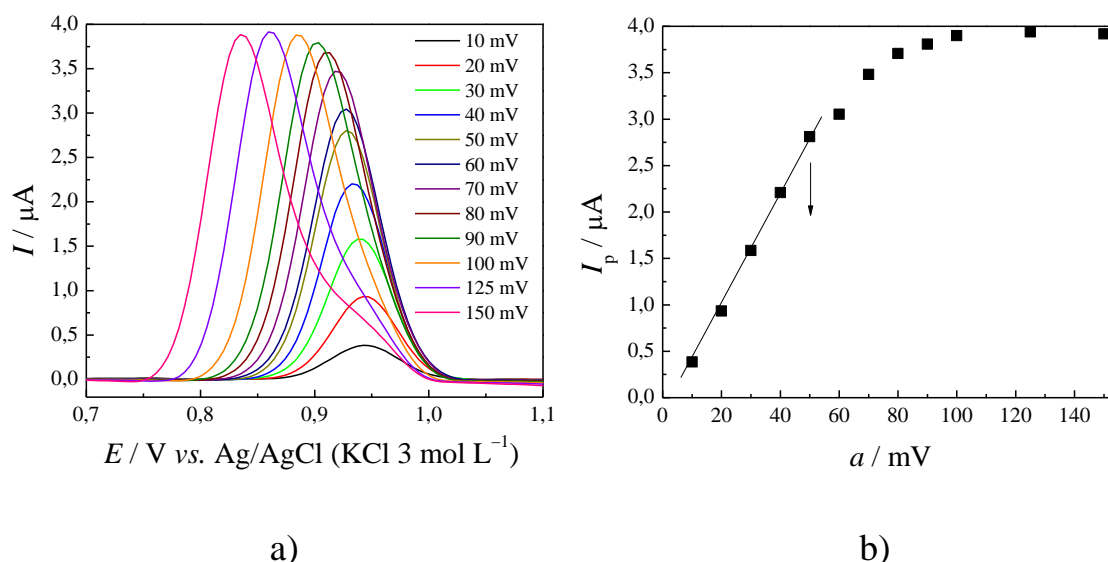


FIGURA 3.17 – **a)** Influência do valor da amplitude do pulso diferencial (indicado na figura) nos perfis voltamétricos de DPV ( $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t = 10 \text{ ms}$ ) para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  obtidos com o eletrodo de BDD pré-tratado catódicamente; **b)** correspondente dependência da corrente de pico com a amplitude de pulso.

O segundo parâmetro estudado na técnica de DPV foi a velocidade de varredura ( $\nu$ ), variada de 5 a  $70 \text{ mV s}^{-1}$  (Figura 3.18). Com o aumento de  $\nu$ , houve um aumento da magnitude de  $I_p$  e um leve deslocamento do pico para regiões de potenciais mais positivos (Figura 3.18a). Contudo, a linearidade da corrente de pico foi observada somente para valores de  $\nu$  até  $25 \text{ mV s}^{-1}$ , motivo pelo qual esta velocidade de varredura foi escolhida para a continuidade do desenvolvimento do presente trabalho.

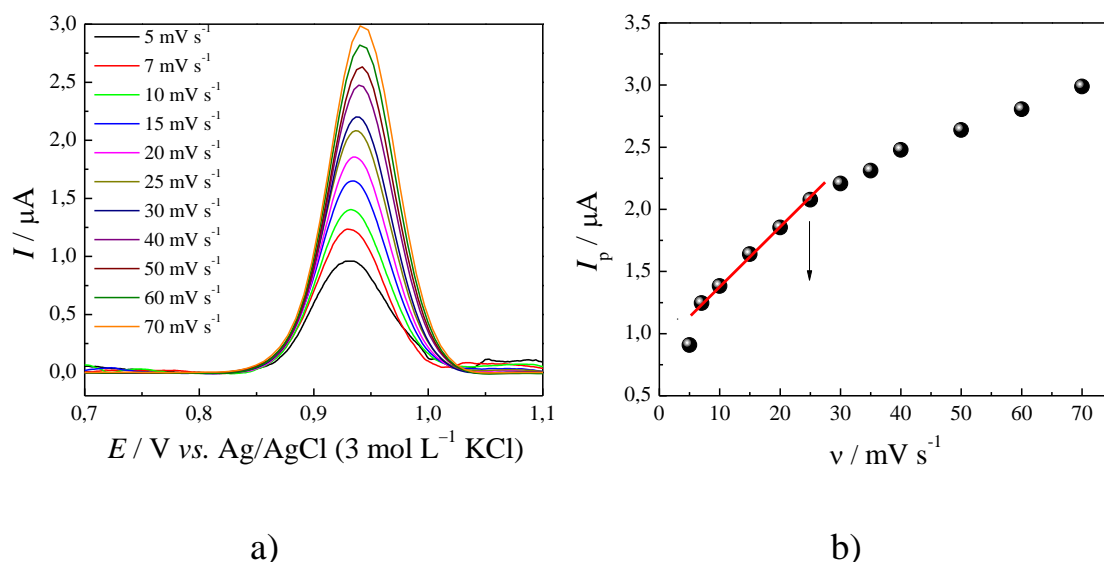


FIGURA 3.18 – a) Influência do valor da velocidade de varredura de potencial (indicado na figura) nos perfis voltamétricos de DPV ( $a = 50 \text{ mV}$ ,  $t = 10 \text{ ms}$ ) para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  obtidos com o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente; b) correspondente dependência da corrente de pico da estrona com a velocidade de varredura.

O terceiro parâmetro estudado foi o tempo de duração do pulso, variado entre 5 e 20 ms – vide Figura 3.19. Como pode ser observado nesta figura, a corrente de pico para a oxidação da estrona decresce com o aumento do tempo de duração do pulso. Devido a este comportamento, o tempo de duração de 5 ms foi selecionado para as demais medidas realizadas. Dessa forma, os valores otimizados dos parâmetros da técnica de DPV a serem usados nos estudos de limite de detecção e quantificação da estrona são:  $a = 50 \text{ mV}$ ,  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$  e  $t = 5 \text{ ms}$ .

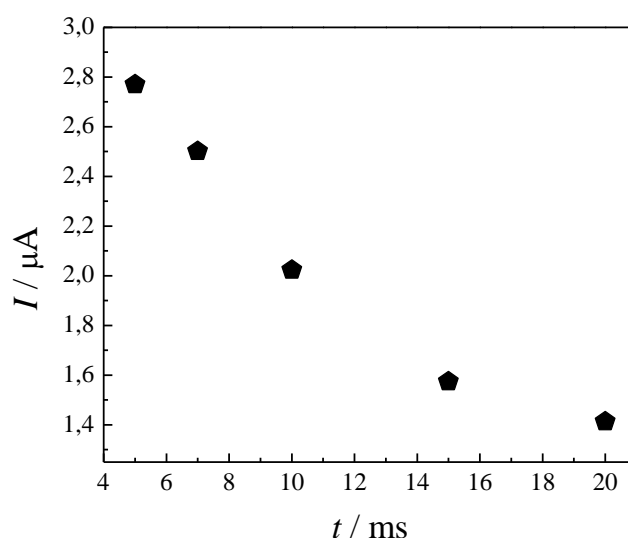


FIGURA 3.19 – Dependência da corrente de pico de oxidação da estrona com o tempo de duração do pulso para aquisição dos perfis voltamétricos de DPV ( $a = 50 \text{ mV}$ ,  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ ) para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  com o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente.

### 3.4.2 – Detecção da estrona utilizando voltametria de onda quadrada (SWV)

Similarmente à voltametria de pulso diferencial, a voltametria de onda quadrada (SWV) é uma técnica que permite realizar medidas em curtos períodos de tempo e com resultados semelhantes aos da DPV, valendo a pena comparar os resultados obtidos com as duas técnicas. Neste sentido, também é necessário investigar alguns parâmetros que interferem diretamente na resposta eletroquímica do analito ao se usar a SWV: frequência de pulsos de potencial ( $f$ ), amplitude do pulso de potencial ( $a$ ) e incremento de varredura do potencial ( $\Delta E_s$ ). Segundo MEDEIROS<sup>53</sup>, a importância do estudo da influência da frequência de aplicação dos pulsos de potencial decorre deste parâmetro determinar a intensidade dos sinais e, conseqüentemente, a sensibilidade do método; ademais, fornece informações a respeito do processo mecanístico do sistema em estudo.

A Figura 3.20a mostra os voltamogramas obtidos por SWV para a oxidação da estrona em função da frequência dos pulsos de potencial. Este parâmetro é um dos mais importantes por influenciar diretamente a intensidade da corrente de resposta, e portanto, a sensibilidade do método. Observa-se que com o aumento da frequência de aplicação dos pulsos de potencial há um pequeno deslocamento dos potenciais de pico para valores mais positivos e também um deslocamento de linha de base para valores maiores de corrente. Neste caso, escolheu-se o valor de  $f$  de  $10 \text{ s}^{-1}$  para evitar valores altos de corrente de base. Há também outras considerações a serem avaliadas na técnica de SWV; segundo SOUZA *et al.*<sup>112</sup>, há comportamentos característicos de resposta eletroquímica para os sistemas reversíveis, quase-reversíveis e irreversíveis. Nos sistemas irreversíveis, a corrente de pico apresenta uma relação linear com a frequência de aplicação do pulso de potencial, comportamento este observado na Figura 3.20b. Além disso, para este tipo de sistema, o valor do potencial de pico deve variar linearmente com o logaritmo da frequência seguindo a relação abaixo<sup>113</sup>:

$$\Delta E / \Delta \log f = 2.3RT / \alpha nF \quad \text{Equação 19}$$

onde  $\alpha$  é o coeficiente de transferência de elétrons e  $n$  o número de elétrons envolvidos na reação; os outros termos têm seus significados usuais. Na Figura 3.20c é apresentada a dependência do potencial de pico,  $E_p$ , com  $\log f$ , para os dados apresentados na Figura 3.20a. Como já relatado anteriormente, a oxidação de moléculas fenólicas não dissociadas envolve dois elétrons, enquanto as moléculas fenólicas dissociadas envolve apenas um.

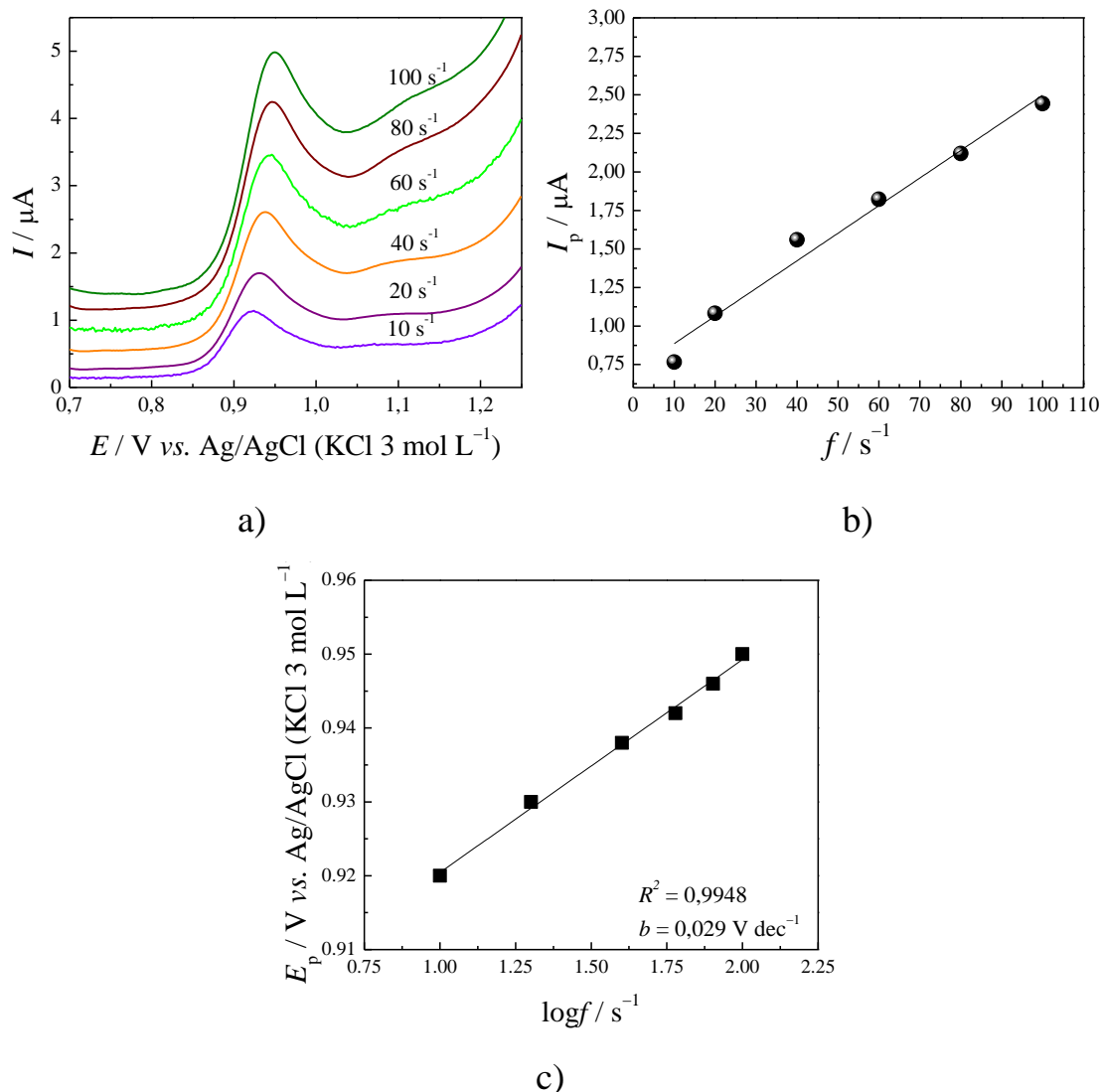


FIGURA 3.20 – a) Influência da frequência de aplicação dos pulsos de potencial (valores indicados na figura) no aspecto geral nos perfis voltamétricos de SWV ( $a = 40$  mV e  $\Delta E_s = 2$  mV) obtidos para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  com um eletrodo de BDD pré-tratado catódicamente. b) Dependência da corrente de pico com a frequência de aplicação dos pulsos de potencial. c) Dependência do potencial de pico com o logaritmo da frequência de aplicação dos pulsos de potencial.

Anteriormente, NGUNDI *et al.*<sup>105</sup> estimaram o número de elétrons transferidos ( $n = 2$ ) e o mecanismo de oxidação para a molécula de estradiol. As moléculas da estrona e do estradiol são bastante semelhantes, diferenciadas

apenas pelo grupo funcional ligado ao anel ciclo-pentano. O valor de  $\alpha$  envolvido no processo de oxidação da estrona sobre a superfície do eletrodo de BDD é próximo de um ( $\alpha > 0,5$ ), o que é bastante comum para compostos orgânicos<sup>113</sup>.

A seguir foi estudada a influência da amplitude dos pulsos de potencial na detecção da estrona utilizando SWV. Na Figura 3.21 são apresentados os perfis voltamétricos obtidos e a dependência da corrente de pico da resposta em relação à amplitude do pulso de potencial. Analisando os dados exibidos na Figura 3.21a, observa-se um aumento da intensidade de  $I_p$  com o aumento da amplitude dos pulsos de potencial e um deslocamento do potencial de pico para regiões de potenciais menos positivos. Por outro lado, o valor de  $I_p$  apresentou uma dependência linear somente para valores de amplitude de pulso de potencial menores que 25 mV (Figura 3.21b), sendo, portanto, este valor de amplitude de pulso de potencial escolhido para os estudos subsequentes.

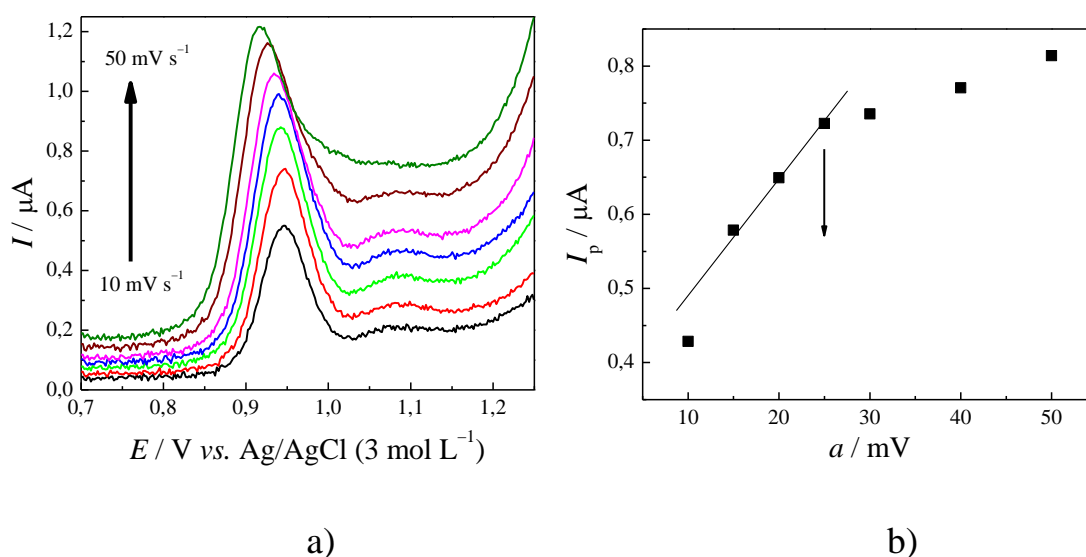


FIGURA 3.21 – **a)** Influência da variação da amplitude do pulso de potencial (valores indicados na figura) nos perfis voltamétricos de SWV ( $f = 10 \text{ s}^{-1}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ) obtidos para estrona  $2,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  com um eletrodo de BDD (8000 ppm) pré-tratado catodicamente. **b)** dependência da corrente de pico com a amplitude do pulso de potencial.

No estudo da influência do incremento de varredura de potencial (Figura 3.22), observou-se uma linearidade da corrente de pico com o incremento da varredura de potencial para valores  $\leq 4$  mV. Assim, este valor foi o escolhido para as demais medidas. Dessa forma, os valores selecionados para os parâmetros da técnica de SWV, que influenciam diretamente na resposta eletroquímica e na determinação dos limites de detecção e quantificação da estrona, foram:  $f = 10 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ .

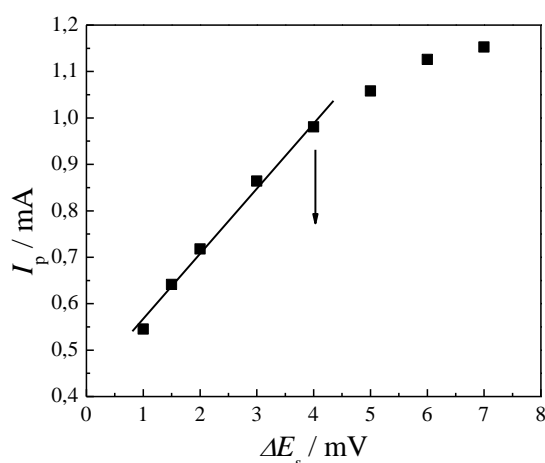


FIGURA 3.22 – Dependência da corrente de pico de oxidação da estrona com o incremento da varredura de potencial para aquisição de perfis voltamétricos de SWV ( $f = 10 \text{ s}^{-1}$  e  $a = 25 \text{ mV}$ ) para estrona  $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  com o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente.

### 3.4.3 – Curvas analíticas para a detecção da estrona por *DPV* e *SWV*

Depois de otimizados os melhores parâmetros para o processo de oxidação da estrona por *DPV* e *SWV*, as respectivas curvas analíticas para a detecção de estrona foram obtidas (em triplicata) em um intervalo de concentração variando entre  $0,20$  e  $1,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ . As medidas voltamétricas foram realizadas em um intervalo de potencial entre  $0,70$  e  $1,25 \text{ V}$

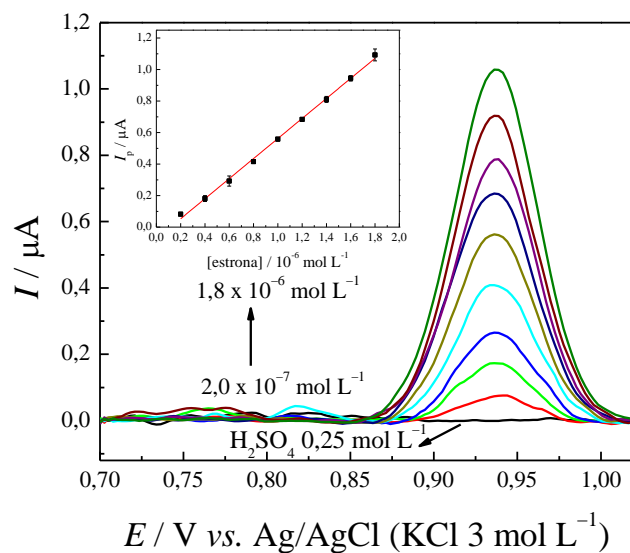
vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>) usando o eletrodo de BDD – vide Figura 3.23. Como esperado, a corrente de pico de oxidação aumenta proporcionalmente com a concentração da estrona sem nenhuma variação do potencial de pico. Adicionalmente, obteve-se excelentes linearidades resultantes das curvas analíticas ( $R^2 = 0,998$  e  $0,999$ , respectivamente).

O *LD* obtido para a detecção da estrona com o eletrodo de BDD usando *PDV* ou *SWV* foram de 0,2 e 0,1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Na Tabela 3.5 é apresentado um resumo dos valores dos melhores parâmetros obtidos usando essas técnicas com o eletrodo de BDD como detector.

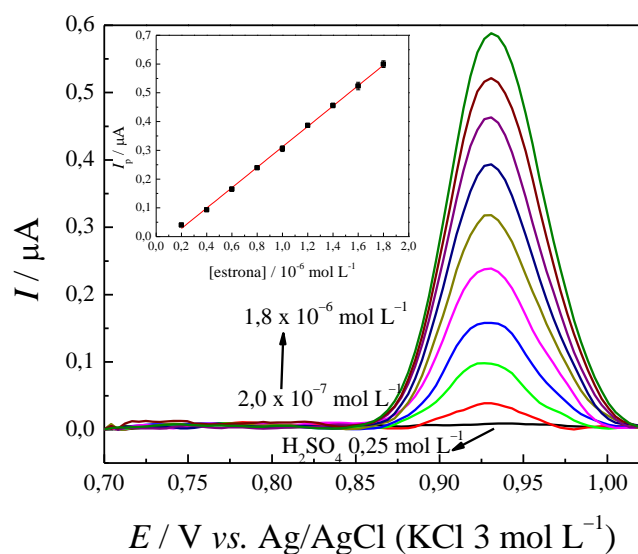
TABELA 3.5 – Parâmetros investigados e resultados obtidos com a técnica de voltametria de onda quadrada (*SWV*) em comparação à de voltametria de pulso diferencial (*DPV*) para a determinação da estrona utilizando o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente

DPV			SWV		
Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado	Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado
Tempo / ms	5 – 20	5	Frequência / Hz	10 – 100	10
Amplitude / mV	10 – 150	50	Amplitude / mV	10 – 50	25
Velocidade / mV s <sup>-1</sup>	5 – 70	25	Incremento / mV	1 – 8	4
Equação da reta: $I_p / \mu\text{A} = -0,0743 + 0,6365 \{[\text{estrona}] / \mu\text{mol L}^{-1}\}$ $LD = 0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ Faixa de linearidade: 0,20 – 1,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$			Equação da reta: $I_p / \mu\text{A} = -0,0427 + 0,3548 \{[\text{estrona}] / \mu\text{mol L}^{-1}\}$ $LD = 0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ Faixa de linearidade: 0,1 – 1,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$		





a)



b)

FIGURA 3.23 – a) Voltamogramas de pulso diferencial ( $a = 50$  mV,  $v = 25$  mV s<sup>-1</sup> e  $t = 10$  ms) e b) de onda quadrada ( $f = 10$  s<sup>-1</sup>,  $a = 25$  mV e  $\Delta E_s = 4$  mV) para diferentes concentrações de estrona em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25 mol L<sup>-1</sup>. Insetos: respectivas curvas analíticas obtidas para a estrona por DPV e SWV.

Existem diversos valores de *LD* relatados na literatura para a detecção da estrona utilizando diferentes tipos de materiais de carbono como detector, matrizes e técnicas eletroquímicas – vide Tabela 3.6. COLLIER *et al.*<sup>50</sup> desenvolveram um sistema analítico miniaturizado para separar e detectar um grupo de esteroides estrogênicos. Este sistema baseava-se em acoplar uma micromáquina com um *chip* de capilaridade eletroforese a um eletrodo de carbono vítreo. As medidas eram realizadas no modo amperométrico, obtendo-se linearidade na faixa de concentrações de estrona de 100 – 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Este estreito intervalo de linearidade resultou em um baixo valor de *LD* (48,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) para a estrona. Além de problemas de solubilidade em concentrações acima de 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , os autores relatam a forte influência da gradual formação de produtos oxidados na superfície do eletrodo de CG, o que levou a uma precisão nas medidas drasticamente baixa (RSD = ~20%). Considerando esses problemas, algumas alternativas como a pré-concentração das amostras antes das análises usando a extração em fase sólida (*SPE*) ou a modificação do eletrodo usando uma resposta eletrocatalítica apropriada em baixos potenciais de operação poderiam tornar o método sensível para a detecção destes compostos fenólicos.

TABELA 3.6 – Valores de *LD* relatados na literatura e os obtidos nesta tese para a determinação de estrona utilizando diferentes eletrodos de carbono modificados e BDD.

Referências	Eletrodo	Técnica	Curva analítica / $\mu\text{mol L}^{-1}$	$R^2$	<i>LD</i> / $\mu\text{mol L}^{-1}$
MUNA <i>et al.</i> <sup>114</sup>	Ni-GC	CV	5 – 100	0,997	0,10
HAO <i>et al.</i> <sup>45</sup>	GC	LC-EC	0,18 – 3,7	0,996	0,001
COLLIER <i>et al.</i> <sup>50</sup>	GC	LC-EC	100 – 300	0,990	48,5
NOVAKOVIC <i>et al.</i> <sup>49</sup>	CF	LC-EC	37 – 185	0,999	14,8
Esta tese	BDD	DPV	0,2 – 1,8	0,998	0,2
		SWV	0,1 – 2,0	0,999	0,1

Neste sentido, MUNA *et al.*<sup>114</sup> estudaram a oxidação eletrocatalítica de diferentes compostos estrogênicos fenólicos sobre um eletrodo de GC modificado com níquel (Ni-GC) usando a voltametria cíclica. A modificação da superfície do eletrodo resultou em um valor de *LD* para a oxidação da estrona de  $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$  com *RSD* menor que 2%, demonstrando, portanto, que a incorporação de níquel na superfície do eletrodo de GC promove uma maior estabilidade nas medidas analíticas. Embora a modificação da superfície do eletrodo de GC apresente bons resultados, nesta tese foi usado um eletrodo de BDD sem qualquer modificação de superfície, obtendo resultados similares com as técnicas de *DPV* e *SWV*. Os eletrodos de BDD apresentam uma pequena quantidade de impurezas de carbonos não diamante em sua superfície, separados por uma grande região de carbono na forma de diamante<sup>54</sup>. Este material possui uma superfície não polar e a sua funcionalidade química (H-BDD, isto é, terminações superficiais em hidrogênio) é uma importante característica para as

medidas eletroquímicas com esses compostos orgânicos fenólicos devido à baixa adsorção, como já discutido anteriormente.

Ambas as técnicas eletroquímicas usadas neste trabalho, usando o eletrodo de BDD, apresentam resultados promissores na detecção e quantificação da estrona. No entanto, conforme apresentado na Tabela 3.5, pela técnica *SWV* obteve-se os melhores resultados em termos de detectabilidade (*LQ* e *LD*) na determinação da estrona, sendo, portanto, esta técnica escolhida para os estudos subsequentes.

A repetibilidade intra-dia para a detecção da estrona sobre o eletrodo de BDD foi realizada com 5 medidas sucessivas ( $n = 5$ ) no mesmo dia. Já para a investigação da repetibilidade entre-dias, as medidas eletroquímicas de detecção ( $n = 3$ ) foram conduzidas em 7 dias distintos. Os desvios padrões relativos para a repetibilidade intra-dia e entre-dias foram de apenas 2,7 e 2,1%, respectivamente, o que mostra, portanto, a excelente estabilidade e repetibilidade da corrente de resposta para a oxidação da estrona sobre o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente.

Assim, estudos de recuperação foram realizados em três níveis de concentração de estrona (0,4, 1,4 e 2,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) em água MilliQ, de torneira e coletada em um rio – vide Tabela 3.7. Alíquotas da solução estoque de estrona foram adicionadas em cada amostra (em triplicada) e determinadas por *SWV* e *LC/UV-vis*, sendo avaliados os respectivos desvios padrões de cada método. Os valores de recuperação obtidos para a estrona em águas MilliQ, de torneira e de rio ficaram nas faixas de 99 – 108%, 96 – 108% e 93 – 101%, respectivamente, sendo estes valores são indicativos que a matriz empregada não apresenta nenhuma interferência significativa. Finalmente, com o intuito de comparar a resposta da detecção eletroquímica com a de uma técnica comumente utilizada, a detecção da estrona também foi avaliada utilizando a técnica *LC/UV-vis* (vide item 3.5.1) nas mesmas condições utilizadas para o método eletroquímico – vide Tabela 3.7. Os valores de recuperação para a estrona nas três diferentes

concentrações e matrizes foram similares aos relatados acima para o método eletroquímico, com valores variando nas faixas de 99 – 113%, 98 – 111% e 88 – 113% para a água MilliQ, de torneira e de rio, respectivamente. Neste sentido, pode-se afirmar que o método eletroquímico proposto neste trabalho apresenta confiabilidade nas diferentes matrizes aquosas.

TABELA 3.7 – Resultados obtidos para a determinação de estrona ( $n = 3$ ) em diferentes matrizes de água por método LC e o eletroquímico por SWV usando um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente.

Matriz	[estrona] / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Método eletroquímico proposto (SWV)			Método LC/UV-vis		
		[estrona] encontrada / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação média / %	DP / %	[estrona] encontrada / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação média %	DP / %
MilliQ	0,40	0,40	99	1,4	0,39	99	1,0
	1,4	1,4	108	2,9	1,4	113	1,3
	2,2	2,3	104	0,8	2,4	111	1,2
Torneira	0,40	0,39	108	6,9	0,39	98	6,7
	1,4	1,3	107	4,3	1,3	106	2,0
	2,2	2,4	96	3,9	2,4	111	3,4
Rio	0,40	0,38	96	7,6	0,35	88	2,0
	1,4	1,1	93	4,6	1,3	109	5,3
	2,2	2,2	101	2,6	2,5	113	2,6

A alta sensibilidade da detecção eletroquímica da estrona utilizando um eletrodo de BDD foi obtida no modo voltamétrico, onde o potencial é varrido

por uma determinada janela de potencial durante a medida. No entanto, os valores de  $LD$  obtidos são consideravelmente altos devido à corrente de fundo que surge, em parte, a partir da dupla camada elétrica<sup>100</sup>. Embora as técnicas de  $DPV$  e  $SWV$  possam contribuir para reduzir esse efeito, a sensibilidade pode ser melhorada com um eletrodo operando em um potencial fixo sem mudanças na composição da fase móvel. Dessa forma, a próxima etapa do trabalho foi realizar a detecção da estrona utilizando um sistema de injeção em fluxo – FIA-EC (*flow injection analysis*) acoplado a um detector eletroquímico (eletrodo de BDD).

#### 3.4.4 – Detecção da estrona utilizando o sistema FIA

Para um sistema em fluxo acoplado a um sistema eletroquímico ter uma boa performance na detecção de estrona com o eletrodo de BDD, faz-se necessário avaliar alguns parâmetros que podem influenciar diretamente na resposta eletroquímica, tais como potencial aplicado e volume de injeção.

Na Figura 3.24 são apresentadas as curvas hidrodinâmicas  $I$  vs.  $E$  e  $Q$  vs.  $E$  (cada ponto é a média de três injeções de 250  $\mu\text{L}$ ) para a oxidação de estrona 4  $\mu\text{mol L}^{-1}$  ( $I_p - I_{\text{fundo}}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5  $\text{mol L}^{-1}$ , e as respectivas correntes de fundo obtidas em cada potencial aplicado. A vazão da fase móvel utilizada ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5  $\text{mol L}^{-1}$ ) foi de 1,0  $\text{mL min}^{-1}$ . Os dados foram coletados 20 a 30 min após o início da aplicação do potencial e cada experimento foi realizado em triplicata. Ao se analisar a curva hidrodinâmica  $I$  vs.  $E$ , observa-se uma curva sigmoide bem definida, com a corrente passando a ser limitada pelo transporte de massa para potenciais mais positivos que cerca de 1,10  $\text{V}$ <sup>54</sup>. O potencial de meia onda, por sua vez, é de aproximadamente 0,96  $\text{V}$  ( $E_p - E_{1/2} = 0,14 \text{ V}$ ). Por outro lado, acima de 1,10  $\text{V}$ , a corrente apresenta um aumento acentuado devido à contribuição da corrente de fundo decorrente da reação de desprendimento de oxigênio. Neste sentido, acima do potencial de 1,10  $\text{V}$ , qualquer potencial pode ser selecionado para a detecção do composto de interesse, usualmente, o melhor

valor de potencial a ser escolhido é um ligeiramente acima do primeiro ponto onde se observa a influência da limitação por transporte de massa (para reduzir a influência de erros experimentais). Portanto, o potencial escolhido para conduzir os demais experimentos foi de 1,15 V com corrente de resposta de aproximadamente 200 nA para estrona  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

O ligeiro aumento do potencial de pico para a oxidação da estrona em um sistema FIA em comparação àqueles obtidos por voltametria cíclica em uma célula comum é devido à resistência da célula eletroquímica de fluxo. Este é um indicativo de um comportamento do eletrodo de BDD similar àqueles sem histórico eletroquímico, mesmo após a aplicação da polarizações anódica e catódica (limpeza e hidrogenação da superfície). JOLLEY *et al.*<sup>54</sup> relatam que filmes com extensivo histórico eletroquímico (polarização anódica e/ou catódica, eletrodeposição de metais e eletrólises de cloreto) raramente exibem um formato sigmoide, e os valores aparentes de  $E_{1/2}$  para esses filmes excedem 0,5 V. O eletrodo de BDD utilizado neste trabalho foi tratado anódica e catodicamente por sucessivas vezes; embora essas polarizações diárias mantivessem o eletrodo de certa forma estável durante determinado período de tempo, observou-se um decaimento da corrente de oxidação de estrona  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  durante os experimentos, no entanto com sua estabilização permanente após um certo período de tempo de uso. Esta observação, neste caso, é um indicativo de que os eletrodos com altas dopagens sofrem, de certo modo, uma desativação eletroquímica da superfície, comparativamente a um eletrodo recém-produzido, contudo mantêm-se estáveis o suficiente para resistirem à desativação durante as medidas (perda de hidrogênio da superfície) após longos períodos de uso.

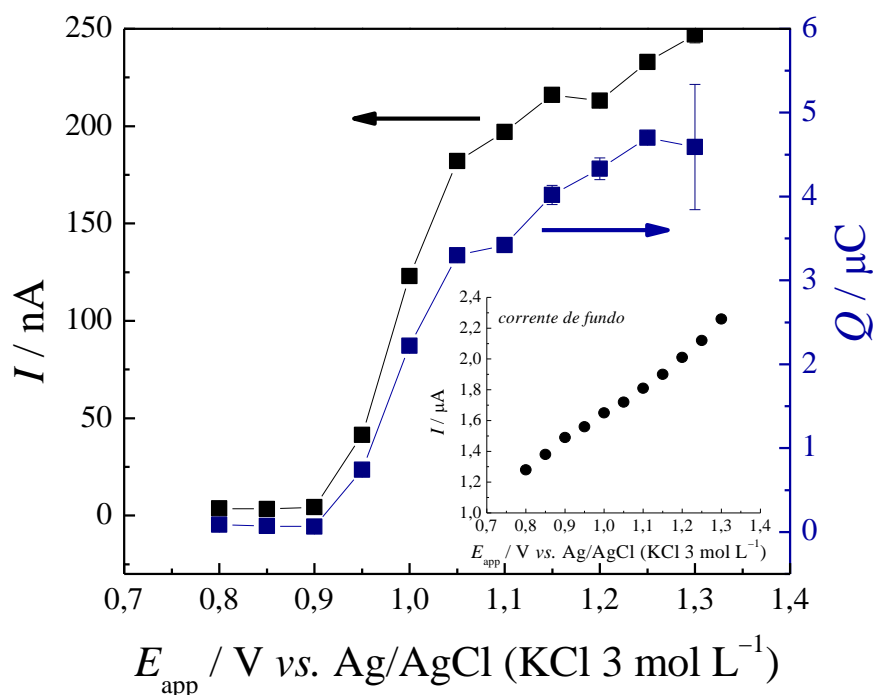


FIGURA 3.24 – Curvas hidrodinâmicas  $I$  vs.  $E$  e  $Q$  vs.  $E$  para estrona  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  (volume injetado =  $250 \mu\text{L}$ ) obtidas usando um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente. Inseto: corrente de fundo nos potenciais investigados. Cada dado representa a média de três injeções. A solução transportadora era  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , a uma vazão de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ .

O volume de injeção também foi investigado com o intuito de analisar a dependência da resposta eletroquímica para a oxidação da estrona com o tempo de passagem do analito pela célula em fluxo. Na Figura 3.25 são apresentadas a corrente e a carga obtidas para a oxidação de estrona  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  a partir de diferentes volumes de injeção. Nesta figura, dois comportamentos diferentes podem ser observados: aumento da corrente de oxidação da estrona tendendo a uma forma sigmoide enquanto o da carga tende a ser linear. Quando o volume de estrona injetado aumenta, maior é o tempo que a solução transportadora contendo a estrona permanece na célula de fluxo; dado que  $Q = I \times t$ , isso significa que há uma influência direta na carga anódica de oxidação. A corrente de resposta aumenta até volumes de injeção próximos de  $300 \mu\text{L}$ ;



provavelmente este é o volume mínimo necessário para manter a concentração de estrona constante durante determinado período, podendo assim ser efetivamente detectada (oxidada) com sinal e repetibilidade estáveis.

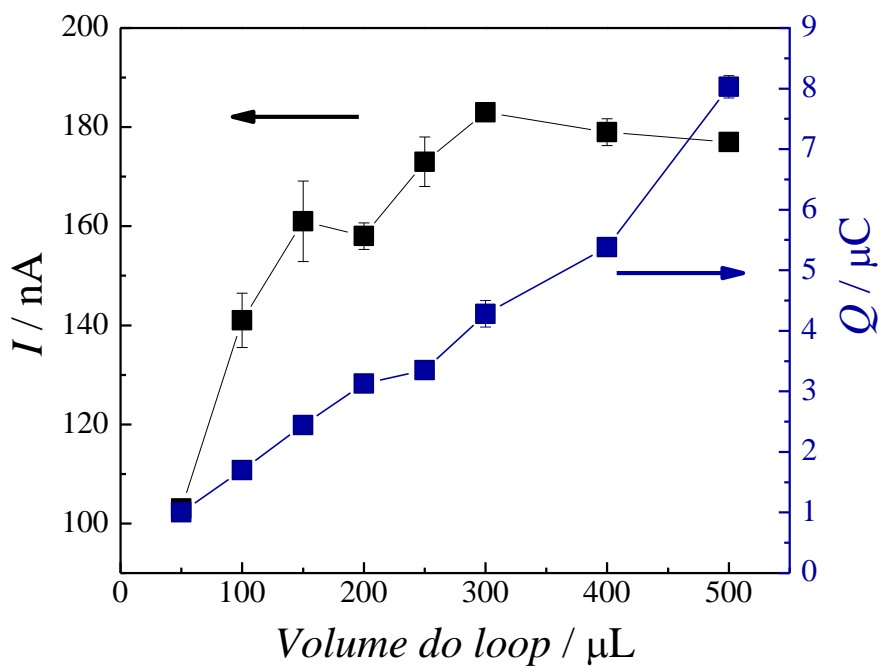


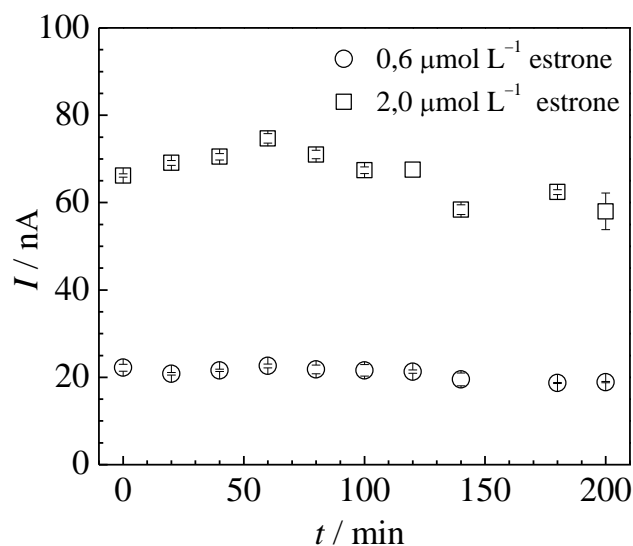
FIGURA 3.25 – Valores de corrente e carga anódica para a oxidação de estrona  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  obtidos por detecção amperométrica com o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente para diferentes volumes de injeção ( $n = 3$ ). A solução transportadora era  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , a um fluxo de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ .

Em geral, à performance de detectores eletroquímicos associa-se como principais características a estabilidade do sinal de resposta e a baixa adsorção de subprodutos em sua superfície. Como discutido anteriormente, os eletrodos de GC apresentam alguns inconvenientes em relação à estabilidade de sinal e à adsorção. Anteriormente, XU *et al.*<sup>101</sup> compararam a detecção amperométrica de eletrodos de BDD e GC. Nas respostas hidrodinâmicas, observaram que o eletrodo de GC apresenta uma corrente de fundo bem maior que o de BDD, justificando este comportamento como decorrente de uma

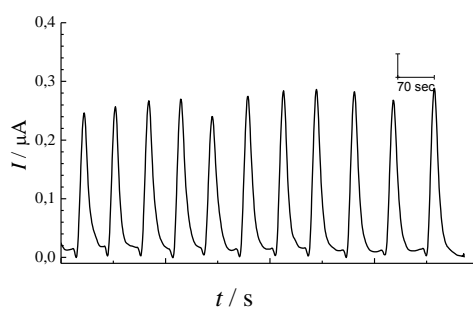
combinação da oxidação da superfície e a reação de desprendimento de oxigênio. A estrona, como previamente discutido, possui um anel fenólico em sua estrutura, sendo que durante a detecção eletroquímica desta classe de compostos orgânicos comumente ocorre forte adsorção, associada a polimerização, formação de produtos intermediários e interações com as diferentes espécies terminais na superfície do eletrodo<sup>101</sup>. O eletrodo de BDD contém uma pequena quantidade de impurezas de carbono não diamante em sua superfície<sup>101</sup>, entretanto, as terminações em hidrogênio mantêm-se constante na superfície, reduzindo, portanto, a probabilidade de espécies adsorvidas.

A estabilidade do eletrodo de BDD foi analisada através da resposta amperométrica para a oxidação de estrona em duas concentrações distintas (0,6 e 2,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) aplicando o potencial de 1,15 V (vs. Ag/AgCl) por 200 min (vide Figura 3.26); cada ponto na figura corresponde à média de três injeções dentro de um intervalo de 2 min. Para ambas as concentrações injetadas, o eletrodo apresentou boa estabilidade ao longo de tempo. Estes resultados são bons exemplos de como os eletrodos de BDD são estáveis, mesmo após sido ter sido submetido a polarizações. SALAZAR-BANDA *et al.*<sup>22</sup> relataram o efeito do tempo de exposição ao ar sobre a resposta eletroquímica ao par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  de eletrodos de BDD com diferentes níveis de dopagem pré-tratados catodicamente (portanto, inicialmente com superfícies enriquecidas em terminações de hidrogênio). O eletrodo de BDD com alto nível de dopagem com boro (8000 ppm) apresentou uma excelente estabilidade em sua resposta ao par redox. Entretanto, à medida que o nível de dopagem do eletrodo era menor, a resposta decresceu mais acentuadamente com o tempo de exposição ao ar. Portanto, desses resultados conclui-se que alta dopagem de boro estabiliza, de alguma maneira, as terminações superficiais de hidrogênio no BDD. Portanto, se adequadamente dopados, eletrodos de BDD pré-tratados catodicamente podem apresentar vantagens em relação aos eletrodos de GC para usos em detecções amperométricas, por exemplo, pois estes apresentam baixa estabilidade para

longos períodos de aplicação de potencial, isto é, as análises precisam ser obtidas em períodos curtos no potencial de detecção devido à progressiva desativação do eletrodo. Já no caso de eletrodos de BDD, o processo de oxidação pode ser monitorado por um longo período de tempo sem comprometimento da estabilidade do sinal eletroquímico<sup>101</sup>.



a)



b)

FIGURA 3.26 – a) Resultados de FIA-EC para múltiplas injeções de duas diferentes concentrações de estrona (indicadas na figura), e b) resposta amperiométrica de uma solução de  $0,6 \mu\text{mol L}^{-1}$  estrona em um sistema FIA, em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , usando um eletrodo de BDD pré-tratado catódicamente,  $E_{\text{app}} = 1,15 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1})$ . O volume injetado de estrona foi de  $250 \mu\text{L}$  e a solução carreadora era  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , a um fluxo de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ .

A curva analítica e um resumo dos resultados obtidos usando o sistema FIA com o eletrodo de BDD como detector estão apresentados na Figura 3.27 e Tabela 3.8, respectivamente. O intervalo de concentração linear obtido para a detecção da estrona foi de  $0,060 - 2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ , com valores de  $RSD < 5\%$ . O limite de detecção obtido para a estrona foi de  $0,050 \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $14 \text{ ng mL}^{-1}$ ); este  $LD$  corresponde à menor concentração para a qual o sinal de corrente de oxidação da estrona ( $n = 5$ ) ainda apresenta um valor de  $RSD < 15\%$ . Este valor de  $LD$ , mais baixo que os obtidos por  $DPV$  e  $SWV$ , é comparável aos obtidos para a estrona (vide Tabela 3.6), outros compostos estrogênicos e seus derivados, por outros autores. VEGA *et al.*<sup>51</sup> investigaram o desempenho de eletrodos de GC modificados com nanotubos de carbono (CNT-GC) em um sistema LC-EC para a detecção de compostos estrogênicos fenólicos; para EE2 relataram um valor de  $LD$  de  $0,340 \mu\text{mol L}^{-1}$ , aproximadamente sete vezes mais alto que o obtido nesta tese. Estes mesmos compostos foram detectados por LIU *et al.*<sup>115</sup> usando um sistema FIA-EC com um eletrodo de um compósito de Ni(II)tetraquis(4-sulfonatofenila) de porfirina e GC (NiTPPS/GC); neste caso, para etinilestradiol o valor de  $LD$  relatado foi de  $0,120 \mu\text{mol L}^{-1}$ , aproximadamente 2,4 vezes mais alto que o obtido nesta tese. YAMADA *et al.*<sup>116</sup> usaram um detector eletroquímico comercial, com multi-eletrodos, para determinar estradiol em solução aquosa padrão e amostras de plasma de ratos; os valores de  $LD$  foram de  $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $3 \text{ nmol L}^{-1}$ ) e  $2,4 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $9,9 \text{ nmol L}^{-1}$ ), respectivamente. Aplicando o critério  $LD = 3 S/N$ , um  $LD$  consideravelmente menor é obtido para a detecção amperométrica da estrona ( $LD = 2,0 \text{ nmol L}^{-1}$  ou  $0,54 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Este valor assemelha-se com os detectores atualmente disponíveis no mercado; espectrômetros de massas (MS) é um exemplo, mas o alto custo de manutenção e manipulação limitam a acessibilidade e uso<sup>51</sup>. Portanto, o método analítico de detecção pelo sistema FIA-EC, além de ser um sistema de fácil uso, com um material de eletrodo como o BDD, além de apresentar propriedades única, é

comparável com os comerciais, dependendo da aplicabilidade, alta sensibilidade em baixas concentrações.

A estabilidade intra-dia e entre-dias do sinal de oxidação para a detecção de estrona com o sistema FIA-EC usando o eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente foi avaliada em três concentrações diferentes ( $n = 5$ ): 0,10, 1,0 e 1,7  $\mu\text{mol L}^{-1}$  – vide Tabela 3.9. Observou-se excelente repetibilidade para o sistema, com valores entre 94 – 111% e 0,8 – 7%, respectivamente.

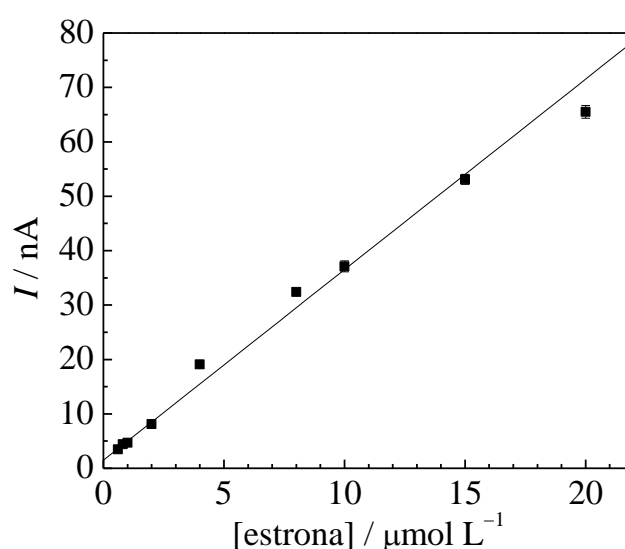


FIGURA 3.27 – Curva analítica ( $n = 3$ , registrado com 2 min de intervalo) obtida usando um eletrodo de BDD pré-tratado com polarização catódica ( $E_{\text{app}} = 1,15 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1})$ ), para a estrona nas concentrações em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5  $\text{mol L}^{-1}$ : 0,060, 0,080, 0,10, 0,20, 0,40, 0,80, 1,0, 1,5 and 2,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Volume injetado foi de 250  $\mu\text{L}$  e a solução transportadora era  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5  $\text{mol L}^{-1}$ , a uma vazão de 1  $\text{mL min}^{-1}$ .

TABELA 3.8 – Figuras de mérito obtidas para a detecção da estrona (E1) usando um sistema FIA-EC com um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente.

Intervalo linear / ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	LD / ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Equação analítica	$R^2$
0,060 – 2,0	0,050	$I_p / \text{nA} = 1,05 + 3,50\{[\text{E1}] / (\mu\text{mol L}^{-1})\}$	0,988

TABELA 3.9 – Resultados de repetibilidade intra e entre-dias para a detecção de estrona ( $n = 5$ ) usando um sistema FIA-EC com um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente.

[E1] / $\mu\text{mol L}^{-1}$	1º dia		2º dia		3º dia	
	[E1] <sub>f</sub> / $\mu\text{mol L}^{-1}$	DP / %	[E1] <sub>f</sub> / $\mu\text{mol L}^{-1}$	DP / %	[E1] <sub>f</sub> / $\mu\text{mol L}^{-1}$	DP / %
0,10	0,11	4,8	0,11	5,2	0,11	7,1
1,0	1,1	1,8	1,0	4,8	1,0	5,9
1,7	1,7	0,8	1,7	2,4	1,6	2,2

[E1]<sub>f</sub> = [E1] encontrada.

Em seguida, foram realizados estudos de recuperação pela eletro-detecção de amostras fortificadas de estrona em amostras reais de água de torneira e de rio. Assim, concentrações conhecidas de estrona foram adicionadas em cada amostra, seguida da detecção amperométrica com o sistema de FIA-EC proposto. Conforme pode ser visto na Tabela 3.10, os valores de recuperação para a estrona em amostras de água de torneira e de rio variaram nas faixas 95 – 107% e 89 – 98%, respectivamente. Considerando-se estes resultados, pode-se concluir que o método não apresenta influência externa significativa causada pelo efeito matriz, não havendo necessidade de preparos de amostras complicados e demorados.

TABELA 3.10 – Valores de recuperação encontrados para a molécula de estrona (E1) em duas matrizes de água ( $n = 5$ ) usando um sistema FIA-EC com um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente.

[E1] / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Água de torneira				Água de represa			
	$I$ / nA	[E1] <sub>f</sub> / $\mu\text{mol L}^{-1}$	SD / %	Precisão / %	$I$ / nA	[E1] <sub>f</sub> / $\mu\text{mol L}^{-1}$	SD / %	Precisão / %
branco	11	-	-	-	110	-	-	-
0,10	16	0,11	3,0	110	115	0,098	9,0	98
1,0	45	0,94	2,4	94	145	0,97	6,9	97
1,7	69	1,6	1,5	94	165	1,5	4,0	88

[E1]<sub>f</sub> = [estrona] encontrada.

Com esses dados, fica clara a estabilidade do eletrodo de BDD no seu uso como detector eletroquímico. No entanto, a maioria dos estrogênios apresenta sobreposição de resposta eletroquímica (oxidam na mesma região de potencial) devido ao anel fenólico constituinte em suas estruturas. A técnica de LC é uma boa ferramenta para separar esses compostos, mas, usualmente, os detectores mais comumente utilizados são os de UV-vis e MS. Entretanto, o uso de um detector eletroquímico torna o método mais barato para a detecção desses compostos estrogênicos. Dessa forma, alguns compostos estrogênicos naturais (estriol,  $17\beta$ -estradiol e estrona) e sintéticos ( $17\alpha$ -etinilestradiol e dietilestilbestrol) foram efetivamente separados (cada um deles na concentração  $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) utilizando um sistema LC com o detector eletroquímico de BDD acoplado. As condições usadas neste caso foram: fase móvel constituída de tampão fosfato ( $20 \text{ mmol L}^{-1}$ ; pH 3,0) / acetonitrila (55:45  $v/v$ ), vazão de  $1 \text{ mL min}^{-1}$  e coluna analítica cromatográfica C18 (15,0 cm x 0,46 cm, Luna Phenomenex® 10  $\mu\text{m}$ , 100 Å). Previamente, foram injetados os respectivos

estrogênios separadamente para identificar (dados não apresentados) seus respectivos tempo de retenção.

Para avaliar o potencial de oxidação adequado para a análise de cada um desses compostos estrogênicos, foram obtidas curvas hidrodinâmicas. A janela de potencial aplicado foi de 0,80 – 1,4 V *vs.* Ag/AgCl (KCl 3 mol L<sup>-1</sup>), sendo que os resultados obtidos estão apresentados na Figura 3.28. Da análise desta figura, depreende-se que é possível usar um único potencial de eletrodo e obter valores de corrente adequados para oxidar todos os hormônios, isto é, 1,35 V. Neste caso, em relação aos métodos de *SWV*, *DPV* e sistema *FIA*, o deslocamento de  $E_p$  para regiões de potenciais mais positivos deve-se, possivelmente, a: (i) diferença de condutividade da solução; (ii) diferentes eletrólitos aquosos; (iii) solventes orgânicos e (iv) tipo de célula eletroquímica utilizada. O uso de solvente orgânico, além da necessidade básica para separar os compostos na coluna cromatográfica, também pode ajudar na redução de espécies adsorvidas na superfície no eletrodo de trabalho. Dessa forma, além das vantagens já discutidas para as técnicas anteriores, cabem algumas considerações em relação ao sistema LC-EC, como: (i) baixa tendência à ocorrência de processos de adsorção na superfície de eletrodos de BDD; (ii) a vazão constante da fase móvel remove subprodutos fracamente adsorvidos na superfície; (iii) o solvente orgânico contribui sinergicamente para a limpeza da superfície do eletrodo; (iv) a coluna separa os compostos, permitindo a análise de várias moléculas de uma única vez.



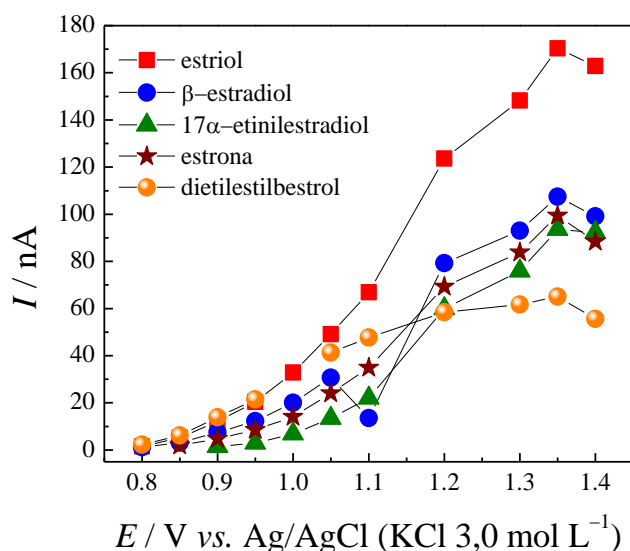


FIGURA 3.28 – Curvas hidrodinâmicas  $I$  vs.  $E$  para diferentes estrogênios (indicados na figura)  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  (volume injetado =  $250 \mu\text{L}$ ) obtidas usando um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente. Fase móvel: tampão fosfato ( $20 \text{ mmol L}^{-1}$ ; pH 3,0) /acetonitrila ( $55:45 \text{ V/V}$ ), a um fluxo de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ .

Na Figura 3.29 é mostrado um cromatograma referente à separação e detecção amperométrica dos compostos estrogênicos utilizando um sistema LC-EC com um eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente. A corrente de fundo se estabiliza rapidamente neste sistema, e o tempo total de análise entre os compostos é de menos de 12 min, entre o primeiro e último pico. Além disso, os valores de  $I_p$  para os estrogênios estriol,  $17\beta$ -estradiol, estrona,  $17\alpha$ -etinilestradiol e dietilestilbestrol foram de 169, 107, 93, 99 e 65 nA, respectivamente. No entanto, em um desenvolvimento de método também leva-se em consideração o desvio padrão para determinação da menor concentração na curva analítica, que apresente valores menores que 20%, sendo este o  $LD$ . Infelizmente, o material da célula eletroquímica utilizada neste estudo era composto de acrílico e o uso de metanol e acetonitrila provocou danos que impediram a continuidade dos experimentos. O uso de um material como o teflon poderia ser uma alternativa para este tipo de problema, no entanto deve-se ressaltar o cuidado que se deverá

tomar com a possível presença de bolhas internas, cuja presença não poderia ser facilmente percebida uma vez que o teflon não é incolor. De qualquer modo, ficou demonstrada a possibilidade de separar esses compostos estrogênicos, sendo que os baixos valores de *LD* obtidos previamente neste trabalho são menores que aqueles previamente relatados na literatura<sup>117,50,45,49</sup>. Por exemplo, SMYTH & FRISCHKORN<sup>117</sup> estudaram a eletro-deteção de hormônios em carne utilizando um eletrodo de carbono vítreo e obtiveram, para estrona, um valor de *LD* de aproximadamente 0,6  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . No caso da estrona, outros trabalhos estão citados na Tabela 3.6. Além do fator da resistividade da solução e o deslocamento de potencial de oxidação para valores mais positivos, o eletrodo de BDD se destaca principalmente pela ampla janela de potencial, baixa corrente capacitiva e resistência da oxidação da superfície, destacando-se, portanto, de outros materiais de carbono utilizados como detectores. XU & SWAIN<sup>101</sup>, por exemplo, relatam que eletrodos de GC apresentam um fator de corrente de fundo sete vezes maior em relação aos eletrodos de BDD. Esses altos valores decorrem da contribuição da oxidação parcial da superfície e da reação de desprendimento de oxigênio. Estes resultados demonstram uma das vantagens do uso do eletrodo de BDD para deteção amperométrica.

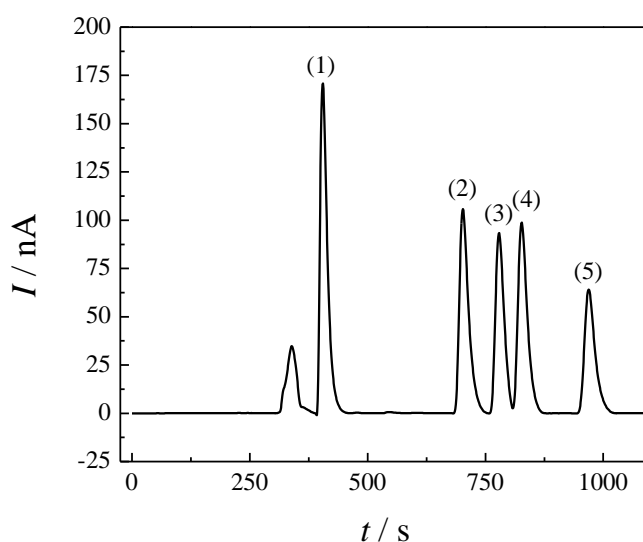


FIGURA 3.29 – Separação cromatográfica usando um sistema LC-EC com detecção eletroquímica (eletrodo de BDD pré-tratado catodicamente) dos estrogênios naturais, (1) estriol, (2)  $17\beta$ -estradiol, (4) estrona, e os sintéticos, (3)  $17\alpha$ -etinilestradiol, e (5) dietilestilbestrol, respectivamente, todos na concentração  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Fase móvel: tampão fosfato ( $20 \text{ mmol L}^{-1}$ ; pH 3) / acetonitrila ( $55:45 \text{ V/V}$ ), a vazão de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ . Detecção usando  $E = 1,35 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1})$ .

### 3.5 – Estudo de degradação da molécula estrona utilizando um eletrodo de Nb/BDD

Materiais à base de carbono, como é o caso do eletrodo de BDD, são utilizados para diversas aplicações no campo da Química, como: sensores, eletrossíntese orgânica ou inorgânica e tratamento de águas. Na segunda etapa deste trabalho de doutorado, serão apresentados os resultados obtidos na degradação eletroquímica de uma molécula estrogênica, a estrona, em baixas concentrações, utilizando um eletrodo de Nb/BDD (nível de dopagem entre 2000 – 4000 ppm). Algumas variáveis que pudessem ter alguma influência no processo

de degradação da estrona foram investigadas. Por outro lado, a identificação de intermediários gerados durante a eletrólise e o mecanismo de degradação para a estrona também foram estudados. Os compostos estrogênicos geralmente são encontrados em baixas concentrações nas estações de tratamento de esgoto, e devido à baixa solubilidade da estrona em meio aquoso ( $\sim 1 \text{ mg L}^{-1}$ ), algumas técnicas para determinar parâmetros cinéticos de degradação ficam inviabilizadas por envolver limites de detecção próximos da concentração inicial de eletrólise. Dessa forma, primeiramente foi desenvolvido e validado um método analítico de LC/UV-vis para detectar e monitorar a concentração da estrona durante a eletrólise. Em seguida, os demais estudos foram realizados pela técnica LC-MS/MS, com o intuito de analisar, em caráter qualitativo, as influências das variáveis investigadas na formação de diferentes compostos intermediários no mecanismo de degradação.

### 3.5.1 – Desenvolvimento de método cromatográfico LC/UV-vis

Conforme mencionado acima, desenvolveu-se e validou-se um método cromatográfico para monitoramento da concentração da estrona, em diferentes tempos de eletrólise. Alguns dos parâmetros estudados e otimizados foram a fase móvel, vazão e volume de injeção (dados não apresentados), com tempo de retenção do composto de interesse em apenas 4,5 min. LIN *et al.*<sup>76</sup> acompanharam a degradação de alguns hormônios, naturais e sintéticos, via ozonização; esta degradação também foi monitorada via LC/UV-vis. Alguns dos parâmetros otimizados por eles também foram usados neste trabalho.

Finalizada essa primeira etapa, obteve-se a curva analítica (Figura 3.30), com a injeção de 50  $\mu\text{L}$  de solução 80/20  $V/V$   $\text{Na}_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$  0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ / metanol, contendo estrona na faixa de concentração de  $1,0 \times 10^{-7}$  –  $4,0 \times 10^{-6}$  mol  $\text{L}^{-1}$ . Outros dados referentes à validação estão apresentados nas Tabelas 3.11 e 3.12.

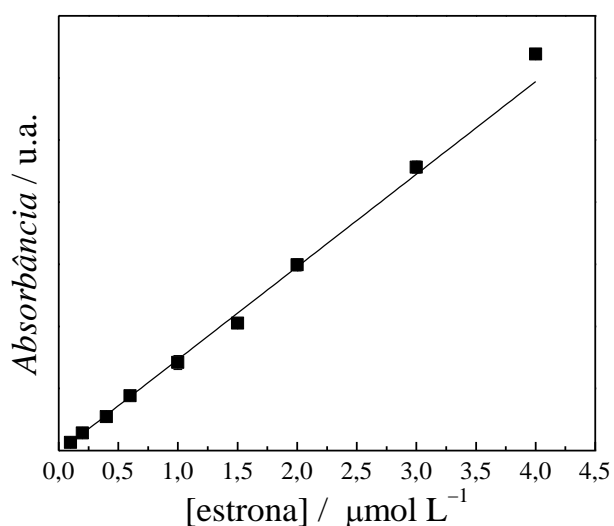


FIGURA 3.30 – Curva de analítica obtida para a estrona pelo método de LC/UV-vis ( $\lambda = 280 \text{ nm}$ ) validado. Fase móvel: ACN/H<sub>2</sub>O 50/50 <sup>V</sup>/<sub>V</sub>, a um fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup>, volume injetado = 50  $\mu\text{L}$ .

TABELA 3.11 – Precisão e exatidão da curva analítica da estrona ( $n = 3$ ).

[estrona] / $\mu\text{mol L}^{-1}$	exatidão / %	precisão / %
0,1	119	2,56
0,2	97	1,40
0,4	91	4,56
0,6	100	0,46
1,0	102	2,05
1,5	94	1,05
2,0	103	1,84
3,0	104	1,29
4,0	107	1,37

TABELA 3.12 – Resultados associados à validação do método de LC/UV-vis para a determinação de estrona.

Coeficiente de correlação para linearidade	0,9945
Seletividade	não há interferentes
$LD / (\mu\text{mol L}^{-1})$	0,06
$LQ / (\mu\text{mol L}^{-1})$	0,1

Para todas as concentrações analisadas na construção da curva analítica ( $n = 3$ ), observou-se um coeficiente de variação entre 0,46 e 4,56%, valores estes aceitáveis para esse tipo de análise. Ressalta-se, neste caso, que a validação foi realizada como uma simulação de um efluente, onde não foram observados interferentes na análise da seletividade do método. Obteve-se um valor de coeficiente de correlação para linearidade de 0,9945. Os valores de  $LD$  e  $LQ$  foram estimados através das equações 20 e 21, respectivamente.

$$LD = \text{sinal ruído } 3:1 \quad \text{Equação 20}$$

$$LQ = \text{sinal ruído } 10:1 \quad \text{Equação 21}$$

Desta forma, os valores de  $LD$  e  $LQ$  obtidos para a estrona foram de 0,06 e 0,1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente.

Em seguida, ainda na validação do método, testes de precisão e exatidão entre e intra-dias foram realizados em três dias distintos, com intervalos de um dia entre experimentos. Para isso, empregou-se o teste 3CQ (controle de qualidade), onde considerou-se: a) CQ1 = 110 – 120% da menor concentração do analito obtida na curva analítica; CQ2 = 40 – 60% da maior concentração do analito obtida na curva analítica; CQ3 = 75 – 95% da maior concentração do analito obtida na curva analítica. Dessa forma, as concentrações de estrona estudadas no controle de qualidade, foram 0,18, 2,2 e 3,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . A partir das

áreas obtidas nos cromatogramas, proporcionais a diferentes concentrações (curva de analítica), foi obtida a equação da reta (Equação 22) que as correlaciona, sendo que os valores de coeficiente de variação e exatidão estão apresentados na Tabela 3.13.

$$\text{área} = -120,7 + 7456,4 [\text{estrona}] / \mu\text{mol L}^{-1} \quad \text{Equação 22}$$

TABELA 3.13 – Precisão e exatidão intra- e entre-dia, para a análise dos QCs ( $n = 5$ ) em 3 dias alternativos.

[estrona] / $\mu\text{mol L}^{-1}$	1º dia		2º dia		3º dia	
	precisão (%)	Exatidão (%)	precisão (%)	Exatidão (%)	precisão (%)	Exatidão (%)
0,18	3,9	108	3,7	105	2,2	109
2,2	2,3	110	1,0	111	1,1	114
3,5	1,9	109	3,5	107	2,9	110

Nos resultados obtidos (Tabela 3.13), o valor de exatidão aceitável foi de 15%. Para as três concentrações de controle de qualidade avaliadas, observa-se coeficientes de variação e exatidões nas faixas de 1,0 – 3,7% e 105 – 114%, respectivamente (Tabela 3.13). Portanto, neste caso, o método desenvolvido para a detecção da estrona foi seletivo, sensível, preciso e exato. Assim, este método validado foi usado para monitoramento nos estudos de degradação eletroquímica da estrona em meio aquoso.

### 3.5.2 – Degradação eletroquímica da estrona

Na diversidade de aplicações eletroquímicas em que eletrodos de BDD são a degradação eletroquímica de efluentes é uma delas. Devido à importância de se obter métodos adequados para a retirada de perturbadores endócrinos de águas superficiais, a eletrodegradação da estrona foi estudada em um reator do tipo filtro-prensa. Neste processo de eletrólise, alguns parâmetros podem afetar diretamente a cinética de decaimento da concentração de estrona: densidade de corrente ( $j$ ), pH, temperatura ( $\theta$ ) e vazão volumétrica ( $q_V$ ). Na Figura 3.31 são apresentados os resultados obtidos na degradação de 0,5 L de uma solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ , pH 6–7 e  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ , para diferentes valores de vazão volumétrica.



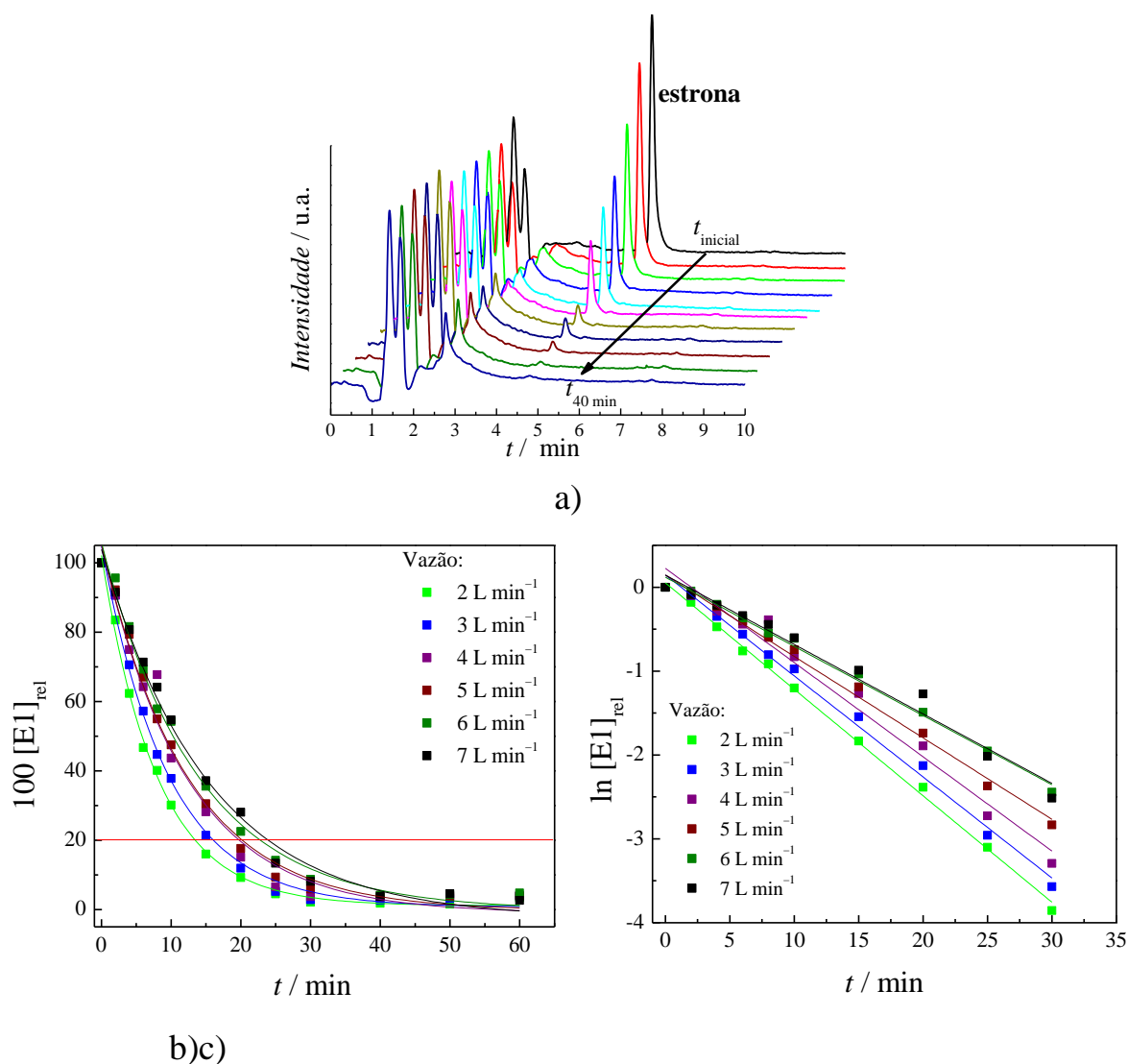


FIGURA 3.31 – Oxidação anódica ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ) usando eletrodo de Nb/BDD: estrona  $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  em  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ ,  $0,5 \text{ L}$ , pH 6–7 e  $\theta = 25 \text{ } ^\circ\text{C}$ . **a)** Absorbância vs. diferentes tempos de eletrólise ( $q_V = 2,0 \text{ L min}^{-1}$ ): 0, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30 e 40 min (condições cromatográficas indicadas no item 3.5.1). **b)** Concentração relativa da estrona ( $[\text{E1}]_{\text{rel}} = [\text{E1}]_t / [\text{E1}]_0$ ) vs. tempo de análise para diferentes valores de vazão (indicados na figura) durante as eletrólises. **c)** Análise cinética, supondo reação com cinética de pseudo-primeira ordem, para diferentes valores de vazão (indicados na figura).

A partir dos gráficos apresentados na figura acima, pode-se obter diversas informações eletroquímicas no que diz respeito à eletrodegradação da estrona. Na Figura 3.31a, observa-se claramente algumas informações relatadas

no item 3.5.1, em relação ao tempo de retenção da estrona (4,5 min) e o decaimento da intensidade de sinal em relação ao tempo de eletrólise.

Além do monitoramento da eletrodegradação da estrona, também há interesse na identificação de subprodutos decorrentes da sua eletrólise, o que é de extrema importância, por poderem apresentar, em muitos casos, toxicidade igual ou maior que aquela do produto de origem. LIN *et al.*<sup>76</sup> estudaram a degradação, via ozonização, de três perturbadores endócrinos, sendo que relataram a formação de alguns produtos intermediários de baixo peso molecular e alta polaridade. No comprimento de onda utilizado neste trabalho ( $\lambda = 280$  nm), observou-se a formação de compostos intermediários, com características semelhantes; baixo peso molecular e alta polaridade. Esse fenômeno foi observado mesmo após 40 min de eletrólise (Figura 3.31a – bandas cromatográficas próximas a  $t_0$ ), seguido de um decréscimo de intensidade de pico para os demais tempos de coleta de amostra. Com tempos maiores de eletrólise, provavelmente há total degradação desses compostos intermediários; contudo, do ponto de vista prático, possíveis intermediários só foram elucidados utilizando uma técnica mais avançada, a LC-MS/MS. Ressalte-se que o método de LC só foi validado para a quantificação da estrona e não para os seus intermediários, não havendo, portanto, qualquer correlação entre as intensidades dos picos referentes aos subprodutos formados e a concentração dos mesmos.

A mineralização desses compostos, por outro lado, pode ser analisada e quantificada pela técnica de carbono orgânico total (TOC). No entanto, naquele momento, no DQ-UFSCar não havia aparelho em funcionamento e os aparelhos disponíveis no campus da USP – São Carlos apresentam limites de detecção em torno de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  ( $2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ). Aqui cabe lembrar que grande parte dos hormônios apresentam, em geral, como característica físico-química uma baixa solubilidade em meio aquoso. SHARREF *et al.*<sup>106</sup>, estudando a solubilidade da estrona em diferentes valores de pH, obtiveram valores entre  $1,24 \text{ mg L}^{-1}$  ( $4,59 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ) e  $2,27 \text{ mg L}^{-1}$

( $8,40 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ). Na presença de  $\text{KNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , esses valores foram ainda menores:  $0,610 \text{ mg L}^{-1}$  ( $2,25 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ) e  $1,30 \text{ mg L}^{-1}$  ( $4,81 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ), respectivamente. Desse modo, claramente ficou inviabilizado o uso da técnica de TOC, por se trabalhar em concentrações próximas à do limite de detecção do equipamento.

A oxidação de compostos orgânicos por radicais  $\bullet\text{OH}$  ocorre em uma pequena camada próxima à superfície do eletrodo, devido à alta reatividade destes radicais. Na ausência de otimização do transporte dos compostos da solução para esta camada, efeitos de transporte de massa fazem que grandes áreas de eletrodo de trabalho sejam necessárias para a degradação eficiente de grandes volume de efluentes em tempos razoáveis<sup>33</sup>. Neste caso, uma solução alternativa é o uso de reatores em fluxo, como é o caso em nosso trabalho.

Um dos primeiros parâmetros investigados na degradação eletroquímica da estrona usando o eletrodo de Nb/BDD no reator em fluxo foi a vazão. Conforme pode ser visto na Figura 3.31b, o decaimento da concentração relativa da estrona com o tempo de eletrólise apresenta um perfil exponencial para todas as vazões estudadas. No entanto, destaca-se a vazão de  $2 \text{ L min}^{-1}$ , com decaimento da concentração da estrona de 80% em apenas 13 min, enquanto para as demais vazões, valores similares de decaimento só foram atingidos após tempos maiores de degradação: 16, 20, 20, 22 e 24 min, respectivamente. Isto é, a velocidade de decaimento da concentração de estrona é praticamente duas vezes mais rápida para a vazão de  $2 \text{ L min}^{-1}$  em comparação à de  $7 \text{ L min}^{-1}$ . O decaimento da concentração de estrona, para os diferentes valores de vazão, foi relacionado a diferentes ordens de reação; dentre elas, a que melhor se ajustou foi a de pseudo-primeira ordem (Equação 23) – vide Figura 3.31c. Os valores das constantes de pseudo-primeira ordem obtidas (vide Tabela 3.14), demonstram a alta velocidade de decaimento da concentração da molécula de estrona em baixas vazões.

$$\ln \frac{[\text{estrona}]_0}{[\text{estrona}]_t} = -kt \quad \text{Equação 23}$$

TABELA 3.14 – Constantes cinéticas de pseudo-primeira ordem ( $k_{ap}$ ) obtidas para a degradação eletroquímica ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ) de estrona  $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  ( $1,85 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7, a  $25 \text{ } ^\circ\text{C}$ ), usando diferentes valores de vazão ( $q_v$ ) em um reator em fluxo com um eletrodo de Nb/BDD.

$q_v / \text{L min}^{-1}$	$k_{ap} / \text{ms}^{-1}$	$R^2$
2	127	0,99
3	120	0,99
4	112	0,98
5	97,1	0,99
6	82,5	0,99
7	82,8	0,97

Teoricamente, espera-se um comportamento inverso ao observado durante a eletrólise do composto de interesse, isto é, que as altas vazões acelerassem o processo de oxidação da molécula de estrona devido ao maior número de espécies chegando à superfície do eletrodo. Contudo, em baixas concentrações ( $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ), o processo de eletrólise é controlado por transporte de massa e reações secundárias (desprendimento de oxigênio, por exemplo), resultando em um decréscimo da eficiência de corrente. Provavelmente, a forte agitação proporcionada pelas altas vazões pode, de certa forma, levar a um aumento das reações secundárias, conseqüentemente influenciando a velocidade de decaimento da concentração da estrona. Dessa forma, a vazão de  $2 \text{ L min}^{-1}$  foi escolhida para os demais estudos realizados neste trabalho, por apresentar melhores resultados no processo de decaimento da concentração da estrona (maior valor de  $k_{ap}$ ).

Na degradação eletroquímica de compostos orgânicos, o valor de densidade de corrente ( $j$ ) usado interfere diretamente na cinética de reação.

Analisando-se a Figura 3.32a, nota-se, nitidamente, um efeito significativo da variação de  $j$  (5, 10 e 25 mA cm<sup>-2</sup>); para o menor valor de  $j$  (5 mA cm<sup>-2</sup>), observou-se decaimentos da concentração de estrona de 80% e 96%, após 47 e 60 min de eletrólise, respectivamente. Como a velocidade de degradação da estrona é fortemente dependente da corrente aplicada, uma degradação mais rápida foi observada com o aumento da densidade de corrente. Assim, aplicando-se  $j = 10$  mA cm<sup>-2</sup>, mais de 98% de estrona foi degradada em um período de 30 min; para 80% de degradação, foram necessários apenas 13 min. Já para  $j = 25$  mA cm<sup>-2</sup>, aparentemente houve completa degradação da estrona em apenas 20 min e 80% de degradação em apenas 10 min. Este comportamento pode ser um indicativo do bom desempenho de anodos como o BDD; o aumento de  $j$  favorece a eletrogeração de maior quantidade de espécies oxidantes ativas, em especial o radical  $\bullet\text{OH}$ <sup>83</sup>. Assim, a existência das espécies  $\bullet\text{OH}$  e o controle de sua quantidade em solução eletrolítica podem ser obtidos através da escolha do valor de  $j$ , podendo-se atingir altas eficiências de degradação.

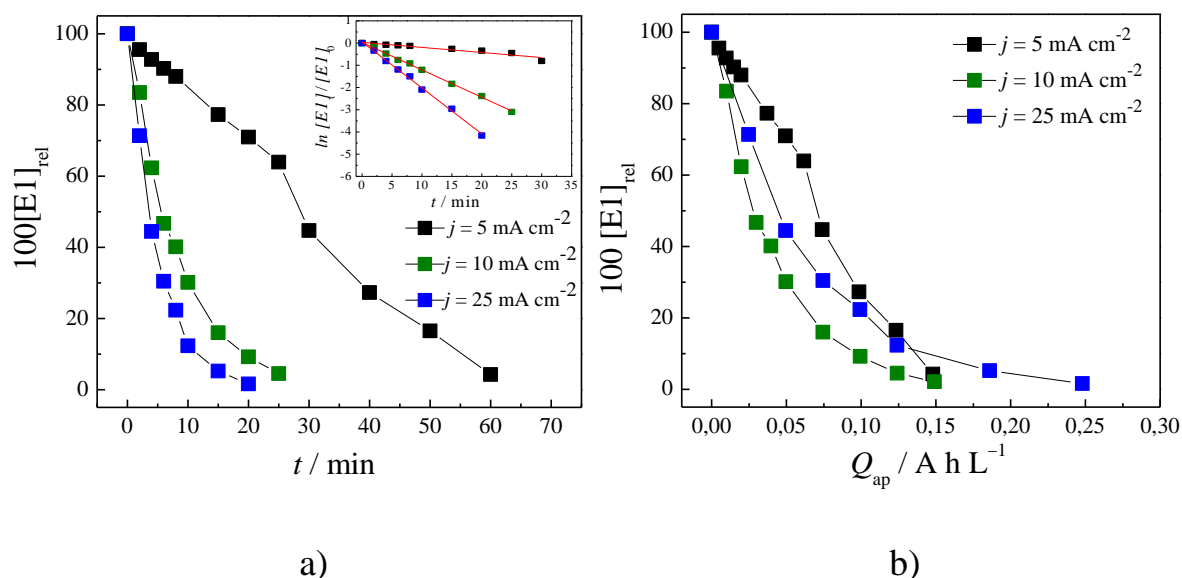


FIGURA 3.32 – Decaimento da concentração relativa da estrona ( $[E1]_{rel} = [E1]_t / [E1]_0$ ) em função do (a) tempo de eletrólise e da (b) carga aplicada por unidade de volume da solução ( $Q_{ap}$ ) para a eletrólise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ), na vazão de  $2 \text{ L min}^{-1}$ , usando o eletrodo de Nb/BDD a três densidades de corrente distintas.

O decaimento da concentração de estrona, para os diferentes valores de  $j$ , também foi relacionado a diferentes ordens de reação; sendo o melhor ajuste para reações de pseudo-primeira ordem – vide Figura 3.32a (dados no inserto). As constantes de pseudo-primeira ordem obtidas estão resumidas na Tabela 3.15.

TABELA 3.15 – Constantes cinéticas de pseudo-primeira ordem ( $k_{ap}$ ) obtidas para a degradação eletroquímica de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $1,85 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7, a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ), na vazão de  $2 \text{ L min}^{-1}$ , usando um reator em fluxo com um eletrodo de Nb/BDD a três densidades de corrente ( $j$ ) distintas.

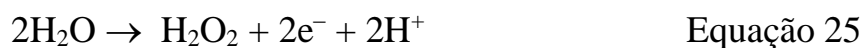
$j / \text{mA cm}^{-2}$	$k_{ap} / \text{ms}^{-1}$	$R^2$
5	39	0,99
10	127	0,99
25	206	0,99

MURUGANANTHAN *et al.*<sup>83</sup>, por outro lado, relataram para a eletrodegradação do estrogênio natural 17 $\beta$ -estradiol – E2 (500  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) valores de  $k_{\text{ap}}$  iniciais de 0,9, 1,3 e 2,7  $\text{ms}^{-1}$ , para  $j = 12,5, 25$  e  $50 \text{ mA cm}^{-2}$ , respectivamente. Utilizaram um célula eletroquímica convencional (volume = 250 mL), Si/BDD como anodo e platina como contra-eletrodo. Notaram ainda que o comportamento de pseudo-primeira ordem deixava de ser seguido no final da degradação, o que, segundo os autores, poderia ser devido à concentração inicial de E2 ser relativamente grande e, conseqüentemente, a taxa de degradação ser controlada inicialmente pela densidade de corrente; à medida que a concentração de E2 diminuiu, a taxa de degradação passou a ser controlada por transporte de massa (difusão das moléculas de E2 até a superfície do eletrodo). Em resumo, o processo era inicialmente controlado pela densidade de corrente ( $I_{\text{app}} \leq I_{\text{lim}}$ ) até remoção de cerca de 90% de E2, quando passava a ser controlado por transporte de massa. De qualquer modo, os valores de  $k_{\text{ap}}$  obtidos nesta tese com o reator do tipo filtro-prensa para degradação de E1 são consideravelmente superiores àqueles obtidos por MURUGANANTHAN *et al.*<sup>83</sup> para degradação de E2, sendo cerca de 77 vezes maior para  $j = 25 \text{ mA cm}^{-2}$ , isto é, 206  $\text{ms}^{-1}$  comparado a somente 2,7  $\text{ms}^{-1}$ . Também, a linearidade dos dados, ao se ajustar a eles a equação correspondente a uma cinética de degradação de pseudo-primeira ordem, é observada para todo o tempo de processo no sistema em fluxo; este é um indício de que não é limitado por transporte de massa, como observado em outros sistemas convencionais. Neste sentido, como esperado, a vantagem de se usar um reator do tipo filtro-prensa está também atrelada ao tempo de eletrólise necessário para a degradação do composto de interesse. Considerando que a molécula de estrona (E1) é relativamente parecida com a molécula de 17 $\beta$ -estradiol (E2), diferenciando-se apenas por um grupo funcional em uma das extremidades, os reatores do tipo filtro-prensa, além de proporcionar maiores valores de  $k_{\text{ap}}$ , também reduzem consideravelmente o tempo de eletrólise (mesmo considerando que o volume de solução era o dobro); por exemplo, considerando

$j = 25 \text{ mA cm}^{-2}$ , foram necessários apenas 10 min para a degradação de 90% da estrona, enquanto usando a mesma densidade de corrente, material de eletrodo e concentração de E2, obteve-se 90% de degradação em aproximadamente 30 min, isto é, um tempo 3 vezes superior em relação ao obtido neste trabalho.

Na Figura 3.32b, é apresentado o gráfico de decaimento da concentração de estrona em função da carga utilizada por unidade de volume da solução ( $Q_{ap}$ ). Para 75% de degradação, os seguintes valores de  $Q_{75\%}$  foram encontrados: 105, 58 e 89  $\text{mA h L}^{-1}$  (média de  $84 \pm 24 \text{ mA h L}^{-1}$ ) para  $j = 5, 10$  e  $25 \text{ mA cm}^{-2}$ , respectivamente. Para 90% de degradação, os valores de  $Q_{90\%}$  foram de 140, 99 e 140  $\text{mA h L}^{-1}$  (média de  $126 \pm 24 \text{ mA h L}^{-1}$ ) para  $j = 5, 10$  e  $25 \text{ mA cm}^{-2}$ , respectivamente. Claramente, não há uma diferença significativa entre os valores obtidos para  $Q_{90\%}$ ; assim, optou-se por realizar os sucessivos estudos de outras variáveis utilizando  $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ .

MURUGANANTHAN *et al.*<sup>83</sup> mencionam que o aumento de  $j$  acelera a formação do oxidante  $\bullet\text{OH}$  e de outros oxidantes mais fracos ( $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_3$ ), de acordo com as seguintes reações:



Provavelmente, o rápido decaimento da estrona no início da eletrólise é devido, também, à interação da molécula com esses oxidantes; contudo, note-se que eles não são suficientemente fortes para oxidar os intermediários formados no processo, provenientes da estrona. Dessa forma, em altos valores de  $j$ , economiza-se tempo, uma vez que altos valores de  $j$  proporcionam uma



degradação eletrolítica mais rápida e eficaz de estrona, mas com um custo maior agregado.

Normalmente, reações de degradação eletroquímica são controladas por um de dois processos, transferência de carga ou transferência de massa. Como observado nos estudos de  $j$ , não há, de fato, diferenças significativas na degradação da estrona aplicando-se valores de  $j = 10$  e  $25 \text{ mA cm}^{-2}$ , exceto para  $j = 5 \text{ mA cm}^{-2}$ . Essa diferença, como relatado anteriormente, pode estar associada a influências de reações parasitas que ocorrem paralelamente ao processo de degradação da molécula de estrona. Abaixo, discutiremos a questão da força de oxidação de alguns intermediários redox, contudo, até este ponto, cabe ressaltar que a ocorrência dessas reações parasitas pode de fato contribuir para a oxidação inicial da estrona, devido ao sistema estar operando acima da corrente limite ( $I_{\text{lim}}$ ). Como observado para  $j = 5 \text{ mA cm}^{-2}$ , o decaimento da concentração da estrona deu-se mais lentamente, não somente pela geração dos radicais  $\bullet\text{OH}$  gerados, mas parece haver uma influência de intermediários formados nas reações parasitas, mesmo com a formação de  $\text{O}_2$ . Essa suposição está atrelada à questão da corrente aplicada ( $I_{\text{apl}}$ ) durante a eletrólise. Quando os valores de  $j$  são menores que  $j_{\text{lim}}$ , o processo é controlado pela densidade de corrente ( $j_{\text{apl}} \leq j_{\text{lim}}$ ); para  $j_{\text{apl}} \geq j_{\text{lim}}$ , o processo de eletrólise passa a ser controlado por transporte de massa. O valor de  $j_{\text{lim}}$  para o sistema, estimado a partir da DQO teórica da estrona ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) é igual à  $22 \mu\text{A cm}^{-2}$ , mas nessa corrente não ocorre a formação direta de radicais  $\bullet\text{OH}$  dado que o correspondente potencial de eletrodo tem um valor para o qual não ocorre a eletrooxidação da água. Em dois trabalhos publicados por MURUGANANTHAN *et al.*<sup>83,84</sup>, dois processos são observados:  $j_{\text{apl}} \leq j_{\text{lim}}$ , no início da eletrólise, e o processo de controle por transporte de massa, devido a célula eletroquímica ser convencional. Embora os autores em ambos os trabalhos justifiquem essas diferenças por diferentes regimes, não se calculou o valor de  $j_{\text{lim}}$ , de tal forma que é difícil afirmar, neste caso, que o processo possa ser controlado pela densidade de corrente no período inicial e, ao final, pelo transporte de massa;

supondo que, desde o início,  $j_{\text{apl}} \geq j_{\text{lim}}$ , neste caso deve ter havido uma influência dos intermediários redox formados inicialmente, competindo com a eletrooxidação de E2 no sistema. Como o poder oxidante desses intermediários redox é fraco para oxidar os intermediários de E2 formados no tempo inicial, a partir de certo tempo há uma competição pela oxidação por radical  $\bullet\text{OH}$  entre as moléculas de E2 e os intermediários provenientes da oxidação, acarretando em uma mudança no perfil de eletrólise deste composto.

A velocidade de degradação eletroquímica de estrona usando-se o eletrodo de Nb/BDD foi investigada em três concentrações de estrona (230, 410 e 570  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), em  $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$  e  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Na Figura 3.33, são apresentados os perfis de variação da concentração e da concentração relativa de estrona com o tempo de eletrólise. Como esperado, ao se analisar esta figura nota-se que não há diferença no decaimento da concentração relativa de estrona em diferentes concentrações. Estes resultados indicam, mais uma vez, que  $j_{\text{apl}}$  está acima de  $j_{\text{lim}}$ , gerando radicais  $\bullet\text{OH}$  em excesso na solução. Apesar da ocorrência de reações parasitas em paralelo, estes radicais estão em quantidade suficiente para degradar todas as moléculas de estrona que chegam à superfície do eletrodo, nas diferentes concentrações.

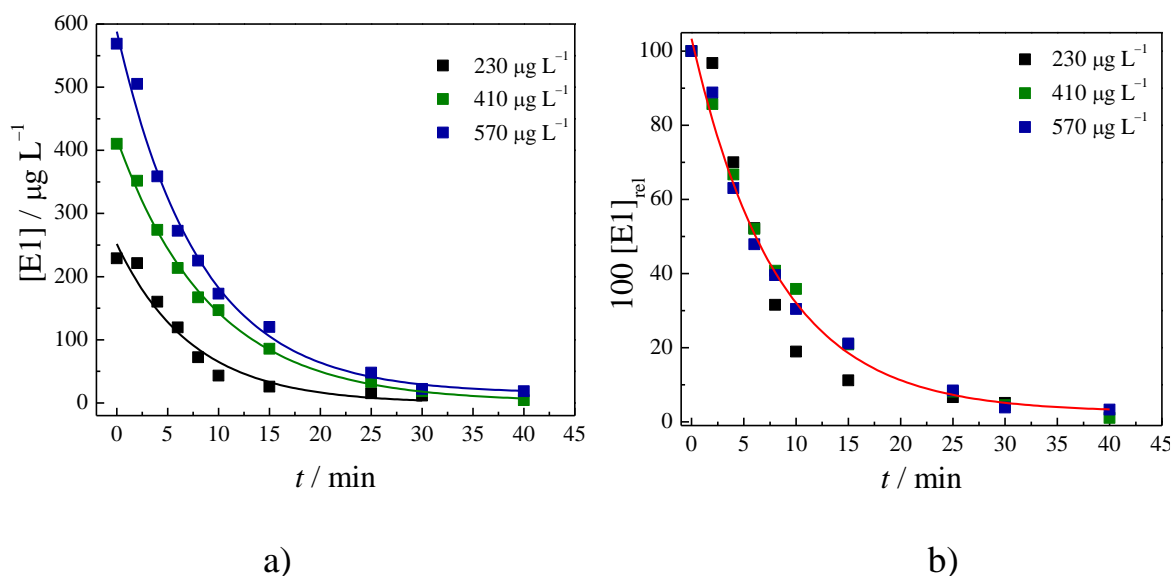


FIGURA 3.33 – Decaimento da concentração da estrona ( $[E1]$ ) (a) e da sua concentração relativa ( $[E1]_{\text{rel}} = [E1]_t / [E1]_0$ ) (b) em função do tempo para a eletrólise de soluções de estrona de diferentes concentrações (indicadas nas figuras) em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ), na vazão de  $2 \text{ L min}^{-1}$ , usando o eletrodo de Nb/BDD na densidade de corrente de  $10 \text{ mA cm}^{-2}$ .

O efeito do pH na eletrodegradação da estrona ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) também foi estudado, mais uma vez para  $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ . Além disso, a cinética de decaimento da concentração de estrona foi avaliada na presença ou ausência de NaCl ( $21 \text{ mg L}^{-1}$  ou  $0,36 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Dessa forma, os decaimentos da concentração relativa da estrona em função do tempo de eletrólise, na presença ou ausência de NaCl em diferentes valores de pH, usando o eletrodo de Nb/BDD, estão apresentados na Figura 3.34.

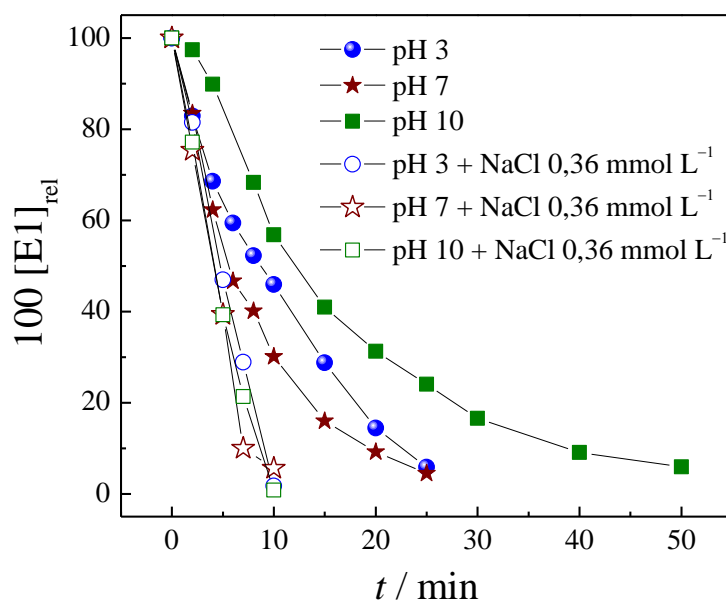
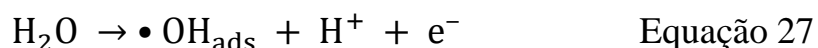


FIGURA 3.34 – Decaimento da concentração relativa da estrona ( $[E1]_{rel} = [E1]_t / [E1]_0$ ) em função do tempo para eletrólises de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) de diferentes valores de pH e na ausência ou presença de NaCl (indicados na figura), na vazão de  $2 \text{ L min}^{-1}$ , usando o eletrodo de Nb/BDD na densidade de corrente de  $10 \text{ mA cm}^{-2}$ .

Numa primeira análise, para a degradação completa da estrona, nota-se que variação do pH durante a eletrólise só teve efeito, negativo, para valores de pH 10, pois nos demais valores de pH estudados, 3 e 7, ao final da eletrólise obteve-se valores de degradação e tempo semelhantes, com aproximadamente 98% da molécula oxidada em apenas 25 min, enquanto para pH 10, necessitou-se de 50 min para obter este grau de degradação. Por outro lado, para degradar 80% da estrona, nota-se que há diferenças em todos os pHs investigados, com tempos de degradação de aproximadamente 18, 13 e 27 min, para pH 3, 7 e 10, respectivamente. Estas diferenças no tempo de decaimento da concentração da molécula podem, de certo modo, estar diretamente relacionadas com o seu  $pK_a$  (10,34), isto é a dissociação ou não da molécula no meio reacional<sup>106</sup>. Assim, para soluções com  $\text{pH} < 10$ , as moléculas da estrona não estão dissociadas.

Provavelmente, em meio aquoso os radicais  $\bullet\text{OH}$  podem atacar o anel aromático da estrona de diferentes formas ou intensidades, o que pode depender do pH. De fato, pelos resultados obtidos, em pH 10 o ataque desse oxidante à estrona ocorre mais lentamente, e o mesmo ocorre, mas em menor extensão, em pH 3. Já em pH 7, esse ataque ocorre bem mais rapidamente. Na realidade, resultados discrepantes têm sido obtidos sobre o efeito do pH na eletrodegradação de moléculas orgânicas. MURUGANANTHAN *et al.*<sup>83</sup>, por exemplo, observaram uma rápida degradação da molécula de E2 em pH 10, e para valores de pH < 10 relatam uma redução acentuada da cinética de degradação. FLOX *et al.*<sup>118</sup>, por outro lado, observaram que melhores respostas de degradação (avaliadas via *TOC*) de 4,6-dinitro-*o*-cresol ( $pK_a = 4,4$ ) ocorreram em pH 3, sendo que explicaram o resultado como decorrente de diferenças na velocidade de mineralização dos intermediários formados em pH baixos e altos. Cabe lembrar que a formação dos radicais  $\bullet\text{OH}$  em meio ácido e neutro ocorre a partir da oxidação da água<sup>118</sup>:



Já em  $\text{pH} \geq 10$ , esta formação se dá a partir dos íons hidróxido:



Em alguns casos, como para corantes, no processo de oxidação em diferentes valores de pH, a formação de intermediários diferentes pode ser evidenciada pelas diferentes cores que surgem durante o processo. Neste trabalho, não há como saber via mudança de cor se há formação de diferentes intermediários, além da concentração da estrona em solução ser extremamente baixa.

A oxidação de compostos orgânicos também pode ocorrer indiretamente, através de espécies geradas *in situ*, como, por exemplo, cloro ativo ( $\text{Cl}_2$ ,  $\text{HClO}$  ou  $\text{ClO}^-$ ) eletrogerado em decorrência da oxidação de íons cloreto presentes na solução. Assim, a influência de íons cloreto na solução foi estudada em diferentes valores de pH, pois, conforme ilustrado por CHENG & KELSALL<sup>119</sup>, dependendo do pH da solução, diferentes espécies de cloro ativo são predominantes em solução (para  $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ):  $\text{Cl}_2$ ,  $\text{HClO}$  e  $\text{ClO}^-$  nas regiões de  $\text{pH} < 3,0$ ,  $3,0 < \text{pH} < 7,6$  e  $\text{pH} > 7,6$ , respectivamente; ressalte-se que a transição entre as espécies predominante  $\text{Cl}_2$  e  $\text{HClO}$  ocorre a pH cada vez menor à medida que a concentração de  $\text{Cl}^-$  diminui (no caso desta tese, ocorrerá em pH abaixo de zero)<sup>120</sup>. A concentração de íons cloreto ( $0,36 \text{ mmol L}^{-1}$ ) adicionada à solução foi cerca de 200 vezes maior que a da estrona ( $1,85 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ), isto é, uma relação de cerca de 11 átomos de cloro para cada átomo de carbono da estrona. Conforme pode ser depreendido dos resultados apresentados na Figura 3.34, a adição de íons cloreto à solução de estrona influenciou positivamente no tempo de eletrólise para o decaimento da concentração da estrona, que atingiu valores próximos a zero em apenas 10 min para pH 3, 7, e 10, respectivamente; ressalte-se que em pH 3 a espécie de cloro ativo predominante é  $\text{HClO}$ , em pH 7 esta espécie está em concentração três vezes maior que a espécie  $\text{ClO}^-$ , que é a espécie predominante em pH 10<sup>119,120</sup>. A presença de cloro ativo, que age no seio da solução, causa um aumento significativo na velocidade de degradação da estrona, proporcionando menores tempos de eletrólise; no entanto, não há um efeito claro do tipo de espécie de cloro ativo. A única ressalva ao uso de cloro ativo para a degradação da estrona é a possibilidade de formação de compostos intermediários organoclorados (como ressaltado por muitos na literatura; vide, por exemplo, PANIZZA & CERISOLA<sup>77</sup>), mas cabe ressaltar que a concentração de cloreto usada foi bastante pequena, o que pode minimizar esta possibilidade (em experimentos de detecção de intermediários para eletrólises de estrona na presença de  $\text{NaCl}$ , não

apresentados na próxima seção desta tese por restrições de espaço, não se detectou nenhum composto organoclorado).

Por fim, o desempenho da eletrodegradação de uma solução de estrona ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) obtido usando o eletrodo de Nb/BDD foi comparado com o obtido empregando-se um eletrodo de  $\beta\text{-PbO}_2$ . Na Figura 3.35a são apresentados os perfis cromatográficos da solução em função do tempo de eletrólise com o eletrodo de  $\beta\text{-PbO}_2$ ; já Figura 3.35b são apresentados os perfis de decaimento da concentração relativa da estrona em função do tempo de eletrólise para os dois eletrodos:  $\beta\text{-PbO}_2$  e Nb/BDD.

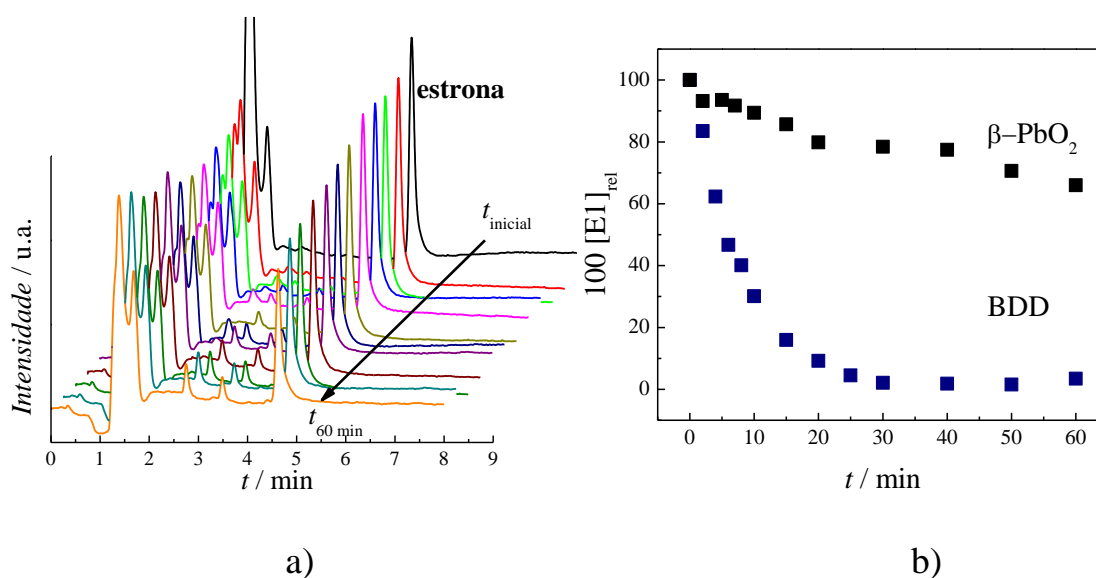


FIGURA 3.35 – **a)** Absorbância (condições cromatográficas indicadas no item 3.5.1) vs. diferentes tempos de eletrólise (0, 2, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 e 60 min) para oxidação anódica de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ ,  $0,5 \text{ L}$ , pH 6–7 e  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ , usando eletrodo de  $\beta\text{-PbO}_2$  ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $q_V = 2,0 \text{ L min}^{-1}$ ). **b)** Concentração relativa de estrona ( $[\text{E1}]_{\text{rel}} = [\text{E1}]_t / [\text{E1}]_0$ ) vs. tempo de eletrólise usando os eletrodos de  $\beta\text{-PbO}_2$  e Nb/BDD (indicados na figura).

Comparando-se a Figura 3.31a e a Figura 3.35a, fica clara a diferença entre os perfis cromatográficos de decaimento da concentração da estrona

referentes às eletrólises realizada com o eletrodo de Nb/BDD e de  $\beta$ -PbO<sub>2</sub>. Mas uma vez, em  $\lambda = 280$  nm, observa-se a formação de compostos intermediários de alta polaridade. Essas bandas cromatográficas, em tempos de retenção menores que 5 min, são observados em maior quantidade no caso do eletrodo de  $\beta$ -PbO<sub>2</sub>. Esse fenômeno foi observado até tempos superiores a 40 min, acompanhado de um decréscimo de intensidade da banda da estrona. A tempos maiores de eletrólise, provavelmente há total degradação desses compostos intermediários; contudo, do ponto de vista prático, posteriormente também foram elucidados os possíveis intermediários utilizando técnicas mais avançadas de LC-MS/MS (vide a próxima seção). Ressalte-se, novamente, que o método de LC foi validado para a detecção do estrogênio natural, estrona, e não seus intermediários. O fato dos intermediários formados apresentarem absorvância no mesmo comprimento de onda que a estrona é um indício do baixo desempenho do eletrodo na oxidação da estrona, com o anel aromático provavelmente ainda intacto nos intermediários. Ademais, a intensidade do pico correspondente à absorvância da molécula de estrona não diminuiu significativamente até 60 min, indicando, portanto, uma demanda de maior de tempo na eletrólise do composto com o eletrodo de  $\beta$ -PbO<sub>2</sub>, como analisado a seguir.

Ao se analisar a concentração relativa da estrona *versus* o tempo de eletrólise (Figura 3.35b), fica nítido o menor poder de oxidação do eletrodo de  $\beta$ -PbO<sub>2</sub> na degradação da estrona. Os perfis de degradação mostram que, com o eletrodo de Nb/BDD, a degradação da estrona acontece de forma relativamente rápida, atingindo cerca de 98% em apenas 30 min; com o eletrodo de  $\beta$ -PbO<sub>2</sub>, por outro lado, apenas 22% de estrona são degradados no mesmo tempo (mesmo após o dobro do tempo necessário para obter esse desempenho com o eletrodo de diamante, isto é, 60 min, a degradação de estrona chegou a apenas 35% com o eletrodo de  $\beta$ -PbO<sub>2</sub>). Certamente, a diferença de desempenho dos dois eletrodos está relacionada com os respectivos sobrepotenciais da RDO e força de adsorção (refletida pela entalpia de adsorção) dos radicais  $\bullet$ OH na superfície de cada



eletrodo<sup>78</sup>, conforme ressaltado na seção 1.7 desta tese. Sem dúvida, a menor entalpia de adsorção da espécie  $\bullet\text{OH}$  sobre a superfície do BDD torna maior a reatividade deste radical comparativamente ao adsorvido sobre a superfície do  $\beta\text{-PbO}_2$ , o que leva a um aumento da velocidade de degradação da estrona. Portanto, esses resultados indicam que o uso de anodos de BDD leva a uma degradação relativamente rápida da estrona e, provavelmente, eficiente mineralização dos intermediários provenientes da eletrólise.

### 3.5.3 – Estudo de identificação de alguns intermediários reacionais e proposta da rota de degradação da estrona

Os intermediários formados durante a eletrólise da estrona foram investigados utilizando a técnica LC-MS/MS. Inicialmente, foi analisada a influência de alguns parâmetros nas condições de eletrólise da estrona. Embora a degradação de perturbadores endócrinos tenha ganhado especial interesse da comunidade científica nos últimos anos, não há muitos trabalhos que elucidem mecanismos de degradação desses compostos. Para a degradação eletroquímica da estrona, em especial, não encontramos nenhum trabalho com discussões sobre rotas de degradação, bem como parâmetros que influenciam na formação dos intermediários. Neste sentido, pela primeira vez, elucidaremos intermediários formados durante eletrólises da estrona, também investigando a influência do pH da solução. Por fim, ainda faremos propostas de rotas de degradação da estrona realizada com diferentes materiais de anodo ( $\text{Nb/BDD}$  e  $\beta\text{-PbO}_2$ ), de modo a também avaliar a influência do poder oxidante do anodo. Cabe ressaltar que os resultados aqui relatados neste capítulo são somente de caráter qualitativo.

Para cada parâmetro investigado, as análises foram realizadas no modo de varredura total de íons, com monitoramento de  $m/z$  100 – 450. Para separar os intermediários e estrona, utilizou-se eluição no modo gradiente. Para a aquisição dos espectros, usou-se o modo negativo de ionização (estrona

desprotonada –  $[M-H]^-$ ). Na Figura 3.36 é apresentado o cromatograma de íons totais (TIC) para a solução de estrona em pH 3,0. Analisando esta figura, concluiu-se que detectou-se a estrona em um tempo de retenção com pico em 11,16 min. No entanto, várias outras bandas cromatográficas estão presentes no TIC, mas tais bandas também encontram-se presentes na amostra do branco (sem a presença de estrona), indicando interferentes presentes na matriz. Além disso, as inúmeras bandas referentes aos interferentes na amostra do branco foram analisadas e sempre comparadas com as amostras contendo estrona e seus produtos de degradação; desse modo elimina-se resultados falsos positivos. Na Figura 3.37, é apresentado o espectro de massas e o cromatograma de íons extraídos, para  $m/z$  269, referente à estrona desprotonada ( $[M-H]^-$ ).

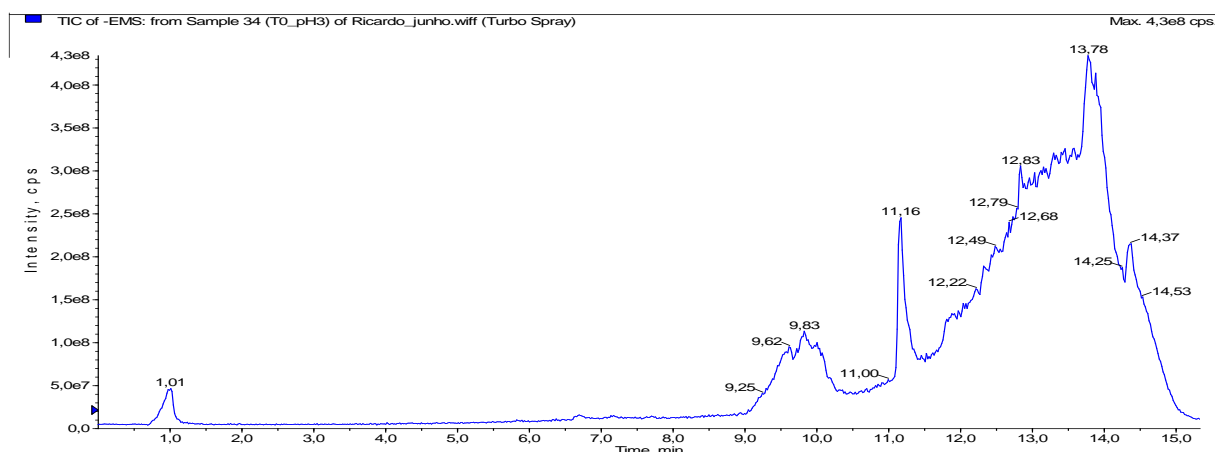


FIGURA 3.36 – Cromatograma de íons totais (TIC) da solução de estrona em pH 3, previamente à eletrólise.

No cromatograma de íon extraído (Figura 3.37a), de  $m/z$  269,0 – 269,1, nenhum interferente a priori foi observado, com o mesmo tempo de retenção ou compostos com a mesma massa molecular (Figura 3.37b); desse modo, realizou-se a fragmentação MS/MS desse mesmo íon selecionado (Figura 3.37c), utilizando uma energia de colisão de  $-45$  eV. Neste caso, esta energia de colisão resultou na melhor condição para a fragmentação do íon precursor; entretanto, dependendo do íon intermediário, diferentes energias de colisão foram

utilizadas. Geralmente, a ionização no modo negativo é preferencialmente usada para detectar estrogênios em matrizes biológicas<sup>121,122</sup>, contudo há também relatos do uso do modo positivo ( $[M-H]^+$ )<sup>123</sup>. Na ionização no modo negativo, constatou-se como íon majoritário o de  $m/z$  145, e íons minoritários os de  $m/z$  143, 159 e 183. Este íon, comum para todos os compostos estrogênicos, pode ser usado como um marcador para detectar moléculas da mesma família usando o procedimento de varredura de íons. Segundo BOURCIER *et al.*<sup>123</sup>, a formação do íon de  $[M-H]^-$   $m/z$  145 é resultado de um mecanismo de remoção de carga depois da desprotonação da hidroxila no anel fenólico, conforme ilustrado na Figura 3.38.

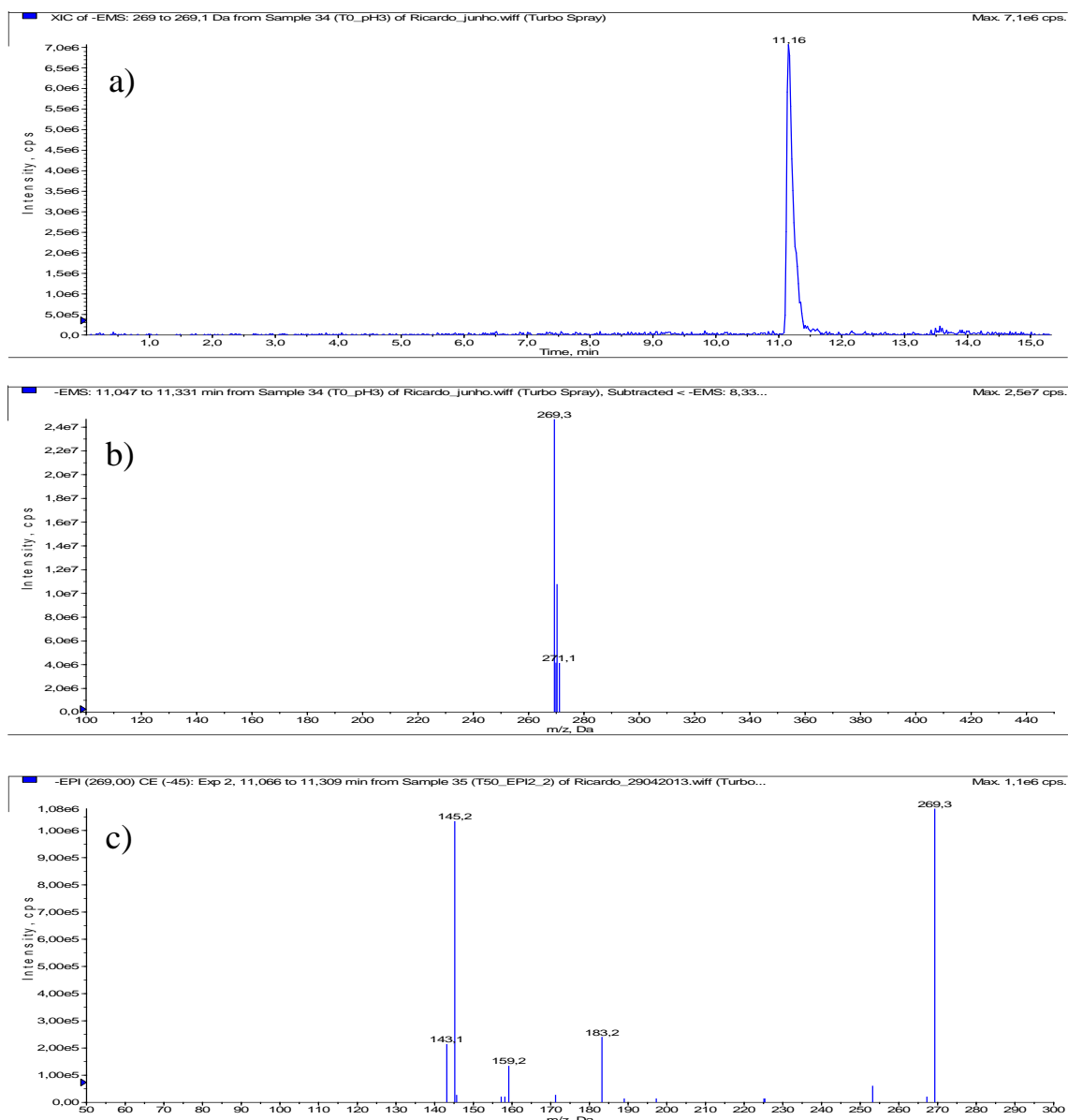


FIGURA 3.37 – **a)** XIC (cromatograma de íon extraído) de  $m/z$  269; **b)** respectivo espectro de massas (MS); **c)** espectro MS/MS dos íons fragmentos de  $m/z$  269.

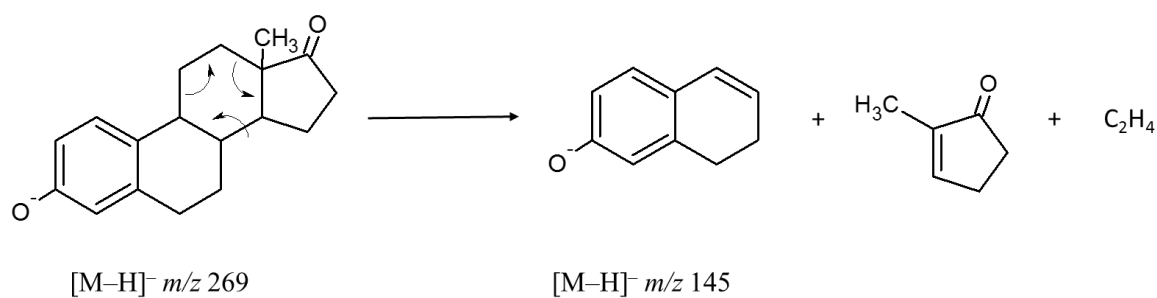


FIGURA 3.38 – Provável mecanismo de fragmentação do íon  $m/z$  269.

Como já discutido anteriormente, o pH da solução eletrolítica pode influenciar no processo de degradação da estrona e, principalmente, na formação de intermediários. Portanto, investigou-se a formação dos possíveis intermediários gerados no processo de degradação da estrona em pH 3, 7 e 10, sendo recolhidas alíquotas da respectiva solução antes de iniciar a eletrólise ( $t_0$ ) e passados os seguintes tempos de eletrólise  $t = 5, 10, 20, 30, 40$  e  $50$  min.

Assim, inicialmente para eletrólises realizadas em pH 3, os intermediários formados na degradação da estrona estão apresentados no cromatograma de íons extraídos (TIC), para  $t = 5$  min – Figura 3.39.

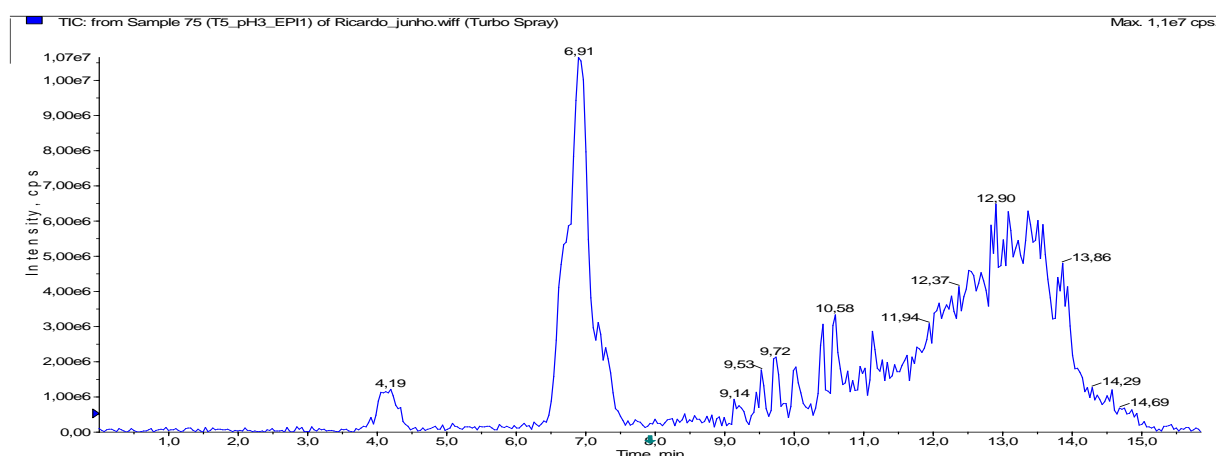


FIGURA 3.39 – Cromatograma de íons totais (TIC) para a solução eletrolisada de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3), após 5 min de eletrólise ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

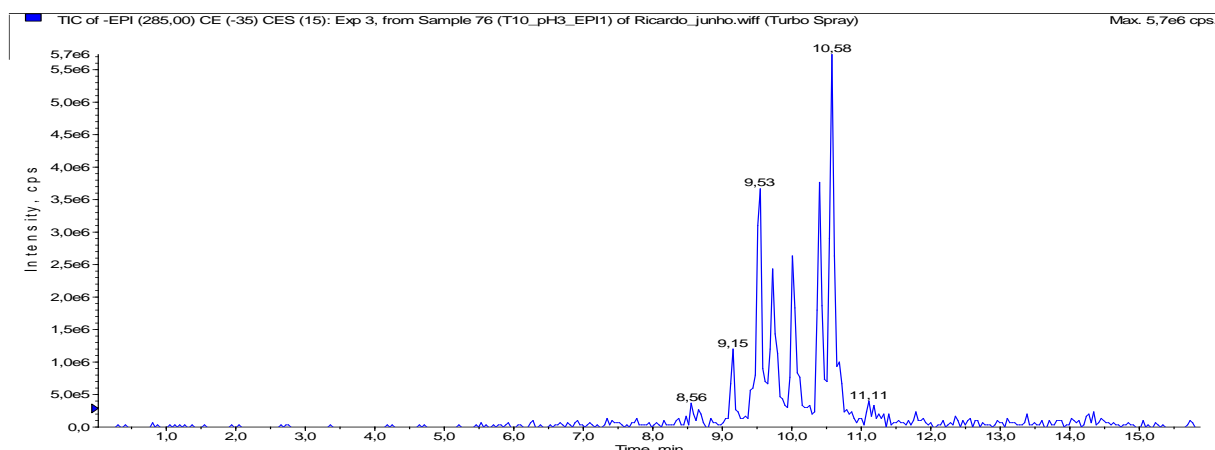
Durante o processo de eletrólise, os radicais  $\bullet\text{OH}$  presentes na superfície do eletrodo e região imediatamente próxima oxidam as moléculas fenólicas em diferentes posições do anel aromático, com a formação de moléculas intermediárias com diferentes polaridades. Na Figura 3.39, observa-se bandas referentes a íons formados durante a degradação da estrona, com tempos de retenções ( $t_r$ ) menores que o da estrona. Isso é um indício da formação de moléculas com maior polaridade em relação à estrona, provavelmente,

proveniente do ataque por radicais  $\bullet\text{OH}$  e início do processo de mineralização. Desse modo, duas bandas largas, com  $t_r = 7,0$  min e na região de  $t_r = 9 - 11$  min, respectivamente, correspondem aos íons intermediários de  $m/z$  349 e 285, respectivamente. Para facilitar as análises dos dados, os cromatogramas de íon extraído (XIC) e o espectros MS para esses íons estão no Apêndice desta tese, sendo as subsequentes análises de TIC e fragmentação MS/MS apresentadas a seguir, para confirmar as possíveis estruturas formadas durante a degradação da molécula.

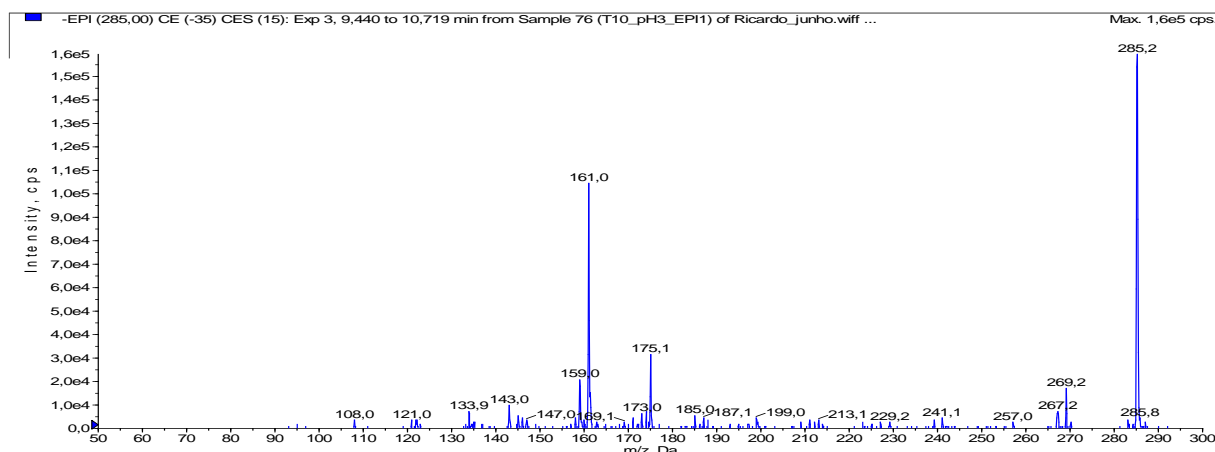
Na Figura 3.40 são apresentados o TIC e o espectro MS/MS para os íons fragmentos do íon intermediário de  $m/z$  285, com tempos de retenção próximos a 10 min. A presença desses íons próximos ao  $t_r$  da estrona, com maior polaridade, é um forte indício que tenha ocorrido uma hidroxilação da molécula de estrona, com um grande número de picos relacionados a um mesmo  $m/z$ . A presença desses picos, como já esperado, pode ocorrer com o ataque dos radicais  $\bullet\text{OH}$  em diferentes posições do anel aromático devido à alta densidade eletrônica naquela região. Entre um pico e outro, não se observou grandes diferenças no espectro MS/MS; assim, foi realizada a fragmentação MS/MS do íon intermediário de  $m/z$  285 com a média dos íons mais estáveis no intervalo de  $9,7 \text{ min} \leq t_r \leq 10,7 \text{ min}$ . Com base nos íons formados durante esta fragmentação (Figura 3.40b), possíveis rotas de fragmentação estão apresentadas na Figura 3.41.

Assim, a molécula precursora intermediária de  $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  285 foi fragmentada por MS/MS, e confirmada pela presença dos íons produtos  $m/z$  257, 161, 175, 135, 271 e 134). O íon produto de  $m/z$  257  $[\text{M}-\text{H}-28]^-$  ocorre, provavelmente, em decorrência da perda de CO, enquanto o de  $m/z$  161  $[\text{M}-\text{H}-124]^-$  surge de uma fragmentação semelhante à da molécula de estrona (Figura 3.38), com maior estabilidade (evidenciada pela intensidade do pico), envolvendo a quebra de um dos anéis ( $\text{C}_{18}\text{H}_9\text{O}$ ). Com uma quebra parecida com a que resulta no íon de  $m/z$  161, o íon fragmento de  $m/z$  175  $[\text{M}-\text{H}-110]^-$  diferencia-se apenas pela perda de um átomo de carbono a menos

( $C_{17}H_9O$ ). Se a quebra ocorre no primeiro anel próximo do aromático, duas propostas de fragmentação podem ocorrer, envolvendo íons fragmentos de  $m/z$  135  $[M-H-150]^-$  e 134  $[M-H-151]^-$ , de menor estabilidade, decorrentes de perda de  $C_7H_{14}O$  e  $C_8H_{15}O_2$ , respectivamente. O mecanismo de fragmentação proposto está representado na Figura 3.41.



a)



b)

FIGURA 3.40 – (a) cromatograma de íons totais (TIC) para a molécula intermediária de  $m/z$  285; (b) espectro MS/MS dos íons fragmentos de  $m/z$  285. Análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3), após 5 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

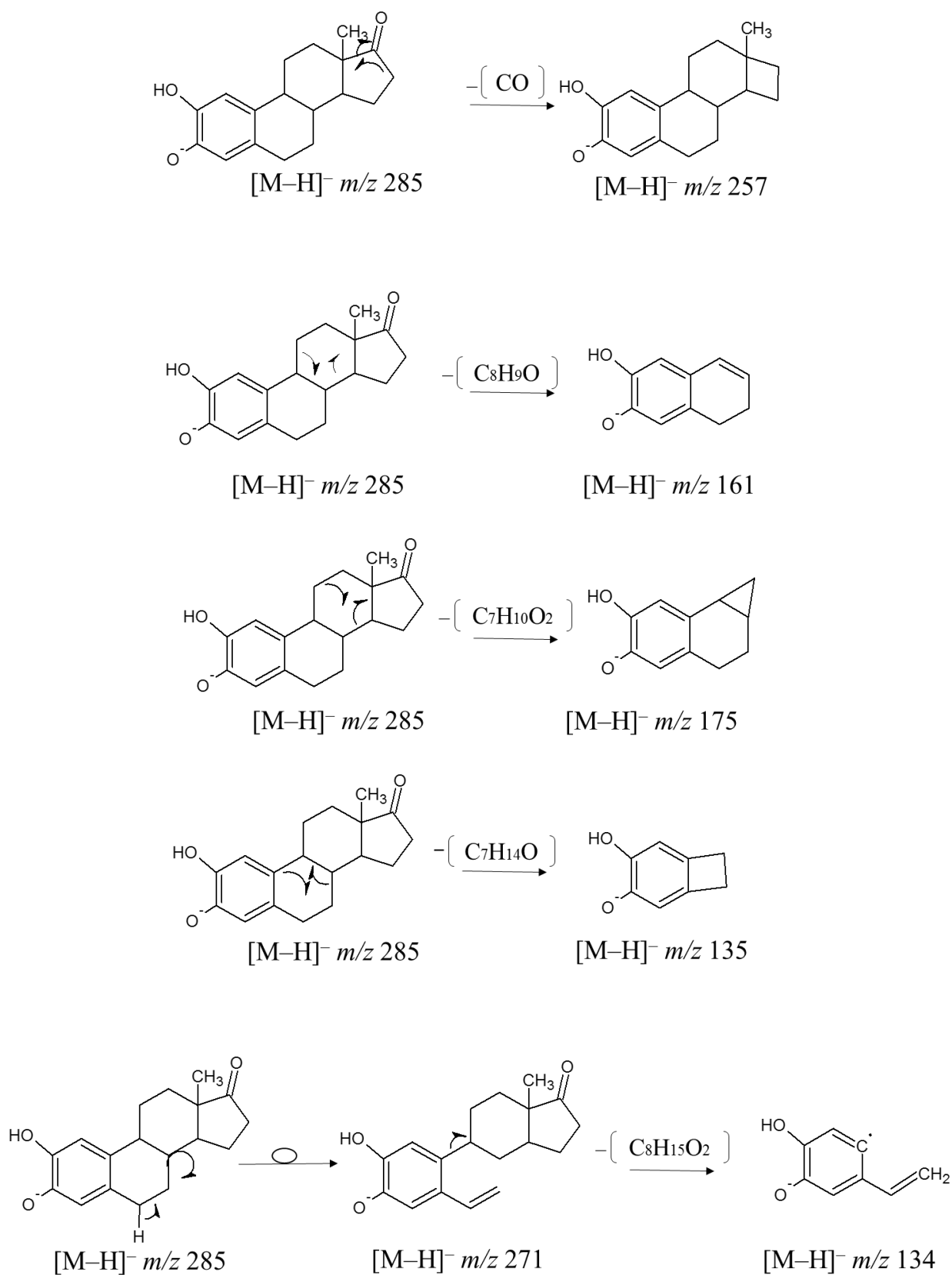


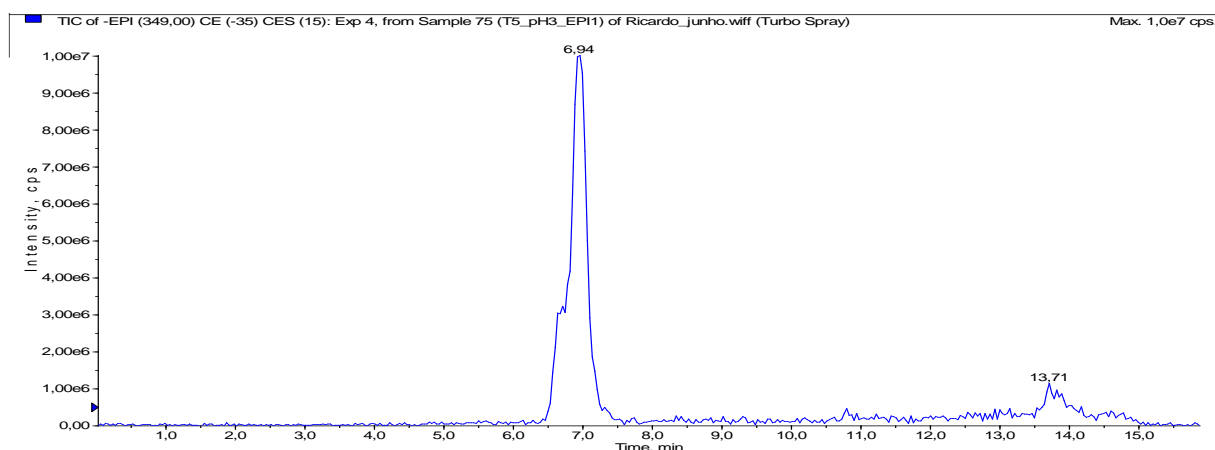
FIGURA 3.41 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de  $[M-H]^-$  com  $m/z$  285.



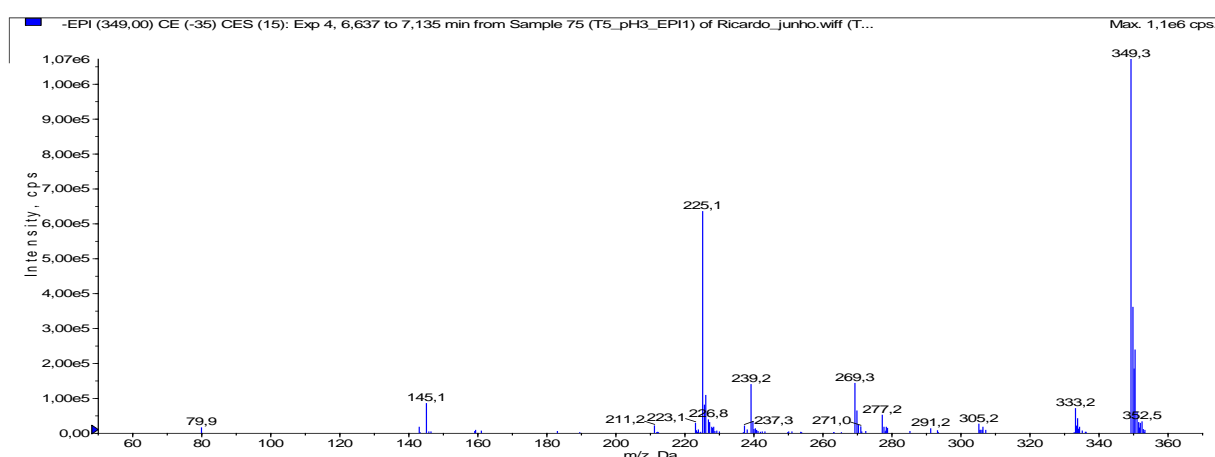
Na Figura 3.42, é apresentado o TIC e o espectro MS/MS de uma outra molécula intermediária formado após 5 min de eletrólise da estrona, de  $[M-H]^-$   $m/z$  349. No TIC apresentado na Figura 3.42a, este íon precursor apresenta  $t_r$  por volta de 7 min, evidenciado pelo pico de alta intensidade nessa região; um segundo pico em  $t_r = 13,71$  min também aparece para o mesmo íon, no entanto este íon também foi encontrado na amostra do branco, sendo descartado das futuras análises de fragmentação por MS/MS. Desse modo, o íon precursor de  $[M-H]^-$   $m/z$  349, com  $t_r = 7$  min, foi confirmado por análises de MS/MS (Figura 3.42b), com alguns íons fragmentos em maior abundância ( $[M-H]^-$  com valores de  $m/z$  145, 225, 239 e 305). Algumas rotas de fragmentação a partir do íon intermediário de  $[M-H]^-$   $m/z$  349 são apresentadas na Figura 3.43. Entre os íons produtos, o de maior intensidade é o de  $[M-H]^-$   $m/z$  225, sendo que provavelmente este fragmento de maior estabilidade surge em decorrência da quebra de um dos anéis da molécula, com a saída das moléculas  $C_6H_8O$  e  $C_2H_4$   $[M-H-124]^-$ . Em seguida, uma segunda fragmentação ocorre para o íon de  $[M-H]^-$   $m/z$  225 para  $[M-H]^-$   $m/z$  145, com a saída de  $C_6H_8$   $[M-H-80]^-$ . Os íons produtos de  $[M-H]^-$   $m/z$  305 e 277 são, provavelmente, formados pela perda de  $CO_2$   $[M-H-44]^-$  e  $CO$   $[M-H-72]^-$ , respectivamente. Por fim, para o íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  239, é possível que a fragmentação ocorra com a saída de  $C_7H_{10}O$ .

No processo de degradação da estrona utilizando o anodo de Nb/BDD, em pH 3, as moléculas intermediárias de  $[M-H]^-$   $m/z$  285 e 349 foram observadas mesmo após 50 min de eletrólise. No entanto, após 30 min de eletrólise, outros intermediários foram detectados, de  $[M-H]^-$   $m/z$  303, 357, 397 e 399, respectivamente. Assim, nas Figuras 3.44, 3.47, 3.49 e 3.51 são apresentados os TIC e os espectros MS/MS para esses íons intermediários.

## Resultados e Discussão



a)



b)

FIGURA 3.42 – (a) cromatograma de íons totais (TIC) para a molécula intermediária de  $m/z$  349; (b) espectro MS/MS dos íons fragmentos de  $m/z$  349. Análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3), após 5 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

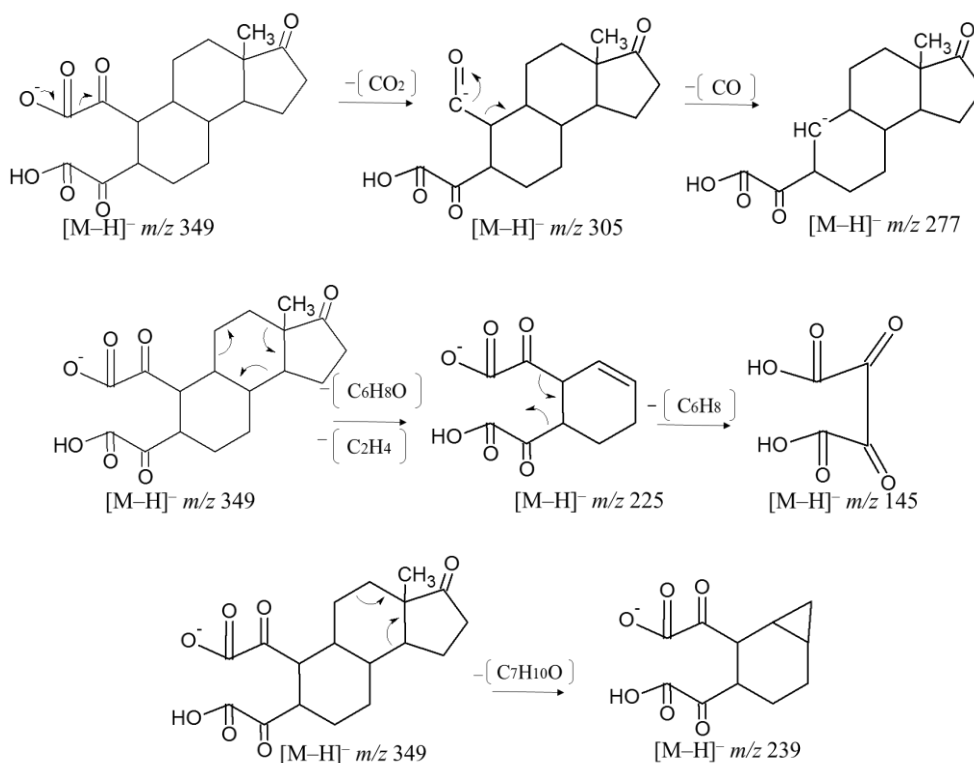
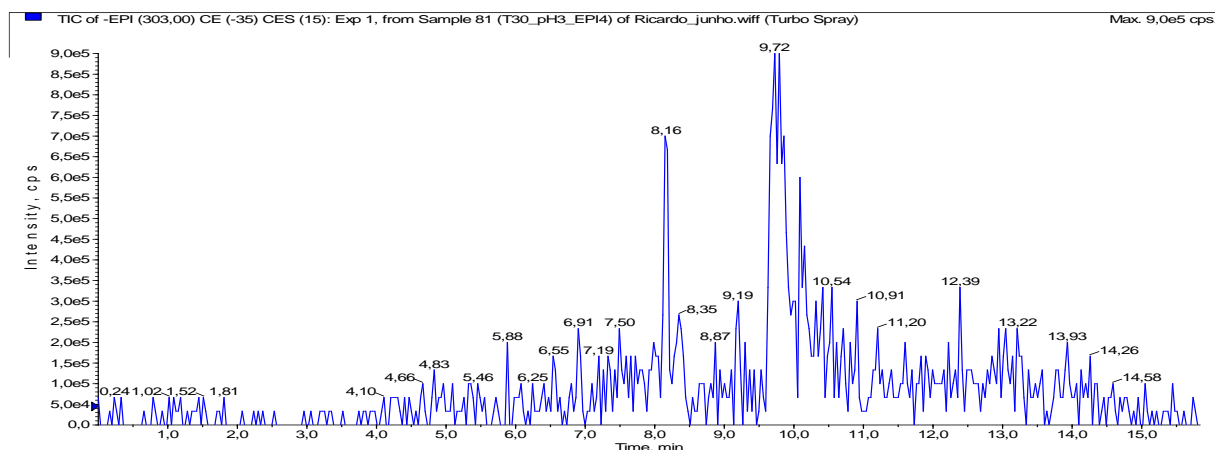


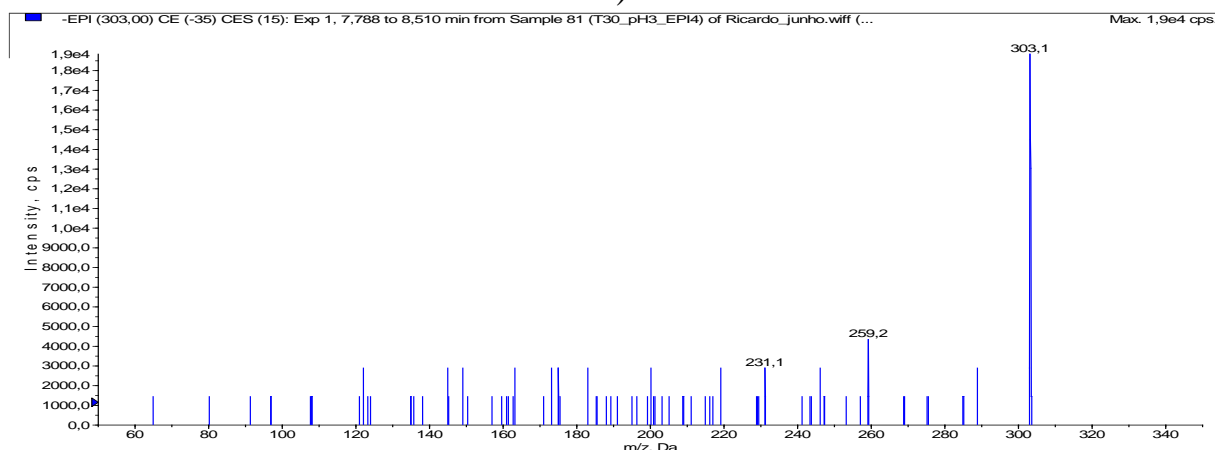
FIGURA 3.43 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de  $[\text{M}-\text{H}]^- m/z$  349.

No TIC apresentado na Figura 3.44a, os íons intermediários de  $[\text{M}-\text{H}]^- m/z$  303 possuem dois valores de  $t_r$ : 8,2 e 9,7 min. Mas pelos espectros MS/MS concluiu-se que se trata de dois compostos diferentes de mesma massa molecular. Assim, as suas fragmentações ajudam a entender as diferentes formas de ataque do radical  $\bullet\text{OH}$  à molécula durante a eletrólise. Por outro lado, nessas análises de MS/MS, a energia usada para fragmentar as moléculas não foi suficientemente alta, o que resultou em poucos íons produtos (Figura 3.44a-b). Para o íon intermediário de  $[\text{M}-\text{H}]^- m/z$  203 com  $t_r = 8,2$  min (Figura 3.44b), por exemplo, alguns dos íons de fragmentação observados foram de  $[\text{M}-\text{H}]^- m/z$  285, 231 e 247. Já para o mesmo íon com  $t_r = 9,7$  min, os íons de fragmentação foram de  $[\text{M}-\text{H}]^- m/z$  285 e 177. Desse modo, nas Figuras 3.45 e 3.46 são apresentadas as possíveis fragmentações de  $[\text{M}-\text{H}]^- m/z$  303.

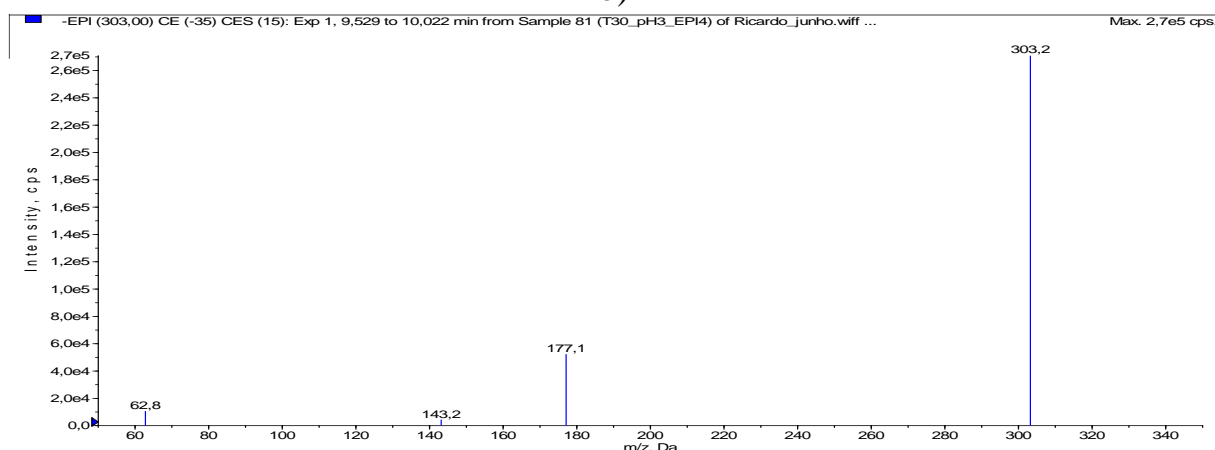
## Resultados e Discussão



a)



b)



c)

FIGURA 3.44 – (a) cromatograma de íons totais (TIC) para a molécula intermediária de  $m/z$  303; (b-c) espectro MS/MS dos íons produtos de  $m/z$  303 nos  $t_r = 8,2$  e  $9,7$  min, respectivamente. Análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3), após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

Conforme ilustrado na Figura 3.45, a primeira fragmentação da molécula intermediária de  $[M-H]^-$   $m/z$  303 com  $t_r = 8,2$  min ocorre através da perda de  $H_2O$   $[M-H-18]^-$ , com a formação do íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  285. Em seguida, ocorre a quebra do anel pentano, com a saída de  $C_3H_4O$   $[M-H-54]^-$  e a formação do íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  231. Outra possibilidade de fragmentação para este íon é a mesma quebra do anel pentano ocorrer antes da formação do íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  285, com a saída de  $C_3H_4O$   $[M-H-54]^-$  e a consequente formação do íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  257. Na proposta de íons produtos para o íon intermediário com  $t_r = 9,7$  min (Figura 3.46), o primeiro íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  285 também ocorre com a saída de  $H_2O$   $[M-H-18]^-$  do anel aromático e com decorrente formação de uma ligação tripla entre carbonos. A formação do segundo íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  177 ocorreu, provavelmente, pela quebra de um dos anéis da molécula e a saída de  $C_8H_{14}O$   $[M-H-18]^-$ .

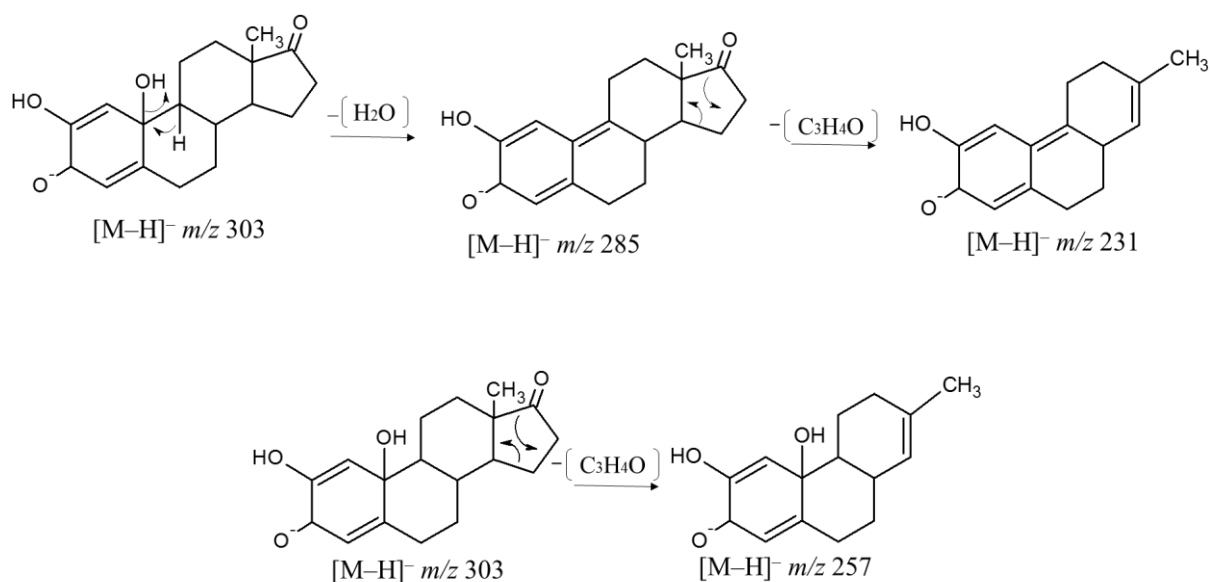


FIGURA 3.45 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de  $[M-H]^-$   $m/z$  303 com  $t_r = 8,2$  min.

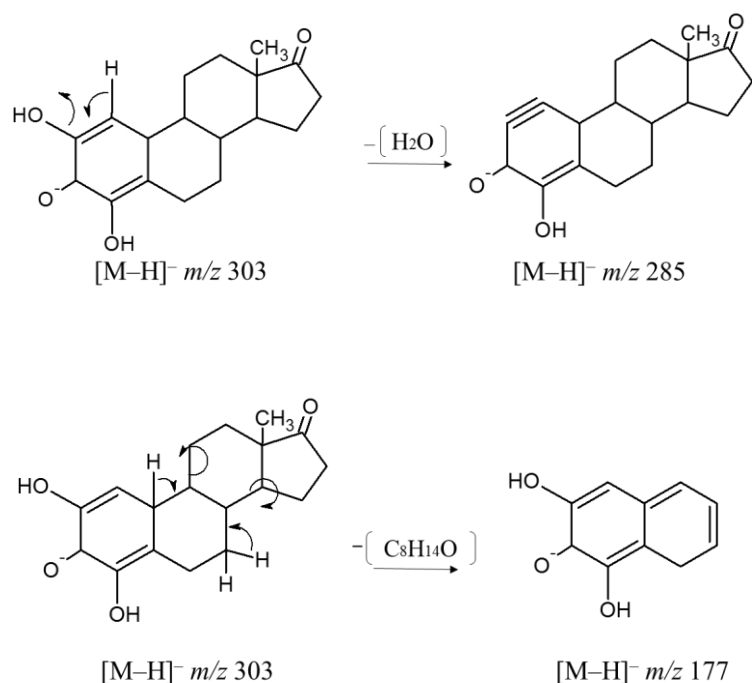


FIGURA 3.46 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de  $[M-H]^- m/z 303$  com  $t_r = 9,7$  min.

Outro molécula intermediária formado durante a eletrooxidação da estrona, após 30 min de eletrólise, foi a de  $[M-H]^- m/z 397$ . Na Figura 3.47 estão apresentados o TIC e o espectro MS/MS para esse íon. No TIC (Figura 3.47 a), os picos intensos dos íons desse intermediário são observados em  $t_r = 1,0$ ,  $5,14$  e  $9,56$  min, respectivamente, com outros de menor intensidade em  $t_r = 5,96$ ,  $7,17$  e  $13,45$  min. No entanto, todos eles foram detectados no branco, exceto o íon com  $t_r = 5,14$  min. O espectro MS/MS do íon de  $[M-H]^- m/z 397$  (Figura 3.47) com  $t_r = 5,14$  min possui diversos íons produtos, que estão elucidados na Figura 3.48.

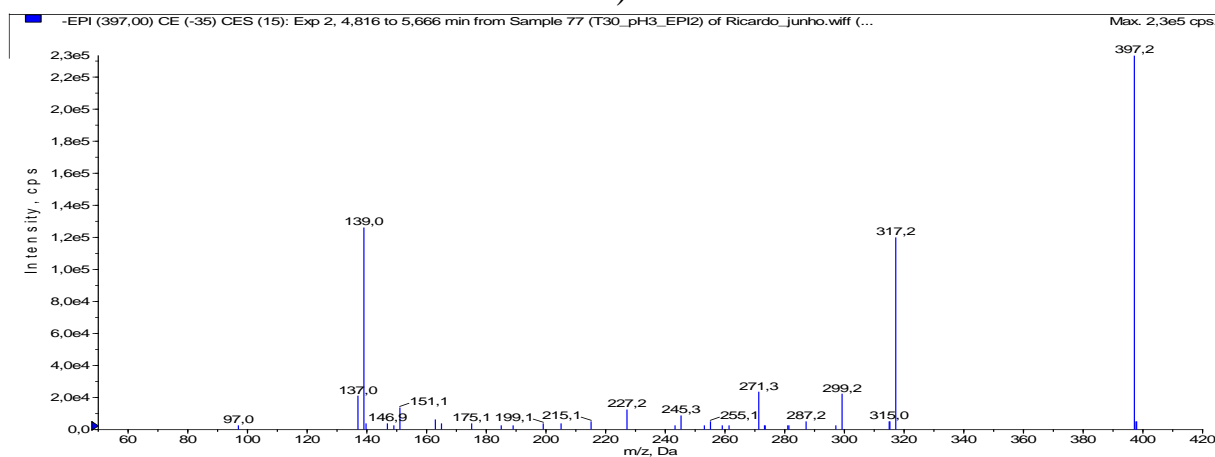
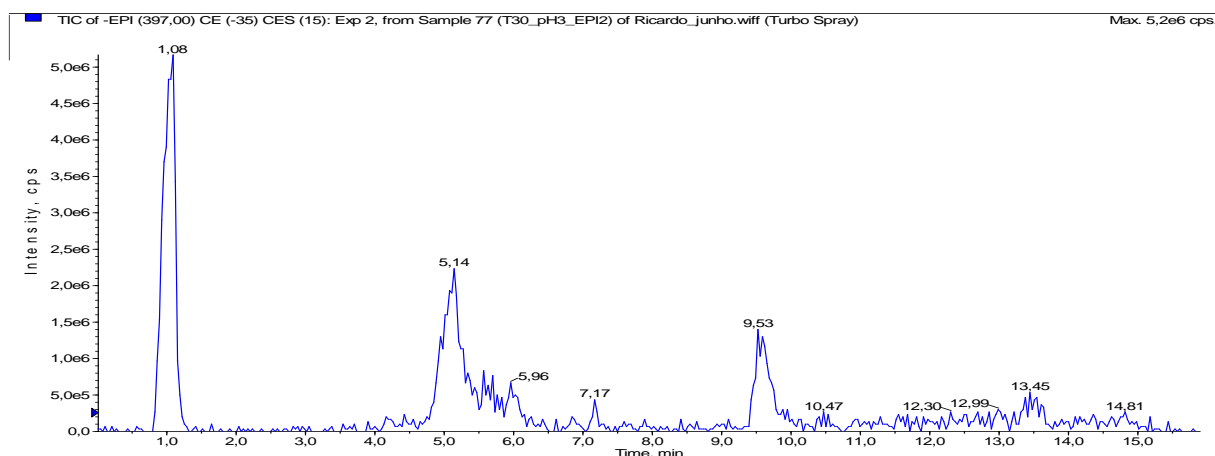


FIGURA 3.47 – **(a)** TIC (cromatograma de íons totais) para a molécula intermediária de  $m/z$  397; **(b)** espectro MS/MS dos íons produtos de  $m/z$  397. Análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3), após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

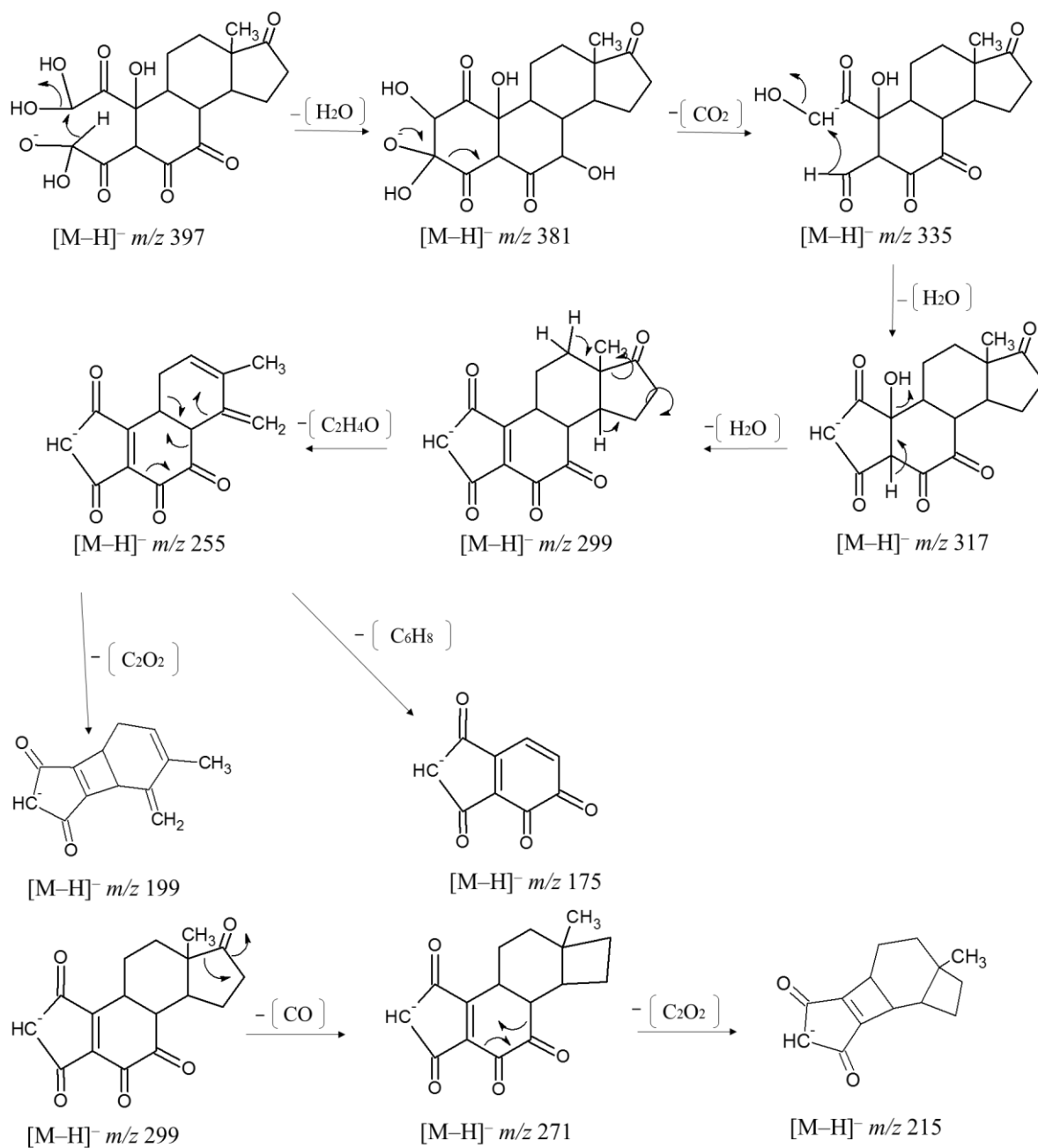


FIGURA 3.48 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de  $[M-H]^-$   $m/z$  397.

No processo de fragmentação do íon intermediário, alguns dos íons resultantes são instáveis e, assim, alguns dos passos para a fragmentação inicial não aparecem no espectro MS/MS. Contudo, alguns rearranjos e etapas de reação foram realizadas na molécula proposta,  $[M-H]^-$   $m/z$  397, para a análise das demais



fragmentações dos íons que apresentam maior estabilidade. Assim, conforme apresentado na Figura 3.48, o íon intermediário de  $[M-H]^-$   $m/z$  397 passa por processos de rearranjo de saída de  $H_2O$  e  $CO_2$  ( $[M-H-18-44-44]^-$ ), até o íon fragmento com maior estabilidade de  $[M-H]^-$   $m/z$  177. Em seguida, ocorre a saída de mais um molécula de  $H_2O$   $[M-H-18]^-$  e o íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  299 é formado, seguido de reações de colisão na fragmentação, com saída de  $CO$   $[M-H-28]^-$  e  $C_2O_2$   $[M-H-56]^-$  e formação de  $[M-H]^-$   $m/z$  271 e 215, respectivamente. Outras reações de fragmentação também ocorrem a partir de  $[M-H]^-$   $m/z$  299, com a formação dos íons produtos de  $[M-H]^-$   $m/z$  303, 175 e 199, a partir da saída de  $C_2O_2$   $[M-H-56]^-$  e  $C_6H_8$   $[M-H-80]^-$ .

Na Figura 3.49 são apresentados o TIC (a) e o espectro MS/MS (b) para a molécula intermediária de  $[M-H]^-$   $m/z$  399, também detectada durante a eletrooxidação da estrona.

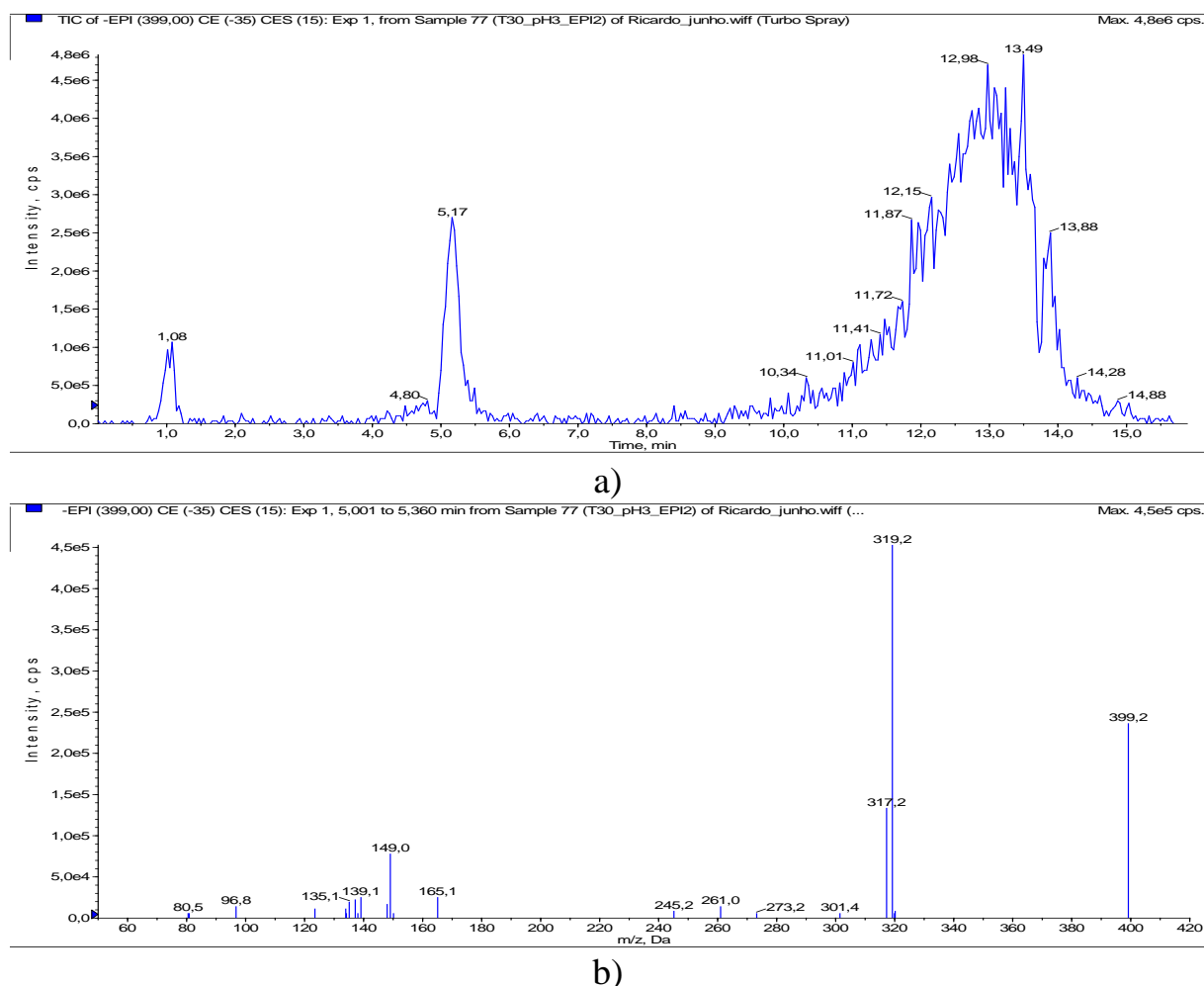


FIGURA 3.49 – **(a)** TIC (cromatograma de íons totais) para a molécula intermediária de  $m/z$  399; **(b)** espectro MS/MS dos íons produtos de  $m/z$  390. Análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3), após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

Nas análises de interpretação dos dados apresentados na figura acima para a molécula intermediária de  $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  399, percebe-se que os TIC e espectros MS/MS apresentam forte semelhança com os da molécula intermediária de  $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  397. De certo modo esse comportamento já era esperado, pois após certo tempo de eletrólise, ocorre um aumento dos valores de  $m/z$  devido à

interação dos radicais  $\bullet\text{OH}$  com as moléculas; logo, a diferença entre  $[\text{M}-\text{H}]^- m/z$  399 e  $[\text{M}-\text{H}]^- m/z$  397 é, provavelmente, decorrente de uma ligação simples em um dos oxigênios da molécula intermediária. Os valores de  $t_r$  similares ( $t_r \sim 5,1$  min) são outro indício, uma vez que os demais picos foram identificados como contaminantes com mesma razão  $m/z$ , detectados na amostra branco. Na Figura 3.50 são apresentadas as possíveis rotas de fragmentação por MS/MS para confirmar a molécula intermediária de  $[\text{M}-\text{H}]^- m/z$  399.

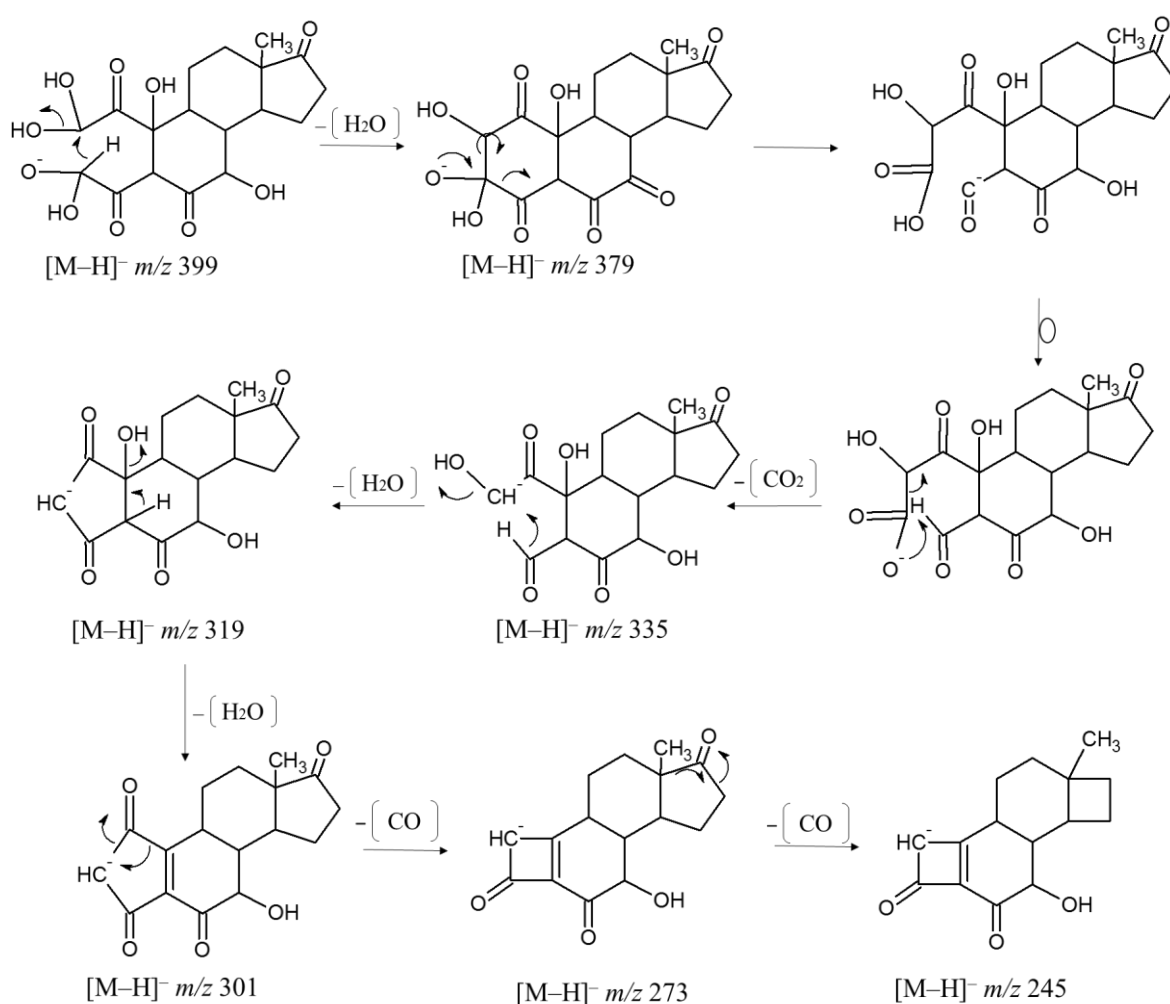
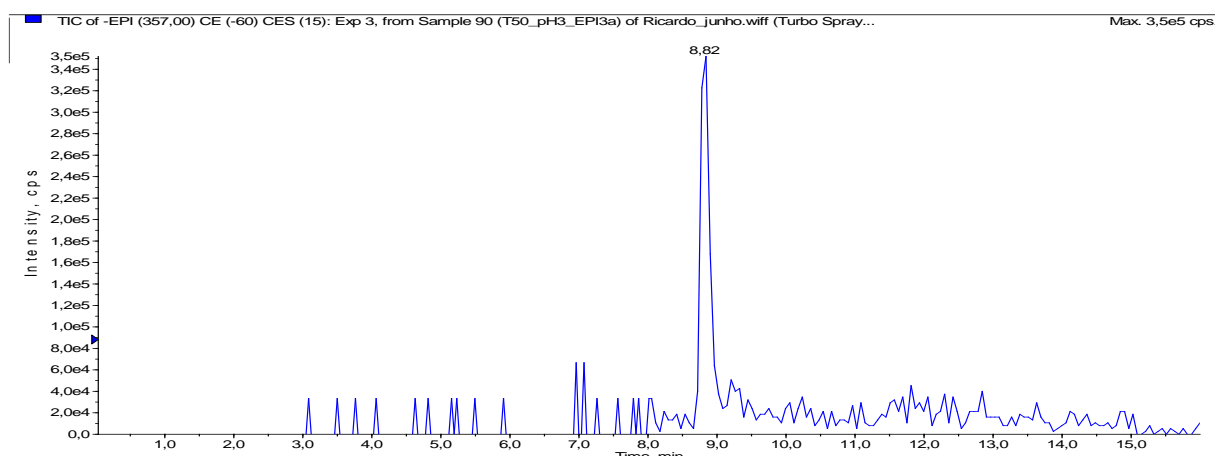


FIGURA 3.50 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de  $[\text{M}-\text{H}]^- m/z$  399.

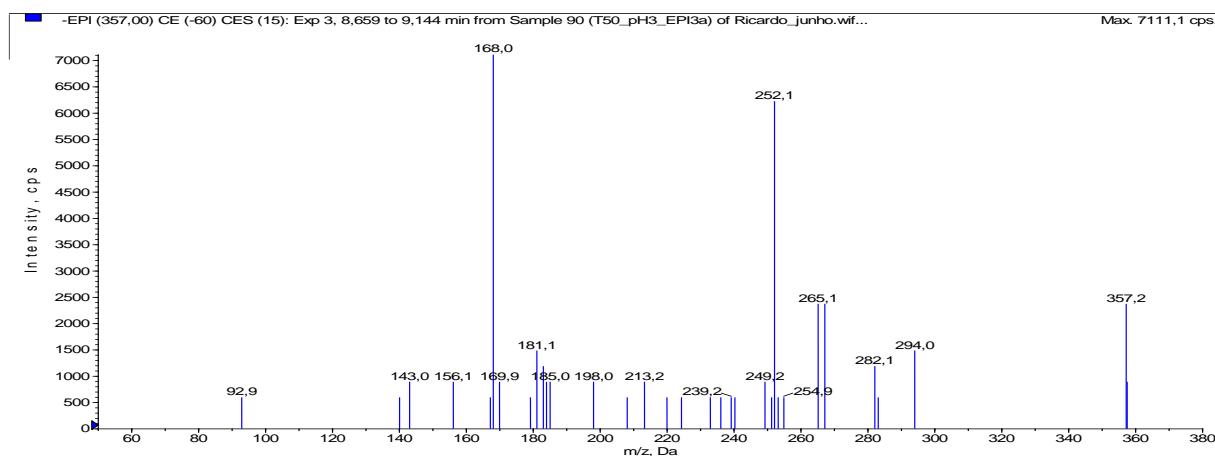
Inicialmente, o íon intermediário de  $[M-H]^-$   $m/z$  399 é fragmentado e ocorrem alguns rearranjos na molécula, tal como no íon intermediário de  $[M-H]^-$   $m/z$  397, com a saídas de  $H_2O$ ,  $CO_2$  e  $H_2O$   $[M-H-18-44-18]^-$ , até o íon fragmento na forma estável de  $[M-H]^-$   $m/z$  319. Outros íons produtos foram detectados nos espectros MS/MS, de  $[M-H]^-$   $m/z$  301, 273 e 245, que, possivelmente, decorrem da quebra contínua do íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  319, com a saída de  $H_2O$ ,  $CO$  e  $CO$   $[M-H-18-28-28]^-$ .

Por fim, ainda após 30 min de eletrólise da estrona em pH 3,0, foi detectada a molécula produto de  $[M-H]^-$   $m/z$  357. Na Figura 3.51 são apresentados os correspondentes TIC e espectro MS/MS para o íon de  $[M-H]^-$   $m/z$  357. No TIC (Figura 3.51a), ocorre um pico de alta intensidade referente à detecção deste íon próximo a  $t_r = 8,8$  min. No espectro MS/MS (Figura 3.51b) do íon intermediário de  $[M-H]^-$   $m/z$  357 em  $t_r = 8,8$  min, diversos íons fragmentos foram formados. A proposta para o íon de  $[M-H]^-$   $m/z$  357 e as possíveis rotas de sua fragmentação estão ilustradas na Figura 3.52.

A primeira proposta de rota de fragmentação do íon de  $[M-H]^-$   $m/z$  357 envolve a quebra de uma ligação C-C, a saída de  $C_3H_3O_3$   $[M-H-75]^-$  e a formação do íon radicalar de  $[M-H]^-$   $m/z$  382, seguida de rearranjos e migração do radical até o oxigênio. Assim, para formar o íon de  $[M-H]^-$   $m/z$  252, ocorre uma segunda fragmentação, com a quebra da molécula e saída de  $CH_2O$   $[M-H-30]^-$ , seguida de mais uma quebra e saída de  $C_2H_4$   $[M-H-30]^-$  e, por fim, a formação do íon de  $[M-H]^-$   $m/z$  224. A segunda proposta também inicia-se com o íon intermediário de  $[M-H]^-$   $m/z$  357 e a saída de  $CO_2$   $[M-H-44]^-$  para gerar o íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  313, o qual pode ser fragmentado de duas formas: (i) pela saída de  $CH_2O$  e  $H_2O$   $[M-H-30-18]^-$  e consecutiva estabilidade do íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  265; (ii) quebra de um dos anéis, saída de  $C_6H_{10}O$   $[M-H-98]^-$  com íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  213, e mais uma fragmentação (saída de  $CH_4O$   $[M-H-32]^-$ ) para gerar o íon fragmento de  $[M-H]^-$   $m/z$  181.



a)



b)

FIGURA 3.51 – (a) TIC (cromatograma de íons totais) para a molécula intermediária de  $m/z$  357; (b) espectro MS/MS dos íons produtos de  $m/z$  357. Análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3), após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

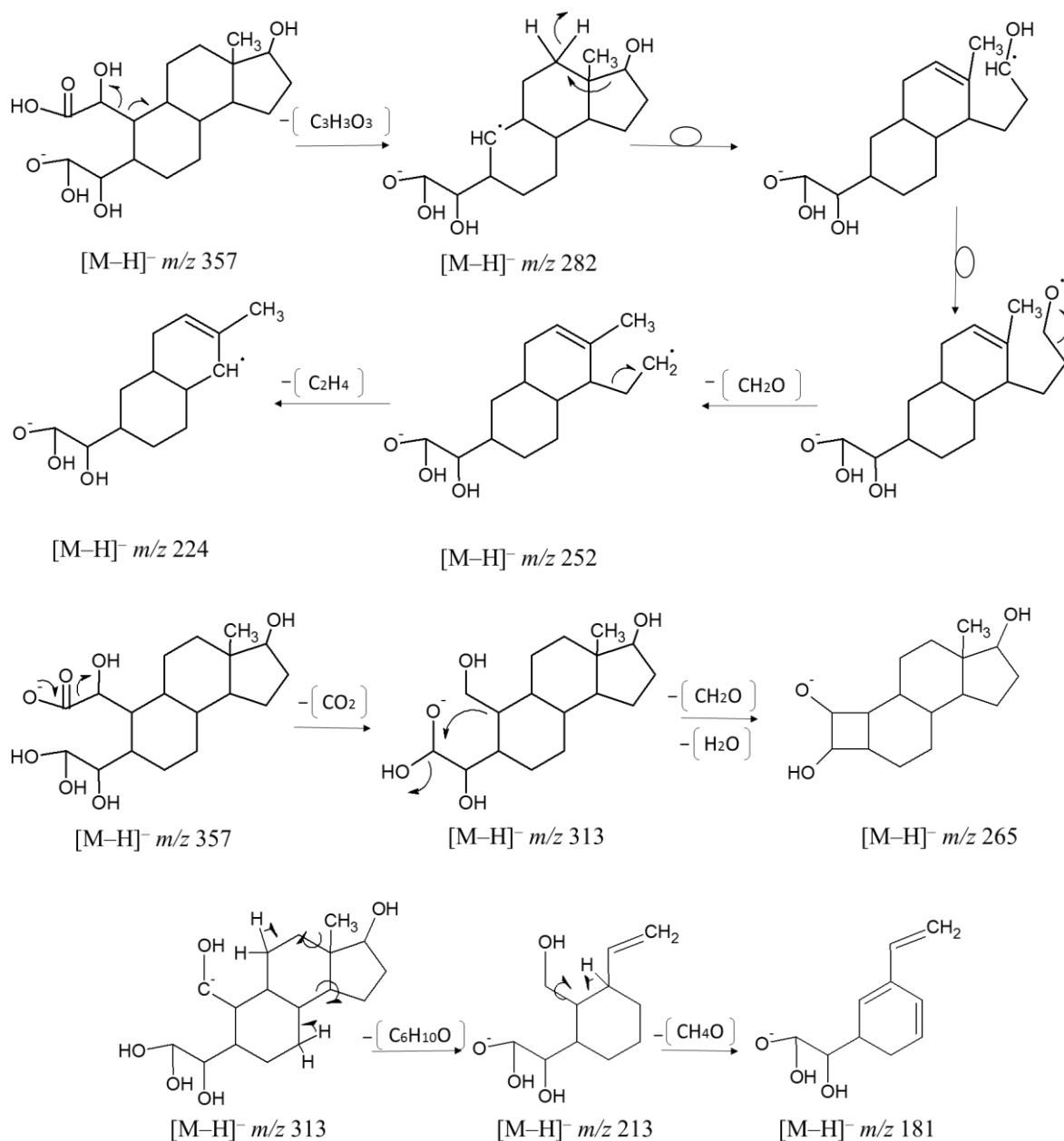


FIGURA 3.52 – Provável mecanismo de fragmentação para a molécula intermediária de  $[M-H]^- m/z 357$ .

Assim, as moléculas intermediárias formadas na eletrooxidação da estrona, em solução aquosa de  $Na_2SO_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,0), utilizando o eletrodo de Nb/BDD, e detectadas por LC-MS/MS foram de  $[M-H]^- m/z 285, 349, 303, 397, 399$  e  $357$ . De modo qualitativo, esses íons foram monitorados via o tempo de retenção, e a área relativa (XIC) de cada íon foi usada para acompanhar a

cinética de formação e/ou degradação desses íons intermediários durante o processo de oxidação (Figura 3.53).

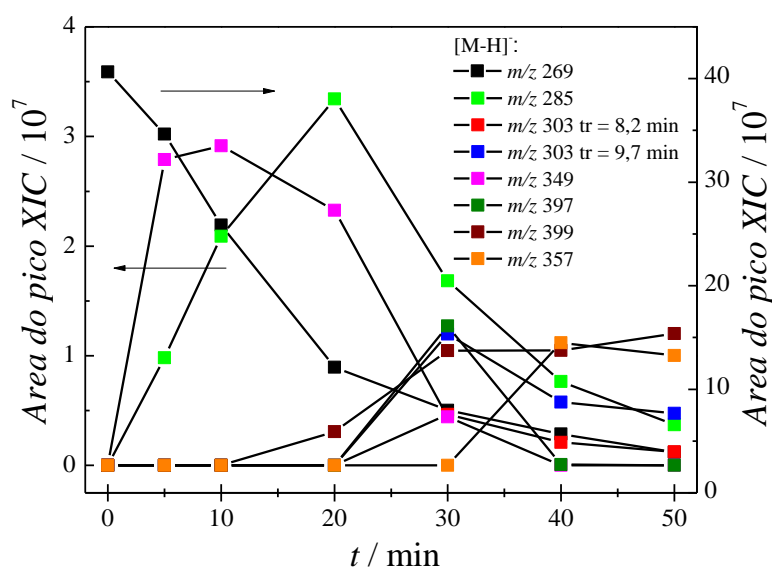


FIGURA 3.53 – Variação da área dos picos cromatográficos (XIC) referentes às moléculas intermediárias de  $[M-H]^-$   $m/z$  X (valores de X indicados na figura) em função do tempo de eletrólise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3) com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

A degradação da estrona de  $[M-H]^-$   $m/z$  269 ocorre até 50 min, no final já em baixos níveis de detecção por LC-MS/MS, com valores próximos a zero. Por outro lado, os íons intermediários de  $[M-H]^-$   $m/z$  285 e 349 são detectados na etapa inicial do processo de degradação, com níveis de detecção máxima em 20 e 10 min, respectivamente. Em seguida, a detecção desses íons intermediários decai rapidamente para o de  $[M-H]^-$   $m/z$  349, que atinge valores próximos a zero em 40 min, enquanto a detecção do íon de  $[M-H]^-$   $m/z$  285 ainda continua presente em 50 min. A partir de 20 min de eletrólise, o íon intermediário de  $[M-H]^-$   $m/z$  399 é detectado, com crescente estabilidade em solução durante o

restante da eletrólise. Os íons intermediários de  $[M-H]^-$   $m/z$  303, nos tempos de retenção de 8,2 e 9,7 min, foram detectados a partir de 30 min de eletrólise, apresentando tendência de redução de concentração já a partir de 40 min. Ainda a partir de 30 min de eletrólise, foi detectado outro íon intermediário, de  $[M-H]^-$   $m/z$  397, que possui estrutura similar à do íon intermediário de  $[M-H]^-$   $m/z$  399, mas esse íon foi rapidamente degradado, apresentando valores de detecção próximos a zero já em 40 min. Por fim, um último íon intermediário foi detectado após 40 min de eletrólise, o de  $[M-H]^-$   $m/z$  357, sendo que seu sinal de detecção permaneceu alto até o final da eletrólise (50 min), juntamente com os de outros íons. Isso mostra que um maior tempo de eletrólise seria necessário para a total remoção e mineralização dos compostos ainda presentes na solução.

Com base nesses dados, deduziu-se um mecanismo (parcial) para a degradação eletroquímica da estrona em solução de  $Na_2SO_4$  0,1 mol  $L^{-1}$  (pH 3), o qual é exibido na Figura 3.54 e Tabela 3.16.



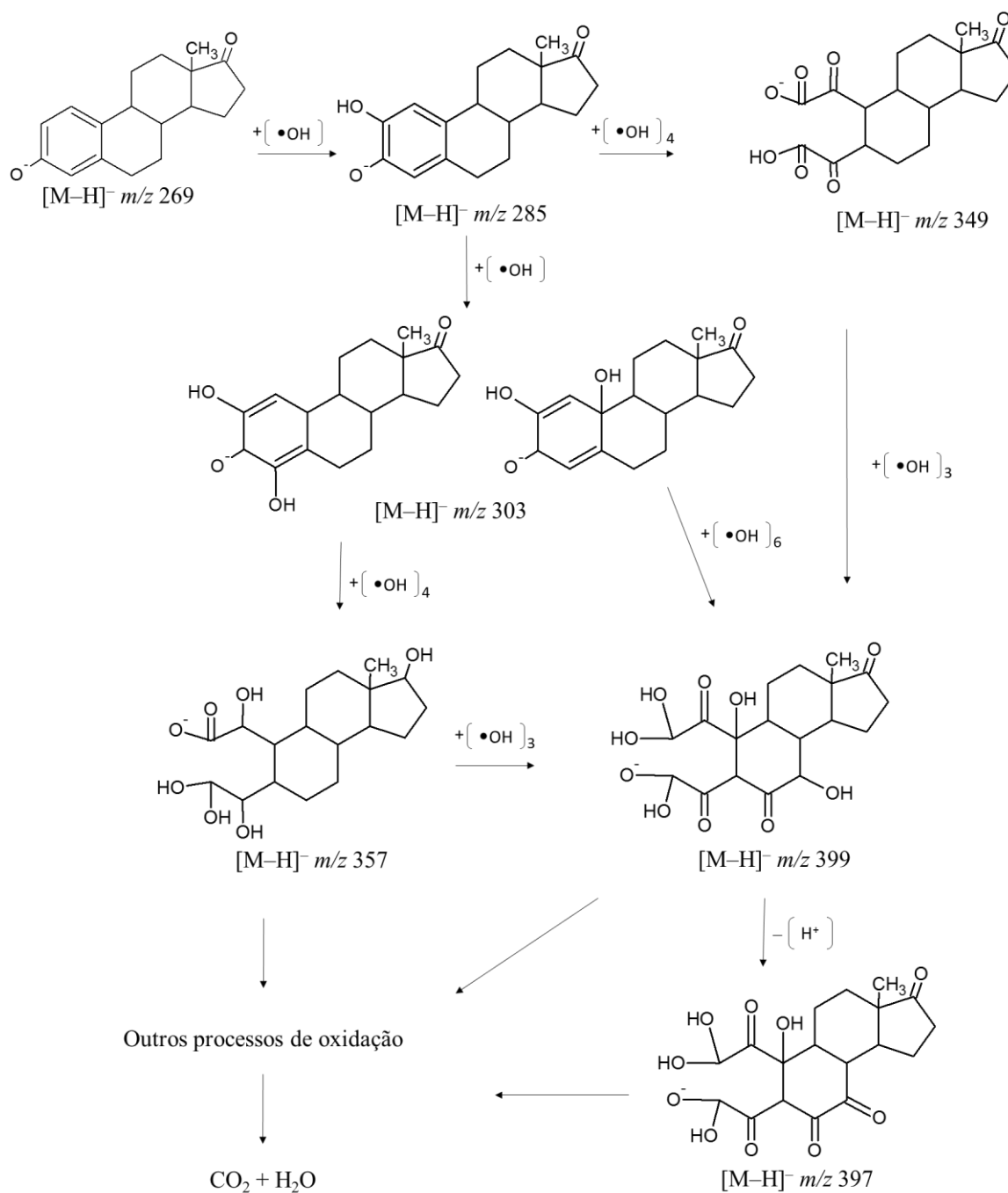


FIGURA 3.54 – Mecanismo parcial proposto para a degradação eletroquímica da estrona em solução de  $Na_2SO_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ácida (pH 3) com um eletrodo de Nb/BDD.

TABELA 3.16– Íons detectados por MS e seus respectivos íons produtos MS/MS, para as moléculas intermediárias de  $[M-H]^-$  formadas na degradação eletroquímica de estrona em pH 3,0 com um eletrodo de Nb/BDD.

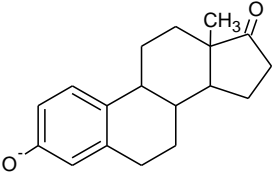
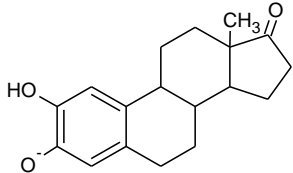
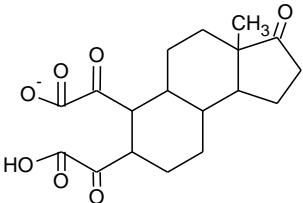
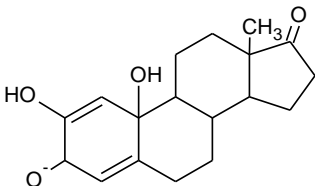
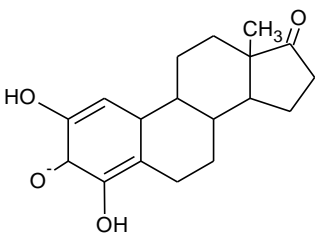
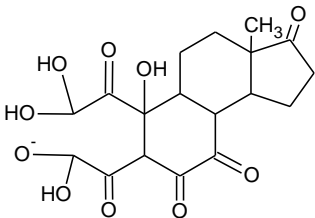
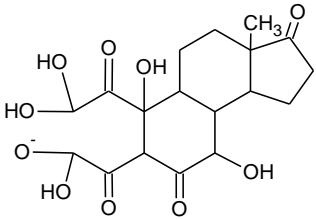
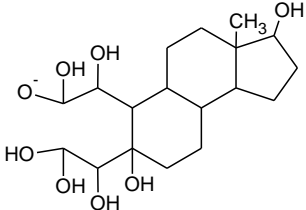
Íon detectado por MS / $[M-H]^-$ $m/z$ .	Íons fragmentos por MS/MS / $m/z$	Estrutura molecular $[M-H]^-$
269	145	
285	134, 135, 161, 175, 257 e 271	
349	145, 225, 239, 277 e 305	
303	231, 257 e 285	
303	177 e 285	
397	175, 199, 215, 229, 271, 317, 335 e 381	

TABELA 3.16 - Continuação

399	245, 273, 301, 319 e 335	
357	181, 213, 224, 252, 265, 282, 313, 357,	

Os íons intermediários detectados por MS, no modo negativo, para o processo de degradação da molécula de estrona em meio ácido (pH 3,0) apresentam como principal característica o ataque de radicais  $\bullet\text{OH}$  e quebras nos anéis, em especial, o aromático, devido à alta densidade eletrônica. Provavelmente, a rota de degradação inicia-se pelo ataque de um radical  $\bullet\text{OH}$  e a formação do íon intermediário de  $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  285. Em seguida, ocorre a adição de mais um radical  $\bullet\text{OH}$  na molécula ( $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  303) e, devido ao alto poder oxidante do radical  $\bullet\text{OH}$ , a ligação carbono-carbono pode romper-se, ocorrendo em seguida a abertura no anel aromático ( $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  349). Nas próximas etapas, ocorrem os demais processos de adição dos radicais  $\bullet\text{OH}$ , com íons intermediários com altos valores de  $m/z$ , contudo, mesmo após o tempo de eletrólise de 50 min, não foram detectados intermediários de compostos de degradação que fossem decorrentes de reações de oxidação com perda de  $\text{CO}_2$ . É nítido, também, que o processo em estudo foi eficiente para oxidar a estrona, mas não para sua total mineralização. Neste caso, seria necessário um tempo maior de eletrólise. Ademais, testes seriam necessários para avaliar a toxicidade desses íons intermediários, pois, em alguns casos, pode ocorrer de as moléculas intermediárias formadas durante o processo de degradação apresentarem níveis de toxicidade maiores em relação à molécula original, neste caso a estrona.

Cabe destacar que alguns dos intermediários detectados neste estudo já foram relatados na literatura para a oxidação da molécula de estradiol, de  $[M-H]^-$   $m/z$  271, em diferentes processos de degradação<sup>121,122</sup>. Por exemplo, na degradação realizada com dióxido de titânio por fotocatalise<sup>122</sup>, o íon intermediário de  $[M-H]^-$   $m/z$  285 foi detectado já no início do processo de degradação, com um aumento crescente de detecção deste intermediário até o final do experimento. Outros íons também foram detectados, no entanto sem relação com os aqui relatados. Em estudo realizado por IRMAK *et al.*<sup>121</sup>, esse mesmo íon intermediário também foi detectado na degradação do estradiol com ozônio e com ozônio na presença de luz UV, mas sem nenhuma informação sobre o processo cinético de formação do intermediário. Também cabe destacar que, tanto quanto conseguimos constatar, os demais intermediários detectados nesta tese para o processo de degradação eletroquímica da estrona com eletrodo de Nb/BDD não possuem relatos anteriores na literatura, portanto sendo considerados inéditos.

Em pH ácido (pH 3), a proposta de rota (parcial) de degradação da estrona envolve alguns intermediários até 50 min de eletrólise, provenientes da inserção do radical  $\bullet OH$  em diferentes carbonos da molécula. Entretanto, dependendo do pH da solução, o ataque do radical  $\bullet OH$  pode ocorrer em diferentes posições da molécula, ou até mesmo ter uma diferente cinética de formação de íons. Tendo isto em mente, também foram investigadas moléculas intermediárias formadas durante o processo de oxidação da estrona em eletrólises realizadas em pH 7 e 10.

A cinética de formação de moléculas intermediárias durante o processo de degradação da estrona com o eletrodo de NB/BDD, em pH 7 e 10, foi analisada analogamente ao caso para a eletrólise realizada em pH 3. Desse modo, para os demais estudos, serão relatadas apenas as moléculas intermediárias detectadas, mas sem apresentação de gráficos (TIC, XIC, MS/MS e fragmentação desses íons), que estão incluídos vide no Apêndice.

De modo qualitativo, os íons intermediários formados durante a eletrooxidação da estrona em pH 7 foram monitorados em função do tempo de eletrólise, sendo que a área relativa (XIC) de cada íon foi usada para acompanhar a cinética de formação e/ou degradação desses íons intermediários durante o processo (Figura 3.55).

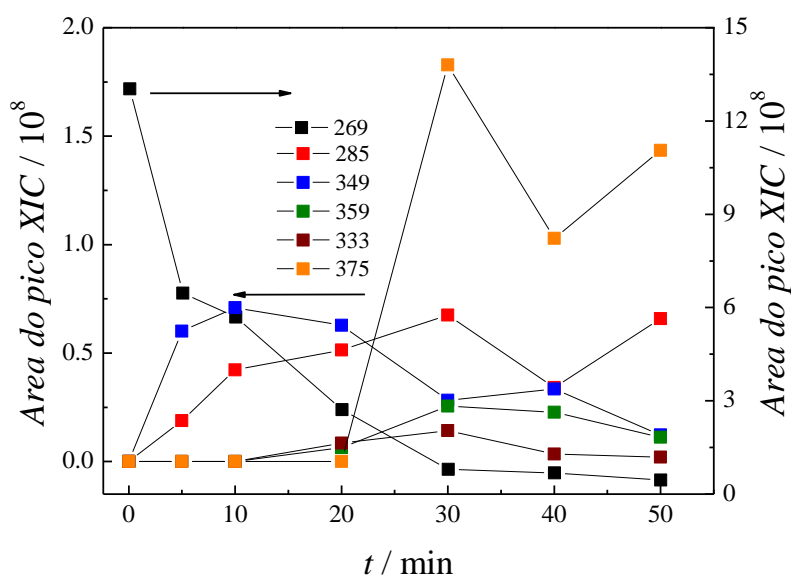


FIGURA 3.55 – Variação da área dos picos cromatográficos (XIC) referentes às moléculas intermediárias de  $[M-H]^-$   $m/z$  X (valores de X indicados na figura) em função do tempo de eletrólise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7) com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

Moléculas intermediárias formadas durante a degradação da estrona em pH 7 foram detectadas em menor número em relação às relatadas para a degradação realizada em pH 3, sendo que duas delas foram semelhantes, as moléculas de  $[M-H]^-$   $m/z$  285 e 349, que correspondem aos primeiros intermediários formados durante o processo de eletrólise. A intensidade de sinal de formação do íon de  $[M-H]^-$   $m/z$  285 manteve-se constante após 30 min de eletrólise, enquanto para o de  $[M-H]^-$   $m/z$  349, já a partir de 10 min de eletrólise,

houve um decaimento de intensidade de sinal para valores mais baixos. Por outro lado, a intensidade de sinal do íon referente à estrona,  $[M-H]^-$   $m/z$  269, atingiu valores próximos a zero após 50 min de eletrólise. Três íons intermediários novos foram formados na eletrólise realizada em pH 7, com valores de  $[M-H]^-$   $m/z$  359, 333 e 375, respectivamente. Esses íons foram detectados a partir de 20 ou 30 min de eletrólise, sendo que os dois primeiros já com tendência de diminuição do sinal; já para o íon de  $[M-H]^-$   $m/z$  375 altos valores de intensidade foram observados até o final do experimento.

Considerando os íons detectados durante o processo de oxidação da estrona ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7) usando um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ), foi proposto um mecanismo (parcial) de degradação da molécula – Figura 3.56 e Tabela 3.17.

Na rota de degradação proposta para a estrona em solução pH 7, mais uma vez foram detectados íons intermediários com altos valores de  $m/z$ . Esse comportamento é devido, provavelmente, ao ataque do radical  $\bullet\text{OH}$  nos átomos de carbono da molécula, contudo, até onde pudemos averiguar, o tempo de eletrólise de 50 min não foi suficiente o bastante para promover inúmeras quebras da molécula de estrona e uma eficiente conversão sua em  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . De qualquer modo, é nítido que o pH da solução tem influência significativa na formação de diferentes moléculas, de maior ou menor estabilidade. Desse modo, a eletrólise da estrona também foi realizada em solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , em pH 10, para verificar possíveis similaridades com as rotas de degradação propostas para as eletrólises realizadas em pH 3 e 7 ou, até mesmo, para verificar a formação de novos intermediários. Mais uma vez, de modo qualitativo, a cinética de formação dos intermediários foi monitorada em função do tempo de eletrólise, sendo apresentada na Figura 3.57.

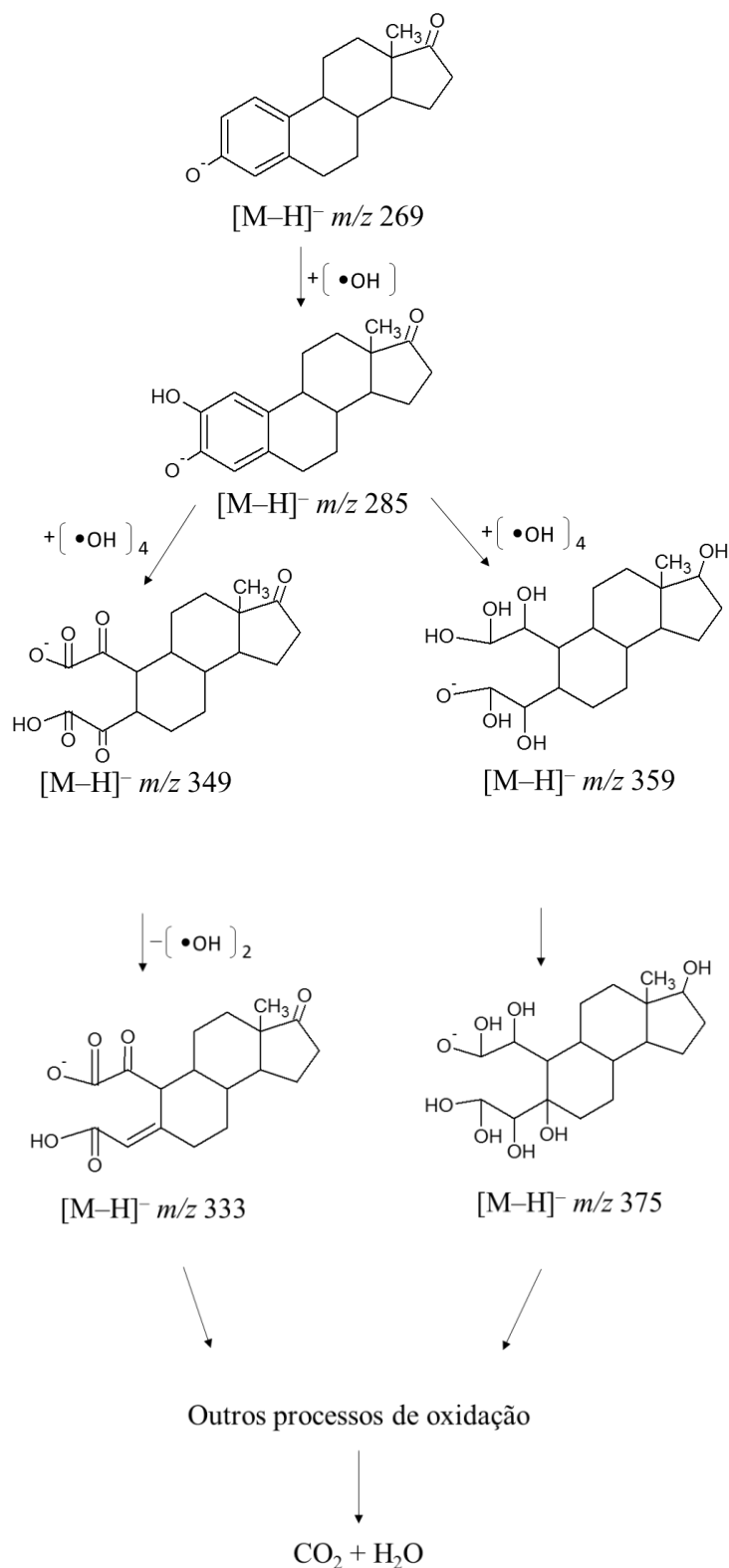
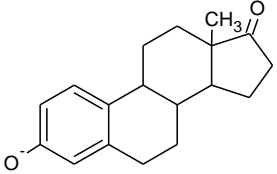
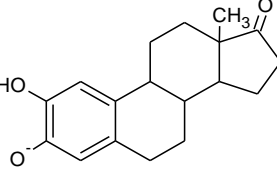
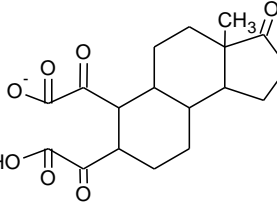
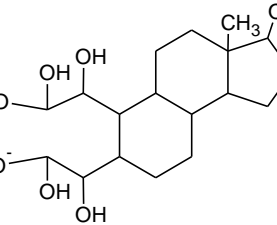
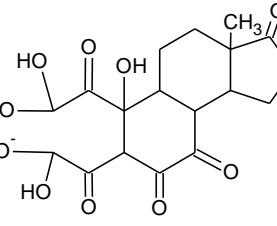
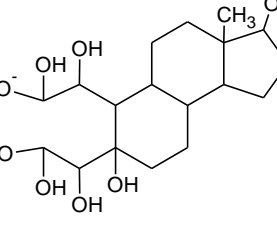


FIGURA 3.56 – Mecanismo (parcial) proposto para a degradação eletroquímica da estrona em solução de  $Na_2SO_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ácida (pH 7) com um eletrodo de Nb/BDD.

TABELA 3.17 – Íons detectados por MS e seus respectivos íons produtos MS/MS, para as moléculas intermediárias de  $[M-H]^-$  formadas na degradação eletroquímica de estrona em pH 7 com um eletrodo de Nb/BDD.

Íon detectado por MS / $[M-H]^-$ $m/z$	Íon fragmento por MS/MS / $m/z$	Estrutura molecular / $[M-H]^-$
269	145	
285	134, 135, 161, 175, 257 e 271	
349	145, 225, 239, 277 e 305	
359	183, 209, 241, 296, 295 e 323	
333	215, 245, 259, 271, 289 e 315	
375	267, 339 e 357	



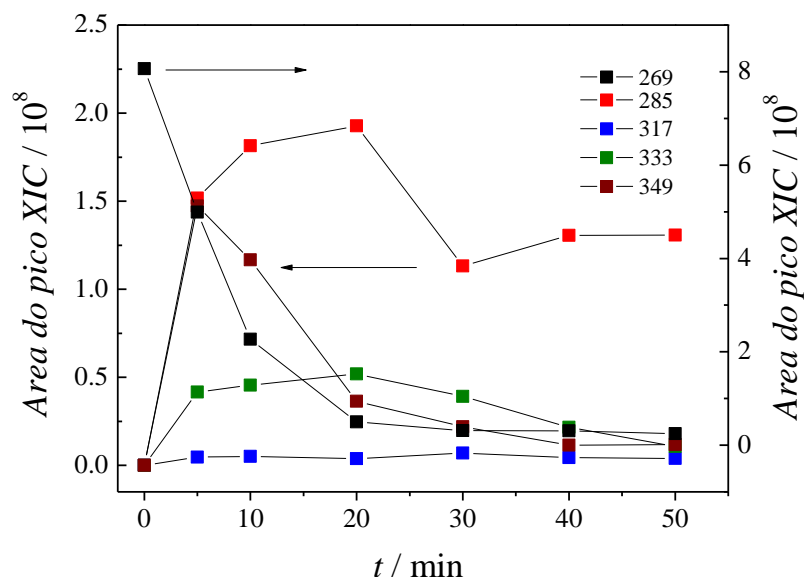


FIGURA 3.57 – Variação da área dos picos cromatográficos (XIC) referentes às moléculas intermediárias de  $[M-H]^-$   $m/z$  X (valores de X indicados na figura) em função do tempo de eletrólise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 10) com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

Analisando esta figura, a cinética de decaimento da concentração de estrona, de  $[M-H]^-$   $m/z$  269, em pH 10, foi bastante rápida, atingindo concentração próxima a zero em apenas 30 min de eletrólise. No tempo inicial de eletrólise, alguns dos íons intermediários (de  $[M-H]^-$   $m/z$  285 e 349), já detectados nos estudos de pH 3 e 7, também fazem parte inicial do mecanismo de degradação da estrona. Além deles, foi detectado o íon intermediário de  $[M-H]^-$   $m/z$  333, também já detectado no estudo de pH 7; no entanto, a cinética de formação deste íon é favorecida em solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , em pH 10, em relação a em pH 7. Em pH 10, o íon de  $[M-H]^-$   $m/z$  333 já é detectado após apenas 5 min de experimento, enquanto em pH 7 sua formação só foi detectada após 20 min. O íon intermediário de  $[M-H]^-$   $m/z$  317 é outro íon detectado desde os primeiros minutos de experimento (após 5 min), mas somente em baixas concentrações; este íon intermediário não foi detectado nos estudos realizados em pH 3 e 7. De acordo

com os íons detectados (Tabela 3.18) durante a eletrólise da estrona em pH 10, foi possível propor um mecanismo (parcial) de degradação, apresentado na Figura 3.58.

Comparando as três rotas de degradação propostas para a degradação de estrona usando um eletrodo de Nb/BDD, em solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , em pH 3, 7 e 10, respectivamente, a cinética de formação que envolveu um número maior de intermediários foi a em pH 3. Mas, em todos os valores de pH estudados, o processo de oxidação da estrona ocorre com a formação de alguns intermediários comuns, em especial, os íons de  $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  285 e 349. Pode-se concluir que, semelhantemente à detecção eletroquímica da estrona, as melhores condições de eletrólise ocorrem em meio ácido. Neste último caso, é provável que estas melhores respostas estejam relacionadas à rota de formação do radical  $\bullet\text{OH}$  (reações 28 e 29). Cabe destacar que essa é a primeira vez que é realizado um estudo sobre os intermediárias da oxidação da estrona por radicais  $\bullet\text{OH}$  eletrogerados com um eletrodo de Nb/BDD.

Mesmo com eletrólises conduzidas acima da corrente limite, não foi constatada uma mineralização completa da molécula estrona, mas somente os processos iniciais da formação de moléculas intermediárias. Isso indica que tempos maiores de eletrólise são necessários para que se atinja um tratamento eletroquímico eficaz de efluentes que contém esse estrogênio natural.

Finalmente, para fins de comparação, a eletrólise da estrona ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) foi realizada com um eletrodo de  $\beta\text{-PbO}_2$  ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ), as moléculas intermediárias foram investigadas e uma proposta de mecanismo (parcial) de degradação foi feita (Figura 3.59). Neste caso, somente dois intermediários foram detectados, os de  $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  285 e 349.

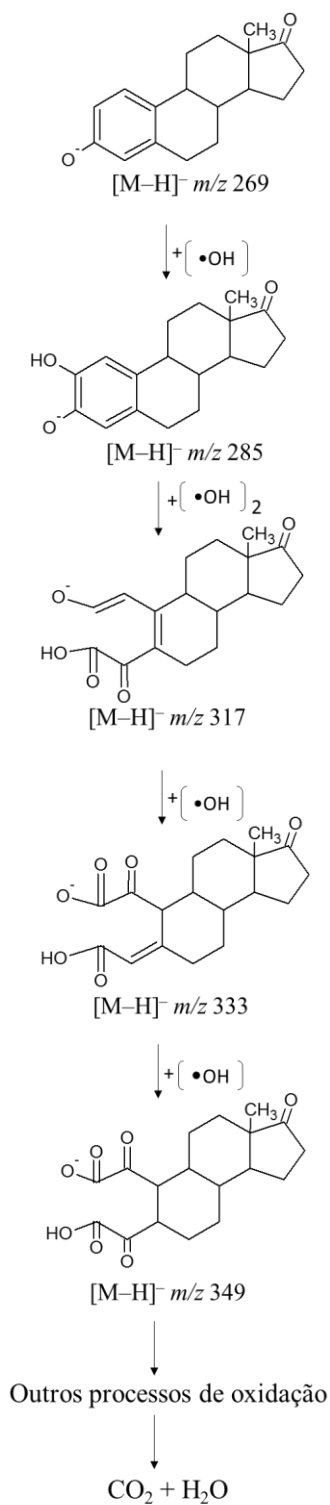
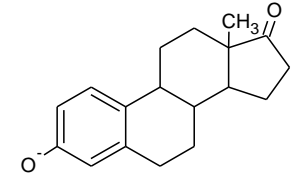
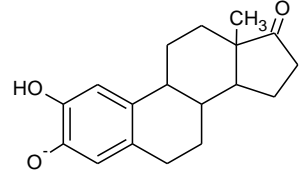
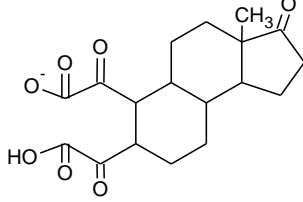
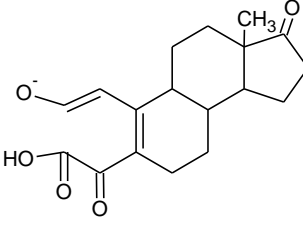
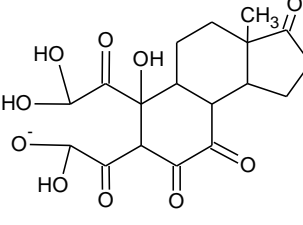


FIGURA 3.58 – Mecanismo (parcial) proposto para a degradação eletroquímica da estrona em solução de  $Na_2SO_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ácida (pH 10) com um eletrodo de Nb/BDD.

TABELA 3.18 – Íons detectados por MS e seus respectivos íons produtos MS/MS, para as moléculas intermediárias de  $[M-H]^-$  formadas na degradação eletroquímica de estrona em pH 10 com um eletrodo de Nb/BDD.

Íon detectado por MS / $[M-H]^-$ $m/z$	Íon fragmento por MS/MS / $m/z$	Estrutura molecular / $[M-H]^-$
269	145	
285	134, 135, 161, 175, 257 e 271	
349	145, 225, 239, 277 e 305	
317	175, 189, 215, 231, 245, 273 e 289	
333	215, 245, 259, 271, 289 e 315	

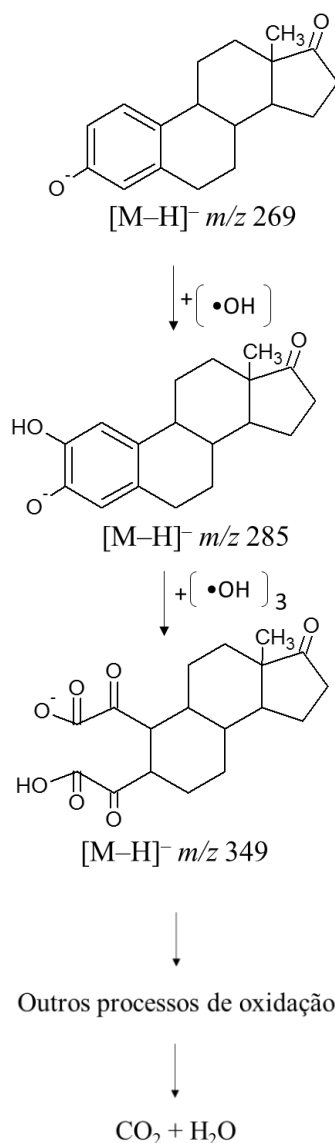


FIGURA 3.59 – Mecanismo (parcial) proposto para a degradação eletroquímica da estrona em solução de  $Na_2SO_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ácida (pH 7) com um eletrodo de  $\beta\text{-PbO}_2$ .

Conforme discutido anteriormente, há uma diferença grande no perfil de decaimento da concentração da estrona quando se utiliza um eletrodo de  $\beta\text{-PbO}_2$  em relação ao caso com o eletrodo de Nb/BDD – vide Figura 3.35a. Como comentado acima, na investigação de íons intermediários gerados com eletrodo de  $\beta\text{-PbO}_2$ , só dois foram detectados durante os 50 min de eletrólise, os de  $[M-H]^-$   $m/z$  285 e 349. Todavia, a formação e degradação desses íons intermediários foram desfavoráveis em comparação às eletrólises realizadas nas mesmas

condições com o eletrodo de Nb/BDD. Por exemplo, na eletrólise realizada nas mesmas condições com este eletrodo, foram detectados cinco íons intermediários, enquanto, para o eletrodo de  $\beta$ -PbO<sub>2</sub>, foram apenas dois íons. Além do número limitado de íons intermediários gerados durante os 50 min de eletrólise, o íon de [M-H]<sup>-</sup>  $m/z$  285 foi detectado já nos primeiros 5 min, enquanto o íon de [M-H]<sup>-</sup>  $m/z$  349 somente foi detectado após 10 min. Certamente a entalpia de adsorção do radical •OH na superfície do eletrodo afeta a cinética de degradação da estrona e a formação de moléculas intermediárias durante o processo. Conforme ilustrado na Tabela 1.3, o eletrodo de BDD apresenta uma fraca fisiossorção do radical •OH em sua superfície, enquanto o eletrodo de  $\beta$ -PbO<sub>2</sub>, embora seja um material de fácil obtenção e muito estudado na eletrodegradação de compostos orgânicos, apresenta uma adsorção mais forte do radical •OH em sua superfície. Essa diferença na entalpia de adsorção do radical •OH na superfície dos eletrodos, além da diferença no sobrepotencial para a RDO, faz que o poder de oxidação do eletrodo de  $\beta$ -PbO<sub>2</sub> seja menor que o do de BDD. Isto explica, em parte, a pouca e lenta formação de moléculas intermediárias na eletrólise da estrona com aquele eletrodo.

## 4 – Conclusões

Nesta tese, foram investigadas propriedades físicas, morfológicas e eletroquímicas dos eletrodos de BDD, utilizando diferentes abordagens para a caracterização do material no seu uso como detector eletroquímico de um composto contaminante de ambientes aquáticos, no caso a estrona.

Em virtude da nucleação secundária promovida pela incorporação de boro em altos níveis, correspondente a uma alta dopagem (aproximadamente 8000 ppm), observou-se nas micrografias de MEV que os filmes de BDD apresentam uma estrutura piramidal com faces bem definidas, alta rugosidade e tamanho nominal de partícula variando entre 100 e 800 nm, sendo confirmada por imagens de microscopia de força atômica, com tamanho de grãos e rugosidade superficial de 617 e 33 nm, respectivamente.

Nas análises estruturais por espectroscopia Raman, devido às ligações  $sp^3$ , foi detectado, em especial, um único modo fônon de Raman ativo de primeira ordem, que aparece como um sinal forte em  $1332\text{ cm}^{-1}$ .

Na caracterização eletroquímica, o eletrodo de BDD apresentou uma baixa corrente de fundo, ausência de processos faradâicos entre os potenciais da RDH e da RDO, portanto ampla janela de potencial, e uma excelente reversibilidade de resposta eletroquímica utilizando o par redox  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ , especialmente quando a superfície é tratada catodicamente.

A investigação da resposta eletroquímica da estrona usando os eletrodos de BDD e GC mostrou um processo irreversível de oxidação da molécula, além da formação de produtos de reação como dímeros e polímeros, semicondutores ou isolantes, na superfície do eletrodo, podendo diminuir sua atividade eletroquímica. Este problema foi solucionado através de um pré-tratamento eletroquímico catódico da superfície do eletrodo de BDD, que, além de tornar a superfície hidrofóbica, leva a excelente estabilidade de corrente de resposta observada já no segundo ciclo; a baixa interação daqueles subprodutos com a superfície do eletrodo foi confirmada por um estudo de adsorção, no qual

constatou-se uma adsorção fraca, praticamente inexistente, na superfície do eletrodo de BDD. Por outro lado, no caso do eletrodo de GC, além da forte adsorção da estrona e subprodutos na superfície do eletrodo, foram necessários sucessivos tratamentos superficiais (polimento mecânico) antes de cada experimento. Esses e outros parâmetros investigados ( $\alpha$ ,  $n$ , mecanismo de oxidação, dependência do pH e  $k^0$ ) possibilitaram entender melhor a eletroquímica da estrona sobre diferentes superfícies de eletrodo, em especial o BDD.

Diferentes técnicas eletroquímicas foram investigadas para a determinação de estrona utilizando um eletrodo de BDD como detector; após otimização dos parâmetros eletroquímicos, os valores de limite de detecção obtidos utilizando as técnicas de DPV ( $0,27 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e SWV ( $0,096 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) foram comparáveis aqueles relatados na literatura. Todavia, cabe ressaltar que o eletrodo utilizado neste trabalho era comercial, sem haver, portanto, a necessidade de modificações da superfície do eletrodo (exceto o pré-tratamento eletroquímico). Por outro lado, o valor do limite de detecção foi ainda menor ( $0,050 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) quando se utilizou detecção amperométrica em um sistema FIA-EC, dada a redução de interferências da corrente capacitiva decorrente da aplicação de um potencial fixo. Ademais, em todas as técnicas eletroquímicas utilizadas para a detecção da estrona o BDD apresentou-se extremamente estável (repetibilidade intra-dia e entre-dias), o que, em geral, não acontece com outros eletrodos, modificados ou não, como é o caso do de GC. Finalmente, para todas as técnicas de detecção avaliadas, diferentes matrizes não tiveram influência significativa na detecção da estrona, indicando que, de fato, as técnicas são promissoras para esse propósito, com excelentes precisão e exatidão. Portanto, pode-se concluir que o eletrodo de BDD é um excelente candidato para uso na determinação eletroanalítica de estrogênios naturais e sintéticos (dada a semelhança entre as moléculas), além da baixo custo agregado de sua aplicação e facilidade de uso. Além disso, esse detector também pode ser acoplado a um



sistema LC, para separar os diferentes compostos de interesse antes de suas respectivas detecções.

Quanto à degradação eletroquímica da estrona usando um reator do tipo filtro-prensa e um anodo de Nb/BDD, algumas variáveis operacionais como a vazão, a densidade de corrente e o pH tiveram influência significativa no decaimento relativo da concentração da estrona durante o processo de eletrólise. Um valor baixa de vazão favoreceu a cinética de decaimento da concentração da estrona, que ocorreu de forma mais rápida. Já no caso da densidade de corrente, não contatou-se diferenças significativas no processo de oxidação para altos valores. O efeito do pH, por outro lado, teve uma forte influência não somente no processo de decaimento da concentração da estrona, mas também na cinética de formação e degradação de intermediários provenientes da estrona. Provavelmente, a geração dos radicais  $\bullet\text{OH}$  nesses meios aquosos pode contribuir para um ataque no anel aromático de diferentes formas ou intensidades. Nas eletrólises realizadas na presença de íons  $\text{Cl}^-$ , por outro lado, ocorreu uma contribuição significativa do cloro ativo gerado durante o processo eletrooxidativo, proporcionando menores tempos de degradação da estrona, no entanto sem influência do pH.

Na comparação com outro eletrodo, o de Nb/BDD, dado o seu alto poder de oxidação, mostrou-se claramente superior ao de  $\beta\text{-PbO}_2$  na oxidação da estrona, sendo que com este último apenas 35% das moléculas foram degradadas após 60 min de eletrólise.

Por fim, o pH teve forte influência na formação de intermediários durante o processo de oxidação da estrona utilizando o eletrodo de Nb/BDD, tanto em espécies e número, com semelhanças no mecanismo de degradação da molécula apenas no tempo inicial de eletrólise. Dessa forma, os intermediários formados em pH 3 foram os de  $[\text{M-H}]^-$   $m/z$  285, 349, 303 ( $t_r = 8,2$  e  $9,7$  min), 397, 399 e 357. Já para eletrólises realizadas em pH 7 foram os de  $[\text{M-H}]^-$   $m/z$  285, 349, 359, 333, 375, 399 e 357. No caso do pH 10, foram os de  $[\text{M-H}]^-$   $m/z$

285, 349, 317 e 333. Finalmente, usando-se o eletrodo de  $\beta\text{-PbO}_2$  em pH 7, somente detectou-se os intermediários de  $[\text{M-H}]^-$   $m/z$  285 e 349. Cabe ressaltar que, tanto quanto pudemos verificar, esta é a primeira vez que esses intermediários gerados eletroliticamente foram detectados, propondo-se correspondentes mecanismos de degradação (parcial) da estrona.

## Referências Bibliográficas

1. JJEMBA, P. K. *Pharma-ecology - The occurrence and fate of pharmaceuticals and personal care products in the environment*. New York, Wiley, 2008.
2. BILA, D. M. & DEZOTTI, M. “Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências”. *Quim. Nova*, **30**: 651, 2007.
3. TERNES, T.; STUMPF M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R.D. & SERVOS, M. “Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - I. Investigations in Germany, Canada and Brazil”. *Sci. Total Environ.*, **225**: 81, 1999.
4. JANEX-HABIBI, M.L.; HUYPARD, A.; ESPERANZA, M. & BRUCHET, A. “Reduction of endocrine disruptor emissions in the environment: The benefit of wastewater treatment”. *Water Res.*, **43**: 1565, 2009.
5. REIS FILHO, R. W.; ARAÚJO, J. C. DE & VIEIRA, E. M. “Hormônios sexuais estrógenos: Contaminantes bioativos”. *Quim. Nova*, **29**: 817, 2006.
6. LINTELMANN, J.; KATAYAMA, A.; KURIHARA, N.; SHORE, L. & WENZEL, A. “Endocrine disruptors in the environment - (IUPAC Technical Report)”. *Pure Appl. Chem.*, **75**: 631, 2003.
7. SILVA, P.; ROCHA, M. J.; CRUZEIRO, C.; MALHÃO, F.; REIS, B.; URBATZKA, R.; MONTEIRO, R. A. F. & ROCHA, E. “Testing the effects of ethinylestradiol and of an environmentally relevant mixture of xenoestrogens as found in the douro river (Portugal) on the maturation of fish gonads—A stereological study using the zebrafish (*Danio Rerio*) as model”. *Aquat. Toxicol.*, **124–125**: 1–10, 2012.
8. RODGERS-GRAY, T. P.; JOBLING, S.; MORRIS, S.; KELLY, C.; KIRBY, S.; JANBAKSH, A.; HARRIES, J. E.; WALDOCK, M. J.; SUMPTER, J. P. & TYLER, C. R. “Long-term temporal changes in the estrogenic composition of treated sewage effluent and its biological effects on fish”. *Environ. Sci. Technol.*, **34**: 1521, 2000.
9. PAWLOWSKI, S.; VAN AERLE, R.; TYLER, C. & BRAUNBECK, T. “Effects of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in a fathead minnow (*Pimephales Promelas*) gonadal recrudescence assay”. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **57**: 330, 2004.

10. VERAS, D. F. Remoção dos Perturbadores Endócrinos 17 $\beta$ -estradiol e p-nonilfenol por Diferentes Tipos de Carvão Ativado em Pó (CAP) Produzidos no Brasil – avaliação em escala de bancada. Brasília, Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos - UnB, 2006. Dissertação de mestrado, 139 p.
11. NOGUEIRA, J. M. F. “Desreguladores endócrinos: Efeitos adversos e estratégias para monitorização dos sistemas aquáticos. *Química*, **88**: 65, 2003.
12. BILA, D. M. Degradação e Remoção da Atividade Estrogênica do Desregulador Endócrino 17 $\beta$ -estradiol pelo Processo de Ozonização. Rio de Janeiro, COOPE - UFRJ, 2005. Tese de doutorado, 291 p.
13. MAY, P. W. “Diamond thin films: a 21st-century material”. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. Math. Phys. Eng. Sci.*, **358**: 473, 2000.
14. FERRO, S. “Synthesis of diamond”. *J. Mater. Chem.*, **12**: 2843, 2002.
15. DE BARROS, R. DE C. M.; RIBEIRO, M. C.; AN-SUMODJO, P. T.; DA SILVA JULIÃO, M. S.; SERRANO, S. H. P. & FERREIRA, N. G. “Filmes de diamante CVD dopado com boro. Parte I: Histórico, produção e caracterização”. *Quim. Nova*, **28**: 317, 2005.
16. HUPERT, M.; MUCK, A.; WANG, J.; STOTTER, J.; CVACKOVA, Z.; HAYMOND, S.; SHOW, Y. & SWAIN, G. M. “Conductive diamond thin-films in electrochemistry”. *Diam. Relat. Mater.*, **12**: 1940, 2003.
17. XU, J.; CHEN, Q. & SWAIN, G. M. “Anthraquinonedisulfonate electrochemistry: A comparison of glassy carbon, hydrogenated glassy carbon, highly oriented pyrolytic graphite, and diamond electrodes”. *Anal. Chem.*, **70**: 3146, 1998.
18. PLESKOV, Y. V. “Synthetic diamond, a new electrode material for electroanalysis”. *J. Anal. Chem.*, **55**: 1045, 2000.
19. MUNA, G. W.; TASHEVA, N. & SWAIN, G. M. “Electro-oxidation and amperometric detection of chlorinated phenols at boron-doped diamond electrodes: A comparison of microcrystalline and nanocrystalline thin films”. *Environ. Sci. Technol.*, **38**: 3674, 2004.
20. MCDERMOTT, M. T. & MECREERY, R. L. “Scanning tunneling microscopy of ordered graphite and glassy carbon surfaces: Electronic control of quinone adsorption”. *Langmuir*, **10**: 4307, 1994.
21. SUFFREDINI, H. B.; PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L.; MACHADO, S. A. S.; ROCHA-FILHO, R. C. & AVACA, L. A. “Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment”. *Electrochimica Acta*, **49**: 4021, 2004.

22. SALAZAR-BANDA, G. R.; ANDRADE, L. S.; NASCENTE, P. A. P.; PIZANI, P. S.; ROCHA-FILHO, R. C. & AVACA, L. A. "On the changing electrochemical behaviour of boron-doped diamond surfaces with time after cathodic pre-treatments". *Electrochimica Acta*, **51**: 4612, 2006.
23. LOURENÇÃO, B. C.; MEDEIROS, R. A.; ROCHA-FILHO, R. C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Simultaneous differential pulse voltammetric determination of ascorbic acid and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode". *Electroanalysis*, **22**: 1717, 2010.
24. LOURENÇÃO, B. C.; MEDEIROS, R. A.; ROCHA-FILHO, R. C.; MAZO, L. H. & FATIBELLO-FILHO, O. "Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode". *Talanta*, **78**: 748, 2009.
25. MEDEIROS, R. A.; CARVALHO, A. E. De; ROCHA-FILHO, R. C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Simultaneous square-wave voltammetric determination of aspartame and cyclamate using a boron-doped diamond electrode". *Talanta*, **76**: 685, 2008.
26. MEDEIROS, R. A.; LOURENÇÃO, B. C.; ROCHA-FILHO, R. C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Simple flow injection analysis system for simultaneous determination of phenolic antioxidants with multiple pulse amperometric detection at a boron-doped diamond electrode". *Anal. Chem.*, **82**: 8658, 2010.
27. MEDEIROS, R. A.; ROCHA-FILHO, R. C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Simultaneous voltammetric determination of phenolic antioxidants in food using a boron-doped diamond electrode". *Food Chem.*, **123**: 886, 2010.
28. MEDEIROS, R. A.; LOURENÇÃO, B. C.; ROCHA-FILHO, R. C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Simultaneous voltammetric determination of synthetic colorants in food using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode". *Talanta*, **97**: 291, 2012.
29. MEDEIROS, R. A.; LOURENÇÃO, B. C.; ROCHA-FILHO, R. C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Flow injection simultaneous determination of synthetic colorants in food using multiple pulse amperometric detection with a boron-doped diamond electrode". *Talanta*, **99**: 883, 2012.
30. SARTORI, E. R.; MEDEIROS, R. A.; ROCHA-FILHO, R. C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Square-wave voltammetric determination of propranolol and atenolol in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode". *Talanta*, **81**: 1418, 2010.

31. ARDILA, J. A.; SARTORI, E. R.; ROCHA-FILHO, R. C. & FATIBELLO-FILHO, O. “Square-wave voltammetric determination of bezafibrate in pharmaceutical formulations using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode”. *Talanta*, **103**: 201, 2013.
32. ANDRADE, L. S.; ROCHA-FILHO, R. C.; CASS, Q. B. & FATIBELLO-FILHO, O. “A novel multicommutation stopped-flow system for the simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim by differential pulse voltammetry on a boron-doped diamond electrode”. *Anal. Methods*, **2**: 402, 2010.
33. PEREIRA, G. F.; ANDRADE, L. S.; ROCHA-FILHO, R. C.; BOCCHI, N. & BIAGGIO, S. R. “Electrochemical determination of bisphenol A using a boron-doped diamond electrode”. *Electrochimica Acta*, **82**: 3, 2012.
34. ANDRADE, L. S.; DE MORAES, M. C.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. & CASS, Q. B. “A multidimensional high performance liquid chromatography method coupled with amperometric detection using a boron-doped diamond electrode for the simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in bovine milk”. *Anal. Chim. Acta*, **654**: 127, 2009.
35. MEDEIROS, R. A.; CARVALHO, A. E. DE; ROCHA-FILHO, R. C. & FATIBELLO-FILHO, O. “Voltametric determination of sodium cyclamate in dietary products using a boron-doped diamond electrode. *Quim. Nova*, **31**: 1405, 2008.
36. MEDEIROS, R. A.; BENCHICK, A.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O.; SAIDANI, B.; DEBIEMME-CHOUVY, C. & DESLOUIS, C. “Simultaneous detection of ascorbic acid and dopamine with electrochemically pretreated carbon nitride electrodes: Comparison with boron-doped diamond electrodes”. *Electrochem. Commun.*, **24**: 61, 2012.
37. CARVALHO, A. E. Caracterização de Eletrodos de Diamante Dopado com Boro em Função de seu Pré-tratamento. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2007. Tese de doutorado, 123 p.
38. MINISTÉRIO DO PLANEJAMENTO, ORÇAMENTO E GESTÃO Atlas de Saneamento 2011 **2013**.
39. KATAYAMA, M.; TAKAMATSU, K.; KANEKO, S.; MIYAJI, K.; ISHIKAWA, H. & MATSUDA, Y. “LC for stress-free screening of potential prostate cancer marker catechol estrogens in urine using a diamond-electrode electrochemical and a fluorescence detector”. *J. Sep. Sci.*, **30**: 2279, 2007.
40. HARWOOD, D. T. & HANDELSMAN, D. J. “Development and validation of a sensitive liquid chromatography–tandem mass spectrometry assay to

simultaneously measure androgens and estrogens in serum without derivatization". *Clin. Chim. Acta*, **409**: 78, 2009.

41. MCNAMARA, K. M.; HARWOOD, D. T.; SIMANAINEN, U.; WALTERS, K. A.; JIMENEZ, M. & HANDELSMAN, D. J. "Measurement of sex steroids in murine blood and reproductive tissues by liquid chromatography–tandem mass spectrometry". *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **121**: 611, 2010.

42. DI CARRO, M.; SCAPOLLA, C.; LISCIO, C. & MAGI, E. "Development of a fast liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of endocrine-disrupting compounds in waters". *Anal. Bioanal. Chem.*, **298**: 1025, 2010.

43. HOSOGI, J.; TANAKA, H.; FUJITA, K.; KUWABARA, T.; IBEGAWA, S.; KOBAYASHI, N.; MANO, N. & GOTO, J. "LC–MS/MS coupled with immunoaffinity extraction for determination of estrone, 17 $\beta$ -estradiol and estrone 3-sulfate in human plasma". *J. Chromatogr. B*, **878**: 222, 2010.

44. SODRÉ, F. F.; PESCARA, I. C.; MONTAGNER, C. C. & JARDIM, W. F. "Assessing selected estrogens and xenoestrogens in brazilian surface waters by liquid chromatography–tandem mass spectrometry". *Microchem. J.*, **96**: 92, 2010.

45. LAI-HAO, W. & SHU-FEN, J. "Amperometric detection of estradiol and its metabolites in menstrual women and the urine of pregnant rabbits". *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **28**: 1367, 2005.

46. VALLEJO, A.; FERNÁNDEZ, L. A.; OLIVARES, M.; PRIETO, A.; ETXEBARRIA, N.; USOBIAGA, A. & ZULOAGA, O. "Optimization of large volume injection-programmable temperature vaporization-gas chromatography–mass spectrometry analysis for the determination of estrogenic compounds in environmental samples". *J. Chromatogr. A*, **1217**: 8327, 2010.

47. FONSECA, A. P.; LIMA, D. L. D. & ESTEVES, V. I. "Degradation by solar radiation of estrogenic hormones monitored by UV–visible spectroscopy and capillary electrophoresis". *Water. Air. Soil Pollut.*, **215**: 441, 2011.

48. PIWOWARSKA, J.; RADOWICKI, S. & PACHECKA, J. "Simultaneous determination of eight estrogens and their metabolites in serum using liquid chromatography with electrochemical detection". *Talanta*, **81**: 275, 2010.

49. NOVAKOVIC, J.; TVRZICKÁ, E. & PACÁKOVÁ, V. "High-performance liquid chromatographic determination of equine estrogens with ultraviolet absorbance and electrochemical detection". *J. Chromatogr. A*, **678**: 359, 1994.

50. COLLIER, A.; WANG, J.; DIAMOND, D. & DEMPSEY, E. "Microchip micellar electrokinetic chromatography coupled with electrochemical detection

for analysis of synthetic oestrogen mimicking compounds”. *Anal. Chim. Acta*, **550**: 107, 2005.

51. VEGA, D.; AGÜÍ, L.; GONZÁLEZ-CORTÉS, A.; YÁÑEZ-SEDEÑO, P. & PINGARRÓN, J. M. “Electrochemical detection of phenolic estrogenic compounds at carbon nanotube-modified electrodes”. *Talanta*, **71**: 1031, 2007.

52. XU, J. & SWAIN, G. M. “Voltammetric and amperometric investigations of azide oxidation at the basal plane of highly oriented pyrolytic graphite”. *Anal. Chem.*, **71**: 4603, 1999.

53. MEDEIROS, R. A. Desenvolvimento de Procedimentos Eletroanalíticos para a Determinação de Antioxidantes e Corantes em Produtos Alimentícios Empregando um Eletrodo de Diamante Dopado com Boro. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2011. Tese de doutorado, 155 p.

54. JOLLEY, S.; KOPPANG, M.; JACKSON, T. & SWAIN, G. M. “Flow injection analysis with diamond thin-film detectors”. *Anal. Chem.*, **69**: 4099, 1997.

55. YANG, X.; HAUBOLD, L.; DEVIVO, G. & SWAIN, G. M. “Electroanalytical performance of nitrogen-containing tetrahedral amorphous carbon thin-film electrodes”. *Anal. Chem.*, **84**: 6240, 2012.

56. MEDEIROS, R. A.; MATOS, R.; BENCHIKH, A.; SAIDANI, B.; DEBIEMME-CHOUVY, C.; DESLOUIS, C.; ROCHA-FILHO, R. C. & FATIBELLO-FILHO, O. “Amorphous carbon nitride as an alternative electrode material in electroanalysis: Simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid”. *Anal. Chim. Acta*, **797**: 30, 2013.

57. SANTOS, K. D.; BRAGA, O. C.; VIEIRA, I. C. & SPINELLI, A. “Electroanalytical determination of estriol hormone using a boron-doped diamond electrode”. *Talanta*, **80**: 1999, 2010.

58. MARTÍNEZ-HUITLE, C. A. & BRILLAS, E. “Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods: A general review”. *Appl. Catal. B Environ.*, **87**: 105, 2009.

59. CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M.; LLOMPART, M.; GARCÍA-JARES, C.; RODRÍGUEZ, I.; GÓMEZ, M. & TERNES, T. “Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant”. *Water Res.*, **38**: 2918, 2004.

60. SHI, J.; FUJISAWA, S.; NAKAI, S. & HOSOMI, M. “Biodegradation of natural and synthetic estrogens by nitrifying activated sludge and ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea*”. *Water Res.*, **38**: 2323, 2004.



61. AURIOL, M.; FILALI-MEKNASSI, Y.; TYAGI, R. D.; ADAMS, C. D. & SURAMPALI, R. Y. “Endocrine disrupting compounds removal from wastewater, a new challenge”. *Process Biochem.*, **41**: 525, 2006.
62. CZAJKA, C. P. & LONDRY, K. L. “Anaerobic biotransformation of estrogens”. *Sci. Total Environ.*, **367**: 932, 2006.
63. AURIOL, M.; FILALI-MEKNASSI, Y.; TYAGI, R. D. & ADAMS, C. D. “Laccase-catalyzed conversion of natural and synthetic hormones from a municipal wastewater”. *Water Res.*, **41**: 3281, 2007.
64. AURIOL, M.; FILALI-MEKNASSI, Y.; TYAGI, R. D.; ADAMS, C. D. “Oxidation of natural and synthetic hormones by the horseradish peroxidase enzyme in wastewater”. *Chemosphere*, **68**: 1830, 2007.
65. LISHMAN, L.; SMYTH, S. A.; SARAFIN, K.; KLEYWEGT, S.; TOITO, J.; PEART, T.; LEE, B.; SERVOS, M.; BELAND, M. & SETO, P. “Occurrence and reductions of pharmaceuticals and personal care products and estrogens by municipal wastewater treatment plants in Ontario, Canada”. *Sci. Total Environ.*, **367**: 544, 2006.
66. LUCAS, S. D. & JONES, D. L. “Biodegradation of estrone and 17 B-estradiol in grassland soils amended with animal wastes”. *Soil Biol. Biochem.*, **38**: 2803, 2006.
67. NAKADA, N.; TANISHIMA, T.; SHINOHARA, H.; KIRI, K. & TAKADA, H. “Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment”. *Water Res.*, **40**: 3297, 2006.
68. TAMAGAWA, Y.; YAMAKI, R.; HIRAI, H.; KAWAI, S. & NISHIDA, T. “Removal of estrogenic activity of natural steroidal hormone estrone by ligninolytic enzymes from white rot fungi”. *Chemosphere*, **65**: 97, 2006.
69. AURIOL, M.; FILALI-MEKNASSI, Y.; ADAMS, C. D.; TYAGI, R. D.; NOGUEROL, T. N. & PIÑA, B. “Removal of estrogenic activity of natural and synthetic hormones from a municipal wastewater: Efficiency of horseradish peroxidase and laccase from *trametes versicolor*”. *Chemosphere*, **70**: 445, 2008.
70. ESPERANZA, M.; SUIDAN, M. T.; MARFIL-VEGA, R.; GONZALEZ, C.; SORIAL, G. A.; MECCAULEY, P. & BRENNER, R. “Fate of sex hormones in two pilot-scale municipal wastewater treatment plants: Conventional treatment”. *Chemosphere*, **66**: 1535, 2007.

71. HAIYAN, R.; SHULAN, J.; NAEEN, UD DIN AHMAD, N.; DAO, W. & CHENGWU, C. “Degradation characteristics and metabolic pathway of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol by sphingobacterium sp. JCR5”. *Chemosphere*, **66**: 340, 2007.
72. STUMPE, B. & MARSCHNER, B. “Long-term sewage sludge application and wastewater irrigation on the mineralization and sorption of 17 $\beta$ -estradiol and testosterone in soils”. *Sci. Total Environ.*, **374**: 282, 2007.
73. STUMPE, B. & MARSCHNER, B. “Factors controlling the biodegradation of 17 $\beta$ -estradiol, estrone and 17 $\alpha$ -ethynylestradiol in different natural soils”. *Chemosphere*, **74**: 556, 2009.
74. JIANG, L.; HUANG, C.; CHEN, J. & CHEN, X. “Oxidative transformation of 17 $\beta$ -estradiol by MnO<sub>2</sub> in aqueous solution”. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **57**: 221, 2009.
75. ZHANG, Y. & ZHOU, J. L. “Occurrence and removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater”. *Chemosphere*, **73**: 848, 2008.
76. LIN, Y.; PENG, Z. & ZHANG, X. “Ozonation of estrone, estradiol, diethylstilbestrol in waters”. *Desalination*, **249**: 235, 2009.
77. PANIZZA, M. & CERISOLA, G. “Direct and mediated anodic oxidation of organic pollutants”. *Chem. Rev.*, **109**: 6541, 2009.
78. KAPALKA, A.; FÓTI, G. & COMNINELLIS, C. “Kinetic modelling of the electrochemical mineralization of organic pollutants for wastewater treatment”. *J. Appl. Electrochem.*, **38**: 7, 2007.
79. SIMOND, O.; SCHALLER, V. & COMNINELLIS, C. “Theoretical model for the anodic oxidation of organics on metal oxide electrodes”. *Electrochimica Acta*, **42**: 2009, 1997.
80. AQUINO, J. M. Degradação Eletrooxidativa e Biológica de Corantes Em Meios Aquosos. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2011. Tese de doutorado, 185 p.
81. PANIZZA, M. & CERISOLA, G. “Application of diamond electrodes to electrochemical processes”. *Electrochimica Acta*, **51**: 191, 2005.
82. ALFARO, M. A. Q.; FERRO, S.; MARTÍNEZ-HUITLE, C. A. & VONG, Y. M. “Boron doped diamond electrode for the wastewater treatment”. *J. Braz. Chem. Soc.*, **17**: 227, 2006.
83. MURUGANANTHAN, M.; YOSHIHARA, S.; RAKUMA, T.; UEHARA, N. & SHIRAKASHI, T. “Electrochemical degradation of 17 $\beta$ -estradiol (E2) at

- boron-doped diamond (Si/BDD) thin film electrode”. *Electrochimica Acta*, **52**: 3242, 2007.
84. YOSHIHARA, S. & MURUGANANTHAN, M. “Decomposition of various endocrine-disrupting chemicals at boron-doped diamond electrode”. *Electrochimica Acta*, **54**: 2031, 2009.
85. CHEN, T. S.; HUANG, K. L. “Effect of operating parameters on electrochemical degradation of estriol (E3)”. *Int. J. Electrochem. Sci.*, **8**: 6343, 2013.
86. NAGATA, R.; PROSNANSKY, M. & SAKAKIBARA, Y. “Electrochemical treatment of trace endocrine disrupting chemicals with a three-dimensional electrode system”. *J. Adv. Oxid. Technol.*, **9**: 97, 2006.
87. FENG, Y.; WANG, C.; LIU, J. & ZHANG, Z. “Electrochemical degradation of 17-alpha-ethinylestradiol (EE2) and estrogenic activity changes”. *J. Environ. Monit. JEM*, **12**: 404, 2010.
88. SARTORI, E. R.; MEDEIROS, R. A.; ROCHA-FILHO, R. C. & FATIBELLO-FILHO, O. “Square-wave voltammetric determination of acetylsalicylic acid in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode without the need of previous alkaline hydrolysis step”. *J. Braz. Chem. Soc.*, **20**: 360, 2009.
89. LUONG, J. H. T.; MALE, K. B. & GLENNON, J. D. “Boron-doped diamond electrode: Synthesis, characterization, functionalization and analytical applications”. *The Analyst.*, **134**: 1965, 2009.
90. GUPTA, S.; DUDIPALA, A.; WILLIAMS, O. A.; HAENEN, K. & BOHANNAN, E. “Ex situ variable angle spectroscopic ellipsometry studies on chemical vapor deposited boron-doped diamond films: Layered structure and modeling aspects”. *J. Appl. Phys.*, **104**: 073414, 2008.
91. DENNISON, J. R.; HOLTZ, M. & SWAIN, G. “Raman spectroscopy of carbon materials”. *Spectroscopy*, **11**: 38, 1996.
92. NEMANICH, R. J. & SOLIN, S. A. “First- and second-order raman scattering from finite-size crystals of graphite”. *Phys. Rev. B*, **20**: 392, 1979.
93. TUINSTRA, F. & KOENIG, J. L. “Raman spectrum of graphite”. *J. Chem. Phys.*, **53**: 1126, 1970.
94. YAN, X.; XU, T.; CHEN, G.; XU, S. & YANG, S. “Field-emission properties of diamond-like-carbon and nitrogen-doped diamond-like-carbon films prepared by electrochemical deposition”. *Appl. Phys.*, **81**: 41, 2004.

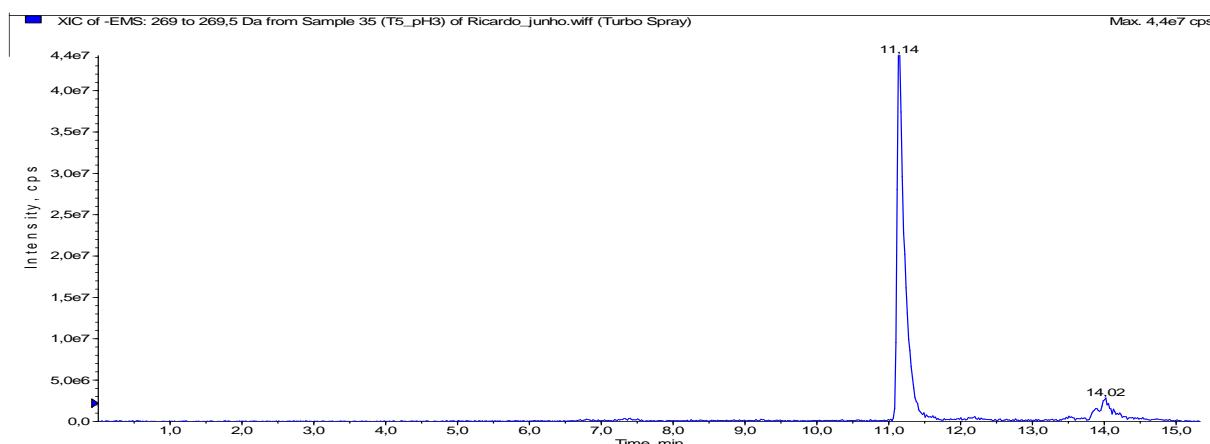
95. WANG, Y.; ALSMEYER, D. C. & MCCREERY, R. L. “Raman spectroscopy of carbon materials: Structural basis of observed spectra”. *Chem. Mater.*, **2**: 557, 1990.
96. FAGAN, D. T.; HU, I. F. & KUWANA, T. “Vacuum heat-treatment for activation of glassy carbon electrodes”. *Anal. Chem.*, **57**: 2759, 1985.
97. HU, I. F.; KARWEIK, D. H.; KUWANA, T. “Activation and deactivation of glassy carbon electrodes”. *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, **188**: 59, 1985.
98. ALEHASHEM, S.; CHAMBERS, F.; STROJEK, J. W.; SWAIN, G. M. & RAMESHAM, R. “Cyclic voltammetric studies of charge transfer reactions at highly boron-doped polycrystalline diamond thin-film electrodes”. *Anal. Chem.*, **67**: 2812, 1995.
99. FISCHER, A. E.; SHOW, Y. & SWAIN, G. M. “Electrochemical performance of diamond thin-film electrodes from different commercial sources”. *Anal. Chem.*, **76**: 2553, 2004.
100. BARD, A. J. & FAULKNER, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. 2<sup>a</sup> ed. New York, Wiley, 2001.
101. XU, J. & SWAIN, G. M. “Oxidation of azide anion at boron-doped diamond thin-film electrodes”. *Anal. Chem.*, **70**: 1502, 1998.
102. RANGANATHAN, S.; KUO, T. C. & MCCREERY, R. L. “Facile preparation of active glassy carbon electrodes with activated carbon and organic solvents”. *Anal. Chem.*, **71**: 3574, 1999.
103. MCCREERY, R. L. “Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry”. *Chem. Rev.*, **108**: 2646, 2008.
104. GRANGER, M. C.; WITEK, M.; XU, J.; WANG, J.; HUPERT, M.; HANKS, A.; KOPPANG, M. D.; BUTLER, J. E.; LUCAZEAU, G.; MERMOUX, M.; STROJEK, J. W. & SWAIN, G. M. “Standard electrochemical behavior of high-quality, boron-doped polycrystalline diamond thin-film electrodes”. *Anal. Chem.*, **72**: 3793, 2000.
105. NGUNDI, M. M.; SADIK, O. A.; YAMAGUCHI, T. & SUYE, S. “First comparative reaction mechanisms of  $\beta$ -estradiol and selected environmental hormones in a redox environment”. *Electrochem. Commun.*, **5**: 61, 2003.
106. SHARREF, A.; ANGOVE, M. J.; WELLS, J. D. & JOHNSON, B. B. “Aqueous solubilities of estrone,  $17\beta$ -estradiol,  $17\alpha$ -ethynylestradiol, and bisphenol A”. *J. Chem. Eng. Data*, **51**: 879, 2006.

107. CRITCHLEY, J. K. *Electroanalytical Measurements in Flowing Liquids*. Vol. 42. Chichester, Ellis Horwood, 1988.
108. TANAKA, Y.; NARAGIRO, H.; YOSHINAGA, K.; NAKAHARA, A.; KONDO, T.; FUJISHIMA, A. & HONDA, K. “Controllable electrochemical activities by oxidative treatment toward inner-sphere redox systems at N-doped hydrogenated amorphous carbon films”. *Int. J. Electrochem.*, **2012**: 1, 2012.
109. YANG, C. & XIE, P. “Studies on enhanced oxidation of estrone and its voltammetric determination at carbon paste electrode in the presence of cetyltrimethylammonium bromide”. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **28**: 1729, 2007.
110. YANG, C.; SANG, Q.; ZHANG, S. & HUANG, W. “Voltammetric determination of estrone based on the enhancement effect of surfactant and a MWNT film electrode”. *Mater. Sci. Eng. C*, **29**: 1741, 2009.
111. MCDERMOTT, M. T.; KNETEN, K. & MCCREERY, R. L. “Anthraquinonedisulfonate adsorption, electron-transfer kinetics, and capacitance on ordered graphite electrodes: The important role of surface defects”. *J. Phys. Chem.*, **96**: 3124, 1992.
112. SOUZA, D. DE; MACHADO, S. A. S. & AVACA, L. A. “Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos”. *Quim. Nova*, **26**: 81, 2003.
113. CODOGNOTO, L.; MACHADO, S. A. S. & AVACA, L. A. “Square wave voltammetry on boron-doped diamond electrodes for analytical determinations”. *Diam. Relat. Mater.*, **11**: 1670, 2002.
114. MUNA, G. W.; KAYLOR, A.; JASKOWSKI, B.; SIRHAN, L. R. & KELLEY, C. T. “Electrocatalytic oxidation of estrogenic phenolic compounds at a nickel-modified glassy carbon electrode”. *Electroanalysis*, **23**: 2915, 2011.
115. LIU, X.; FENG, H.; LIU, X. & WONG, D. K. Y. “Electrocatalytic detection of phenolic estrogenic compounds at NiTPPS|carbon nanotube composite electrodes”. *Anal. Chim. Acta*, **689**: 212, 2011.
116. YAMADA, H.; YOSHIZAWA, K. & HAYASE, T. “Sensitive determination method of estradiol in plasma using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection”. *J. Chromatogr. B*, **775**: 209, 2002.
117. SMYTH, M. R. & FRISCHKORN, C. G. “Trace determination of some phenolic growth-promoting hormones in meat by high-performance liquid-chromatography with voltammetric detection”. *Fresenius Z. Für Anal. Chem.*, **301**: 220, 1980.

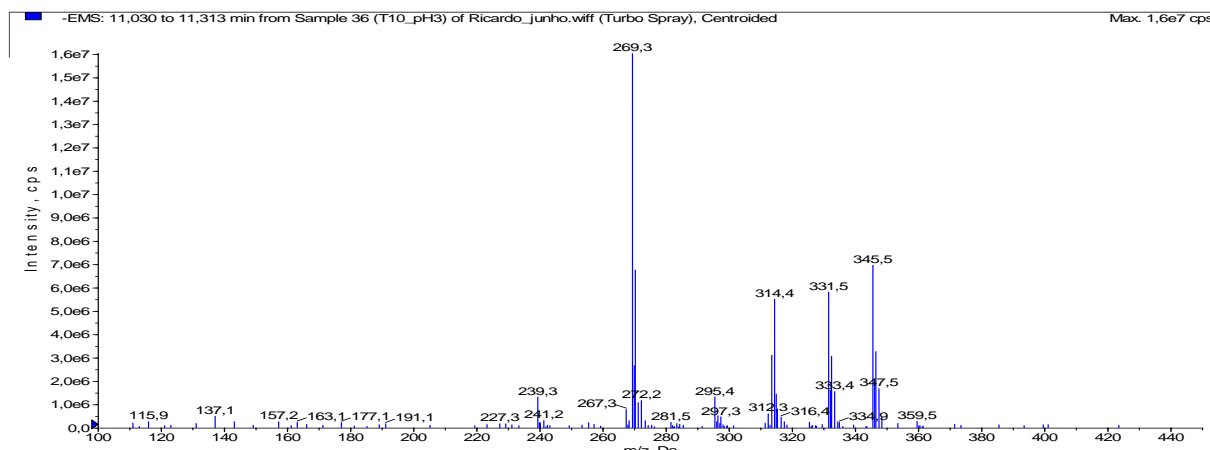
118. FLOX, C.; GARRIDO, J. A.; RODRÍGUEZ, R. M.; CENTELLAS, F.; CABOT, P. L.; ARIAS, C. & BRILLAS, E. “Degradation of 4,6-dinitro-o-cresol from water by anodic oxidation with a boron-doped diamond electrode”. *Electrochimica Acta*, **50**: 3685, 2005.
119. CHENG, C. Y. & KELSALLI, G. H. “Models of hypochlorite production in electrochemical reactors with plate and porous anodes”. *J. Appl. Electrochem.*, **37**: 1203, 2007.
120. AQUINO, J. M.; ROCHA-FILHO, R. C.; RODRIGO, M. A.; SÁEZ, C. & CAÑIZARES, P. “Electrochemical degradation of the reactive red 141 dye using a boron-doped diamond anode”. *Water. Air. Soil Pollut.*, **224**: 1, 2013.
121. IRMAK, S.; ERBATUR, O. & AKGERMAN, A. “Degradation of 17 $\beta$ -estradiol and bisphenol A in aqueous medium by using ozone and ozone/UV techniques”. *J. Hazard. Mater.*, **126**: 54, 2005.
122. MAI, J.; SUN, W.; XIONG, L.; LIU, Y. & NI, J. “Titanium dioxide mediated photocatalytic degradation of 17 $\beta$ -estradiol in aqueous solution”. *Chemosphere*, **73**: 600, 2008.
123. BOURCIER, S.; POISSON, C.; SOUISSI, Y.; KINANI, S.; BOUCHONNET, S. & SABLIER, M. “Elucidation of the decomposition pathways of protonated and deprotonated estrone ions: Application to the identification of photolysis products”. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **24**: 2999, 2010.

## Apêndice

Neste Apêndice são mostrados espectros de TIC (cromatograma de íons totais), XIC (cromatograma de íons extraídos), espectros de massa (MS e MS/MS) para alguns dos íons-produtos gerados na eletrooxidação da estrona.



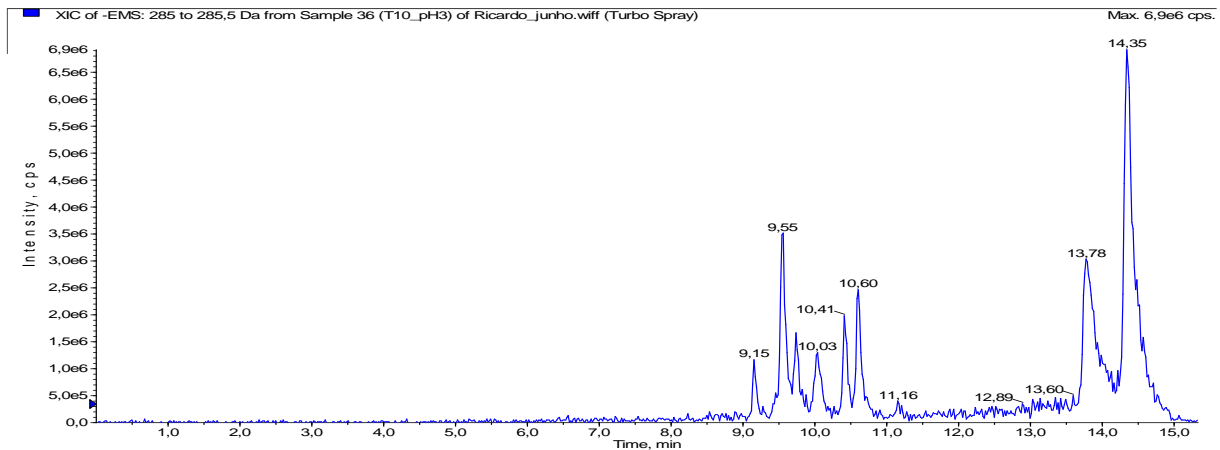
a)



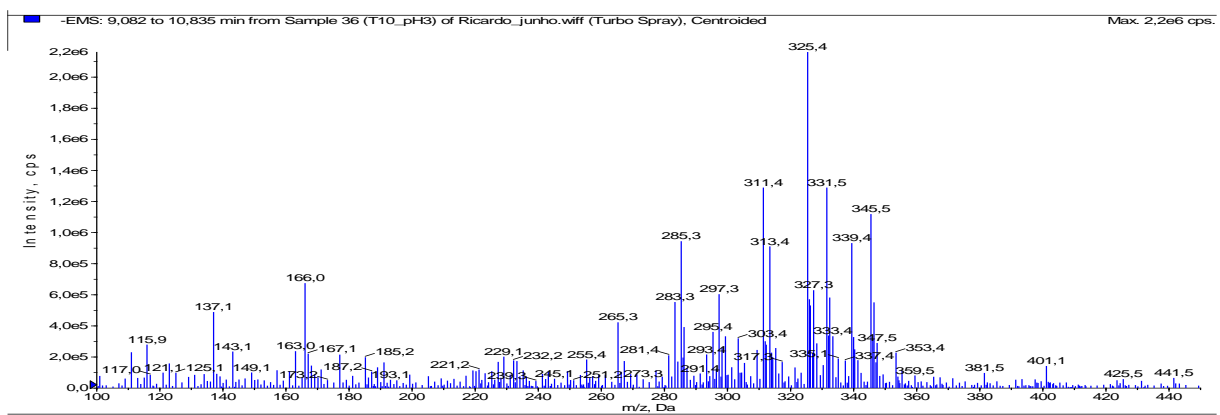
b)

FIGURA A.1 – a) XIC e b) MS do íon  $m/z$  269 ( $t_r = 11,0 - 11,3$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  (pH 3), após 5 e 10 min de eletrólise, respectivamente, com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

## Apêndice



a)

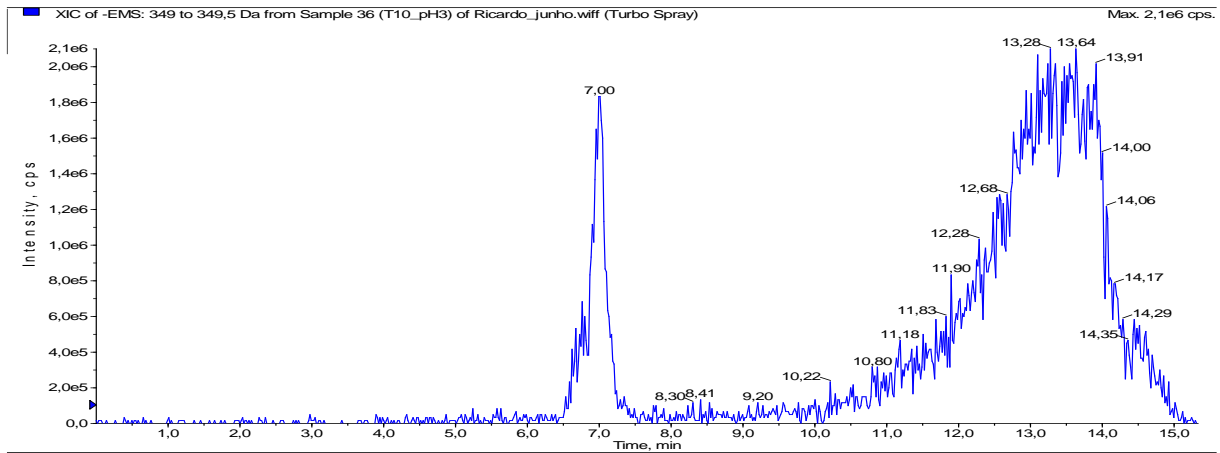


b)

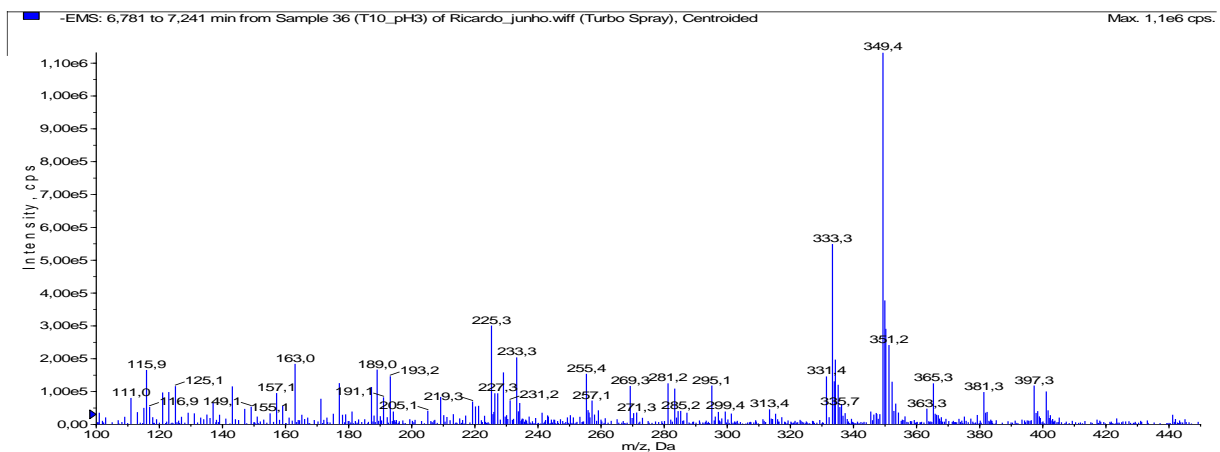
FIGURA A.2 – a) XIC e b) MS do íon  $m/z$  285 ( $t_r = 9,10 - 10,8$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  (pH 3), após 10 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).



## Apêndice



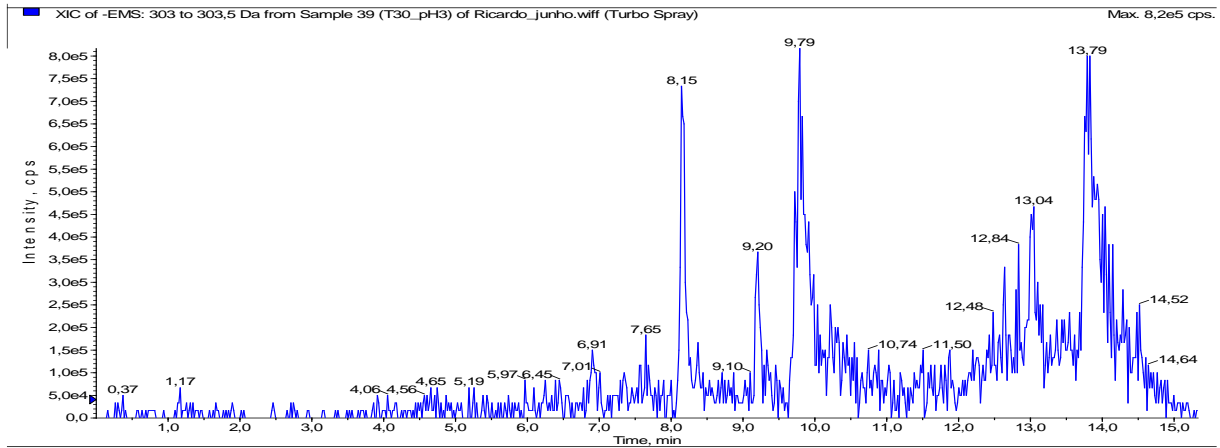
a)



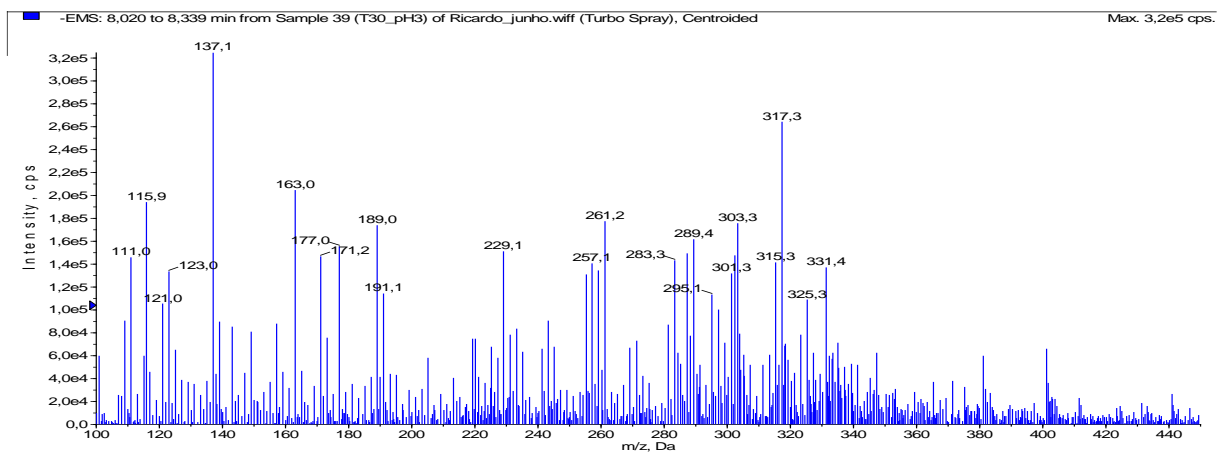
b)

FIGURA A.3 – a) XIC e b) MS do íon  $m/z$  349 ( $t_r = 6,78 - 7,24$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 10 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

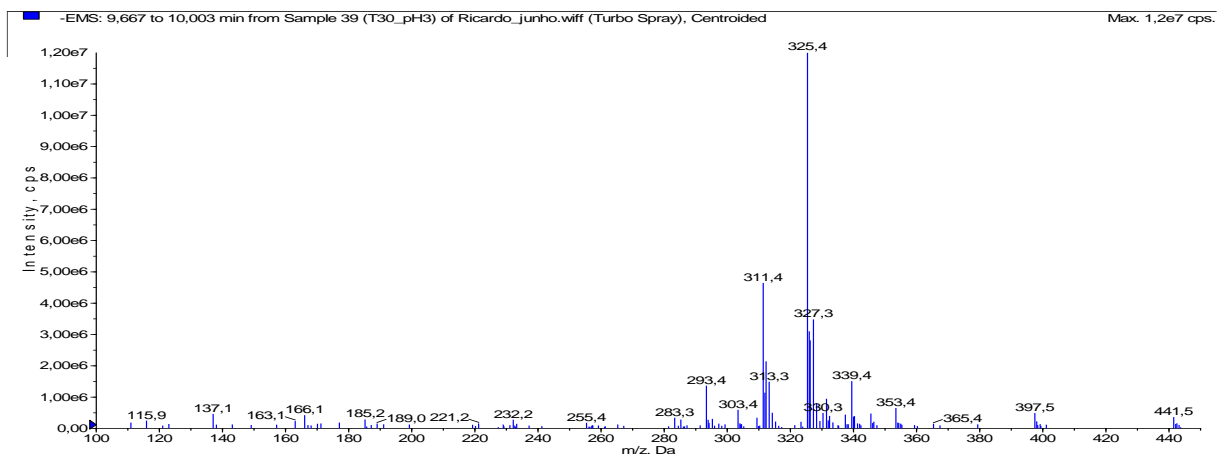
## Apêndice



a)



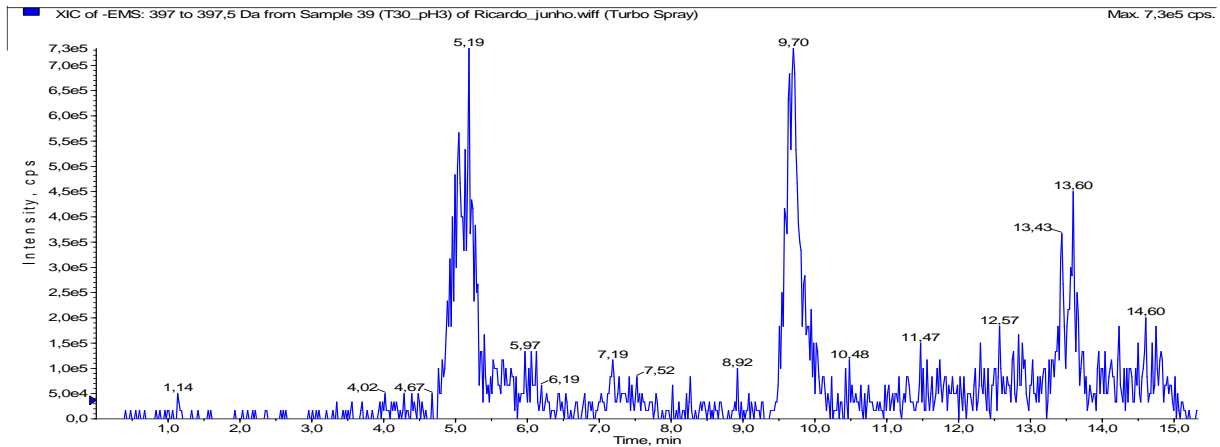
b)



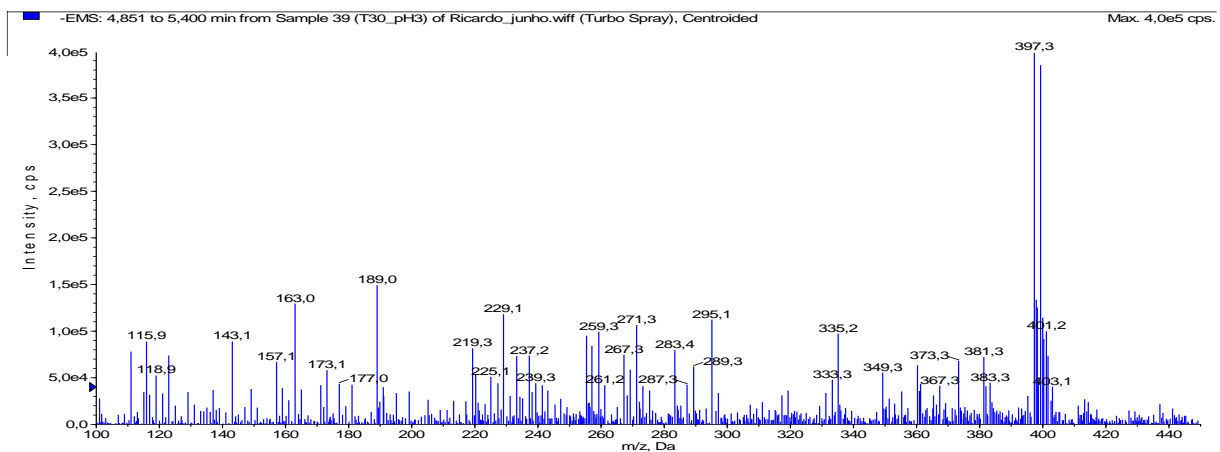
c)

FIGURA A.4 – a) XIC e b-c) MS do íon  $m/z$  303 ( $t_r = 8,00 - 8,34$  min e  $9,67 - 10,0$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

## Apêndice

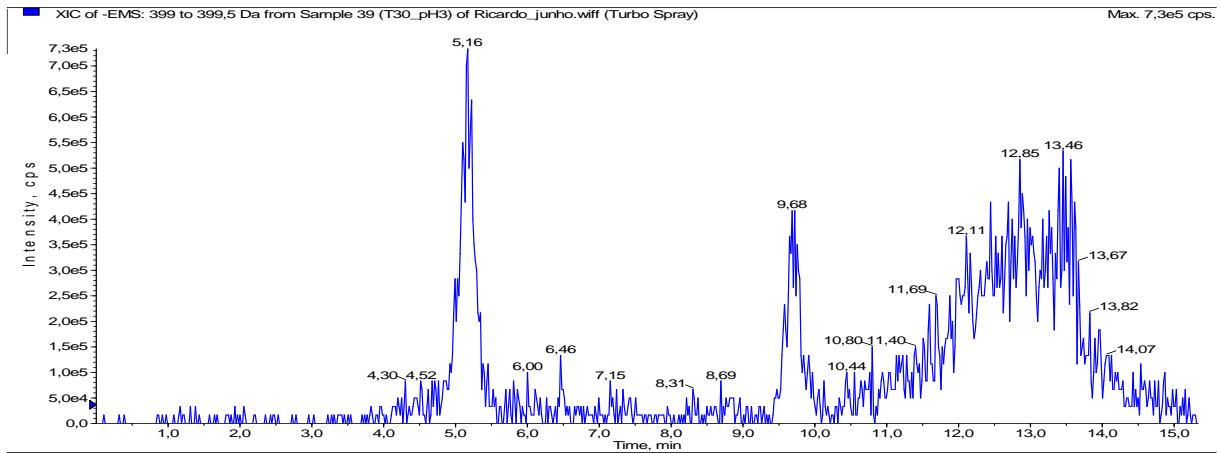


a)

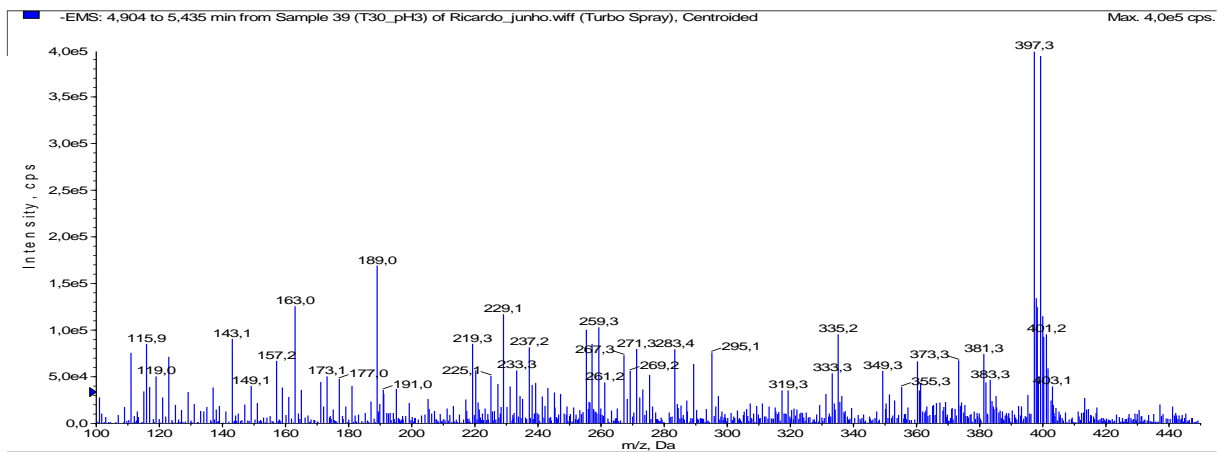


b)

FIGURA A.5 – a) XIC e b) MS do íon  $m/z$  397 ( $t_r = 4,85 - 5,40$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).



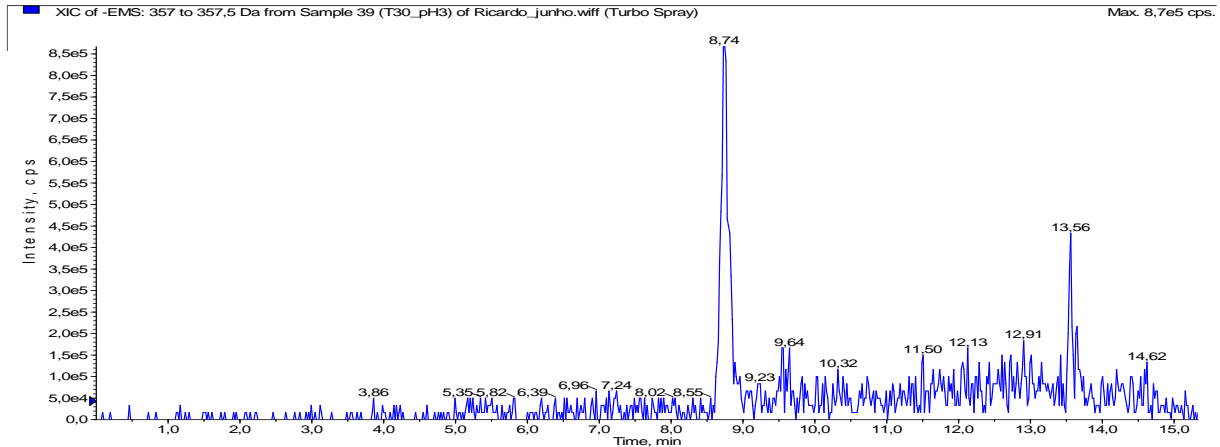
a)



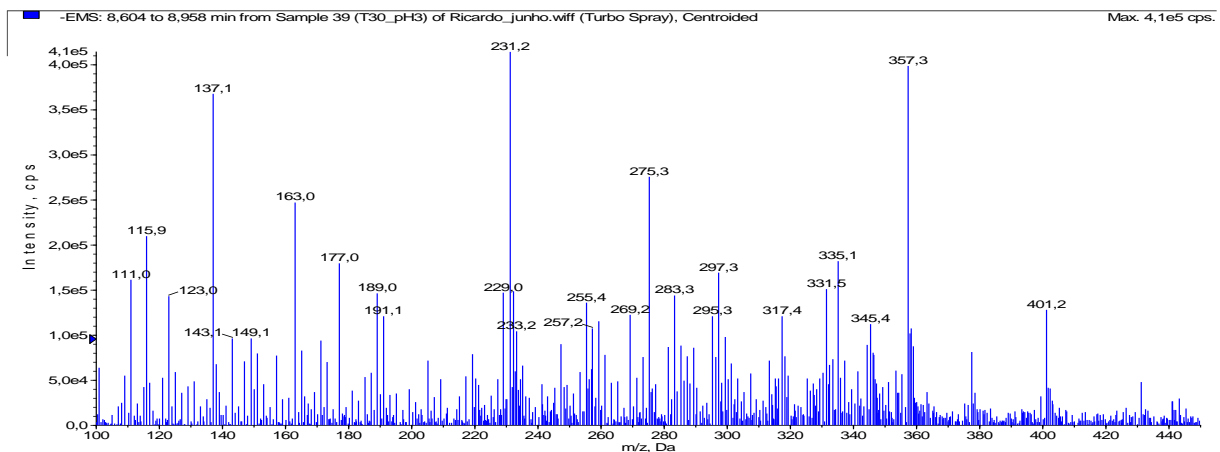
b)

FIGURA A.6 – a) XIC e b) MS do íon  $m/z$  399 ( $t_r = 4,90 - 5,43$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

## Apêndice



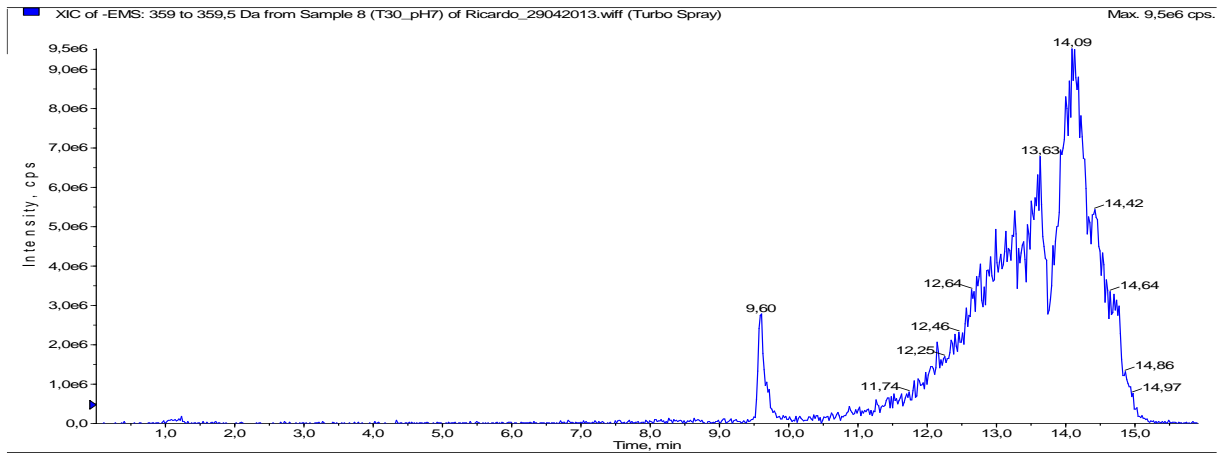
a)



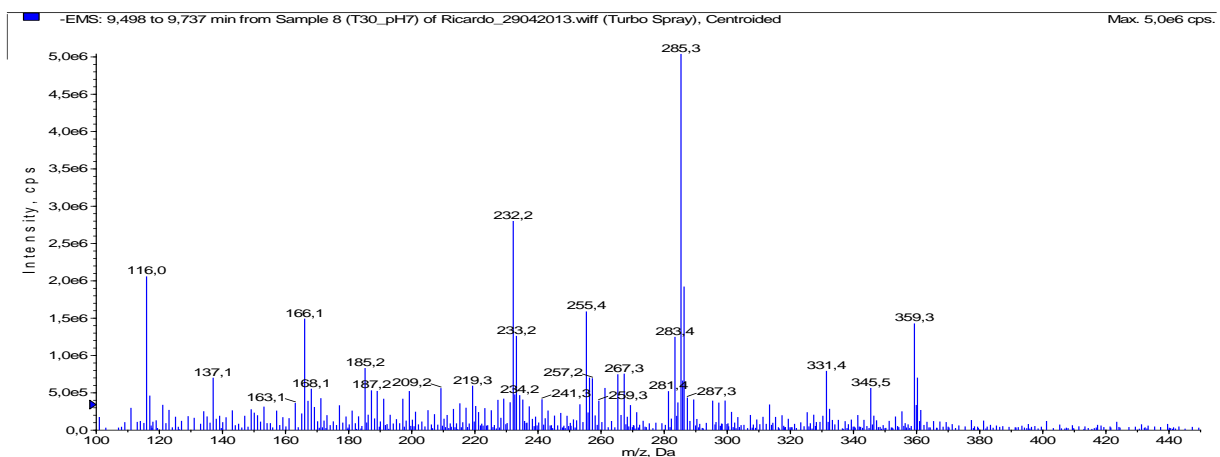
b)

FIGURA A.7 – a) XIC e b) MS do íon  $m/z$  357 ( $t_r = 8,60 - 8,96$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

## Apêndice



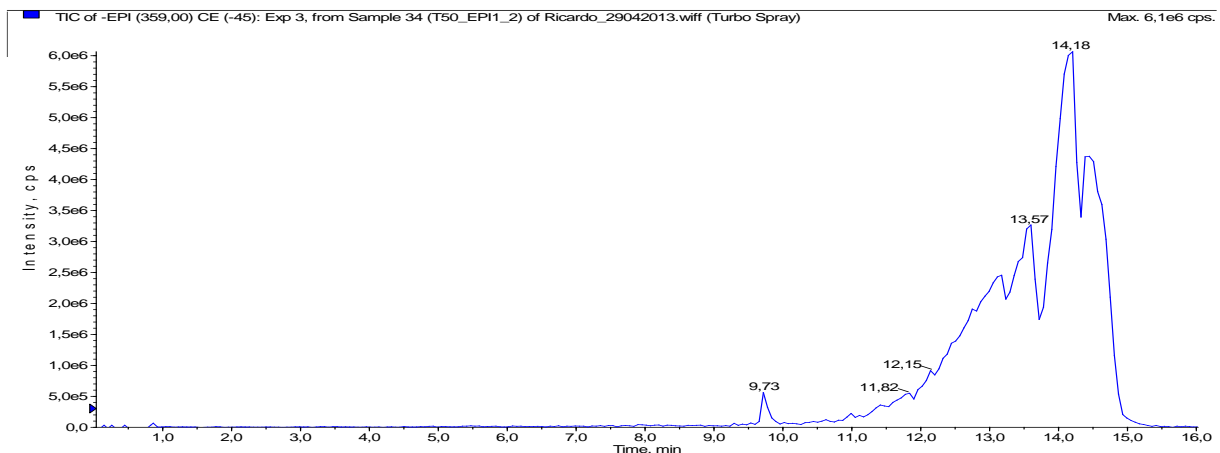
a)



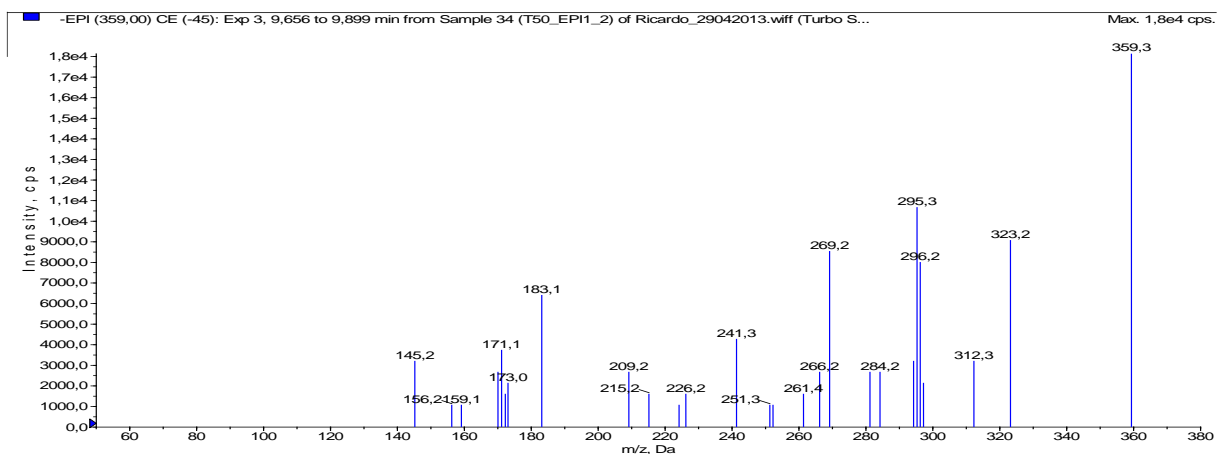
b)

FIGURA A.8 – a) XIC e b) MS do íon  $m/z$  359 ( $t_r = 9,50 - 9,74$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

## Apêndice



a)



b)

FIGURA A.9 – a) TIC, e b) MS/MS do íon  $m/z$  359 ( $t_r = 9,65 - 9,90$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 50 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

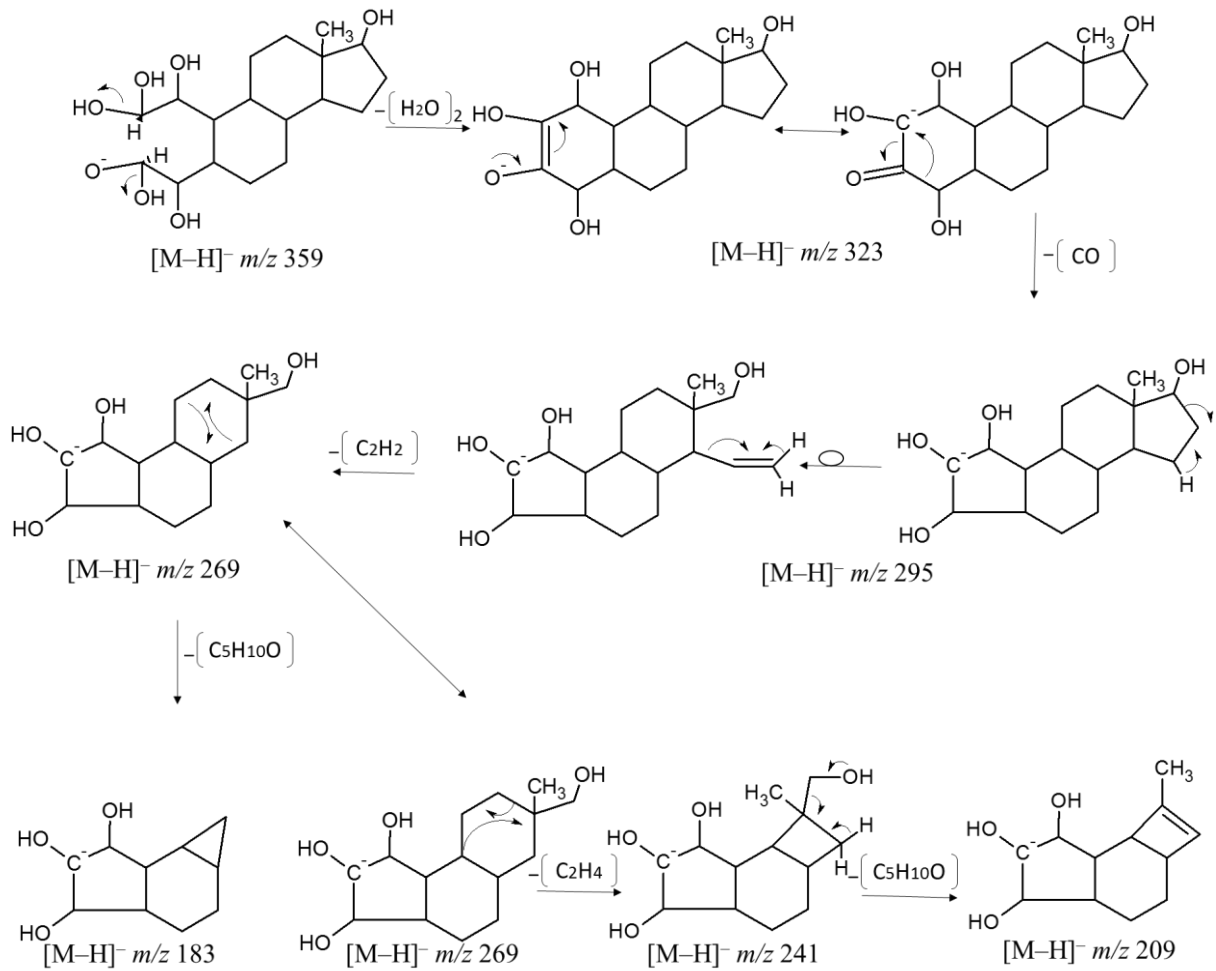
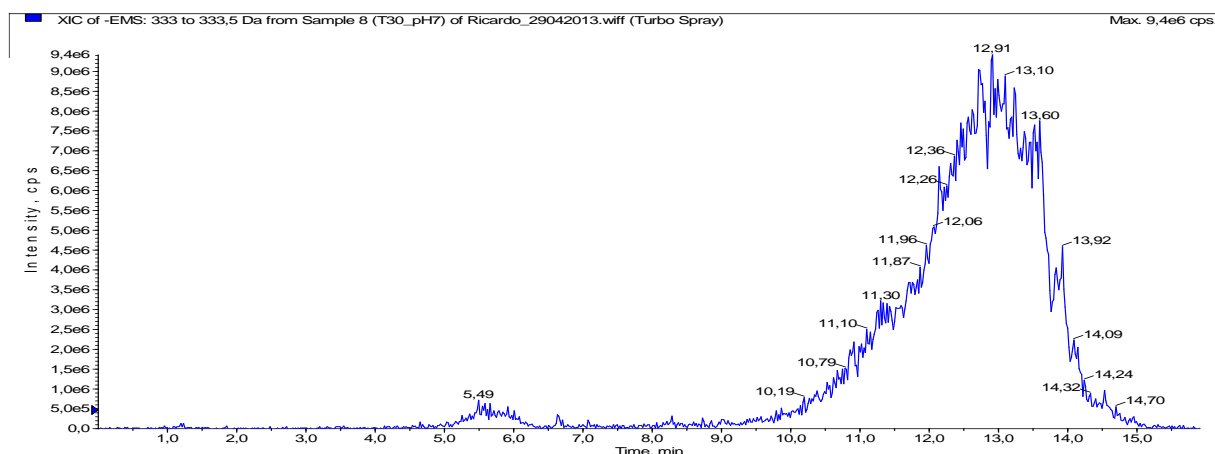


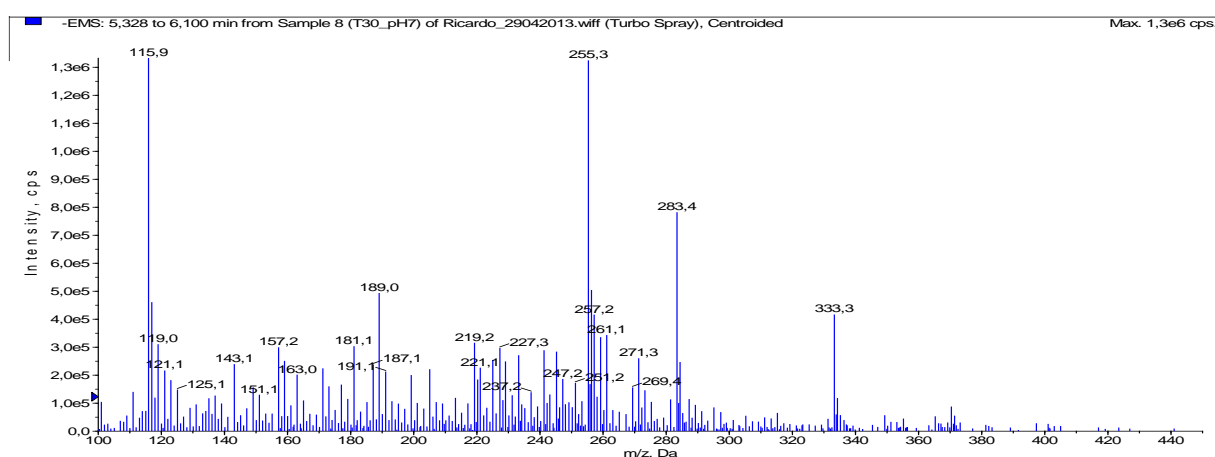
FIGURA A.10 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula intermediária de  $[M-H]^- m/z 359$ .



## Apêndice



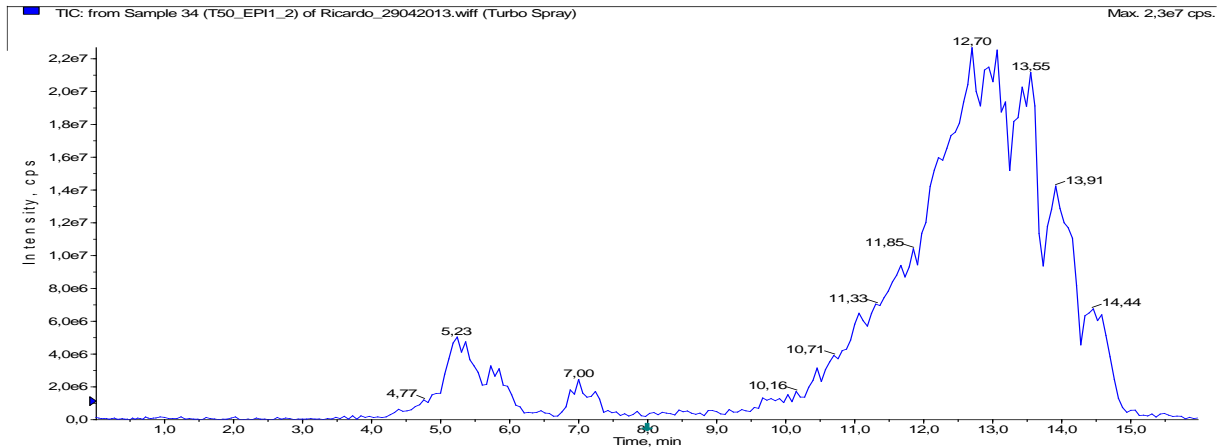
a)



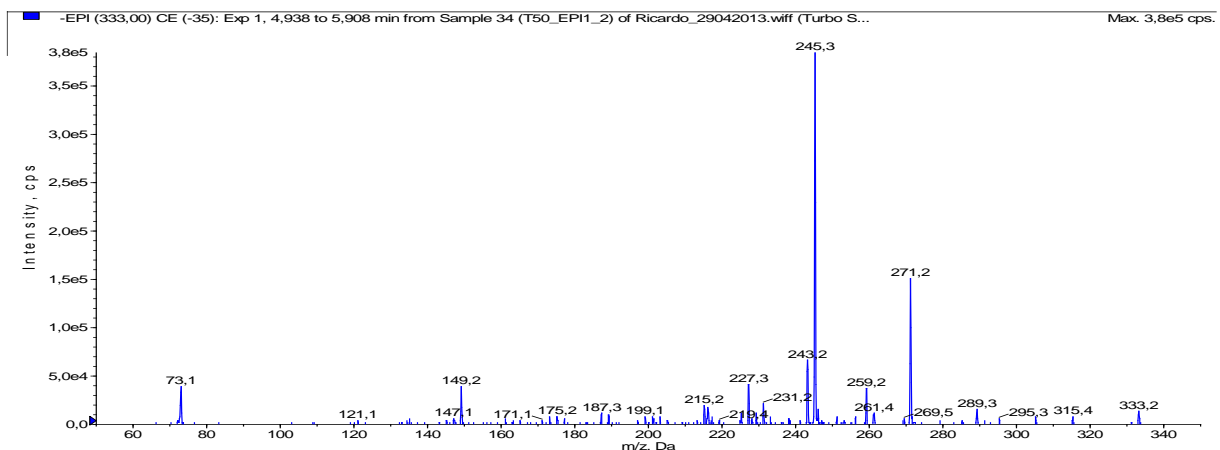
b)

FIGURA A.11 – a) XIC e b) do íon  $m/z$  333 ( $t_r = 4,94 - 5,91$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

## Apêndice



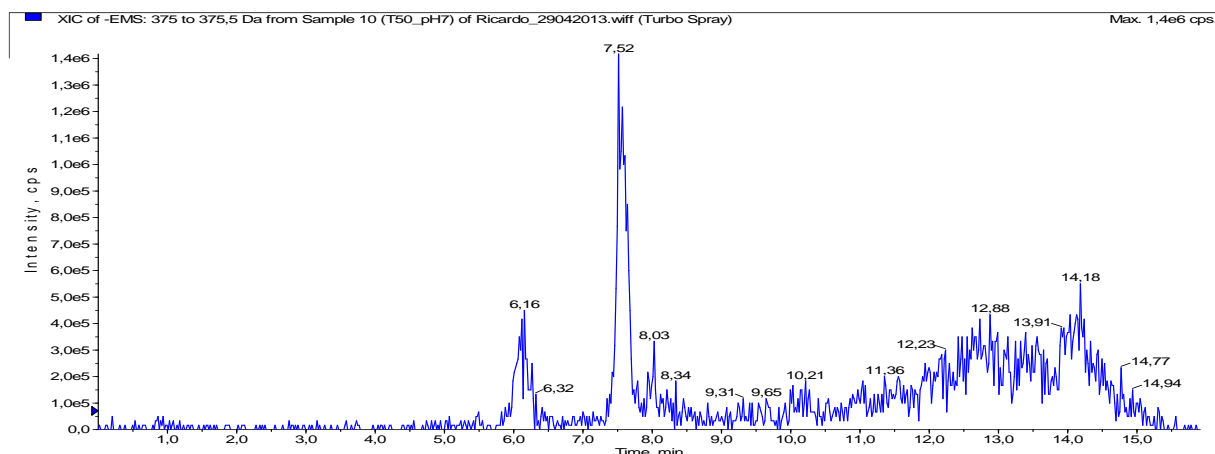
a)



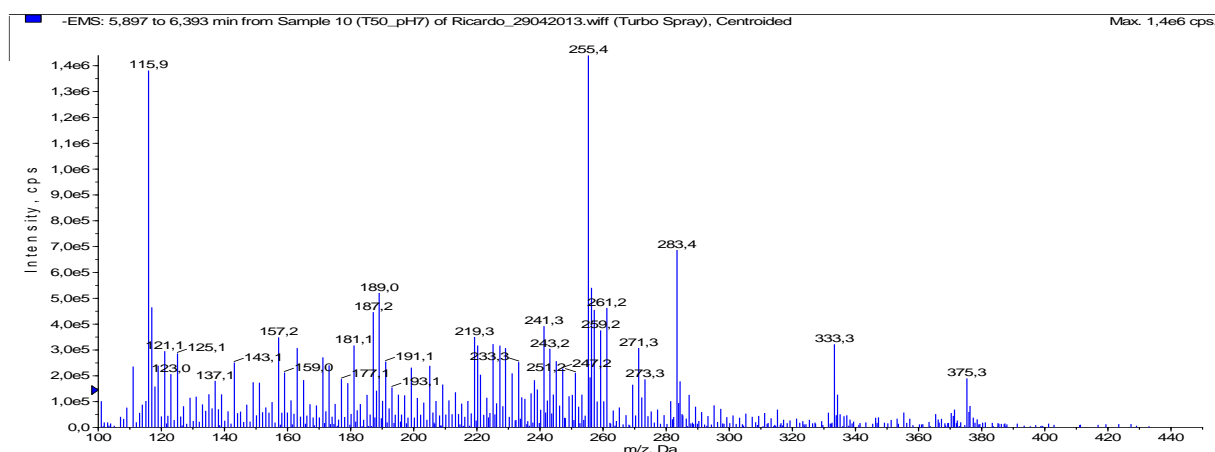
b)

FIGURA A.12 – a) TIC e b) MS/MS do íon  $m/z$  333 ( $t_r = 4,94 - 5,91$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

## Apêndice



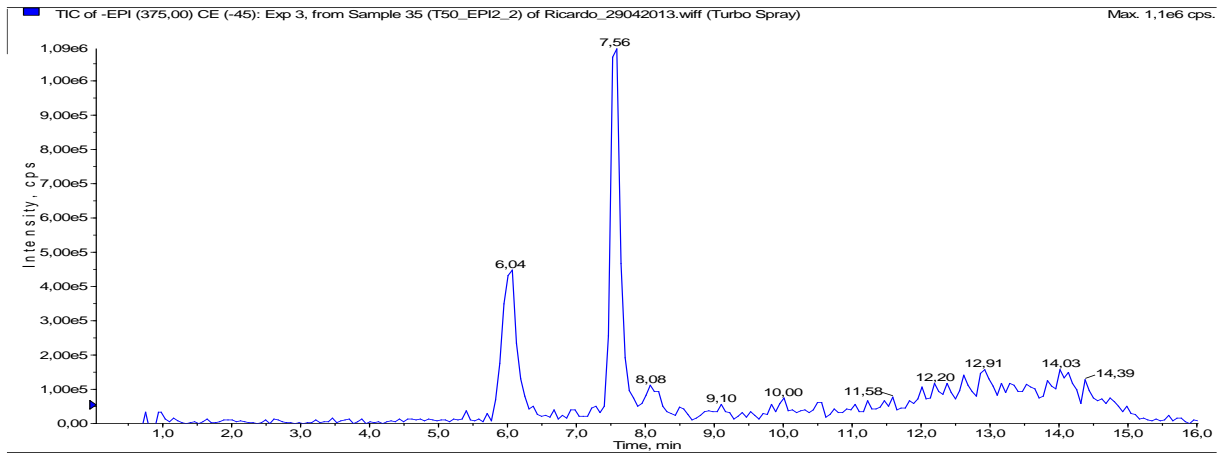
a)



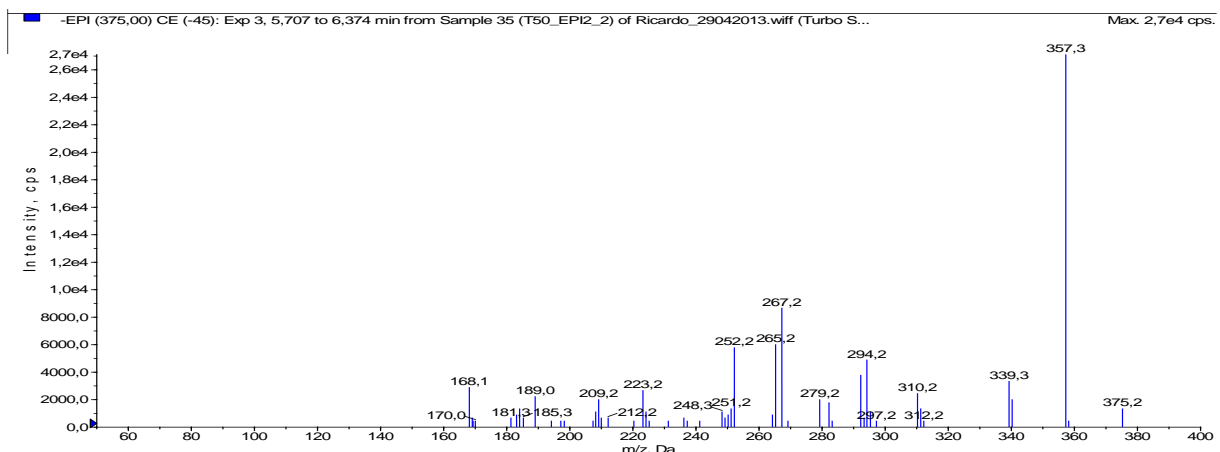
b)

FIGURA A.13 – a) XIC e b) MS do íon  $m/z$  375 ( $t_r = 7,46 - 7,70$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 50 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

## Apêndice



a)



b)

FIGURA A.14 – a) TIC e b) MS/MS do íon  $m/z$  375 ( $t_r = 5,71 - 6,34$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 50 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

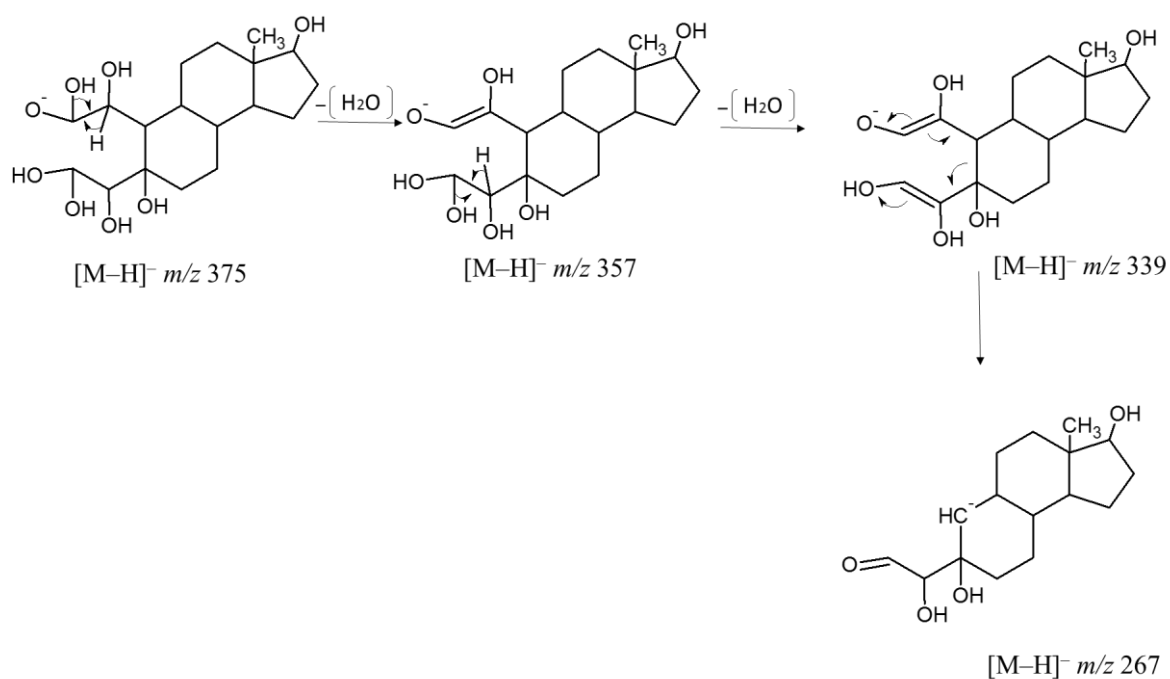
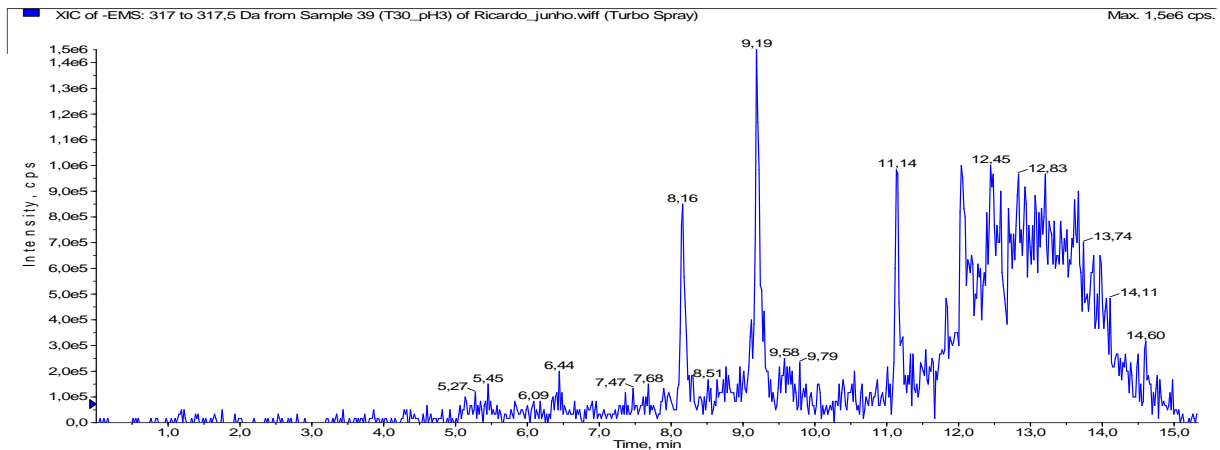
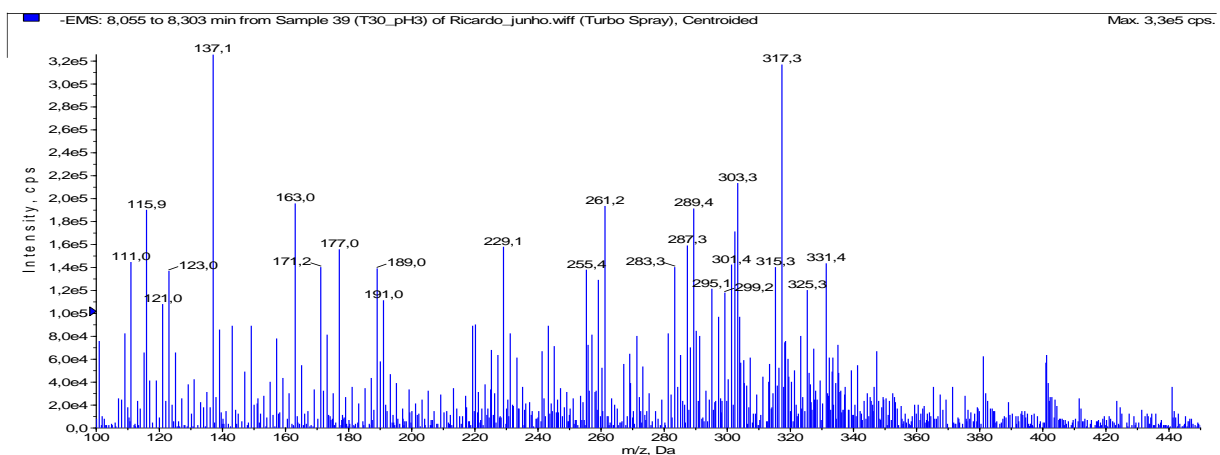


FIGURA A.15 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula intermediária de  $[M-H]^-$   $m/z$  375.

## Apêndice



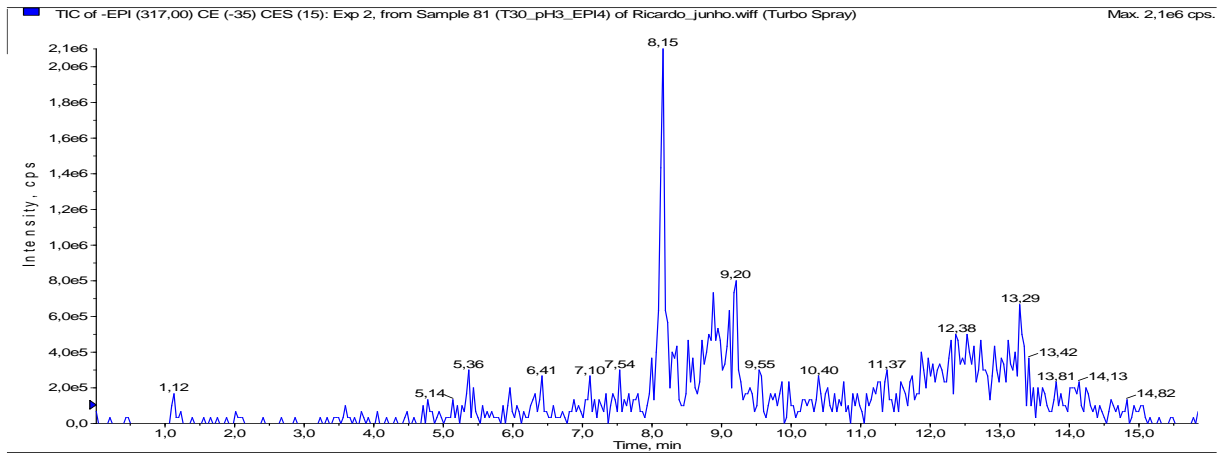
a)



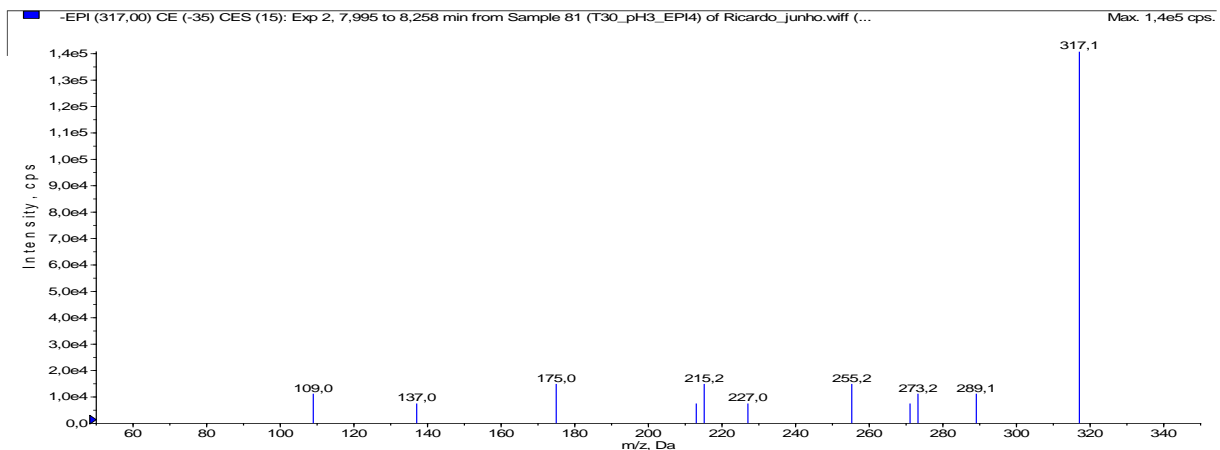
b)

FIGURA A.16 – a) XIC e b) MS do íon  $m/z$  317 ( $t_r = 8,05 - 8,00$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

## Apêndice



a)



b)

FIGURA A.17 – a) TIC e b) MS/MS do íon  $m/z$  375 ( $t_r = 7,46 - 7,70$  min), para análise de solução de estrona  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , após 30 min de eletrólise com um eletrodo de Nb/BDD ( $j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$ ;  $V = 0,5 \text{ L}$ ;  $q_V = 2 \text{ L min}^{-1}$ ).

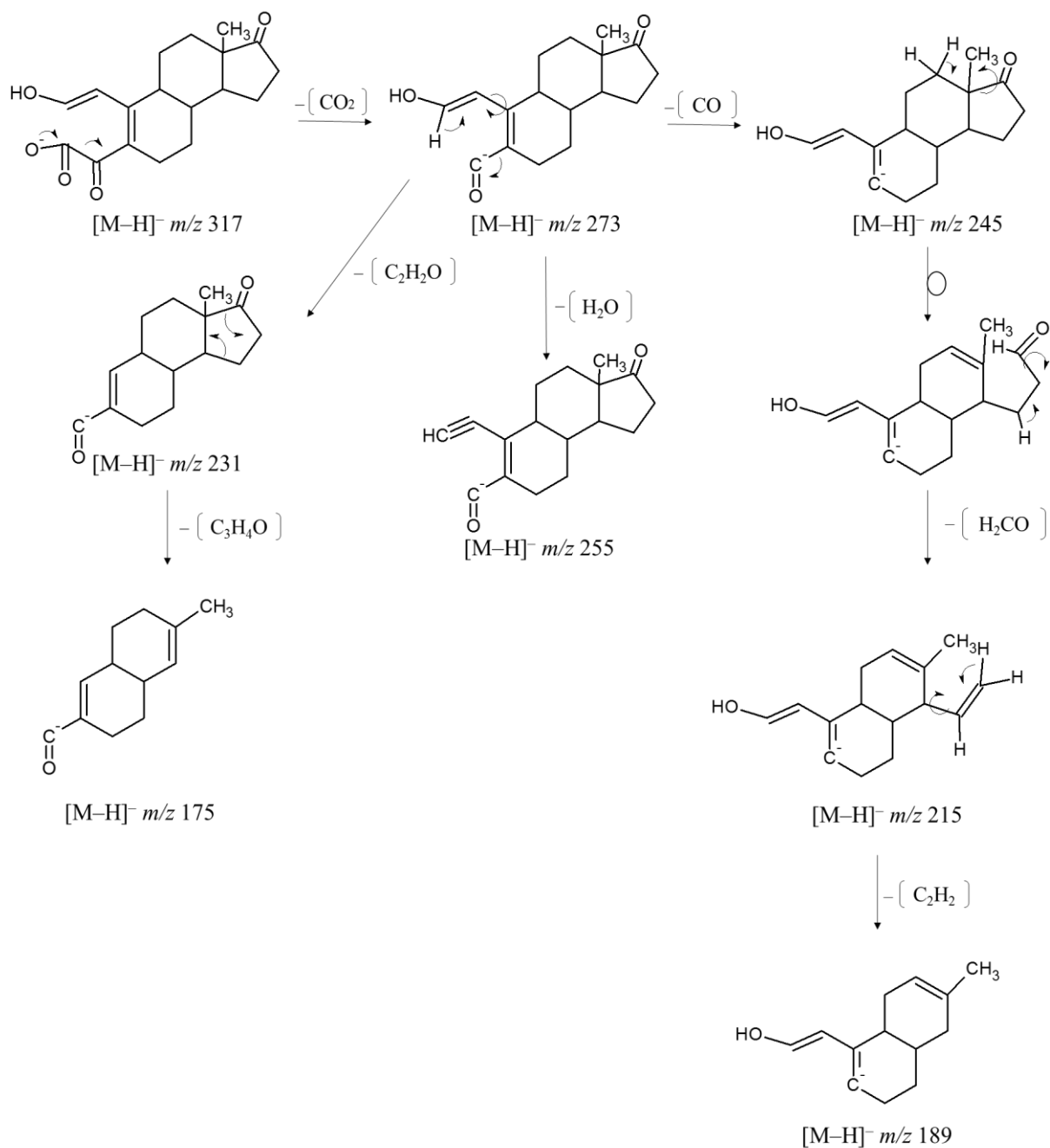


FIGURA A.18 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula intermediária de  $[M-H]^-$   $m/z$  317.