



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS



Dissertação de Mestrado

Laís Muniz Meireles

**SENSOR ELETROQUÍMICO A BASE DE CARBON BLACK E NANOPARTÍCULAS
DE PRATA SINTETIZADAS POR VIA VERDE DEDICADO À DETECÇÃO E ESTUDO
DA CIPROFLOXACINA**

Timóteo

26 de setembro de 2023

Laís Muniz Meireles

SENSOR ELETROQUÍMICO A BASE DE CARBON BLACK E NANOPARTÍCULAS DE PRATA SINTETIZADAS POR VIA VERDE DEDICADO À DETECÇÃO E ESTUDO DA CIPROFLOXACINA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programade Pós-Graduação em Engenharia de Materiais do CEFET-MG, na área de concentração de Ciência e Desenvolvimento de Materiais, na Linha de Pesquisa em Seleção, Processamento e Caracterização, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Tiago Almeida Silva

Agência Financiadora: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais– Brasil (FAPEMIG)

Timóteo

26 de setembro de 2023

A FICHA CARTOGRÁFICA DEVE SER COLADA NA PARTE TRASEIRA DA FOLHA DE ROSTO

SOLICITAR NA BIBLIOTECA

CDD:

Laís Muniz Meireles

**SENSOR ELETROQUÍMICO A BASE DE CARBON BLACK E NANOPARTÍCULAS
DE PRATA SINTETIZADAS POR VIA VERDE DEDICADO À DETECÇÃO E
ESTUDO DA CIPROFLOXACINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Tiago Almeida Silva
Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa
(Orientador)

Profa. Dra. Mirela de Castro Santos
Centro Federal de Educação Tecnológico de Minas Gerais CEFET – MG

Dr. José de Oliveira Marques Neto
Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa

Timóteo

26 de setembro de 2023

Dedico essa dissertação aos meus amados pais, Waldir e Sirléa, meus maiores incentivadores e apoiadores.

Aos meus irmãos, Leonel, Jonas e Waldir, pelo companheirismo ao longo da vida.

E aos meus adoráveis sobrinhos, fonte inesgotável de amor e carinho.

Amo vocês!

*“Foi o tempo que dedicastes à tua rosa que a
fez tão importante”
(Antoine de Saint-Exupéry)*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por todas as oportunidades concedidas e por me abençoar com saúde e disposição para que eu possa alcançar meus objetivos.

Aos meus pais, pelas palavras motivadoras nos momentos de desânimo, por acreditarem na minha capacidade e por todo apoio e amor incondicionais.

Ao Prof. Dr. Tiago Almeida Silva, pela orientação, paciência e por todo ensinamento transmitido ao longo dessa jornada.

Ao meu colega de laboratório Rafael Matias, pela amizade construída e por toda ajuda oferecida na execução desse trabalho.

Aos demais colegas do grupo Laboratório de Pesquisas em Eletroanalítica e Nanomateriais (LAPEN), pelo aprendizado compartilhado e por, mesmo de longe, oferecerem apoio e incentivo.

À chefe da Seção de Balística da Polícia Civil do Espírito Santo, Fernanda Silveira, pelo encorajamento e por possibilitar o meu deslocamento à Viçosa para execução dos experimentos, assim como aos demais colegas de seção.

Ao Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa pela infraestrutura proporcionada e ao Dr. José Neto, por toda disponibilidade.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais do CEFET-MG campus Timóteo, pelos ensinamentos transmitidos durante as disciplinas cursadas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) por financiarem esse projeto, e à CAPES, pela bolsa concedida.

RESUMO

Foi proposto o desenvolvimento de novos eletrodos modificados a base de carbon black e nanopartículas metálicas dedicados a detecção eletroquímica do antibiótico ciprofloxacina. Nanopartículas de prata (AgNPs) foram sintetizadas por via verde empregando-se extrato vegetal de chá preto (*Camellia Sinensis*) como agente redutor e estabilizante das nanopartículas. As AgNPs obtidas foram combinadas com carbon black (CB) e quitosana (Ch) para o preparo de uma dispersão aquosa, a qual foi empregada na obtenção de um filme fino depositado sobre a superfície de um eletrodo base de carbono vítreo. Os diferentes materiais obtidos e superfícies modificadas foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectrofotometria de absorção molecular no ultravioleta-visível (UV-Vis) e eletroquimicamente por voltametria cíclica. O eletrodo modificado obtido, AgNPs-CB-Ch/GCE, foi avaliado como sensor eletroquímico para a determinação por voltametria de onda quadrada da molécula de ciprofloxacina, um antibiótico bastante utilizado no tratamento de doenças infecciosas. Após a otimização das condições de trabalho, testes analíticos para determinação dos parâmetros de desempenho analítico do sensor voltamétrico estabelecido foram realizados: faixa linear de resposta, limites de detecção e quantificação, estudos de repetibilidade e reprodutibilidade e ensaios de adição/recuperação em urina sintética. Foram obtidas duas faixas lineares de resposta: de 3,1 a 24,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 36,9 a 130,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção de 0,48 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos indicam o potencial da combinação de nanopartículas metálicas sintetizadas por via verde e carbon black de baixo custo para o preparo de novos sensores eletroquímicos.

Palavras-chave: ciprofloxacina, carbon black, nanopartículas de prata, sensor eletroquímico, eletrodos modificados.

ELECTROCHEMICAL SENSOR BASED ON CARBON BLACK AND SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIZED BY GREEN ROUTE DEDICATED TO THE DETECTION AND STUDY OF CIPROFLOXACIN

ABSTRACT

It was proposed the development of new modified electrodes based on carbon black and metallic nanoparticles dedicated to the electrochemical detection of ciprofloxacin. Silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized by the green route using plant extract of black tea (*Camellia Sinensis*) as a reducing and stabilizing agent for the nanoparticles. The AgNPs were combined with carbon black and chitosan in the preparation of an aqueous dispersion, which was used to obtain a thin film on the surface of a glassy carbon electrode. The different materials obtained and modified surfaces were characterized by scanning electron microscopy (SEM), ultraviolet-visible molecular absorption spectrophotometry (UV-Vis) and electrochemically by cyclic voltammetry. The modified electrode obtained was evaluated as an electrochemical sensor for determination by square wave voltammetry (SWV) of the ciprofloxacin molecule, an antibiotic widely used in the treatment of infectious diseases. Analytical tests to determine the analytical performance parameters of the established voltammetric sensor were performed: linear response range, limits of detection and quantification, repeatability and reproducibility studies, addition/recovery assays in synthetic urine. Two linear responses were found: one of 3.1 to 24.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and another of 36.9 to 130.3 $\mu\text{mol L}^{-1}$, with limit of detection of 0.48 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The results obtained indicate the potential of combining metallic nanoparticles synthesized by green routes and carbon black of lower cost in the preparation of novel electrochemical sensors.

Keywords: ciprofloxacin, silver nanoparticle, carbon black, electrochemical sensors, modified electrodes.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da ciprofloxacina, com destaque para os grupos funcionais ácido carboxílico e piperazina.....	19
Figura 2 - Microespécies de CIP em função do pH.....	19
Figura 3 - Representação esquemática das nanopartículas de CB e respectivas estruturas de aglomerados e agregados formados	23
Figura 4 - Ilustração esquemática de ressonância de plasmons de superfície de uma nanopartícula em um campo elétrico de comprimento de onda muito maior que a dimensão da partícula.....	28
Figura 5 - Reação de redução da prata e oxidação da glicose.....	33
Figura 6 - Estrutura química da (a) quitina e (b) quitosana.....	37
Figura 7- (a) Representação esquemática da interação entre o biopolímero quitosana e as nanopartículas de platina. Fotografia das PtNPs sintetizadas na (b) ausência e (c) presença de quitosana. Imagens de (d) HR-TEM e (e) TEM obtidas das Ch-PtNPs. (f) Histograma de distribuição de diâmetro.....	40
Figura 8 - Esquema de montagem de célula eletroquímica.....	42
Figura 9 - Sinais de excitação tensão versus tempo para diferentes tipos de voltametrias. (a) Voltametria de varredura linear; (b) voltametria de onda quadrada; (c) Voltametria de pulso diferencial e (d) Voltametria triangular.....	43
Figura 10 - Sinais de excitação mais comuns para voltametria de pulso diferencial. (a) pulso sobre varredura linear e (b) pulso sobre varredura em forma de escada.....	46
Figura 11 - (a) sinal em forma de escada, (b) pulso e (c) sinal de excitação de onda quadrada, resultante da junção dos sinais de (a) e (b)	47
Figura 12 - Voltamograma cíclico obtido para solução de $K_4Fe(CN)_6/K_3Fe(CN)_6$ 1,0 mmol L^{-1} em KCl 1,0 mol L^{-1} . Eletrodo de carbono vítreo (diâmetro = 3,0 mm) empregado como eletrodo de trabalho	49
Figura 13 - Faixa de potencial de trabalho para eletrodos de platina, mercúrio e carbono vítreo em vários tipos de eletrólito suporte	51
Figura 14 – Esquema de extração do chá preto e síntese das nanopartículas de prata	53
Figura 15 - Esquema do preparo do eletrodo quimicamente modificado.....	55
Figura 16 - Espectros UV-Vis obtidos para extrato de chá preto diluído e dispersão contendo AgNPs.....	57
Figura 17 - Mudança de coloração observada após a síntese de nanopartículas. Lado	

esquerdo: dispersão de AgNPs em fator de diluição de 10, 50 e 100; lado direito: extrato diluído em fator de diluição de 10, 50 e 100, antes de serem submetidas à análise de espectrofotometria UV-Vis	58
Figura 18 - Imagens de MEV obtidas para (a) CB e (b) AgNPs.....	59
Figura 19 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE em KCl 0,1 mol L ⁻¹ . $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$	59
Figura 20 - Voltamogramas cíclicos obtidos usando GCE, CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE para K ₃ Fe(CN) ₆ 7,5 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹ . $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$	61
Figura 21 - Voltamograma cíclicos obtidos utilizando (a) GCE, (b) CB-Ch/GCE e (c) AgNPs-CB-Ch/GCE para K ₃ Fe(CN) ₆ 7,5 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹ em diferentes velocidades de varredura (10 mV s ⁻¹ – 150 mV s ⁻¹). (d) Gráficos de I_{pa} vs. $v^{1/2}$ obtidos para GCE, CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE, representados conforme escala de cores	62
Figura 22 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando diferentes eletrodos de trabalho (GCE, CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE) em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH = 7,0), contendo 4,9 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ CIP. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	63
Figura 23 - Voltamograma cíclicos obtidos utilizando AgNPs-CB-Ch/GCE como eletrodo de trabalho em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ , contendo 4,9 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ CIP em diferentes condições de pH	65
Figura 24 - Gráfico de I_p vs. pH utilizando AgNPs-CB-Ch/GCE como eletrodo de trabalho em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH variando de 2,0 a 10,0), contendo 4,9 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ CIP. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	65
Figura 25- Distribuição de espécies de CIP em função de pH.....	66
Figura 26 - (a) Voltamogramas cíclicos obtidos a diferentes velocidades de varredura (10 mV s ⁻¹ , 20 mV s ⁻¹ , 30 mV s ⁻¹ , 40 mV s ⁻¹ , 50 mV s ⁻¹ , 75 mV s ⁻¹ , 100 mV s ⁻¹ e 150 mV s ⁻¹) em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH = 2,0). Gráficos de (b) log I_p vs. log v , (c) I_p vs. v e (d) I_p vs. $v^{1/2}$	67
Figura 27 - Voltamogramas de onda quadrada obtidos utilizando-se AgNPs-Ch-CB/GCE em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH = 2,0) contendo CIP em diferentes concentrações: (1) 0,0 (branco); (2) 3,1; (3) 6,2; (4) 12,4; (5) 18,6; (6) 24,8; (7) 36,9; (8) 49,02; (9) 61,0; (10) 84,5; (11) 107,7 e (12) 130,3 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ . Parâmetros da SWV: $f = 70 \text{ Hz}$; $a = 90 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$	69

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Síntese de AgNPs por micro-organismos. Adaptado de Mustapha et al. (2022) e Gahlawat (2019)	32
Tabela 2 - Síntese de AgNPs por extratos vegetais. Adaptado de Mustapha et al. (2022)	33
Tabela 3 - Otimização dos parâmetros de SWV para determinação de CIP na concentração $4,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	68
Tabela 4 - Estudos de detecção de CIP por técnicas voltamétricas reportados na literatura.....	70
Tabela 5 - Resultados obtidos para os estudos de repetibilidade intra- e inter-dias utilizando-se o sensor de AgNPs-CB-Ch/GCE e SWV	71
Tabela 6 - Resultados obtidos para a determinação de CIP em amostra de urina sintética fortificada utilizando-se o sensor de AgNPs-CB-Ch/GCE e SWV.....	72

LISTA DE ABREVIÇÕES

- AFM – Microscopia de força atômica (do inglês “Atomic Force Microscopy”)
- AgNPs – Nanopartículas de Prata
- EGM – Eletrodo gotejante de mercúrio
- CIP – Ciprofloxacina
- CV – Voltametria cíclica (do inglês “Cyclic Voltammetry”)
- CB – Carbon Black
- DLS – Espalhamento dinâmico de luz (do inglês “Dynamic Light Scattering”)
- DPV – Voltametria de pulso diferencial (do inglês “Differential Pulse Voltammetry”)
- EDX – Energia dispersiva de Raios-X (do inglês “Energy Dispersive X-Ray Analysis”)
- EGPM – Eletrodo de gota pendente de mercúrio
- EQM – Eletrodo quimicamente modificado
- EXAFS – Espectroscopia de estrutura fina de absorção de Raios-X prolongada (do inglês “Extended X-ray Absorption Fine-Structure”)
- GCE – Eletrodo de carbono vítreo (do inglês “Glassy Carbon Electrode”)
- I_L – Corrente Limite
- IR – Infravermelho (do inglês “Infrared”)
- LOD – Limite de detecção (do inglês “Limit of detection”)
- RPSL – Ressonância plasmon de superfície localizada
- SWW – Voltametria de onda quadrada (do inglês “Square-Wave Voltammetry”)
- STM – Microscopia de varredura por tunelamento (do inglês “Scanning Tunneling Microscope”)
- SEM – Microscopia eletrônica de varredura (do inglês “Scanning Electron Microscopy”)

S₁- Solução estoque 1

S₂ – Solução estoque 2

S₃ – Solução estoque 3

TEM – Microscopia eletrônica de transmissão (do inglês “Transmission Electron Microscopy”)

XAS – Espectroscopia de absorção de Raios-X (do inglês “X-Ray Absorption Spectroscopy”)

XANES – Espectroscopia de absorção de Raios-X próximo à estrutura de borda (do inglês “X-ray absorption near edge structure spectroscopy”)

XPS – Espectroscopia de fotoelétrons excitados por Raios-X (inglês “X-Ray Photoelectron Spectroscopy”)

XRD – Espectroscopia de difração de Raios – X (do inglês “X-ray Diffraction Spectroscopy”)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	16
2. OBJETIVOS	17
2.1. Objetivo geral	17
2.2. Objetivos específicos.....	17
3. FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1. Ciprofloxacina.....	18
3.2. Eletrodos modificados a base de carbon black	22
3.3. Nanopartículas	25
3.3.1. Nanopartículas de prata	27
3.3.1.1. Síntese convencional de AgNPs	28
3.3.1.2. Síntese verde de AgNPs	31
3.3.1.3. Caracterização de AgNPs	34
3.3.1.4. Eletrodos modificados a base de AgNPs	34
3.4. Quitosana: Bio-polímero versátil no preparo de EQMs	37
3.5. Métodos eletroanalíticos.....	40
3.5.1. Voltametria	42
3.5.1.1. Voltametria de Varredura Linear	44
3.5.1.2. Voltametria de Pulso Diferencial	45
3.5.1.3. Voltametria de Onda Quadrada	46
3.5.1.4. Voltametria Cíclica	47
3.5.2. Eletrodos de trabalho empregados em voltametria	50
4. METODOLOGIA.....	52
4.1. Reagentes, Amostras e Instrumentação	52
4.2. Síntese de AgNPs por via verde	53
4.3. Preparo do eletrodo quimicamente modificado	54
4.4. Caracterização dos materiais	55
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
5.1. Caracterização dos materiais	57
5.1.1. Espectrofotometria UV-Vis	57
5.1.2. MEV.....	58
5.1.3. Voltametria Cíclica.....	59

5.2. Caracterização eletroquímica do sensor	60
5.3. Resposta eletroquímica da ciprofloxacina	63
5.3.1. Estudo do efeito do pH	64
5.3.2. Estudo do efeito da velocidade de varredura	66
5.4. Otimização dos parâmetros da SWV	67
5.5. Determinação de CIP por SWV	68
5.6. Estudo de repetibilidade	70
5.7. Análise de amostras de urina sintética	71
6. CONCLUSÃO	73
7. REFERÊNCIAS	74

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O desenvolvimento de métodos eletroquímicos de análise tem se pautado, nos últimos anos, na utilização de nanomateriais para o preparo de eletrodos de alta performance eletroquímica e analítica. A combinação entre nanotecnologia e detecção eletroquímica possibilita encontrar novos sensores capazes de detectar e quantificar analitos em níveis cada vez mais reduzidos de concentração. Isso ocorre devido à possibilidade de elevação da intensidade dos sinais analíticos, aumento da sensibilidade e, em alguns casos, melhoria da seletividade. Partindo-se desta associação entre nanotecnologia e eletroquímica, a utilização de nanomateriais de baixo custo ou obtidos por via verde é uma tendência que também deve ser expandida para o contexto da proposição de novos sensores eletroquímicos. Isso facilita ampliar a viabilidade comercial e sustentabilidade dos dispositivos projetados. Neste contexto, este projeto explorou o uso combinado de nanopartículas de carbon black (CB) de baixo custo e nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas por via química verde com uso de extratos de chá preto para a confecção de um novo eletrodo modificado. O eletrodo modificado foi explorado na determinação voltamétrica do antibiótico ciprofloxacina (CIP). Esta aplicação encontra-se alinhada à problemática atual do uso indiscriminado de antibióticos, acarretando em poluição de recursos hídricos e problemas à saúde humana.

Desta forma, este projeto teve por objetivo contribuir com o estudo eletroquímico da molécula de ciprofloxacina sobre uma nova plataforma eletroquímica. O sensor foi preparado por um procedimento relativamente simples e com uso de nanomateriais de fácil obtenção, contribuindo para o cenário de desenvolvimento de novos métodos eletroanalíticos para aplicação em amostras diversas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O presente trabalho apresenta como objetivo o preparo de um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de quitosana contendo nanopartículas de prata sintetizadas por via verde e carbon black para aplicação na determinação voltamétrica de ciprofloxacina.

2.2. Objetivos específicos

Para o cumprimento do objetivo geral supracitado, os seguintes objetivos específicos tiveram de ser alcançados:

- a) Sintetizar nanopartículas de prata por via verde empregando-se extrato de chá preto;
- b) Caracterizar química e morfológicamente as nanopartículas produzidas;
- c) Preparar um eletrodo quimicamente modificado com filme de quitosana contendo nanopartículas de carbon black e de prata obtidas por via verde;
- d) Avaliar as características eletroquímicas do eletrodo modificado;
- e) Estudar o comportamento voltamétrico do antibiótico ciprofloxacina e, a partir disso, realizar a sua detecção eletroquímica.

3. FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

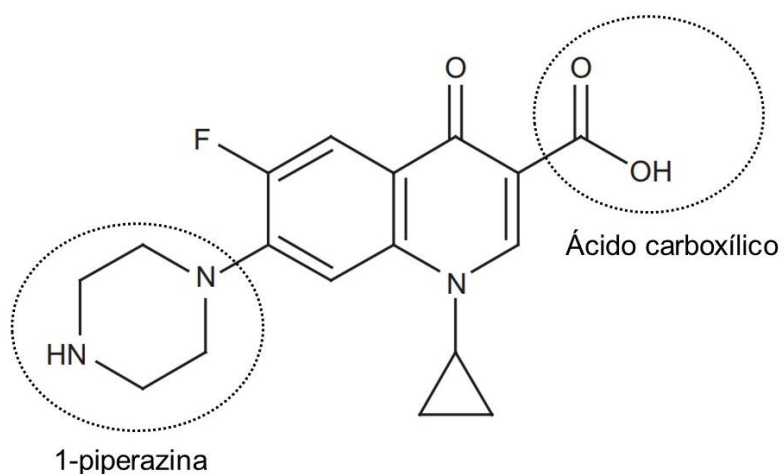
3.1. Ciprofloxacina

A ciprofloxacina (CIP, ácido 1-ciclopropil-6-fluor-1,4-diidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolinocarboxílico) é um dos agentes antibióticos mais importantes da classe das fluoroquinolonas, bastante utilizado no tratamento de infecções bacterianas causadas por bactérias gram-positivas e gram-negativas (MALAKOOTIAN *et al.*, 2021; TERP; RYBAK, 1987). As fluoroquinolonas são uma classe de medicamentos que têm como principal meio de ação a inibição da atividade das enzimas DNA topoisomerase e DNA girase e, dessa forma, inibem a replicação do DNA bacteriano (MASON *et al.*, 1995; THAI; SALISBURY; ZITO, 2023).

O uso da ciprofloxacina foi patenteado pela Bayer A.G. em 1983 e aprovado pela United States Food and Drug Administration – USFDA em 1987 (THAI; SALISBURY; ZITO, 2023). Desde a sua aprovação, tem sido extensivamente aplicada, com mais de 250 milhões de pacientes tratados com sucesso em todo o mundo (SHARMA *et al.*, 2010). A CIP apresenta elevado grau de segurança, sendo considerada a mais potente das fluoroquinolonas, com atividade contra uma elevada gama de bactérias. Além disso, a CIP proporciona boa absorção e penetração nos tecidos, além de baixa toxicidade em relação a outros antibióticos. Dessa forma, tem sido amplamente utilizada no tratamento de infecções de trato respiratório, do sistema gastrointestinal, pele, ossos e articulações, doenças sexualmente transmissíveis e outras prescrições de uso adulto e pediátrico (SHARMA *et al.*, 2010; THAI; SALISBURY; ZITO, 2023).

A estrutura química da ciprofloxacina está representada na Figura 1, com os grupos funcionais ácido carboxílico e 1-piperazina destacados nas posições 3 e 7, respectivamente. De acordo com o NCBI (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2023), o composto possui massa molecular de 331,34 g mol⁻¹, ponto de fusão de 257 °C, solubilidade em água inferior a 1 mg mL⁻¹ a 25°C. Apresenta duas constantes de dissociação ácida: pK_{a,1} = 6,18 para o grupo ácido carboxílico e pK_{a,2} = 8,73 para o nitrogênio no anel de piperazina (SUN, Jin *et al.*, 2002).

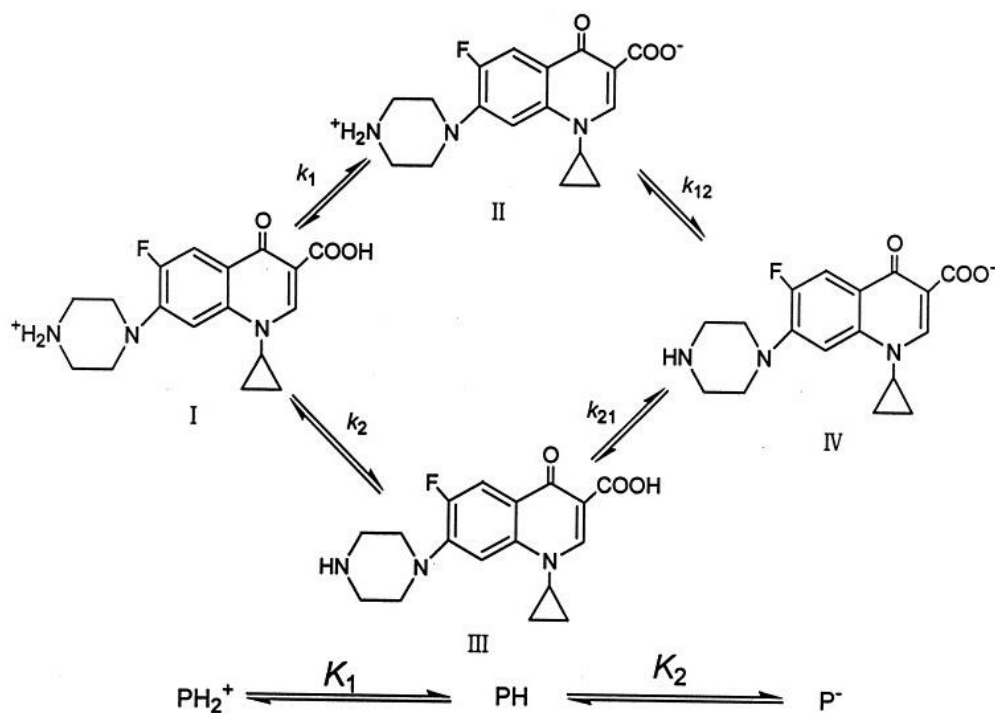
Figura 1 - Estrutura química da ciprofloxacina, com destaque para os grupos funcionais ácido carboxílico e piperazina



Fonte: Adaptada de Sharma et al. (2010).

Em consequência de apresentar dois sítios de protonação/desprotonação, a CIP pode ser encontrada em solução aquosa sob a forma de quatro microespécies: a espécie positiva (I), a espécie anfotérica (II), a espécie neutra (III) e a espécie negativa (IV), conforme pode ser observado na Figura 2. Esse fenômeno depende exclusivamente do pH do meio reacional.

Figura 2 - Microespécies de CIP em função do pH



Fonte: Adaptada de Sun et al. (2002).

Para valores de pH abaixo de 4 estará presente no meio reacional apenas a espécie (I), havendo protonação do nitrogênio do grupo piperazina. Em meio reacional com pH acima de 10, apenas estará presente a espécie (IV), com desprotonação do grupo carboxílico. Para valores de pH próximos a 6, a espécie anfotérica (grupo piperazina protonada e carboxílico desprotonado) e positiva coexistirá em equilíbrio, enquanto em pH próximo a 9 o equilíbrio será estabelecido entre as espécies anfotérica e negativa. A espécie 4 prevalecerá quando o pH do meio reacional for próximo ao neutro (SUN, Jin *et al.*, 2002).

De uma forma geral, sabe-se que os antibióticos não são absorvidos pelo organismo humano em sua totalidade. De acordo com Frade *et al.* (2014), uma porção de 10% a 90% de um medicamento pode ser eliminada na urina e nas fezes na sua forma não modificada, a depender do fármaco. O mesmo acontece com a ciprofloxacina, que apesar da sua rápida absorção, apresenta de 70% a 80% de taxa de aproveitamento, sendo que de 20% a 35% da dose oral é eliminada diretamente nas fezes (THAI; SALISBURY; ZITO, 2023). Da porção absorvida pelo organismo, grande parte é eliminada na urina. Da porção eliminada pela urina, 40% a 50% não apresenta qualquer modificação em sua composição química (THAI; SALISBURY; ZITO, 2023). Logo, grande parte do medicamento ingerido acaba parando nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETE), juntamente com outros compostos orgânicos e inorgânicos oriundos de tais efluentes.

Uma vez nas ETEs, os métodos convencionais de tratamento de água e esgoto, incluindo processos químicos, físicos e biológicos, individualmente ou combinados, não são capazes de remover ou degradar todos esses poluentes, que acabam adentrando no ecossistema (MALAKOOTIAN *et al.*, 2021). Estima-se que aproximadamente 85% das fluoroquinolonas presentes em efluentes podem ser removidas pelos métodos convencionais de tratamento e que somente as tecnologias de oxidação avançada sejam capazes de degradar esses poluentes emergentes (FRADE *et al.*, 2014). Pensando nisso, alguns estudos já foram realizados com o objetivo de detectar e avaliar possíveis métodos alternativos de remoção de CIP em águas superficiais, efluentes hospitalares e esgotos domésticos. Concentrações significativas de CIP já foram encontradas em recursos hídricos: 0,001 mg L⁻¹ em águas superficiais foram reportadas por Malakootian *et al.* (2019) em seus estudos de remoção por oxidação por eletrodo de alumínio; Frade

et al. (2014) reportaram a presença de até $0,124 \text{ mg L}^{-1}$ de CIP em águas de efluentes hospitalares e $0,071 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ em água após tratamento.

Existem várias preocupações acerca da presença de antibióticos, incluindo CIP, em águas superficiais e potável, considerando-se os efeitos negativos que podem ser provocados tanto para a saúde humana quanto para o meio ambiente. Ainda que em baixas quantidades, os antibióticos podem causar vários efeitos nocivos, a saber: toxicidade crônica, distúrbio do sistema endócrino, desordem genética, estímulo de resistência bacteriana e toxicidade direta da microflora, algas e invertebrados (FRADE *et al.*, 2014; MALAKOOTIAN *et al.*, 2021). Além disso, a CIP apresenta uma alta solubilidade em água e resistência à degradação, assim como uma elevada estabilidade em solos em diferentes pHs (MALAKOOTIAN *et al.*, 2021). Dessa forma, seu acúmulo contínuo nos ecossistemas pode amplificar seu potencial de dano para os seres vivos de maneira geral.

Atualmente, os métodos mais utilizados para determinação de compostos farmacêuticos em águas superficiais incluem a cromatografia, sobretudo a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS, do inglês “Liquid Chromatography-Mass Spectrometry”) (LAMARCA *et al.*, 2020; LINDBERG *et al.*, 2004). Utilizando esse método, alguns autores determinaram a presença de ciprofloxacina em esgoto hospitalar utilizando extração em fase sólida e LC-MS e encontraram CIP em concentrações variando de $3,6$ a $101 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (LINDBERG *et al.*, 2004); outros autores estudaram a presença de antibióticos residuais em dois diferentes sistemas de tratamento de água de criação de suínos por meio da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas de alta resolução (HPLC-HRMS, do inglês “High Performance Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry”) e encontraram CIP na concentração de $0,142$ e $0,472 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (WANG, Rui *et al.*, 2019); Mirzaei et al. (2019) analisaram a presença de antibióticos em esgotos urbanos e água de rio por meio de HPLC-MS e detectaram a presença de CIP na concentração de $0,7962 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ a $0,022 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. O mesmo autor encontrou CIP na concentração de $0,2487 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ no efluente após tratamento, confirmando a ineficiência dos meios convencionais de tratamento em remover todo o poluente.

Entretanto, apesar de ser uma técnica amplamente utilizada, a cromatografia líquida exige instrumentos de alto custo, requer solventes em altas quantidades e com elevado grau de pureza (como metanol e acetronitrila) e pode necessitar

de trabalhosas etapas de pré-limpeza/preparo de amostras (LAMARCA *et al.*, 2020). Pensando nisso, Lamarca *et al.* (2020) desenvolveram um imunossensor para detectar ciprofloxacina em amostras de águas superficiais, por meio da imobilização do anticorpo Imunoglobina-G na superfície de um eletrodo serigrafado. O analito CIP foi monitorado por medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, do inglês “Electrochemical Impedance Spectroscopy”). Foi obtida uma faixa linear para CIP de 10^{-5} a $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ e um limite de detecção (LOD) de $2,50 \times 10^{-6} \mu\text{g mL}^{-1}$.

Dessa forma, existe uma crescente preocupação a respeito da presença de antibióticos no meio ambiente e os efeitos adversos que podem acarretar ao ecossistema e à saúde humana. Sendo assim, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos acessíveis e econômicos que sejam capazes de detectar e quantificar a presença desse analito em formulações farmacêuticas, fluidos biológicos e em destaque, amostras de águas superficiais.

3.2. Eletrodos modificados a base de carbon black

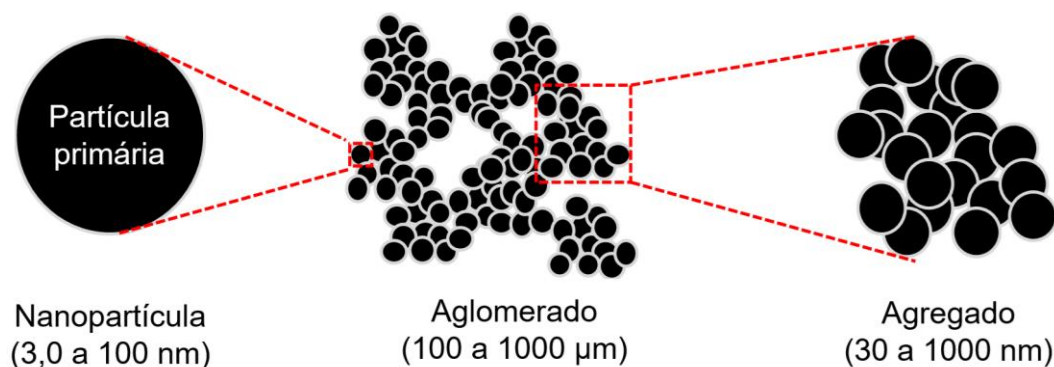
A nanotecnologia é um dos campos mais promissores e inovadores da Ciência e Engenharia de Materiais, onde a habilidade de manipular a matéria em escala nanométrica para criar materiais que exibem propriedades físicas, químicas e biológicas significativamente novas e/ou modificadas tem sido um dos principais propulsores dos avanços nesta área (ADAMS; BARBANTE, 2013; CHEN; LIU, 2011). Materiais em escala nanométrica de diferentes classes já foram sintetizados, com aplicações nas mais diversas áreas, tais como na medicina (NANOBIOTECHNOL *et al.*, 2021), eletrônica (PARK *et al.*, 2020), óptica (FU *et al.*, 2021), biomateriais (SHEBL *et al.*, 2019), armazenamento de dados (YU *et al.*, 2020), catálise (ABDULLAH; AL-AMIERY; AL-BAGHDADI, 2021; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2022), purificação de ar e recursos hídricos (TAHIR, MUHAMMAD BILAL ; RAFIQUE, MUHAMMAD ; RAFIQUE, 2020), entre outros.

No contexto da química eletroanalítica, há necessidade de se desenvolver sensores e biossensores eletroquímicos cada vez mais sensíveis, reproduzíveis e seletivos, sendo o uso de eletrodos quimicamente modificados (EQMs) à base de materiais nanoestruturados uma linha de pesquisa em crescente expansão. Os

EQMs são caracterizados pela modificação da superfície de um eletrodo base convencional com espécies eletroativas com objetivo de alterar as propriedades eletroquímicas da interface eletrodo/solução (LUO, 2023). O uso de nanomateriais como modificadores para manipular a superfície eletródica possibilita a melhoria na capacidade de reconhecimento e amplificação de sinais analíticos (corrente, carga ou potencial). Ao mesmo tempo, pode tornar as determinações mais seletivas pelo efeito eletrocatalítico comparado aos eletrodos convencionais (ZHU *et al.*, 2015).

Um nanomaterial que tem se destacado no design de novos eletrodos modificados é o carbon black (CB, em português “negro de fumo”), um nanomaterial condutivo de carbono de baixíssimo custo (em média R\$ 4,00 por kg). As nanopartículas de CB são compostas por uma estrutura amorfa e quase grafitica, com diâmetro médio de partícula variando de 3,0 a 100 nm (SILVA; FATIBELLO-FILHO, 2017; SILVA; WONG; FATIBELLO-FILHO, 2020b). Esse material apresenta um conjunto de propriedades notáveis, como elevada área superficial em relação ao volume e elevada condutividade elétrica e térmica, além da capacidade das nanopartículas em formar agregados de morfologia semiesférica, que por sua vez dão origem a aglomerados de dimensões superiores (SILVA *et al.*, 2017). Essa formação de agregados pode ser observada na Figura 3.

Figura 3 - Representação esquemática das nanopartículas de CB e respectivas estruturas de aglomerados e agregados formados



Fonte: Adaptado de Silva *et al.* (2017).

Devido às suas propriedades químicas e físicas, o CB tem sido utilizado nas mais diversas áreas da vida moderna, incluindo aplicações em tintas de impressora, reforços para borracha, aditivo para materiais plásticos condutores e como pigmento em tintas (LONG; NASCARELLA; VALBERG, 2013; SILVA *et al.*, 2017).

Além das características estruturais e elétricas supramencionadas, o CB possui a habilidade de formar dispersões estáveis sem a necessidade de procedimentos sofisticados (SILVA; WONG; FATIBELLO-FILHO, 2020b). Os eletrodos de CB são facilmente modificados com outros materiais, como nanopartículas metálicas (FIGUEIREDO-FILHO *et al.*, 2014) e polímeros (LI, Chun-Ting *et al.*, 2016). Isso torna o CB um interessante nanomaterial para o desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos. Usualmente, o CB é empregado na fabricação de eletrodos modificados na forma de filmes deste nanomaterial ou baseados em compósitos.

O desempenho eletroquímico e analítico de eletrodos de trabalho modificados com CB é comparável a eletrodos modificados com outros materiais carbonáceos bem conhecidos e explorados no campo da eletroanalítica, como nanotubos de carbono, fulereno (C₆₀) e grafeno (SILVA *et al.*, 2017). Nesse contexto, diferentes autores estudaram a resposta eletroquímica do neurotransmissor dopamina utilizando eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês “Glassy Carbon Electrode”) modificado com diferentes nanomateriais de carbono, por meio de procedimentos similares de modificação do eletrodo base. Sheng *et al.* (2012) estudaram a resposta do neurotransmissor utilizando eletrodo modificado com grafeno (SHENG *et al.*, 2012) e obtiveram uma faixa de concentração linear de $5,0 \times 10^{-7}$ a $1,7 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹; Habibi e PournaghiAzar (2010) utilizaram nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs, do inglês “Multi-walled Carbon Nanotubes”) e obtiveram uma faixa linear de concentração linear de $5,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (HABIBI; POURNAGHI-AZAR, 2010); Zhang *et al.* (2015) modificou o eletrodo utilizando fulereno e obtiveram uma faixa de concentração linear de $5,0 \times 10^{-7}$ a $2,11 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (ZHANG; MA; ZHANG, 2015), enquanto Vicentini *et al.* (2016) utilizou eletrodo a base de CB para determinação de dopamina em fluidos biológicos e obteve uma faixa de concentração linear de $5,99 \times 10^{-7}$ a $1,18 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (VICENTINI *et al.*, 2016). Além disso, os limites de detecção para os eletrodos a base de grafeno, MWCNTs,

fulereno e CB nos trabalhos mencionados foram, respectivamente: $2,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$; $3,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$; $7,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,24 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Nota-se que em todos esses trabalhos foram obtidas, por meio de técnicas voltamétricas, amplas faixas lineares de concentração e que o sensor modificado com CB apresentou um limite de detecção na mesma ordem de grandeza que os sensores modificados com grafeno, nanotubos de carbono e fulereno.

Outro trabalho envolvendo a resposta eletroquímica de um analito utilizando sensores eletroquímicos modificados com nanomateriais carbonáceos foi desenvolvido por Compton et al. (2012). Os autores compararam a resposta eletroanalítica da nicotina utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com MWCNTs e CB por meio da voltametria adsortiva de redissolução, obtendo os respectivos valores de LOD: $5,0 \pm 0,3 \times 10^{-6}$ e $2,0 \pm 0,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (LO; ALDOUS; COMPTON, 2012).

O carbon black é um material relativamente novo no campo da eletroanalítica, com os primeiros trabalhos utilizando CB como modificadores de sensores eletroquímicos tendo sido desenvolvido por volta dos anos 2000 por Dang et al. (X. DANG, C. HU, Y. WEI, 2004) e por Zhang (ZHANG, 2005). Entretanto, estudos recentes têm demonstrado que o CB é um material promissor, apresentando desempenho comparável a outros materiais carbonáceos.

3.3. Nanopartículas

Os nanomateriais são materiais sólidos com dimensão entre 1 e 100 nm. Eles apresentam propriedades distintas daquelas observadas no material de mesma composição e em maior escala (GAHLAWAT; CHOUDHURY, 2019). Possuem uma elevada área superficial em relação ao volume, o que é a base das novas propriedades físicas e químicas exibidas por esses materiais (CHEN; LIU, 2011) e, devido às suas características únicas, têm sido amplamente estudados e aplicados nas mais diversas áreas como em equipamentos eletrônicos, sensores eletroquímicos, catalisadores, tratamentos médicos e em transporte de fármacos.

O comportamento dos nanomateriais pode ser explicado pelos fenômenos que ocorrem em sua interface. Enquanto nos macromateriais apenas uma pequena quantidade de átomos e moléculas estão próximos à sua superfície, nos

nanomateriais a maior parte desses elementos encontram-se no limite da nanopartícula. A interação com outras moléculas interfere nas propriedades de superfície como reatividade, níveis de energia e estrutura eletrônica. Assim, em escala nano, a coleção de átomos e moléculas têm propriedades diferentes daquelas que teriam tanto individualmente quanto em massa (AHMED *et al.*, 2016; CHEN; LIU, 2011).

As nanopartículas podem ser de materiais metálicos, cerâmicos, poliméricos ou compósitos. Destes, as nanopartículas metálicas têm sido amplamente exploradas devido às suas características únicas como atividade catalítica, antibacteriana e antitumoral, além de suas propriedades óticas e magnéticas (GAHLAWAT; CHOUDHURY, 2019). Além disso, para nanopartículas metálicas, efeitos eletrônicos interessantes são esperados para partículas com dimensões entre 1-10 nm, na qual recebem o nome de colóides (CHEN; LIU, 2011).

As nanopartículas metálicas podem ser sintetizadas a partir de duas estratégias: “*top down*” (de cima pra baixo) ou “*bottom up*” (de baixo para cima). Na “*top down*”, a nanopartícula é obtida quebrando-se o material macroscópico em partículas em escala nano através de métodos físicos como moagem, esmerilhamento, pulverização catódica, ablação térmica e deposição de vapor. Já nas estratégias do tipo “*bottom up*”, a nanopartícula é produzida por métodos químicos no qual os íons do metal sofrem redução a átomos na presença de um agente redutor e de estabilizadores, seguido pela agregação controlada dos átomos (CHEN; LIU, 2011; GAHLAWAT; CHOUDHURY, 2019). Alguns autores mais recentes, como Gahlawat (2019) e Salnus *et al.* (2022), defendem a ideia de que a estratégia “*bottom up*” também pode ser alcançada por métodos biológicos, como será discutido mais adiante no tópico sobre síntese verde.

Em relação aos métodos físicos, os métodos químicos de produção de nanopartículas apresentam como vantagem a geração de partículas menores e mais uniformes. Além disso, os métodos físicos apresentam como desvantagem a necessidade de utilização de uma grande quantidade de energia e um menor rendimento (AHMED *et al.*, 2016; CHEN; LIU, 2011). Assim, os métodos químicos tem sido mais utilizados por serem mais viáveis economicamente e por produzirem partículas mais homogêneas, com alta precisão de formato e tamanho (GAHLAWAT; CHOUDHURY, 2019). Entretanto, embora a síntese química seja mais popular, ela requer o uso de agentes redutores, como hidrazina, bitartarato

de potássio e borohidreto de sódio, que são tóxicos e cancerígenos, além de resultar na formação de subprodutos prejudiciais ao meio ambiente (HEBBALALU *et al.*, 2013). No campo biomédico, tais fatores também limitam muito a aplicação de nanopartículas sintetizadas por métodos químicos devido à toxicidade e menor biocompatibilidade (GAHLAWAT; CHOUDHURY, 2019).

Dessa forma, o desenvolvimento de métodos confiáveis, não tóxicos e ecologicamente corretos que sejam capazes de efetivamente modular o tamanho, morfologia, estabilidade e as características das nanopartículas tem sido uma das principais áreas de pesquisa na síntese de nanomateriais (GAHLAWAT; CHOUDHURY, 2019). Uma das alternativas que vem se destacando na síntese desses nanomateriais metálicos nas últimas décadas é o uso de micro-organismos ou extratos vegetais como agentes redutores e estabilizadores. Esse método de síntese passou a ser conhecido como “síntese verde”.

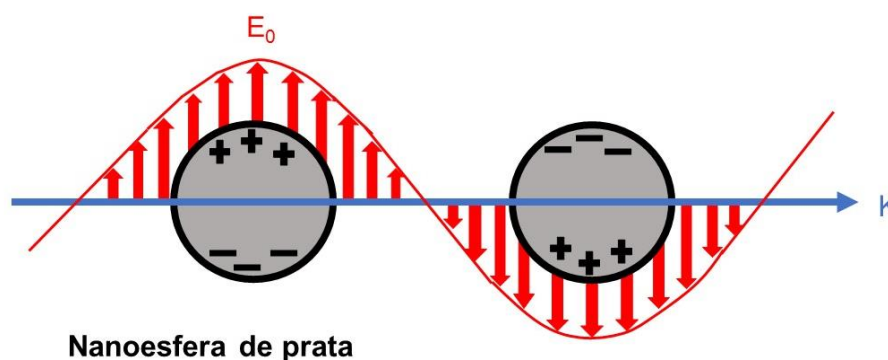
3.3.1. Nanopartículas de prata

Dentre os nanomateriais metálicos, as nanopartículas de prata (AgNPs) e ouro (AuNPs) tem atraído bastante atenção com uma extensa gama de aplicações no campo tecnológico, como em equipamentos eletrônicos, equipamentos ópticos, sensores biológicos e catálise (CHEN; LIU, 2011). O destaque vai para as nanopartículas de prata, que devido às suas propriedades únicas como estabilidade química, boa condutividade, atividade catalítica, além de atividade antibacteriana, antiviral, antifúngica e anti-inflamatória, ganhou interesse ilimitado no campo da nanotecnologia (AHMED *et al.*, 2016).

Uma característica bastante interessante apresentada exclusivamente pelos nanomateriais metálicos é a Ressonância de Plasmas de Superfície Localizada (LSPR, do inglês “Localized Surface Plasmon Resonance”). Esse fenômeno ocorre quando a luz incide sobre uma nanopartícula metálica de dimensão menor que o comprimento de onda da luz, de forma que o campo eletromagnético sobre toda a partícula é uniforme. Como o campo oscila para frente e para trás, os elétrons de condução fracamente ligados à superfície do metal irão responder coletivamente e, a uma certa frequência de excitação, a oscilação dos elétrons entrará em ressonância com a luz incidente, resultando em uma forte oscilação dos elétrons da superfície (KANG *et al.*, 2019; RYCENGA *et*

al., 2011). Esse fenômeno pode ser observado na Figura 4.

Figura 4 - Ilustração esquemática de ressonância de plasmons de superfície de uma nanopartícula em um campo elétrico de comprimento de onda muito maior que a dimensão da partícula



Fonte: Adaptada de Rycenga et al. (2011).

Os materiais plasmônicos podem servir como antena para converter luz em campos elétricos localizados ou como guia para direcionar a luz para determinada direção com nanômetros de precisão. Também estão relacionadas com tecnologias avançadas como superlentes, computação quântica e com a possibilidade de surgimento de manto de invisibilidade (RYCENGA *et al.*, 2011). Nanopartículas de ouro e prata são os materiais mais frequentemente usados em aplicações plasmônicas, e apesar da prata oferecer vantagens em relação ao ouro, como maior condutividade e suportar uma ampla faixa de LSPR nas regiões do visível e infravermelho próximo, entre 300 nm a 1200 nm, tem sido menos aplicada para fins plasmônicos devido à sua maior facilidade em sofrer oxidação quando em contato com o ar (KANG *et al.*, 2019).

3.3.1.1. Síntese convencional de AgNPs

A síntese das nanopartículas de prata geralmente é realizada empregando-se uma das duas técnicas já mencionadas: “*top down*” ou “*bottom up*”. Na estratégia “*bottom up*”, realizada por redução química dos cátions Ag^+ , a síntese das AgNPs requer três compostos químicos funcionais: um precursor de íons prata (Ag^+), um solvente e um agente redutor/estabilizador (KANG *et al.*, 2019). Esta é a estratégia mais comum de síntese e diferentes agentes redutores como

ascorbato, citrato de sódio, N-N-dimetil formaldeído (DMF), borohidreto de sódio (NaBH_4), hidrogênio elementar, reagente de Tollens e etileno glicol são utilizados na redução de íons Ag^+ a Ag^0 (AHMED *et al.*, 2016; MUSTAPHA *et al.*, 2022). Uma das grandes vantagens desse método é a elevada quantidade de nanopartículas produzidas em um curto intervalo de tempo, além da formação de partículas uniformes.

No “*top down*”, nanopartículas de prata são geralmente produzidas por evaporação-condensação utilizando um forno em tubo à pressão atmosférica. Essa técnica apresenta algumas desvantagens como alto consumo de energia, aumento da temperatura na região vizinha, considerável tempo para o sistema atingir a estabilidade térmica e, principalmente, o fato de produzir nanopartículas com superfície irregular (AHMED *et al.*, 2016). Como as propriedades físico-químicas das nanopartículas são altamente dependentes da estrutura da superfície, isso prejudica o produto final e sobretudo sua aplicabilidade.

Na redução química, AgNO_3 é o precursor de íons Ag^+ mais amplamente utilizado. Polímeros e surfactantes são normalmente empregados como estabilizantes das nanopartículas antes e após a nucleação e crescimento e, em alguns casos, são também responsáveis por seu tamanho e formato (RYCENGA *et al.*, 2011). Assim, na síntese de nanopartículas em solução, o uso de estabilizadores confere às nanopartículas estabilidade e sem estabilizadores adequados, as partículas tendem a se agregar ou se dissolver, tornando-as desfuncionais. Dessa forma, a função dos estabilizadores está relacionada ao controle do tamanho e da forma e da prevenção da formação de agregados, além de permitir o armazenamento do nanomaterial a longo prazo (KANG *et al.*, 2019).

Redução por citrato de sódio é o método mais popular utilizado para produzir grandes quantidades de nanopartículas, já que não necessita de habilidades laboratoriais sofisticadas, além de o citrato atuar tanto como agente redutor quanto estabilizante. Entretanto, apresenta como desvantagem a produção de uma ampla variedade de tamanhos (20-600 nm) e formas (poliedros e planos) em uma única reação (KANG *et al.*, 2019).

Já o uso de poliol como agente redutor é uma alternativa robusta e versátil para a síntese de AgNPs, sendo possível alcançar uma ampla variedade de tamanhos e formas a depender das condições de reação empregadas, como temperatura, concentração dos reagentes e traços de íons (Cl^- , Br^- , Fe^{2+}),

alcançando-se um alto grau de controle sobre as etapas de nucleação e crescimento do grão. Os poliois mais utilizados são etilenoglicol, 1,2-propilenoglicol e 1,5-pentenodiol e atuam como solvente e agente redutor. O formato do nanomaterial alcançado depende fortemente do estabilizador presente na solução: citrato produz octaedros como produto primário, ao passo que PVP (polivinil pirrolidona) produz preferencialmente estruturas cúbicas (RYCENGA *et al.*, 2011).

Uma alternativa de síntese que se tornou bastante popular nos últimos anos é o uso de nanocristais pré-formados como sementes para serem utilizadas em crescimento, de forma que nucleação e crescimento ocorrem em etapas separadas. Essa técnica não só permite a manipulação do tamanho ou proporção de uma nanoestrutura como também fornece uma rota robusta para novas formas ao manipular as taxas de crescimento de diferentes facetas cristalográficas. Essa forma de síntese pode ser homogênea, quando a semente é composta do mesmo metal que os átomos sendo depositados em sua superfície (processo homoepitaxial) ou heterogêneo, quando a semente e os átomos adicionados são quimicamente diferentes (processo heteroepitaxial). Estudos recentes têm demonstrado que a taxa de crescimento de faces específicas da nanoestrutura de Ag depende do agente estabilizador utilizado: citrato lidera a formação de nanopartículas octaédricas, enquanto PVP favorece o crescimento de nanotubos e nanobarras. Nos processos heteroepitaxiais é importante que os parâmetros de rede entre a semente e o metal depositado sejam semelhantes, já que grandes diferenças nos parâmetros de rede podem resultar em estruturas inesperadas com geometria muito diferente da semente original. Um uso comum é a deposição de Ag sobre sementes de Au para criar placas facetadas mais espessas, já que esses elementos possuem parâmetro de rede que se diferem em apenas 0,25% (RYCENGA *et al.*, 2011).

A estratégia de síntese por redução eletroquímica também pode ser utilizada na produção de nanopartículas metálicas. Ela foi primeiro reportada em 1994 por Reetz *et al.* e envolve meios não aquosos onde os sais do metal são reduzidos no cátodo (REETZ; HELBIG, 1994). Um estabilizador, geralmente um sal de tetraalquilamônio, é requerido para evitar agregação indiscriminada em solução, bem como evitar que todas as partículas se aglomerem na superfície do cátodo (KANG *et al.*, 2019).

3.3.1.2. Síntese verde de AgNPs

Nos últimos anos, várias técnicas tem sido desenvolvidas para a síntese de AgNPs, incluindo processos químicos, físicos e biológicos. A síntese biológica, também conhecida como síntese verde, é intermediada por micro-organismos como bactérias, fungos, algas e vírus (GAHLAWAT; CHOUDHURY, 2019) ou por extrato de partes de plantas como folhas, cascas e raízes (VANLALVENI *et al.*, 2021) na redução e estabilização das nanopartículas. Estudos recentes têm demonstrado que a síntese biológica tem grande potencial para ser utilizada e apresenta como vantagens sobre os processos químicos e físicos o fato de ser ambientalmente correta, livre de reagentes tóxicos, apresentar menor custo e ser facilmente dimensionada para síntese em grande escala (GAHLAWAT; CHOUDHURY, 2019; SALNUS *et al.*, 2022), além de não necessitar de altas pressões e temperaturas (AHMED *et al.*, 2016).

Em relação à síntese verde intermediada por micro-organismos, é importante salientar que diferentes micro-organismos possuem diferentes mecanismos de síntese. De maneira geral, as nanopartículas são usualmente formadas pela captura do íon do metal de interesse do meio pelo agente biológico seguido pela redução do íon Ag^+ a Ag^0 através de enzimas produzidas na atividade celular. Esse processo de transformação pode ser intracelular, quando a redução ocorre dentro da célula, ou extracelular, quando o íon se liga à superfície externa da célula, onde as nanopartículas são formadas (LI, Xiangqian *et al.*, 2011).

Um dos primeiros trabalhos utilizando micro-organismos para síntese de AgNPs foi realizado por Klaus *et al.* em 1999 utilizando a bactéria *Pseudomonas stutzeri* (KLAUS *et al.*, 1999). Alguns trabalhos levantados por Gahlawat (2019) e por Mustapha *et al.* (2022) sobre síntese de AgNPs intermediada por micro-organismos podem ser observados na Tabela 1.

Já na síntese verde intermediada por extratos vegetais, extratos de diferentes partes da planta como folhas, flores, sementes, frutos e raízes podem ser utilizadas na bio-redução do íon metálico à nanopartícula. As moléculas bioativas encontradas nas plantas incluem enzimas, polissacarídeos, aminoácidos, vitaminas, proteínas e ácidos orgânicos como os citratos, que são potencialmente capazes de reduzir íons metálicos (MUSTAPHA *et al.*, 2022).

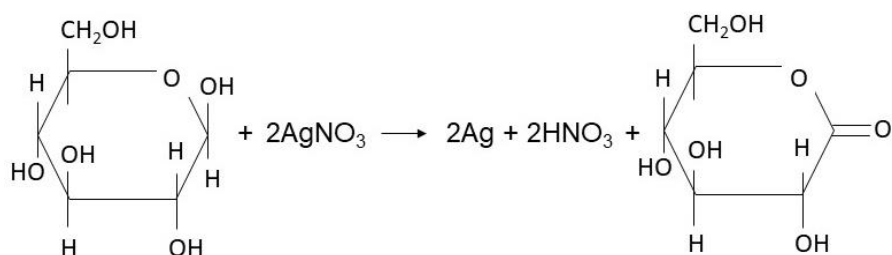
Tabela 1 - Síntese de AgNPs por micro-organismos. Adaptado de Mustapha et al. (2022) e Gahlawat (2019)

Micro-organismo	Tamanho médio (nm)	Formato	Referência
Fungo	<i>Fusarium oxysporum</i>	5-13	Esférico (HUSSEINY; SALAH; ANTER, 2015)
	<i>Guignardia mangiferae</i>	5-30	Esférico (BALAKUMARAN; RAMACHANDRAN; KALAICHELVAN, 2015)
	<i>Arthroderma fulvum</i>	21	Esférico (WANG, Li et al., 2016)
	<i>Duddingtonia flagrans</i>	30-409	Esférico (COSTA SILVA et al., 2017)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2-20	Esférico (KORBKANDI et al., 2016)
	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	11	Esférico (SALVADORI et al., 2017)
	<i>Rhodotorula glutinis</i>	15	Esférico (CUNHA et al., 2018)
	<i>Candida glabrata</i>	2-15	Esférico (JALAL et al., 2018)
Bactéria	<i>Escherichia coli</i>	1,2-62	Esférico – quase esférico (GARIBO et al., 2020)
	<i>Bacillus methylotrophicus</i>	10-30	Esférico (WANG, Chao et al., 2015)
	<i>Rhodococcus spp.</i>	5-50	Esférico (OTARI et al., 2015)
	<i>Bacillus brevis NCIM</i>	41-68	Esférico (SARAVANAN et al., 2018)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	50-100	Cúbico e estrelado (MÜLLER et al., 2016)
	<i>Rhodotorula glutinis</i>	4–50	Esférico (DEOBAGKAR et al., 2015)
Alga	<i>Spirogyra varians</i>	35	Quase esférico (SALARI et al., 2016)
	<i>Caulerpa racemosa</i>	5-25	Esférico e triangular (KATHIRAVEN et al., 2015)

Um exemplo de reação de redução de íons Ag^+ à prata metálica utilizando um sacarídeo como agente redutor por ser observada na Figura 5.

Geralmente, o extrato vegetal atua tanto como o agente redutor dos íons metálicos quanto estabilizador das nanopartículas metálicas, e o tamanho da nanopartícula pode ser controlado pela concentração do extrato (HEBBALALU et al., 2013). De maneira geral, a síntese por extratos vegetais é vantajosa sobre a síntese microbiológica, sobretudo em escala industrial, por não necessitar de condições especiais de assepsia e de processos sofisticados para manter a cultura celular, além de apresentar menor risco biológico (AHMED et al., 2016).

Figura 5 - Reação de redução da prata e oxidação da glicose



Fonte: Meireles (2023).

Gardeal et al. (2003) realizou o primeiro trabalho de síntese de nanopartículas metálicas por extrato vegetal utilizando *Alfalfa Sprouts* (GARDEA-TORRESDEY *et al.*, 2003). Desde então, vários outros autores seguiram sintetizando AgNPs pelo uso de extratos vegetais, como Saxena e Tripath (2010) que utilizaram extrato de *Allium cepa* (SAXENA; TRIPATHI; SINGH, 2010) e Nishibuchi et al. (2012) que utilizaram extrato de *Camellia sinensis* (NISHIBUCHI *et al.*, 2012) na síntese de AgNPs. Autores mais recentes como Brito et al. (2022), Dias et al. (2021) e Dada et al. (2019) sintetizaram nanopartículas de prata utilizando-se extrato vegetais das plantas *Mimosa tenuiflora*, *Podocarpus lambertii* e *Acalypha wilkesiana*, respectivamente (BRITO; VIANA; VIANA, 2022; DADA *et al.*, 2019; DIAS *et al.*, 2021).

Alguns trabalhos levantados por Mustapha et al. (2022) sobre síntese de AgNPs intermediada por extratos vegetais como agentes redutores e estabilizadores das AgNPs podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2 - Síntese de AgNPs por extratos vegetais. Adaptado de Mustapha et al. (2022)

Espécie	Parte utilizada	Tamanho	Forma	Referência
<i>Nauclea latifolia</i>	Fruto	10	Irregular	(ODENIYI et al., 2020)
<i>Citrus sinensis</i>	Casca	10-70	Esférico	(NILUXSSHUN; MASILAMANI; MATHIVENTHAN, 2021)
<i>Cynara scolymus</i>	Extrato de folhas	98,47 ± 2,04	Esférico	(ERDOGAN et al., 2019)
Peanut	Extrato de casca	10-50	Esférico/Oval	(VELMURUGAN et al., 2015)
<i>Citrus limon</i>	Casca	59	Esférica	(ALKHULAIFI et al., 2020)

Assim, como já mencionado, a síntese verde apresenta diversas vantagens sobre os outros métodos de síntese, como o baixo custo, o fato de ser ambientalmente correta, a facilidade de ser adaptada para a produção de nanopartículas em larga escala, além de não necessitar de elevadas pressões e temperaturas e, sobretudo, dispensar o uso de substâncias químicas tóxicas.

3.3.1.3. Caracterização de AgNPs

Uma vez sintetizadas, seja por métodos tradicionais ou por via verde, as nanopartículas de prata devem ser caracterizadas para uma melhor compreensão de sua estrutura e morfologia. Por serem muito pequenas para serem visualizadas por microscópios óticos convencionais, é essencial o uso de ferramentas adequadas para caracterizar sua estrutura e detalhar sua superfície. Exemplos são as técnicas de XRD (difração de Raios-X), STM (microscopia de varredura de tunelamento), AFM (microscopia de força atômica), SEM (microscopia eletrônica de varredura), TEM (microscopia eletrônica de transmissão), EXAFS (espectroscopia de absorção de Raios-X) e XANES (absorção de Raio-X próximo à estrutura da borda), EDX (energia dispersiva de Raio-X), XPS (espectroscopia fotoelétrica de Raios-X), IR (infravermelho), Raman e DLS (espalhamento dinâmico de luz).

A escolha da técnica depende da informação desejada: XRD é uma ótima técnica para determinar a estrutura cristalina de materiais cristalinos; AFM, STM e SEM são técnicas para a visualização da morfologia de superfícies, TEM é uma ferramenta de alta resolução espacial de estrutura e caracterização química, já as técnicas de espectroscopia baseada em Raios-X (XRD, EXAFS, XANES, EDX e XPS) são utilizadas para determinar a composição química dos materiais.

3.3.1.4. Eletrodos modificados a base de AgNPs

Muitos trabalhos sobre sensores eletroquímicos modificados com nanopartículas de prata têm sido desenvolvidos com o intuito de melhorar a sensibilidade e seletividade dos sensores a determinados analitos. Anshori et al. (2021) estudaram o efeito sinérgico de nanotubos de carbono funcionalizado (f-MWCNT) e AgNPs depositados sobre eletrodos de carbono vítreo para detecção

de dopamina e obtiveram um limite de detecção de $0,2778 \mu\text{mol L}^{-1}$, inferior à concentração típica de dopamina na urina humana, que se encontra na faixa de $0,3 - 3 \mu\text{mol L}^{-1}$ (ANSHORI *et al.*, 2021). Além disso, o resultado de voltametria cíclica (CV, do inglês “Cyclic Voltammetry”) do eletrodo modificado com f-MWCNT mostrou um aumento da densidade de corrente ao longo da varredura de potenciais e um aumento ainda maior para o f-MWCNT-AgNPs-GCE. Esse fenômeno mostra a propriedade condutora e a capacidade do nanocompósito f-MWCNT-AgNPs em aumentar a área superficial do eletrodo de trabalho.

Arkan *et al.* (2014) desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com líquido iônico e AgNPs para detecção de levetiracetam (LEV) em plasma humano e comprimidos farmacêuticos. O sensor exibiu uma resposta rápida para LEV com uma faixa linear de concentração de 1 a 300 ng mL^{-1} e LOD de $0,7 \text{ ng mL}^{-1}$. Comparado ao eletrodo de pasta de carbono e líquido iônico (CILE, do inglês “Carbon Ionic Liquid Electrodes”), a corrente de pico para eletro-oxidação de levetiracetam foi significativamente maior para o eletrodo modificado com AgNPs (ARKAN *et al.*, 2014).

Ghiaci *et al.* (2016) avaliaram a eficiência de sensor eletroquímico a base de eletrodo de pasta de carbono (CPE, do inglês “Carbon Paste Electrode”) modificado com AgNPs e sílica dopada com dois diferentes compostos amínicos ($\text{SiO}_2\text{-pro-NH-cyanuric-NH}_2$ e $\text{SiO}_2\text{-pro-NH}_2$) para a detecção de glicose em soro de sangue humano. Todos os experimentos apontaram que os sensores modificados apresentaram melhores propriedades eletroquímicas em relação ao eletrodo não modificado, sendo que o sensor modificado com AgNP- $\text{SiO}_2\text{-pro-NH-cyanuric-NH}_2$ apresentou uma faixa linear na concentração de $28,6 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $9,80 \text{ mmol L}^{-1}$ de glicose, com limite de detecção de $5,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ e sensibilidade de $540,7 \mu\text{A L mmol}^{-1}$ (GHIACI *et al.*, 2016).

Li *et al.* (2013) sintetizaram um nanocompósito a base de AgNPs e óxido de grafeno (GO, do inglês “Graphene Oxide”) e o utilizaram como modificador de eletrodo base GCE na detecção de triptofano. Os resultados demonstraram que o sensor AgNPs-GO-GCE exibiu uma atividade distintivamente maior para a eletro-oxidação do triptofano do que o GO-GCE com um aumento de dez vezes da corrente de pico. Foram obtidas duas faixas lineares, uma de $0,01$ a $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e outra de $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $800,00 \mu\text{mol L}^{-1}$. Foi encontrado um limite de detecção de $0,002 \mu\text{mol L}^{-1}$. Nesse trabalho, as AgNPs foram sintetizadas por via verde

utilizando glicose como agente redutor e estabilizador das nanopartículas (LI, Junhua *et al.*, 2013).

Liu *et al.* (2010) utilizaram nanocristais de celulose carboxilada na produção de AgNPs, a qual foram aproveitadas na detecção eletroquímica de DNA hibridizado por meio da modificação de eletrodo base GCE. Eles obtiveram uma faixa linear de 10^{-7} a 10^{-11} mol L⁻¹ e um limite de detecção de 0,023 nmol L⁻¹, concluindo que o método foi sensível e seletivo (LIU *et al.*, 2011).

Khalifa *et al.* (2020) empregaram mucilagem (secreção de origem vegetal rica em polissacarídeos) contendo AgNPs como modificadores de eletrodo base GCE para detecção eletroquímica da glicose. Para tanto, o compósito mucilage-AgNPs foi produzido pela redução química direta de íons Ag⁺ utilizando extrato vegetal da planta *Opuntia ficus-indica*. Nesse trabalho, a detecção da glicose foi realizada por duas vias: oxidação da glicose e inibição por nanopartículas de prata. O sensor baseado na oxidação da glicose apresentou um limite de detecção de 0,01 mmol L⁻¹ e uma faixa linear de resposta de 0,01 mmol L⁻¹ a 2,2 mmol L⁻¹, ao passo que a detecção indireta de glicose por inibição por AgNPs apresentou um limite de detecção de 0,1 mmol L⁻¹ e uma faixa linear de 0,1 a 1,9 mmol L⁻¹ (KHALIFA *et al.*, 2020).

Outro interessante trabalho utilizando AgNPs foi desenvolvido por Santos *et al.* (2018), no qual foi utilizado um eletrodo de carbono vítreo modificado com grafeno funcionalizado (FG, do inglês "Functionalized Graphene"), líquido iônico (IL) e AgNPs na detecção eletroquímica simultânea dos medicamentos salbutamol (SAL) e propranolol (PRO). O eletrodo AgNP-IL-FG-NF/GCE apresentou, durante os experimentos de voltametria cíclica, uma corrente de pico com um fator de aumento de 2,4 para o SAL e de 3,2 para o PRO em relação ao eletrodo base, além de uma resposta linear de 0,079 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 2,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para SAL e de 0,1 a 2,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para PRO, com limites de detecção de 0,013 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,017 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente (SANTOS; WONG; FATIBELLO-FILHO, 2018).

Sendo assim, estudos recentes têm demonstrado que as nanopartículas de prata se apresentam como uma ótima alternativa como modificador de sensores eletroquímicos, promovendo um efeito sinérgico com outros materiais, além da boa repetibilidade e reprodutibilidade, razão pela qual esse nanomaterial foi escolhido na realização desse trabalho.

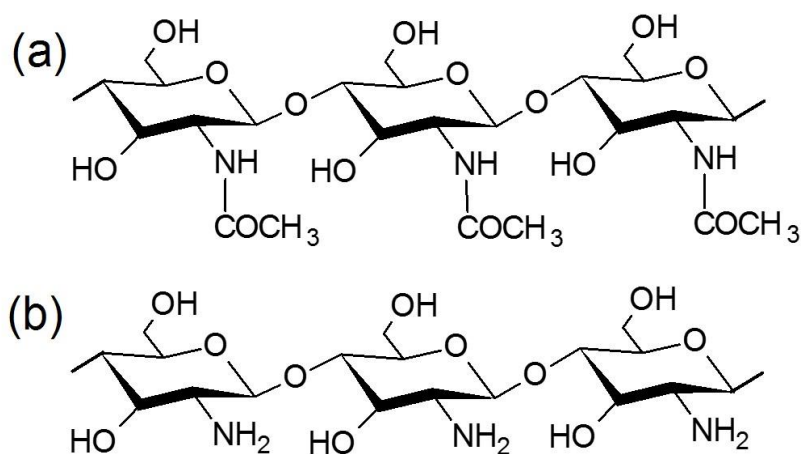
3.4. Quitosana: Bio-polímero versátil no preparo de EQMs

A quitosana (Ch, do inglês “Chitosan”) é um bio-polímero obtido quimicamente a partir da quitina, a qual é um polissacarídeo constituinte do exoesqueleto de insetos e crustáceos e é considerado o segundo composto mais abundante na natureza, atrás apenas da celulose (SHARIATINIA, 2019). Por ser um subproduto da indústria pesqueira e devido à sua abundância natural, mais de 1.000 toneladas de quitina são descartadas por ano, sendo que 70% são provenientes de espécies marinas (ISLAM; BHUIYAN; ISLAM, 2017). A quitina pode ser extraída dos exoesqueletos por processos químicos de desmineralização e desproteinização (AZEVEDO *et al.*, 2007; RINAUDO, 2006).

A estrutura química da quitosana baseia-se em unidades de N-acetil-D-glucosamina unidas por ligações glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4). A quitosana é preparada a partir da quitina por uma reação de desacetilação. Nas Figuras 6 (a) e (b) são contrastadas as estruturas químicas destes dois bio-polímeros.

A quitosana é atrativa para aplicações diversas, levando-se em conta as suas propriedades físico-químicas como não-toxicidade, biocompatibilidade, estabilidade química e resistência mecânica. Devido a este conjunto de propriedades, juntamente ao fato de que muitos grupos hidroxila e amino encontram-se disponíveis ao longo da estrutura da quitosana, este bio-polímero tem encontrado utilidade em diferentes setores, como no tratamento de águas e em indústrias farmacêuticas e bioquímicas.

Figura 6 - Estrutura química da (a) quitina e (b) quitosana



Fonte: Adaptado de Islam et al. (2017)

No contexto da química eletroanalítica, a quitosana pode ser explorada de várias formas. Em um primeiro exemplo prático, as propriedades de adsorção de diferentes cátions metálicos da quitosana, levou ao desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono modificados com quitosana para a detecção de metais como Pb^{2+} (VICENTINI *et al.*, 2014), Hg^{2+} (JANEGITZ *et al.*, 2011), Cd^{2+} (JANEGITZ *et al.*, 2011) e Cu^{2+} (SHEBL *et al.*, 2019) em níveis de traço. Os grupos funcionais, especialmente amino, presentes na estrutura da quitosana funcionam como sítios para adsorção via complexação destes íons metálicos com constantes de formação relativamente altas (RAVI KUMAR, 2000). A partir da complexação, uma quantidade maior de íons do analito pode ser pré-concentrada sobre a superfície eletródica, resultando em uma corrente de redissolução anódica significativamente superior àquela verificada para eletrodos de pasta preparados sem o uso de quitosana.

Em outra abordagem, a quitosana é explorada na preparação de filmes sobre superfícies eletródicas tradicionais incorporando algum agente modificador de interesse, de forma a prover um eletrodo modificado com propriedades eletroquímicas aprimoradas, como melhor taxa de transferência de elétrons e área superficial. A quitosana pode ser solubilizada em meio aquoso na presença de um ácido orgânico fraco (BABAEI; AFRASIABI; BABAZADEH, 2010). Assim, uma prática comum é realizar a dissolução da quitosana em meio de ácido acético diluído (por exemplo 1,0 % v/v). A partir disso, a um volume conhecido de quitosana é misturada uma massa ou volume do modificador de interesse, e a mistura é mantida em um banho de ultrassom para obtenção de uma dispersão homogênea e estável, que pode, em seguida, ser diretamente aplicada para modificação da superfície do eletrodo base de interesse.

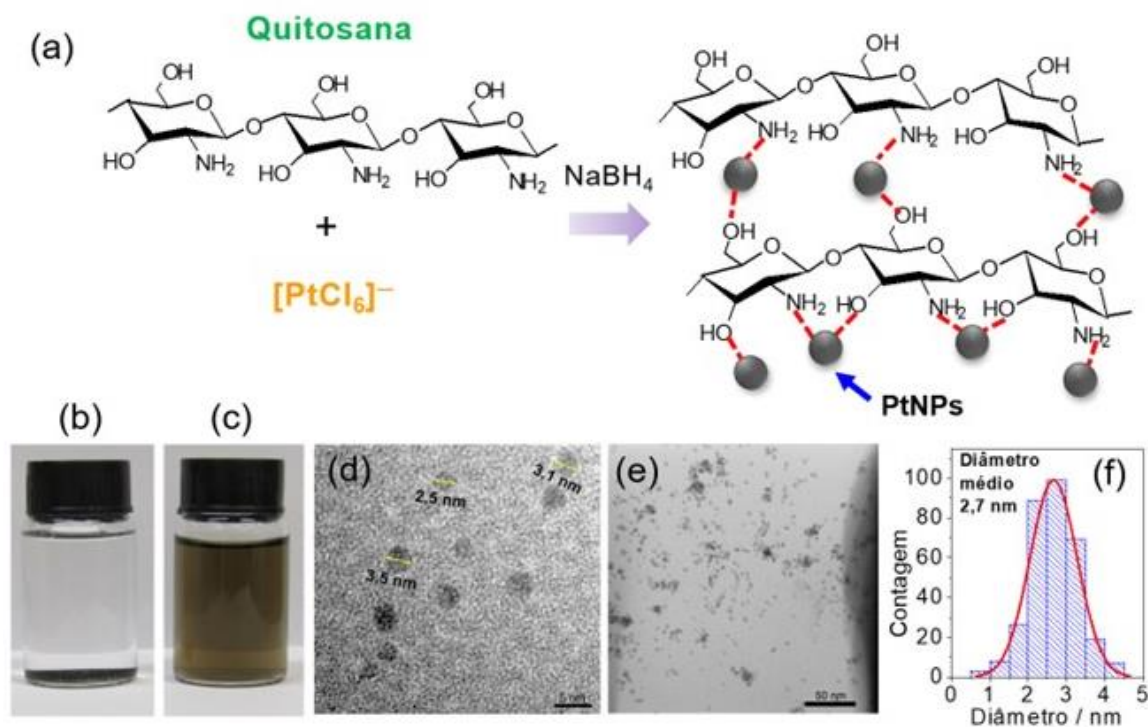
Geralmente, além da quitosana e o agente modificador, também é adicionado um agente de reticulação, para reticulação da quitosana seja pelo grupo hidroxila ou amino, ou ambos. Isto geralmente é feito para melhoria da estabilidade mecânica e química do filme de quitosana, por exemplo, em soluções de amostras ácidas. Entretanto, deve-se saber que a concentração de quitosana para o preparo das dispersões é um fator crítico, e deve ser considerada como um parâmetro a ser otimizado. A concentração ideal proverá um filme estável, homogêneo e reprodutível e sem apresentar prejuízos à resposta eletroquímica do eletrodo modificado devido a um efeito bloqueador da transferência de elétrons

(BACCARIN *et al.*, 2017; GUO *et al.*, 2017). A quitosana tem sido aplicada com sucesso para o preparo de filmes de nanotubos de carbono (BABAEI; AFRASIABI; BABAZADEH, 2010; PAULIUKAITE *et al.*, 2009), grafeno(YIN *et al.*, 2010, 2011), e vários outros nanomateriais.

Uma propriedade que pode se tornar muito interessante quanto ao uso da quitosana como matriz polimérica na preparação de eletrodos modificados é a sua capacidade de funcionar como agente estabilizante de nanopartículas metálicas. Desta forma, a quitosana não somente pode ser utilizada para prover um eletrodo modificado com excelentes propriedades mecânicas, mas, também, fornecer um filme modificado com nanopartículas metálicas capazes de aprimorar as propriedades eletroquímicas do eletrodo base.

Nanopartículas de platina estabilizadas em quitosana (Ch-PtNPs) foram recentemente preparadas pelo nosso grupo de pesquisa. As Figuras 7 (a)-(f) reúnem alguns resultados de caracterização das Ch-PtNPs obtidas. A capacidade de estabilização de nanopartículas metálicas pela quitosana, se deve à interação dos grupos amino e hidroxila presentes ao longo da estrutura da quitosana com as PtNPs (Figura 7 (a)). Na Figura 7 (b) encontra-se a fotografia das PtNPs preparadas pela redução do sal de Pt(IV) na ausência de quitosana. Neste caso, logo após o término da reação e a agitação cessada, as PtNPs rapidamente se depositaram no fundo do recipiente, demonstrando a falta de estabilidade devido à ausência de um agente estabilizante apropriado. Entretanto, quando a mesma síntese foi conduzida na presença de quitosana, o aspecto da solução ao final da reação foi totalmente diferente. Como pode ser observado na fotografia da Figura 7 (c), uma solução de coloração escura foi obtida neste caso, significando que as Ch-PtNPs permaneceram estabilizadas no meio. A estabilidade das Ch-PtNPs frente à centrifugação foi avaliada a 10000 rpm, sendo que as mesmas se mantiveram estáveis mesmo após 5 min de centrifugação. As Ch-PtNPs apresentaram morfologia esférica como pode ser observado pela imagem de MET obtida em alta resolução (Figura 7 (d)) e diâmetro médio de 2,7 nm (Figuras 7 (e) e (f)). Estas nanopartículas foram aplicadas no desenvolvimento de sensores eletroquímicos para a determinação de biomarcadores biológicos e interferentes endócrinos com resultados bastante entusiasmantes (SILVA *et al.*, 2023).

Figura 7- (a) Representação esquemática da interação entre o biopolímero quitosana e as nanopartículas de platina. Fotografia das PtNPs sintetizadas na (b) ausência e (c) presença de quitosana. Imagens de (d) HR-TEM e (e) TEM obtidas das Ch-PtNPs. (f) Histograma de distribuição de diâmetro



Fonte: (a) Adaptado de Deng et al. (2017). Demais Figuras: Silva et al. (2023).

3.5. Métodos eletroanalíticos

A eletroanalítica compreende uma classe de métodos analíticos que se baseiam nas propriedades elétricas desenvolvidas por um analito em solução. Os métodos diferem entre si a depender da propriedade elétrica monitorada, como a coulometria, na qual a quantificação do analito é feita pelo monitoramento da carga elétrica; a potenciometria, pelo monitoramento da diferença de potencial desenvolvido pela célula; a condutometria, que se baseia na medida resistência/condutividade elétrica; e a voltametria, na qual a corrente desenvolvida pela varredura de potencial na célula eletroquímica é utilizada na quantificação de um analito (SKOOG *et al.*, 2014).

A potenciometria é uma das técnicas analíticas mais amplamente utilizadas, por empregar equipamentos simples e baratos. Ela baseia-se na medida do potencial desenvolvido em uma célula eletroquímica em circuito aberto

para determinar a concentração direta de espécies iônicas e do ponto final de titulações potenciométricas. Na potenciometria direta, um eletrodo indicador é imerso em uma solução contendo o analito e o potencial desenvolvido é comparado com o potencial desse mesmo eletrodo desenvolvido em uma solução padrão de concentração conhecida da espécie a ser analisada. Essa técnica é utilizada na dosagem de gases dissolvidos no sangue, na determinação de poluente atmosféricos, na detecção de dióxido de carbono e outras substâncias na água do mar e na determinação de constantes de equilíbrio termodinâmicas. Isso faz da potenciometria uma das técnicas instrumentais mais utilizadas atualmente (KAHLERT, 2010).

A eletrogravimetria e coulometria são métodos analíticos quantitativos eletrolíticos, na qual a eletrólise é realizada por intervalo de tempo suficiente para garantir que todo o analito seja convertido em um produto por meio da sua redução ou oxidação completa. Diferentemente da potenciometria, os métodos eletrolíticos requerem a aplicação de uma corrente líquida para forçar a ocorrência da reação química não espontânea na célula eletroquímica. Na eletrogravimetria a análise quantitativa é feita por meio da pesagem do produto depositado no eletrodo de trabalho, ao passo que na coulometria a quantidade de analito é estabelecida pela carga elétrica necessária para converter completamente o reagente (analito) em um produto. Ambos são métodos sensíveis e estão entre as técnicas eletroanalíticas mais precisas e exatas. Também apresentam certa seletividade na separação de espécies iônicas através da aplicação de um potencial controlado equivalente ao potencial padrão da espécie de interesse ao eletrodo de trabalho (SKOOG *et al.*, 2014).

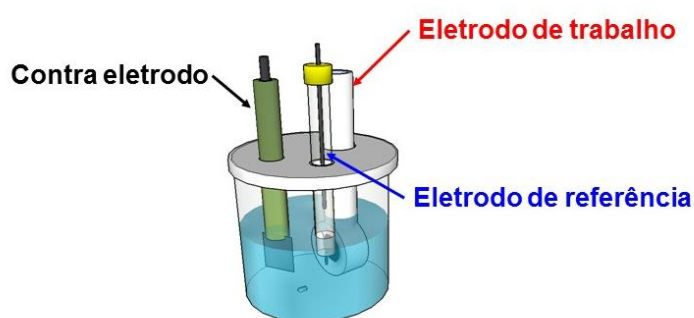
Já os métodos eletroanalíticos que dependem da medida da corrente em função do potencial aplicado são denominados métodos voltamétricos. Diferentemente dos métodos de eletrogravimetria e coulometria, na voltametria utilizam-se eletrodos de trabalho com áreas relativamente pequenas, de forma que o consumo de analito seja mínimo (SKOOG *et al.*, 2014). Neste projeto de pesquisa, as medidas eletroquímicas com o sensor proposto consistiram de medidas voltamétricas e, portanto, este conjunto de técnicas eletroanalíticas será melhor discutido a seguir.

3.5.1. Voltametria

A voltametria é uma técnica eletroanalítica que relaciona a corrente medida em uma célula eletroquímica em função do potencial aplicado a um pequeno eletrodo de trabalho, sob condições de completa polarização de concentração. É uma técnica amplamente utilizada nas mais diversas áreas do conhecimento, como química, bioquímica e na medicina para se estudar os processos de oxidação e/ou redução em vários meios, a adsorção de substâncias às superfícies e os mecanismos de transferência de elétrons em superfícies modificadas de eletrodos (SKOOG *et al.*, 2014).

Nessa técnica, a célula é constituída por três eletrodos imersos em uma solução contendo o analito e o eletrólito suporte. Os três eletrodos são o eletrodo de trabalho, que é o eletrodo no qual o analito será oxidado ou reduzido em sua superfície; o eletrodo de referência, cujo potencial permanece constante durante o experimento e com o qual o eletrodo de trabalho estabelecerá uma diferença de potencial; e o contra-eletrodo (ou eletrodo auxiliar), sendo que a passagem de corrente elétrica ocorre entre este eletrodo e o eletrodo de trabalho. Um esquema de célula eletroquímica pode ser observado na Figura 8. Já o eletrólito suporte é um sal não reativo adicionado em excesso à solução para minimizar os efeitos de migração (FATIBELLO-FILHO, 2022).

Figura 8 - Esquema de montagem de célula eletroquímica

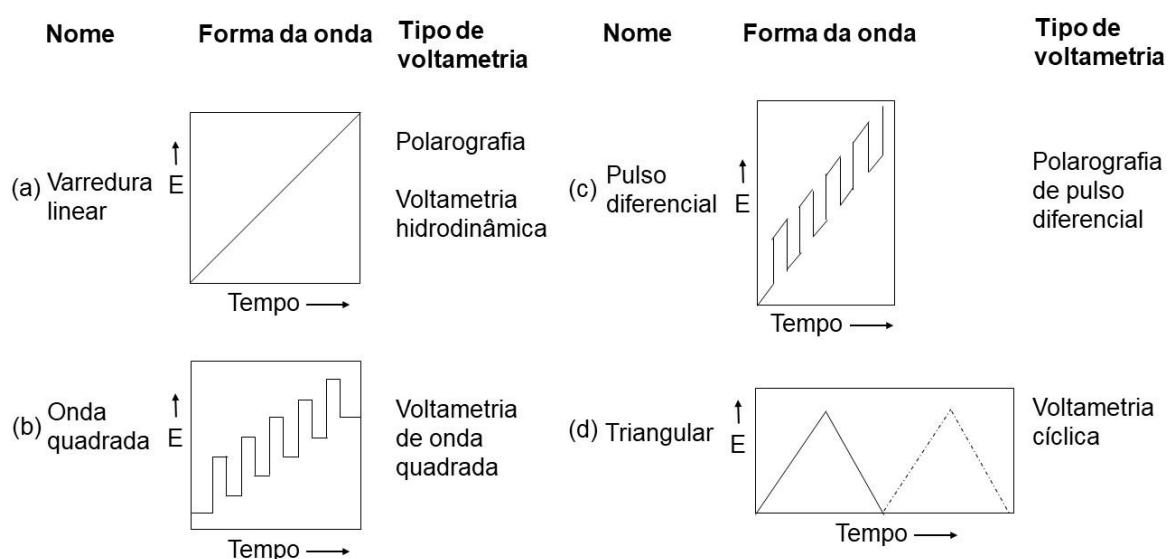


Fonte: Meireles (2023)

Durante a medida voltamétrica, o potencial do eletrodo de trabalho *versus* o eletrodo de referência varia com o tempo, enquanto a resposta de corrente é medida, sendo assim possível estabelecer um gráfico de corrente (I , em Ampère

(A)) em função do potencial (E , em Volt (V)), denominado voltamograma. A função voltagem *versus* tempo, denominada sinal de excitação, pode ocorrer de diversas formas, dando origem às várias técnicas voltamétricas, como pode ser observado na Figura 9.

Figura 9 - Sinais de excitação tensão versus tempo para diferentes tipos de voltametrias. (a) Voltametria de varredura linear; (b) voltametria de onda quadrada; (c) Voltametria de pulso diferencial e (d) Voltametria triangular



Fonte: Adaptada de Skoog et al. (2006, p. 629).

Independentemente da técnica voltamétrica empregada, os voltamogramas são construídos considerando-se uma determinada convenção de sinais. Neste trabalho, as correntes catódicas (correntes originárias da redução do analito) serão apresentadas com sinal negativo, no hemisfério sul, e as correntes anódicas (devido à oxidação do analito) como positivas, no hemisfério norte. Além disso, o eixo dos potenciais torna-se mais positivo da esquerda para a direita.

É importante ressaltar que a voltametria ocorre sob condições de completa polarização de concentração. A polarização é o desvio do potencial do eletrodo de trabalho do seu valor teórico previsto pela equação de Nernst quando da passagem de corrente. Assim, a polarização de concentração ocorre devido à velocidade limitada de transferência de massa do analito do seio da solução para

a superfície do eletrodo, que pode ocorrer por difusão, migração e/ou convecção. Quando esses eventos são insuficientes para manter as espécies reagentes na superfície do eletrodo (região onde ocorre a transferência de elétrons entre eletrodo e analito) e afastar o produto formado de maneira suficientemente rápida para manter a corrente desejada, a corrente se torna limitada a valores menores que o previsto, de tal forma que um aumento no potencial aplicado à solução não é mais capaz de aumentar a corrente medida. A corrente obtida nesta situação é denominada de corrente limite (I_L) (FATIBELLO-FILHO, 2022).

A corrente limite é diretamente proporcional à concentração do reagente na solução, e o potencial na qual a corrente medida é igual à metade de I_L é o potencial de meia-onda ($E_{1/2}$). Esse potencial geralmente está relacionado ao potencial padrão para a semirreação de redução ou oxidação que ocorre na superfície do eletrodo, sendo, por isso, útil na identificação dos componentes de uma solução (SKOOG *et al.*, 2014).

A corrente gerada na voltametria pode ser faradaica, quando resultado do processo de oxidação ou redução do analito na interface eletrodo-solução, ou capacitiva, que é a corrente gerada na dupla camada eletrodo-solução devido ao acúmulo de elétrons na superfície do eletrodo. A corrente faradaica é proporcional à concentração do analito no seio da solução e recebe esse nome por obedecer a Lei de Faraday (FATIBELLO-FILHO, 2022). Os ganhos instrumentais na voltametria têm sido no sentido de minimizar a contribuição da corrente não faradaica sobre a corrente total medida, como será visto mais adiante.

3.5.1.1. Voltametria de Varredura Linear

Na voltametria de varredura linear, o potencial do eletrodo de trabalho varia linearmente com o tempo, sendo aumentado ou diminuído a uma velocidade constante. O voltamograma resultante, geralmente, tem a forma de uma curva sigmoideal. Pode ser de dois tipos: voltametria hidrodinâmica, processo no qual a solução é agitada ou o eletrodo permanece em rotação, e voltametria clássica, que utiliza um eletrodo estacionário como eletrodo de trabalho. No primeiro caso, o reagente é conduzido à superfície do eletrodo predominantemente por convecção, ao passo que no segundo o mecanismo de transporte de massa é apenas por difusão (FATIBELLO-FILHO, 2022). Portanto, as correntes limite

(correntes de difusão) são de uma ordem de grandeza menor quando comparado à voltametria hidrodinâmica.

3.5.1.2. Voltametria de Pulso Diferencial

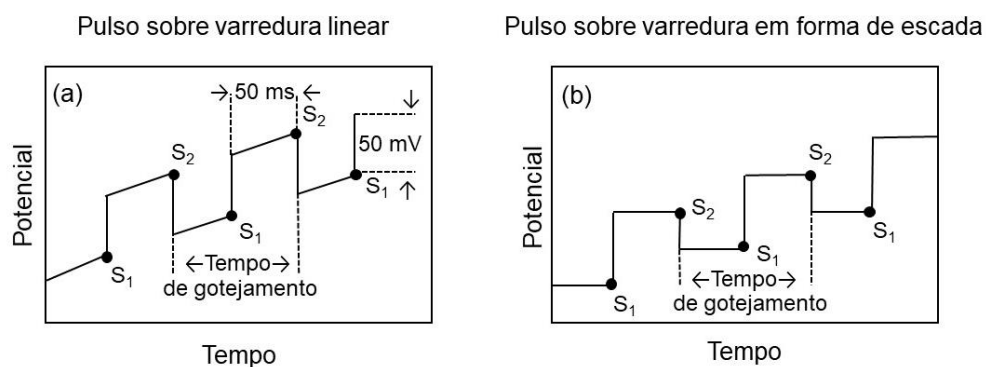
Na voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês “Differential Pulse Voltammetry”) ocorre a sobreposição de pulsos de amplitude fixa sobre uma rampa de potencial crescente, como representado na Figura 10. O pulso pode ocorrer sobre uma varredura linear (Figura 10 (a)), geralmente empregados em instrumentos analógicos, ou sobre uma varredura em forma de escada (Figura 10 (b)), método normalmente empregado em instrumentos digitais. Duas medidas de correntes são realizadas: uma imediatamente antes à aplicação do pulso, em S_1 , e outra imediatamente após o final do pulso, em S_2 . O voltamograma é construído pela diferença de corrente por pulso ($\Delta I = I_{S_2} - I_{S_1}$) em função do aumento linear da voltagem e apresenta-se sob a forma de uma gaussiana, sendo a altura do pico diretamente proporcional à concentração do analito. O potencial de pico será aproximadamente igual ao potencial padrão da semirreação do analito, podendo ser utilizado na identificação de espécies (SKOOG *et al.*, 2014).

Ao realizar-se a leitura da corrente em dois pontos específicos do pulso, é possível minimizar os efeitos da corrente capacitiva. Na polarografia de pulso diferencial, técnica voltamétrica que utiliza o eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) como eletrodo de trabalho, essa corrente capacitiva é resultado do fluxo de elétrons oriundos da fonte que carrega a superfície de cada gota de mercúrio quando esta é formada, resultando em uma corrente pequena, porém contínua, já que cada nova gota é carregada à medida em que se forma (FATIBELLO-FILHO, 2022).

Assim, no ponto inicial de aplicação do pulso (S_1), ocorre tanto um acréscimo da contribuição da corrente capacitiva na medida em que a carga na gota aumenta com a aplicação do pulso, quanto um pico na corrente faradaica caso uma espécie reativa esteja presente na camada do eletrodo. Entretanto, a corrente capacitiva diminui exponencialmente, aproximando-se de zero ao final de vida da gota (ponto S_2), ao passo que a corrente faradaica decai em função do inverso da raiz quadrada do tempo, uma vez que os mecanismos de difusão realimentam a superfície do eletrodo (SKOOG *et al.*, 2014). Dessa forma,

desconsiderando o valor da primeira leitura de corrente da segunda, minimiza-se a contribuição da corrente residual e eleva-se a sensibilidade da técnica.

Figura 10 - Sinais de excitação mais comuns para voltametria de pulso diferencial. (a) pulso sobre varredura linear e (b) pulso sobre varredura em forma de escada



Fonte: Adaptada de Skoog et al. (2006, p. 651).

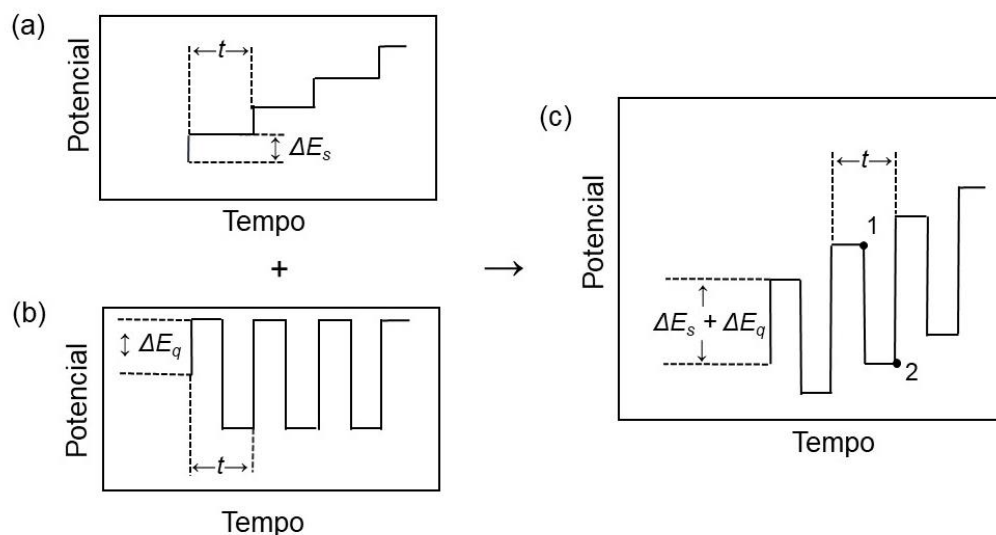
3.5.1.3. Voltametria de Onda Quadrada

A voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês "Square-Wave Voltammetry") é uma das técnicas voltamétricas mais sensíveis, com limite de detecção comparável à de técnicas cromatográficas e espectroscópicas. É também um método analítico rápido, sendo que um voltamograma inteiro pode ser obtido em frações de segundo a depender dos parâmetros empregados (SCHOLZ, 2010).

Nessa técnica, o sinal de excitação é obtido superpondo-se uma sequência de pulsos de potencial de amplitude ΔE_p a um sinal na forma de escada, com incremento de potencial (ou "degrau" de potencial) ΔE_s , sendo a largura de cada incremento de potencial igual ao período de aplicação do pulso (t). Valores usualmente empregados para t , incremento de potencial (ΔE_s) e amplitude de pulso são 5 ms, 10 mV e 50 mV, respectivamente (FATIBELLO-FILHO, 2022). Duas medições de corrente são realizadas: uma ao final do pulso direto, quando a direção do pulso é igual à direção da varredura (ponto 1), e outra no sentido inverso (ponto 2), onde a direção do pulso e da varredura são contrários. Assim como na voltametria de pulso diferencial, o objetivo da dupla medição de corrente é corrigir a contribuição da corrente capacitiva. A sobreposição dos sinais de escada e de

pulso e, conseqüentemente, o sinal de excitação de uma onda quadrada, assim como os pontos supracitados, pode ser visto na Figura 11.

Figura 11 - (a) sinal em forma de escada, (b) pulso e (c) sinal de excitação de onda quadrada, resultante da junção dos sinais de (a) e (b)



Fonte: Adaptada de Skoog et al. (2006, p. 653).

O voltamograma é construído pela diferença da corrente nos dois pontos versus a variação de potencial aplicado, sendo essa diferença diretamente proporcional à concentração do analito. A corrente medida no sentido de varredura direta (por exemplo, na direção de menores potenciais, varredura catódica) é a corrente catódica (i_1), resultante da redução do analito, ao passo que a corrente obtida no sentido inverso é resultado da oxidação do produto formado no pulso direto, sendo, portanto, a corrente anódica (i_2). Como a corrente resultante é a diferença das correntes diretas e inversas, quanto maior a contribuição da corrente inversa, maior a intensidade da corrente de pico e maior a sensibilidade da SWV. Logo, essa técnica é mais sensível para reações reversíveis, podendo essa sensibilidade ser até duas vezes maior que aquela observada para um sistema irreversível (SCHOLZ, 2010).

3.5.1.4. Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica (CV, do inglês “Cyclic Voltammetry”) é uma técnica eletroquímica muito utilizada no estudo de reações redox e na detecção de

intermediários de reação, sendo muito útil na produção de informações qualitativas sobre processos eletroquímicos sob diferentes condições. Entretanto, não é frequentemente utilizada em análises quantitativas devido à sua menor sensibilidade em comparação com as técnicas pulsadas DPV e SWV (FATIBELLO-FILHO, 2022).

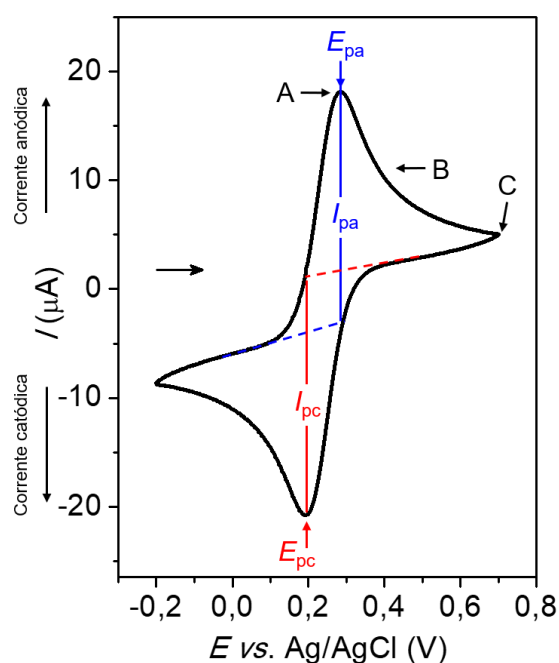
Na CV o eletrodo de trabalho estacionário é mantido em uma solução em repouso, de forma que a transferência de massa ocorra somente por difusão. Concomitantemente é feita a varredura linear de potencial no sentido direto e, em seguida, no sentido inverso, como pode ser visto na Figura 9 (d), sendo a corrente medida em ambos os sentidos de varredura. Os potenciais na qual a inversão ocorre são denominados potenciais de inversão e são escolhidos de forma que se possa observar os demais processos redox e reversibilidade do processo obtido no sentido direto (oxidação ou redução). A depender da composição da amostra, a varredura inicial pode ser no sentido positivo ou negativo e o ciclo pode ser parcial ou completo, e até mesmo repetido diversas vezes (SKOOG *et al.*, 2014).

O voltamograma de corrente versus potencial pode apresentar picos de corrente anódica no hemisfério norte, correspondente a reações de oxidação de uma espécie, e picos de corrente catódica no hemisfério sul, relativo à redução de espécies intermediárias ou do produto gerado na varredura anterior que ainda estejam próximos à superfície do eletrodo. As correntes de pico são proporcionais à concentração das espécies reduzida/oxidada e quando a reação for reversível, os picos anódico e catódico serão aproximadamente simétricos, com razão entre a intensidade de corrente de pico anódica e catódica (razão I_{pa}/I_{pc}) igual a 1 (SCHOLZ, 2010).

A título de ilustração, um voltamograma obtido para uma solução de $K_4Fe(CN)_6/K_3Fe(CN)_6$ $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sujeito a um sinal de excitação cíclico pode ser observado na Figura 12. A varredura direta é feita de $-0,2 \text{ V}$ a $+0,7 \text{ V}$. Em aproximadamente $+0,1 \text{ V}$ surge uma corrente anódica em virtude da oxidação dos íons ferrocianeto ($Fe(CN)_6^{4-}$) a ferricianeto ($Fe(CN)_6^{3-}$). Em aproximadamente $+0,28\text{V}$, tem-se o potencial de pico anódico, E_{pa} . No pico tem-se duas componentes de corrente: uma relacionada à transferência de carga entre o analito e o eletrodo, necessária para ajustar a concentração de analito na superfície do eletrodo à sua condição de equilíbrio, e a segunda governada por difusão. A primeira decai imediatamente (do ponto A a B), enquanto a segunda

continua a existir enquanto houver ferrocianeto e potenciais suficientes para provocar sua oxidação. Observa-se, então, que embora a varredura tenha invertido sua direção no ponto C, a corrente ainda continua a ser anódica (gerada pela oxidação do ferrocianeto), até atingir seu valor zero em aproximadamente +0,3 V. A corrente catódica que surge a partir desse ponto deve-se à redução do ferricianeto a ferrocianeto. Em aproximadamente +0,19 V tem-se o potencial de pico catódico, E_{pc} . A corrente diminui conforme o ferricianeto é consumido na reação.

Figura 12 - Voltamograma cíclico obtido para solução de $K_4Fe(CN)_6/K_3Fe(CN)_6$ $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Eletrodo de carbono vítreo (diâmetro = 3,0 mm) empregado como eletrodo de trabalho



Fonte: Silva et al. (2014)

A diferença entre os potenciais de pico anódico e catódico ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$) deve ser inferior a $0,0592/n$ para que a reação seja considerada reversível, sendo n o número de elétrons envolvidos na semirreação redox. Embora em determinadas velocidades de varredura uma reação redox possa parecer reversível, o aumento de velocidade pode elevar os valores de ΔE_p para valores superiores a $0,0592/n$, sendo este um aspecto característico de reações irreversíveis (SKOOG *et al.*, 2014).

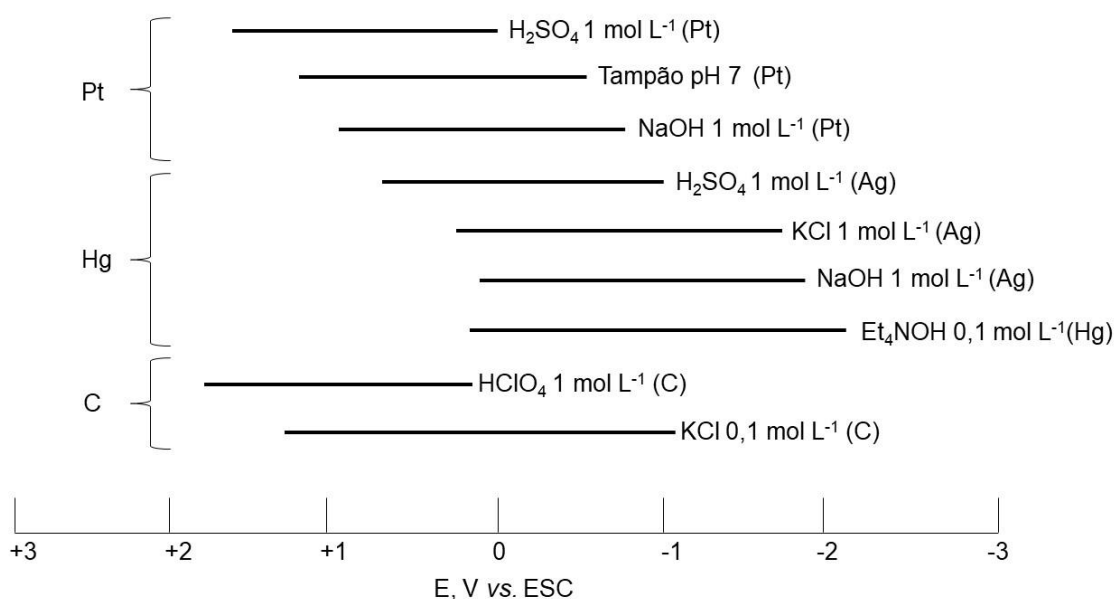
A voltametria cíclica é geralmente a primeira técnica empregada na investigação de uma solução que contém espécies eletroativas, no intuito de revelar a presença de intermediários de reações redox e elucidar mecanismos redox. Um dos eletrodos de trabalho mais empregados em CV e nos diferentes tipos de medidas voltamétricas discutidas é o de platina. Eletrodos também amplamente utilizados são os de filme fino de mercúrio, carbono vítreo, ouro, grafite e pasta de carbono (SKOOG *et al.*, 2014), além dos eletrodos quimicamente modificados, mais bem detalhados a seguir.

3.5.2. Eletrodos de trabalho empregados em voltametria

Os eletrodos empregados em voltametria são geralmente pequenos, com áreas geométricas de alguns milímetros quadrados (FATIBELLO-FILHO, 2022). Um dos tipos mais comuns é o eletrodo de disco plano, na qual um material condutor e quimicamente inerte, tal como platina, ouro, carbono vítreo, grafite pirolítico ou um metal recoberto com filme fino de mercúrio na forma de disco é preso em um tubo de material isolante e inerte quimicamente, como o Teflon (SKOOG *et al.*, 2014). Um fio condutor conecta o material de eletrodo ao circuito externo do equipamento.

A faixa de potencial de trabalho desses eletrodos depende, além do material utilizado, da composição do eletrólito suporte, como observado na Figura 13. Pode-se observar que o eletrodo de mercúrio é capaz de suportar potenciais negativos relativamente altos, um dos motivos pelas quais ele é amplamente explorado para detecção de analitos de interesse via processos catódicos. Os eletrodos de mercúrio existem nas formas de um filme fino de Hg depositado sobre a superfície de um metal, de eletrodo de gota pendente de mercúrio (EMGP) e eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) (FATIBELLO-FILHO, 2022). Nos dois últimos casos, o eletrodo consiste em um reservatório de mercúrio conectado a um tubo capilar muito fino. Assim, gotas de mercúrio de diâmetro na ordem de milímetros e bastante reprodutíveis são formadas em pequenos intervalos de tempo, de forma que uma superfície metálica nova é formada a cada gota.

Figura 13 - Faixa de potencial de trabalho para eletrodos de platina, mercúrio e carbono vítreo em vários tipos de eletrólito suporte



Fonte: Adaptado de Skoog et al. (2006, p.633).

O EGM apresenta características que o fizeram ser o eletrodo mais amplamente utilizado nos primeiros anos da voltametria, tais como: superfície metálica gerada continuamente, tornando-o livre de comportamentos irregulares gerados pela deposição de impurezas ou à adsorção do produto gerado, como ocorre nos eletrodos metálicos sólidos e correntes reprodutíveis e constantes geradas quase que imediatamente após ajuste do potencial aplicado. Entre as desvantagens está a facilidade de oxidação do Hg, limitando a faixa de potenciais anódicos que pode ser empregada, a formação de corrente residual não faradaica, que a baixas concentrações de reagente pode ser maior que a corrente de difusão, possibilidade de apresentar problemas de entupimento capilar e elevada toxicidade do mercúrio (SKOOG *et al.*, 2014).

Essas limitações têm contribuído para o aumento da utilização de eletrodos de discos planos em detrimento do EGM, sobretudo os eletrodos quimicamente modificados (EQM), que tem se tornado uma área de pesquisa muito ativa da eletroquímica. As modificações podem ocorrer por adsorção, ligação covalente ou aprisionamento em gel de um substrato à superfície de um eletrodo de forma irreversível (SKOOG *et al.*, 2014). Os biossensores com enzimas imobilizadas compõem outro exemplo de EQM.

4. METODOLOGIA

4.1. Reagentes, Amostras e Instrumentação

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e todas as soluções aquosas preparadas utilizando-se água ultrapura (com resistividade elétrica não inferior a 18 M Ω cm) coletada de um sistema de purificação de água Millipore Milli-Q.

O chá preto utilizado na síntese das nanopartículas de prata foi adquirido no comércio local (marca Chá Leão®) e o Carbon Black foi do tipo VULCAN®VXC72R, gentilmente fornecido pela Cabot Corporation Company.

Para o preparo da amostra de urina sintética, foram utilizados 0,7307 g de NaCl; 0,4003 g de KCl; 0,2802 g de CaCl \cdot 2H $_2$ O; 0,5606 g de Na $_2$ SO $_4$; 0,3500 g de KH $_2$ PO $_4$; 0,2503 g de NH $_4$ Cl e 6,2500 g de ureia. Todos os componentes químicos foram dissolvidos completamente com tampão fosfato 0,1 mol L $^{-1}$ (pH 2,0), transferido para um balão volumétrico de 250 mL e o volume completado com o mesmo tampão.

Para as medidas eletroquímicas foi utilizada uma célula eletroquímica de três eletrodos e compartimento único, com o eletrodo de carbono vítreo modificado como eletrodo de trabalho, um eletrodo de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L $^{-1}$) como eletrodo de referência e uma folha de Pt (área aproximada de 1 cm 2) como eletrodo auxiliar. As medidas voltamétricas foram conduzidas em um potenciostato/galvanostato PGSTAT 128 N (Metrohm) gerenciado pelo software Nova (Versão 2.1.5).

As medidas de pH foram feitas empregando-se um pHmetro Tecnocon (modelo Mpa-210 MS), equipado com um eletrodo combinado de vidro (eletrodo de referência externo de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L $^{-1}$)).

O agitador magnético com aquecimento utilizado na síntese das nanopartículas foi da marca Solab, modelo SL91, e a balança analítica da marca Mettler Toledo, modelo AB204-S.

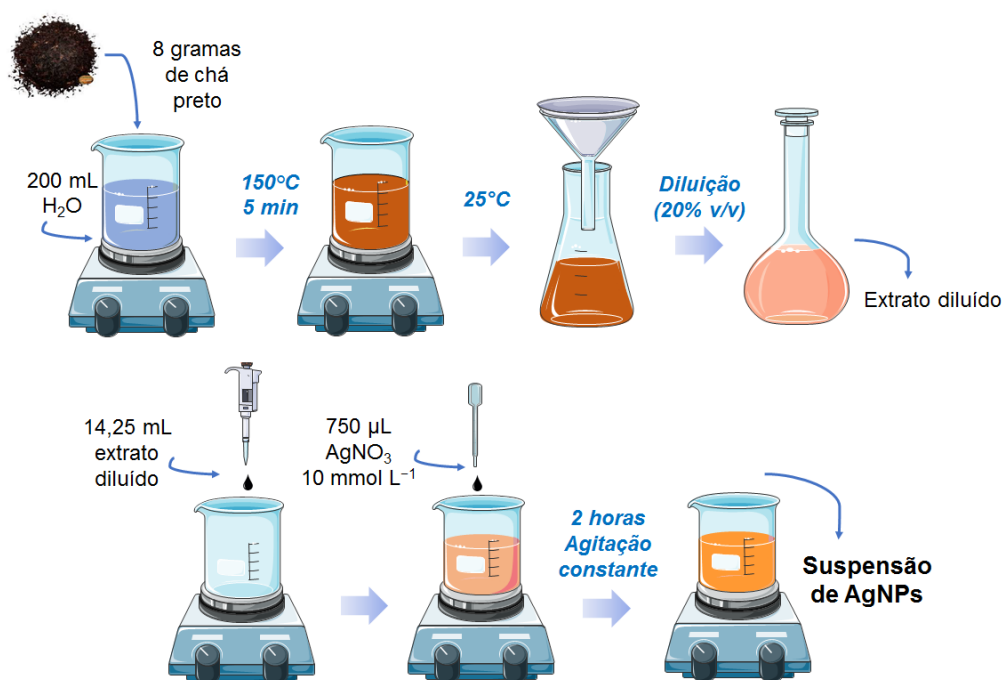
A caracterização dos materiais por Espectrofotometria de Absorção Molecular na região UV/Vis foi realizada utilizando um espectrofotômetro de absorção molecular da marca Agilent, modelo 8453, e uma cubeta de quartzo com caminho ótico de 10 mm. Para caracterização morfológica dos materiais, análises de

microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura JEOL, modelo JSM-6010LA.

4.2. Síntese de AgNPs por via verde

O extrato de chá preto (*Camellia Sinensis*) foi utilizado como agente redutor e estabilizador na síntese das nanopartículas de prata. Para a obtenção do extrato a partir das folhas da planta triturada adquirida na forma de sachês em comércio local e posterior síntese de AgNPs, foi utilizado a metodologia proposta por Sun et al. 2013 (SUN, Qian *et al.*, 2014), com adaptações. O esquema de obtenção do extrato de chá preto e síntese das nanopartículas de prata pode ser visualizado na Figura 14.

Figura 14 – Esquema de extração do chá preto e síntese das nanopartículas de prata



Fonte: Meireles (2023)

Para obtenção do extrato de chá preto, 8 gramas do chá de *Camellia Sinensis* foram transferidos para um béquer de 400 mL, inspecionado visualmente para a retirada de impurezas grosseiras e adicionados 200 mL de água ultrapura. O conteúdo foi deixado sob aquecimento a 150 °C por 5 minutos sob agitação

magnética constante após iniciada a fervura. Após esse tempo, o material foi deixado resfriar até atingir a temperatura ambiente e filtrado a vácuo. Foram transferidos 50 mL do filtrado para um balão volumétrico de 250 mL e completados com água ultrapura, formando assim extrato de chá preto diluído (diluição: 20% v/v).

Na etapa de síntese de AgNPs, 14,25 mL do extrato diluído foram transferidos para um béquer de 50 mL e gotejados 750 μL de AgNO_3 10 mmol L^{-1} com o auxílio de uma pipeta de Pauster. A solução foi deixada sob agitação constante à temperatura ambiente por 2 horas, formando assim a dispersão contendo AgNPs. A intensificação da coloração castanha em solução foi indicativa da formação das nanopartículas.

4.3. Preparo do eletrodo quimicamente modificado

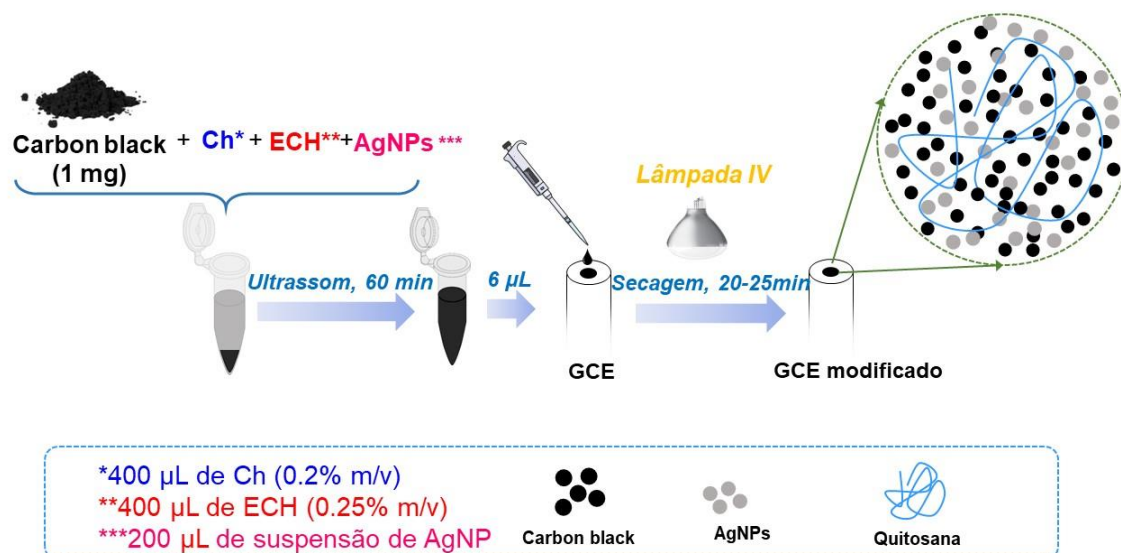
Foi utilizado como eletrodo base um eletrodo de carbono vítreo (GCE), com diâmetro de 3,0 mm. Antes de ser modificado, sua superfície foi cuidadosamente limpa e polida. O polimento foi realizado utilizando pasta de alumina 1 μM por 5 minutos, seguido de enxágue exaustivo com água ultrapura. O procedimento de limpeza foi realizado por meio da ultrassonificação da superfície do eletrodo em etanol por 3 minutos e, finalmente, em água destilada por mais 3 minutos. Esse procedimento de ultrassonificação foi realizado para remover resíduos de reagentes que possivelmente não foram completamente removidos durante o polimento da superfície do GCE, especialmente quitosana, que é bastante aderente à sua superfície.

As etapas de preparo do eletrodo modificado encontram-se organizadas na Figura 15. Inicialmente uma suspensão aquosa contendo CB, AgNPs e quitosana foi preparada por meio da adição de 1,0 mg de CB em um microtubo de 2 mL de volume, seguido do acréscimo de 400 μL de quitosana (Ch) 0,2 % (m/v) (previamente preparada em ácido acético 1,0 % (v/v)), 400 μL de epicloridrina (ECH, do inglês “Epichlorohydrin”) 0,25% (m/v) (previamente preparada em NaOH 0,01 mol L^{-1}), este último sendo o agente reticulante da quitosana, e 200 μL da suspensão de AgNPs previamente sintetizadas por via verde. Para completa homogeneização, a mistura foi mantida em banho de ultrassom por 1 hora, tendo sido obtida, após esse tempo, uma dispersão de cor negra homogênea e estável.

Para modificação do eletrodo, 6 μL dessa dispersão foram gotejados com o auxílio de uma micropipeta sobre a superfície do eletrodo, e o solvente deixado evaporar sob aquecimento fornecido por uma lâmpada de infravermelho (IV) por aproximadamente 25 minutos. Esse eletrodo modificado foi denominado AgNPs-CB-Ch/GCE.

Para efeitos de comparação, uma segunda dispersão aquosa contendo apenas CB e Ch foi preparada pela substituição de 200 μL da suspensão de AgNPs por 200 μL de água ultrapura, seguido pelos demais procedimentos de preparação citados anteriormente. O eletrodo modificado por essa dispersão foi denominado CB-Ch/GCE. Tal procedimento possibilitou a obtenção de um filme livre de AgNPs sobre a superfície do GCE e, assim, a obtenção de uma comparação da resposta eletroquímica entre os dois eletrodos modificados. As duas dispersões foram mantidas em estoque por alguns meses, e submetidas ao banho ultrassom por 5 minutos a cada vez que foram reutilizadas para garantir a completa homogeneização de seus constituintes.

Figura 15 - Esquema do preparo do eletrodo quimicamente modificado



Fonte: Adaptada de Silva et al. (2014).

4.4. Caracterização dos materiais

As nanopartículas de prata sintetizadas por via verde foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por espectrofotometria molecular

na região do ultravioleta-visível (UV-Vis); e as nanopartículas de CB foram caracterizadas por MEV. Para a caracterização das AgNPs por UV-Vis, a dispersão contendo AgNPs sintetizadas conforme o procedimento descrito na seção 4.2 foi diluída 10 vezes e a varredura do espectro foi feita no intervalo de comprimento de onda de 190 a 1100 nm. Para efeitos de comparação, o mesmo foi feito para o extrato de chá preto diluído.

Já a caracterização eletroquímica do sensor foi realizada por meio da sonda redox de hexacianoferrato (II/III) de potássio ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$) na concentração de $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, a uma velocidade de varredura de $50,0 \text{ mV s}^{-1}$.

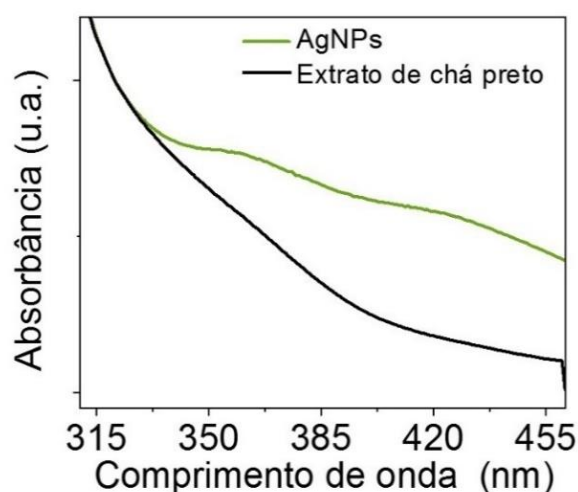
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização dos materiais

5.1.1. Espectrofotometria UV-Vis

Com a finalidade de averiguar a eficiência de síntese das nanopartículas de prata utilizando extrato de chá preto como agente redutor e estabilizador, foi realizada a caracterização por espectrofotometria de absorção molecular no UV-Vis para o extrato de chá diluído e para a dispersão de AgNPs formada. Os espectros obtidos, na faixa de comprimento de onda de 300 a 460 nm, estão reportados na Figura 16.

Figura 16 - Espectros UV-Vis obtidos para extrato de chá preto diluído e dispersão contendo AgNPs



Fonte: Meireles (2023).

No espectro das AgNPs pode-se observar as bandas de ressonância de plasmon de superfície (RPS) na faixa de comprimento de onda em torno de 400 nm, em conformidade com valores encontrados por outros autores: Brito et al. (2022), em seu trabalho de síntese de AgNPs com extrato de *Mimosa tenuiflora* encontrou valores para RPS de AgNPs em $\lambda = 420\text{nm}$; Dias et al (2021) encontrou $\lambda = 416\text{ nm}$ em seu trabalho de síntese utilizando extrato de *Podocarpus lambertii*; e Dada et al. (2019) observou picos estáveis de RPS em 450 nm em seu trabalho de síntese de AgNPs por extrato de *Acalypha wilkesiana*. Assim, o resultado encontrado demonstra um sinal de redução dos cátions Ag^+ em nanopartículas, confirmando a capacidade redutora do extrato de *Camellia sinensis*.

O efeito de RPS ocorre devido à oscilação coletiva dos elétrons livres provenientes das bandas de condução e das camadas de valência das nanopartículas em ressonância com a onda de luz incidente. Devido a isso, autores como Dada et al. (2019) relatam que a mudança de coloração da mistura para castanho é um indicativo da formação de nanopartículas de prata. Nesse trabalho, foi possível observar essa mudança de coloração após a síntese das AgNPs, conforme apresentado pelas fotografias da Figura 17.

Figura 17 - Mudança de coloração observada após a síntese de nanopartículas. Lado esquerdo: dispersão de AgNPs em fator de diluição de 10, 50 e 100; lado direito: extrato diluído em fator de diluição de 10, 50 e 100, antes de serem submetidas à análise de espectrofotometria UV-Vis

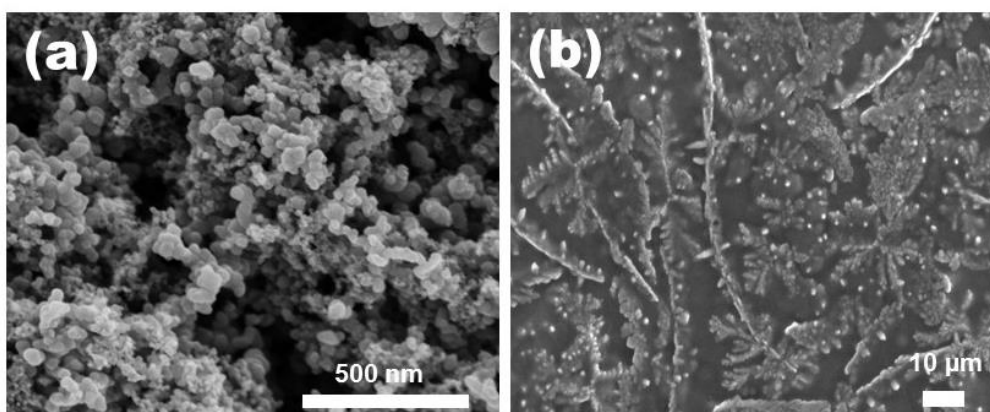


Fonte: Meireles (2023).

5.1.2. MEV

A análise morfológica dos materiais foi realizada por microscopia eletrônica de varredura. Nas Figuras 18 (a) e (b) são mostradas imagens de MEV para CB e AgNPs, respectivamente. É possível observar, na Figura 18 (a), o perfil morfológico típico de CB, consistindo em nanopartículas com diâmetro variável entre 10 e 50 nm que se aglomeram formando agregados de tamanho superior. Já na Figura 18 (b) podemos observar a presença de pontos brancos esféricos, sugerindo a presença de AgNPs. As demais estruturas morfológicas observadas derivam de componentes do extrato vegetal. Sugere-se que em trabalhos futuros sejam realizadas análises de microscopia eletrônica de transmissão (MET) para efetiva confirmação que tais pontos brancos tratam-se efetivamente de nanopartículas de prata.

Figura 18 - Imagens de MEV obtidas para (a) CB e (b) AgNPs

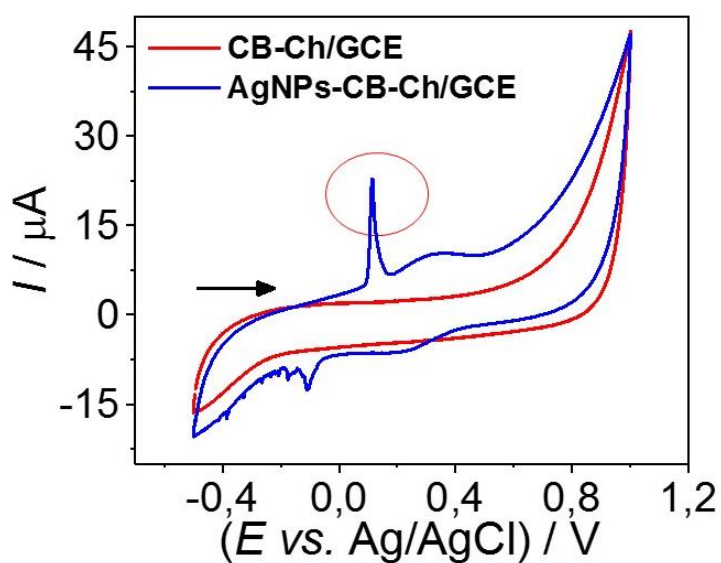


Fonte: Meireles (2023).

5.1.3. Voltametria Cíclica

A confirmação da presença de AgNPs no filme fino formado sobre a superfície do eletrodo preparado segundo o procedimento experimental descrito na seção 4.3 também foi realizada por voltametria cíclica. Para tanto, os voltamogramas obtidos utilizando dos eletrodos de trabalho CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE em KCl 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte, sem adição de analito, foram comparados, e encontram-se reportados na Figura 18.

Figura 19 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE em KCl 0,1 mol L⁻¹. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$



Fonte: Meireles (2023).

O eletrodo modificado com AgNPs apresentou um pico anódico por volta de +0,1 V, destacado por meio do círculo vermelho na Figura 19, e um pico catódico menor, por volta de -0,1 V, ambos ausentes para o eletrodo modificado apenas com CB. O pico anódico observado representa a oxidação de Ag^0 em Ag^+ e, portanto, confirma a presença de AgNPs na superfície do sensor. Já o pico catódico pode ser associado ao processo inverso, ou seja, a redução de Ag^+ em Ag^0 . Resultados semelhantes foram encontrados por Anshori et. al. (2021) em seu trabalho empregando f-MWCNT-AgNPs/GCE na detecção de dopamina.

5.2. Caracterização eletroquímica do sensor

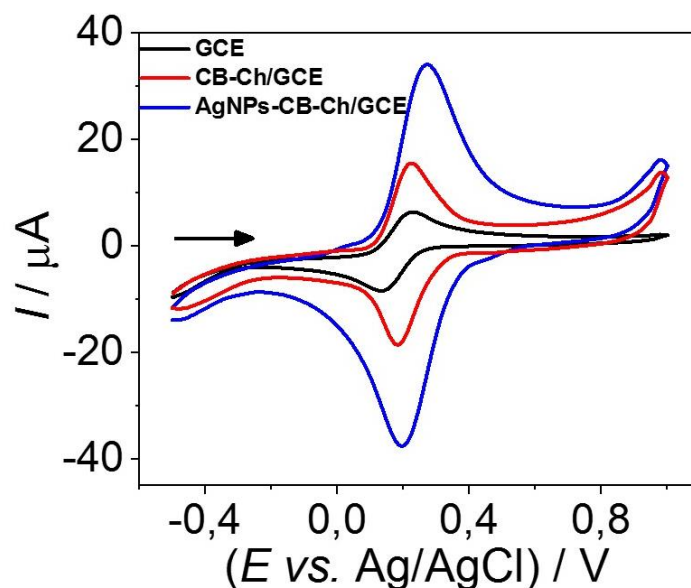
A caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados foi realizada empregando-se sonda redox de hexacianoferrato (II/III) de potássio ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$). Para tanto, uma solução estoque da sonda eletroquímica $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ foi previamente preparada na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, e um volume adequado adicionado à solução de eletrólito suporte.

Inicialmente, cada um dos três eletrodos (GCE não-modificado, CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE) foi submetido, individualmente, a um experimento de voltametria cíclica utilizando como eletrólito suporte solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e como analito o par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ na concentração de $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, a uma velocidade de varredura de $50,0 \text{ mV s}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos obtidos podem ser observados na Figura 20. Com esse experimento foi possível identificar melhoria no comportamento eletroquímico do eletrodo após as modificações propostas.

Em todos os casos, picos anódicos e catódicos distintos e bem definidos podem ser observados para o processo de oxi-redução reversível do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Entretanto, mudanças significativas podem ser observadas em termos de intensidade de corrente de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}) e separação de picos (ΔE_p) quando os diferentes eletrodos de trabalho foram utilizados. Após a modificação do eletrodo de trabalho com CB em filme de quitosana, a intensidade das correntes de pico anódica e catódica duplicaram em relação ao eletrodo não-modificado, e o valor de ΔE_p diminuiu em 46 mV, ao passo que a modificação do eletrodo com CB e nanopartículas de prata quadruplicou os valores de I_{pa} e I_{pc} em relação ao eletrodo não-modificado e reduziu o valor de ΔE_p .

em aproximadamente 17 mV. O aumento das correntes de pico e a diminuição da separação dos potenciais de pico podem estar atribuídos ao aumento da área eletroativa e melhoria da taxa de transferência de elétrons promovidos pela presença dos agentes modificadores.

Figura 20 - Voltamogramas cíclicos obtidos usando GCE, CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE para $K_3Fe(CN)_6$ $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$

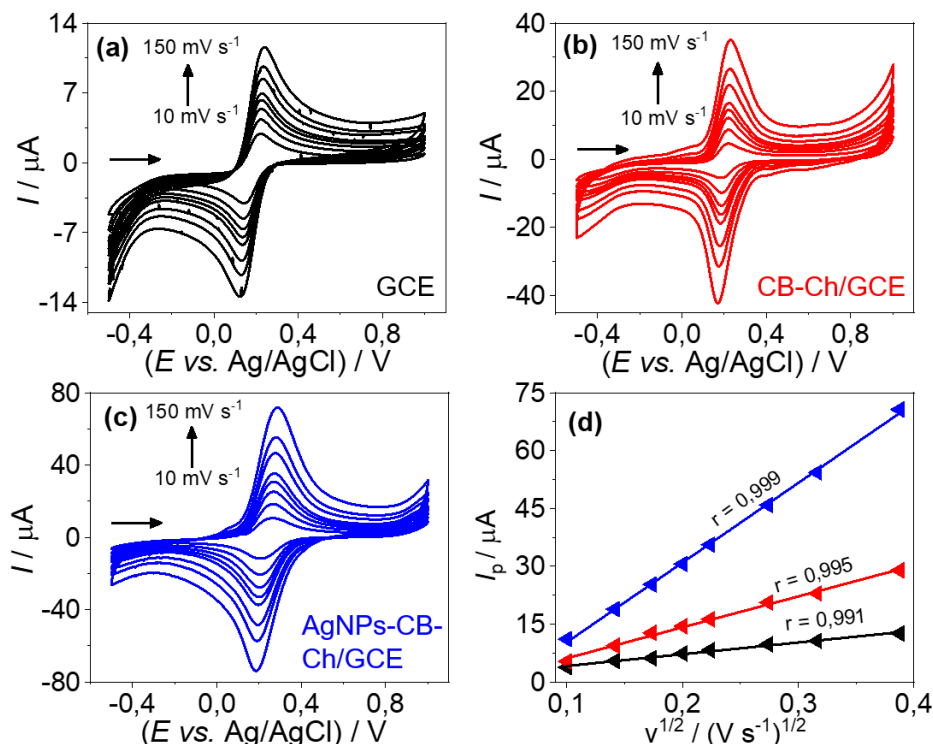


Fonte: Meireles (2023).

Em seguida, com o objetivo de verificar se houve aumento da área eletroativa com a modificação da superfície do eletrodo, diferentes experimentos de voltametria cíclica foram realizados variando a velocidade de varredura de potencial de 10 mV s^{-1} a 150 mV s^{-1} . Os voltamogramas obtidos podem ser visualizados nas Figuras 21 (a)-(c), para o eletrodo não-modificado, CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE, respectivamente. Como pode ser observado, as correntes de pico anódica e catódica aumentaram periodicamente após cada incremento de velocidade de varredura de potencial, resultando em gráficos fortemente lineares de corrente de pico de anódica por raiz quadrada da velocidade de varredura (I_{pa} vs. $v^{1/2}$), como pode ser visto na Figura 21 (d). Esse comportamento linear entre I_p e $v^{1/2}$ é esperado para processos redox controlados somente por transporte de massa por difusão, de acordo com a equação de Randles-Sevcik:

$$I_p = \pm(2,69 \times 10^5)n^{3/2}AD^{1/2}Cv^{1/2} \quad \text{Eq. (1)}$$

Figura 21 - Voltamograma cíclicos obtidos utilizando (a) GCE, (b) CB-Ch/GCE e (c) AgNPs-CB-Ch/GCE para $K_3Fe(CN)_6$ $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura (10 mV s^{-1} – 150 mV s^{-1}). (d) Gráficos de I_p vs. $v^{1/2}$ obtidos para GCE, CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE, representados conforme escala de cores



Fonte: Meireles (2023).

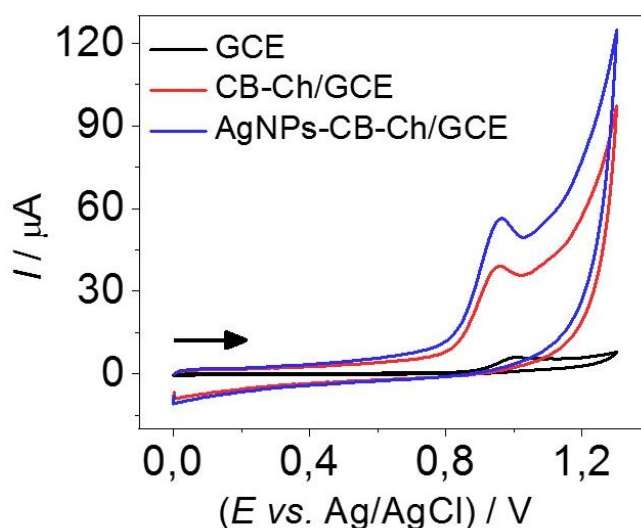
Na equação (1), I_p é a corrente de pico anódica ou catódica, n é o número de elétrons envolvidos na equação redox, A a área eletroativa, D o coeficiente de difusão, C a concentração da espécie eletroativa e $v^{1/2}$ a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial. Assim, em um gráfico de I_p vs. $v^{1/2}$, o coeficiente angular da reta está diretamente relacionado a área eletroativa. Ao alterar o eletrodo utilizado nos experimentos de voltametria cíclica, mantendo a mesma concentração da sonda redox e mesmo eletrólito suporte, pode-se inferir que o único fator responsável pelo aumento da inclinação da curva é o aumento da área eletroativa. Sendo assim, conclui-se, a partir da Figura 21 (d), que a área eletroativa do eletrodo AgNPs-CB-Ch/GCE foi maior que a do eletrodo CB-Ch/GCE, pois apresentou maior coeficiente angular, que por sua vez foi maior que o eletrodo não-modificado, de menor coeficiente angular. O aumento da área é desejado no preparo de sensores eletroquímicos modificados, uma vez que este efeito geralmente está associado a uma maior intensidade do sinal de corrente e

sensibilidade.

5.3. Resposta eletroquímica da ciprofloxacina

A resposta eletroquímica da CIP foi investigada por experimentos de voltametria cíclica utilizando inicialmente como eletrólito suporte tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$) na presença de CIP na concentração de $4,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, e uma velocidade de varredura de potencial de 50 mV s^{-1} . Para efeitos comparativos, a eletroatividade da CIP foi testada para o eletrodo não-modificado, CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE. Os voltamogramas cíclicos obtidos podem ser visualizados na Figura 22.

Figura 22 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando diferentes eletrodos de trabalho (GCE, CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE) em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$), contendo $4,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ CIP. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$



Fonte: Meireles (2023).

A partir dos voltamogramas da Figura 22, foi possível notar a presença de um pico de oxidação em aproximadamente $+0,9 \text{ V}$ durante a varredura anódica de potenciais e a ausência do pico de redução equivalente após a inversão da direção de varredura de potenciais, para todos os três eletrodos. Esses resultados sugerem que a molécula de ciprofloxacina sofre um processo de oxidação irreversível. Além disso, nota-se um aumento do sinal analítico para os eletrodos modificados, CB-Ch/GCE e AgNPs-CB-Ch/GCE. Em termos quantitativos, a corrente de pico anódica aumentou 7 vezes para o eletrodo CB-Ch/GCE e

aproximadamente 9 vezes para o eletrodo AgNPs-CB-CTS/GCE, em relação ao eletrodo de trabalho não-modificado. O aumento significativo do sinal analítico obtido utilizando CB e AgNPs como modificadores do eletrodo de trabalho sugerem que esses materiais possuem um forte potencial para serem utilizados na detecção voltamétrica de CIP, além de comprovarem o efeito sinérgico desses dois nanomateriais.

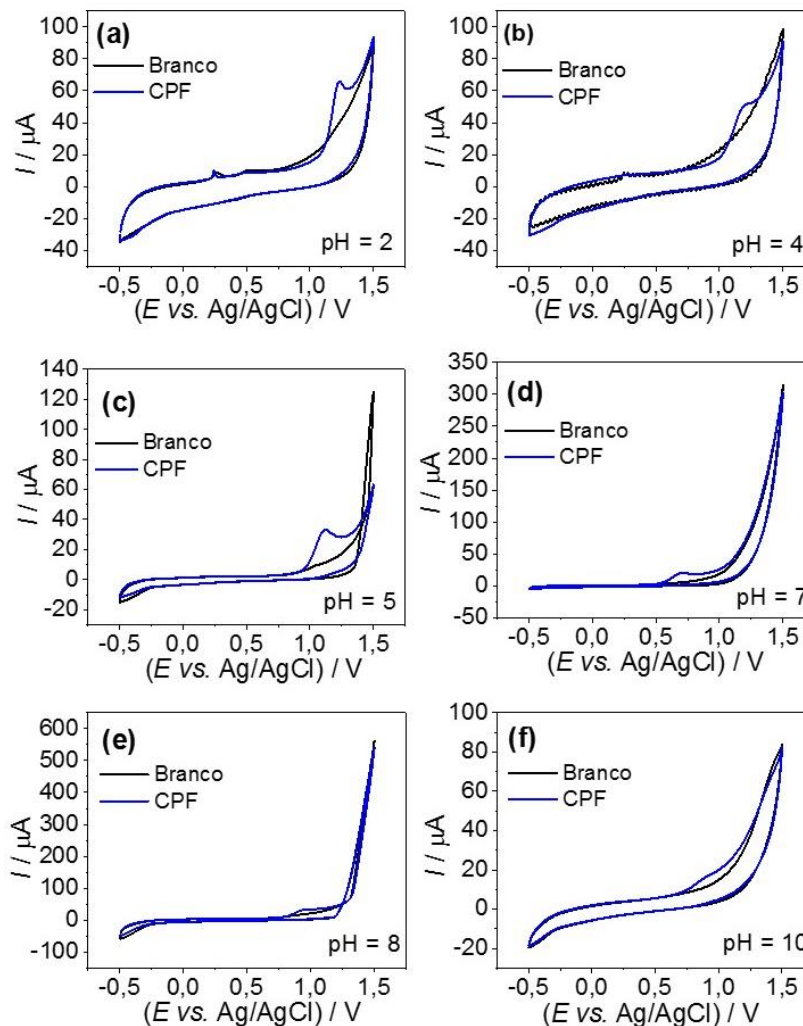
A estrutura química da ciprofloxacina foi apresentada no tópico 3.1 (Figura 1). O pico de oxidação da CIP observado na varredura anódica é atribuído à desprotonação do radical piperazínico na posição 7 desta fluoroquinolonas. A oxidação não acontece no grupo carboxílico e na região aromática por serem regiões mais estáveis devido à alternância de ligações duplas.

5.3.1. Estudo do efeito do pH

O efeito do pH do eletrólito suporte na resposta voltamétrica da CIP foi avaliado utilizando soluções de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH variando de 2,0 a 10,0, na presença de CIP $4,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, e usando AgNPs-CB-Ch/GCE como eletrodo de trabalho. Os voltamogramas cíclicos obtidos podem ser observados na Figura 23. A melhor condição de pH foi escolhida como aquela que forneceu a maior intensidade de corrente de pico. O gráfico de I_p vs. pH está presente na Figura 24.

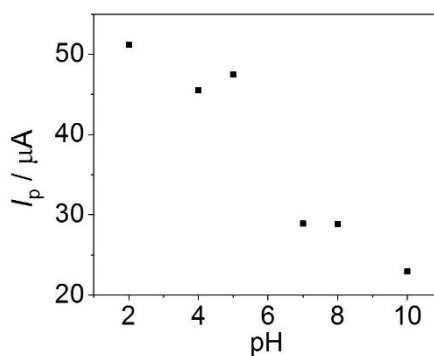
Assim, para prosseguir nos experimentos com CIP, foi escolhido o tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 2,0, já que nesse valor de pH a CIP apresentou maior corrente de pico e, portanto, maior atividade. Isso acontece porque em meios ácidos, sobretudo em valores de pH abaixo de 4, há predominância da espécie positiva da CIP, com os grupos aminos protonados. Uma vez que o pico anódico é atribuído à desprotonação do grupo amina, valores baixos de pH facilitam as reações de oxidação. A distribuição as espécies de CIP de acordo com o pH do meio reacional pode ser visualizado na Figura 25.

Figura 23 - Voltamograma cíclicos obtidos utilizando AgNPs-CB-Ch/GCE como eletrodo de trabalho em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, contendo $4,9 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ CIP em diferentes condições de pH



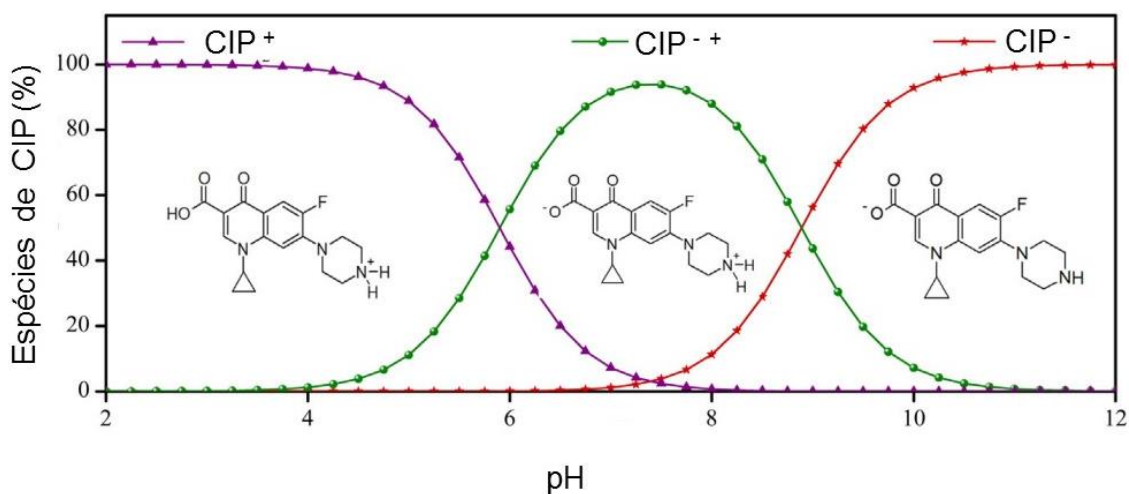
Fonte: Meireles (2023).

Figura 24 - Gráfico de I_p vs. pH utilizando AgNPs-CB-Ch/GCE como eletrodo de trabalho em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH variando de 2,0 a 10,0), contendo $4,9 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ CIP. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$



Fonte: Meireles (2023).

Figura 25- Distribuição de espécies de CIP em função de pH



Fonte: Adaptado de Roca et al. (2015).

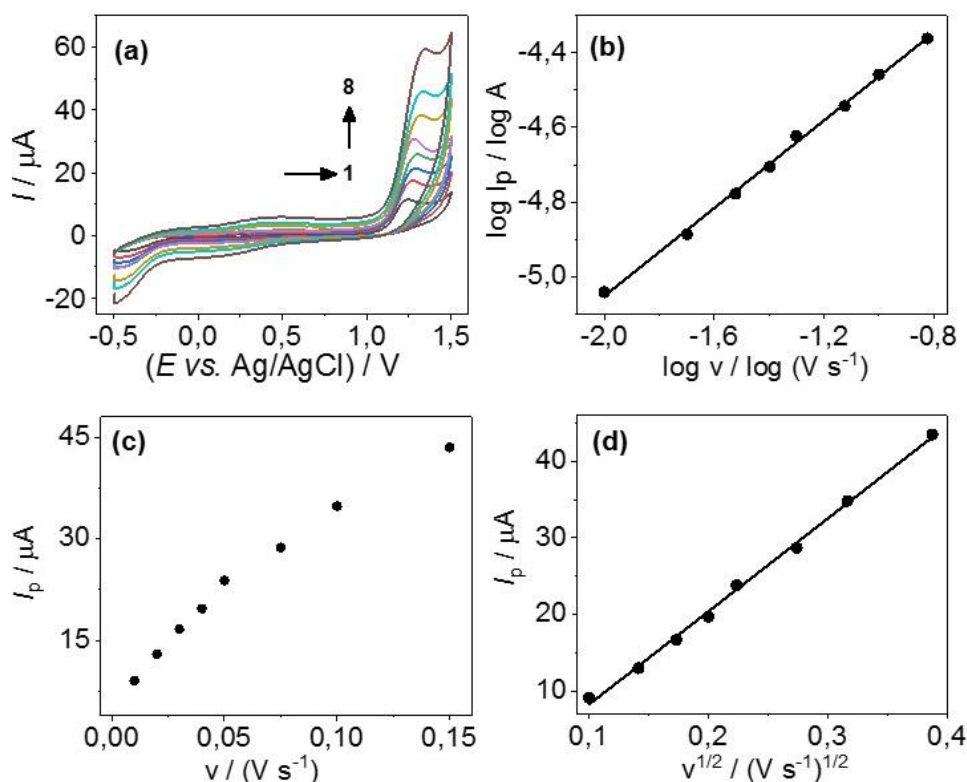
5.3.2. Estudo do efeito da velocidade de varredura

O efeito da velocidade de varredura de potencial na resposta da CIP foi avaliado variando esse parâmetro de 10 a 150 mV s^{-1} em diferentes experimentos de voltametria cíclica. Os voltamogramas obtidos podem ser visualizados na Figura 26 (a). Para tanto, os experimentos foram realizados utilizando tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 2,0) como eletrólito suporte contendo $4,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CIP e AgNPs-CB-Ch/GCE como eletrodo de trabalho. Como pode ser visto, o incremento da velocidade de varredura provocou um aumento na corrente de pico. Assim, os gráficos do logaritmo decimal da corrente de pico versus o logaritmo decimal da velocidade de varredura de potenciais ($\log I_p$ vs. $\log v$), de corrente de pico versus a velocidade de varredura de potencial (I_p vs. v) e de corrente de pico versus a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial (I_p vs. $v^{1/2}$) foram construídos e estes encontram-se organizados nas Figuras 26 (b), (c) e (d), respectivamente. O objetivo foi verificar qual fenômeno predominou no controle do processo de transferência de elétrons. Para o gráfico de $\log I_p$ vs. $\log v$, a relação foi linear e o coeficiente angular foi de 0,58, valor entre os valores teóricos de 0,5, reportado para um processo redox controlado apenas por transporte de massa por difusão, e 1,0, típico para um processo redox governado por adsorção. Como pode ser visto, apenas o gráfico de I_p vs. $v^{1/2}$ apresentou uma relação linear, indicando que o processo redox do analito foi controlado predominantemente por

difusão, ao passo que o gráfico de I_p vs. v não apresentou uma relação linear. A equação de regressão linear e coeficiente de correlação linear obtidos para a curva I_p vs. $v^{1/2}$ foram:

$$I_p / A = -5,9 \times 10^{-6} + 4,15 \times 10^{-6} v^{1/2} / (V^{1/2} s^{-1/2}), r = 0,997 \quad \text{Eq. (2)}$$

Figura 26 - (a) Voltamogramas cíclicos obtidos a diferentes velocidades de varredura (10 mV s^{-1} , 20 mV s^{-1} , 30 mV s^{-1} , 40 mV s^{-1} , 50 mV s^{-1} , 75 mV s^{-1} , 100 mV s^{-1} e 150 mV s^{-1}) em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 2,0$). Gráficos de (b) $\log I_p$ vs. $\log v$, (c) I_p vs. v e (d) I_p vs. $v^{1/2}$



Fonte: Meireles (2023).

5.4. Otimização dos parâmetros da SWV

Nessa etapa foi estudada a influência dos parâmetros da técnica de voltametria de onda quadrada sobre a resposta eletroquímica do antibiótico. Os parâmetros sujeitos à otimização foram frequência, amplitude e incremento de potencial. Os valores ótimos foram selecionados como aqueles que forneceram uma maior corrente de pico e com perfil voltamétrico bem definido. Esses valores encontram-se na Tabela 3, bem como as faixas estudadas para cada parâmetro.

Tabela 3 - Otimização dos parâmetros de SWV para determinação de CIP na concentração $4,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$

Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado
Frequência, f (HZ)	10-80	70 Hz
Amplitude, a (mV)	10-100	90 mV
Incremento de potencial, ΔE_s (mV)	1-5	5 mV

5.5. Determinação de CIP por SWV

Empregando-se os parâmetros otimizados a partir de todos os estudos discutidos anteriormente, a curva analítica para o antibiótico CIP foi construída utilizando-se o eletrodo modificado AgNPs-CB-Ch/GCE e a técnica voltamétrica de SWV. Diferentes concentrações de CIP foram obtidas na célula eletroquímica a partir de injeções de pequenas alíquotas de uma solução-estoque preparada no eletrólito suporte. Desta forma, a concentração de CIP foi variada de $3,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $130,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, tendo sido observado uma dependência linear entre corrente de pico e concentração de CIP para duas faixas distintas de concentração: faixa linear 1, de $3,1 \times 10^{-6}$ a $24,8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; e faixa linear 2, verificada de $36,9 \times 10^{-6}$ a $130,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Portanto, estas foram as faixas lineares do sensor proposto, e os voltamogramas de onda quadrada registrados em diferentes concentrações de CIP bem como a curva analítica obtida encontram-se apresentados na Figura 27. As equações de regressão linear correspondentes a cada faixa linear da curva analítica foram:

Faixa linear 1:

$$I_p / \mu\text{A} = -(0,9 \pm 0,1) \mu\text{A} + (0,648 \pm 0,006) \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1} c(\text{CIP}) / \mu\text{mol L}^{-1} \quad \text{Eq. (3)}$$

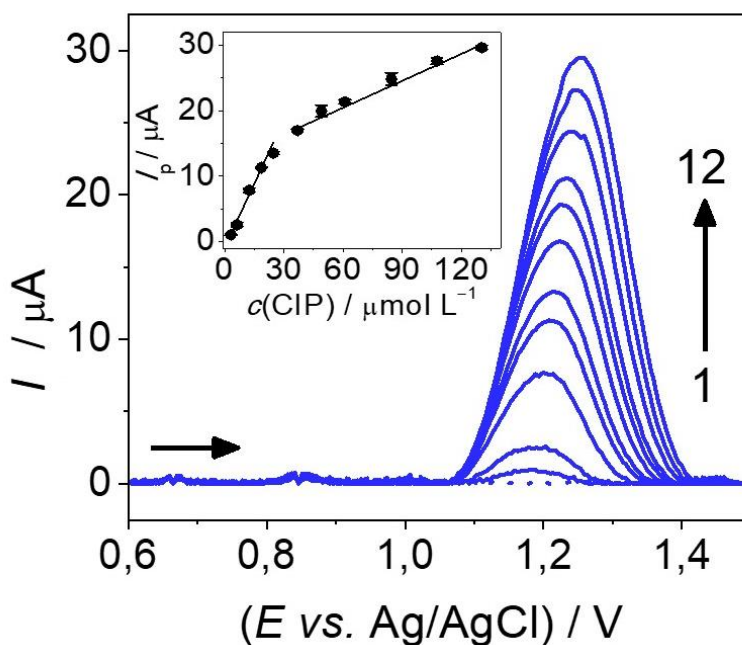
$$r = 0,995$$

Faixa linear 2:

$$I_p / \mu\text{A} = +(12,25 \pm 0,3) \mu\text{A} + (0,137 \pm 0,004) \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1} c(\text{CIP}) / \mu\text{mol L}^{-1} \quad \text{Eq. (4)}$$

$$r = 0,993$$

Figura 27 - Voltamogramas de onda quadrada obtidos utilizando-se AgNPs-Ch-CB/GCE em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 2,0) contendo CIP em diferentes concentrações: (1) 0,0 (branco); (2) 3,1; (3) 6,2; (4) 12,4; (5) 18,6; (6) 24,8; (7) 36,9; (8) 49,02; (9) 61,0; (10) 84,5; (11) 107,7 e (12) 130,3 × 10⁻⁶ mol L⁻¹. Parâmetros da SWV: $f = 70$ Hz; $a = 90$ mV; $\Delta E_s = 5$ mV



Fonte: Meireles (2023).

Portanto, uma sensibilidade analítica de 0,648 $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ foi obtida para a primeira faixa linear. O limite de detecção (LOD) foi calculado como sendo 0,48 $\mu\text{mol L}^{-1}$, calculado pela fórmula $\text{LOD} = 3 \times s/m$ (SILVA; WONG; FATIBELLO-FILHO, 2020a); sendo s o desvio-padrão do coeficiente linear e m a sensibilidade analítica correspondente à primeira faixa linear da curva analítica.

A título de comparação, alguns trabalhos mais atuais encontrados na literatura envolvendo sensores eletroquímicos destinados à determinação voltamétrica de CIP encontram-se relacionados na Tabela 4, com seus respectivos valores de faixa linear e limite de detecção.

Tabela 4 - Estudos de detecção de CIP por técnicas voltamétricas reportados na literatura

Eletrodo	Técnica	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
MWCNT/GCE	Cronoamperometria	40-1000	6,0	(FOTOUHI; ALAHYARI, 2010)
Pt-RGO/GCE	DPV	10-25	1,53	(PHAM <i>et al.</i> , 2022)
N-F/CPE	DPV	3,0-18	1,0	(ISLAS; RODRIGUEZ, 2021)
MWCNT/GCE	LS-SVM	3,0-1200	0,9	(NSAFI <i>et al.</i> , 2010)
AgNP-CB-Ch/GCE	SWV	3,1-24,8 e 36,9-130,3	0,48	Este trabalho
Ag@POM@rGO-IL/CPE	SWV	0,103-122,880	0,031	(SHAFIEI; KARIM HASSANINEJAD-DARZI, 2023)
<i>f</i> -MWCNT-coated GCE	SWV	5-100	0,16	(CHAABANI; BEN JABRALLAH; BELHADJ TAHAR, 2022)
Nafion-MWCNT/BDD	DPV	0,005-0,05	0,005	(GAYEN; CHAPLIN, 2015)

N.R.: MWCNT/GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas; Pt-RGO/GCE: eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de platina; eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion e fulereno; LS-SVM: máquina de vetores de suporte de mínimos quadrados e voltametria de varredura linear; Ag@POM@rGO/GCE: eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido, polioxidometalato decorado com prata e líquido iônico; Nafion-MWCNT/BDD: eletrodo de diamante dopado com boro modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas e Nafion; *f*-MWCNT-coated GCE: eletrodo de carbono vítreo revestido com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado.

5.6. Estudo de repetibilidade

A precisão de resposta do sensor AgNPs-CB-Ch/GCE foi avaliada por meio dos testes de repetibilidade inter-dias e intra-dia. No teste de repetibilidade intra-dia, foram realizadas 15 medidas de SWV sucessivas na concentração de $12,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de CIP e 15 medidas sucessivas de SWV na concentração de $84,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Para os testes de repetibilidade inter-dias, foram realizadas 5 medidas sucessivas de SWV para as mesmas concentrações de CIP dos testes intra-dia, mas durante três diferentes dias. Os valores de desvio-padrão relativo (DPR) em cada caso encontram-se na Tabela 5. Como pode ser visto,

foram obtidos valores de DPR na faixa de 1,32 a 11,3%, valores considerados aceitáveis e que indicam a boa precisão de medidas do sensor voltamétrico proposto.

Tabela 5 - Resultados obtidos para os estudos de repetibilidade intra- e inter-dias utilizando-se o sensor de AgNPs-CB-Ch/GCE e SWV

$c(\text{CIP}) / \text{mol L}^{-1}$	DPR (%)	
	Repetibilidade intra-dia ($n = 15$)	Repetibilidade inter-dias ($n = 3$)
$12,4 \times 10^{-6}$	11,3	10,6
$84,5 \times 10^{-6}$	1,94	1,32

5.7. Análise de amostras de urina sintética

Para avaliar a aplicabilidade e seletividade do sensor proposto, foram realizados ensaios de adição e recuperação em amostras de urina sintética. Para a primeira faixa de concentração de CIP, foi necessário a adição de solução padrão de CIP de uma concentração de $6,24 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $24,8 \mu\text{mol L}^{-1}$. Com base na equação obtida para a primeira faixa linear (Eq. 3), foi encontrado o valor teórico de concentração de CIP de $6,14 \mu\text{mol L}^{-1}$ para o primeiro nível de concentração, sendo, portanto, encontrado uma recuperação de 98,6%. Para a segunda faixa de concentração, foi adicionado $36,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIP à amostra, tendo sido encontrado um valor teórico de $38, \mu\text{mol L}^{-1}$ (Eq. 4), tendo esse valor sido encontrado por interpolação da curva analítica. Não foi necessário o uso da adição de solução neste caso. Neste segundo nível de fortificação da amostra, foi encontrado um valor de recuperação de 105,4%. Portanto, valores de recuperação próximos a 100% foram encontrados em ambas as faixas de concentração linear, indicando a exatidão do sensor proposto. As concentrações encontradas na amostra de urina sintética fortificada e respectivas porcentagens de recuperação encontram-se organizadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados obtidos para a determinação de CIP em amostra de urina sintética fortificada utilizando-se o sensor de AgNPs-CB-Ch/GCE e SWV

c(CIP) / $\mu\text{mol L}^{-1}$		Recuperação (%)*
Adicionada	Encontrada	
6,24	6,15 \pm 0,54	98,6
36,9	38,9 \pm 1,1	105,4

*Recuperação = $c(\text{CIP})_{\text{encontrada}} / c(\text{CIP})_{\text{adicionada}} \times 100\%$.

6. CONCLUSÃO

Nesse trabalho foram propostas a síntese de AgNPs por via verde utilizando extrato da planta *Camelis Sinasis* como agente redutor e estabilizador das nanopartículas e a produção de um sensor eletroquímico modificado com CB e AgNPs. Esses materiais são de baixo custo e foram estabilizados em matriz polimérica de quitosana pra detecção voltamétrica do antibiótico ciprofloxacina.

A partir da caracterização morfológica e eletroquímica dos materiais, conclui-se que o extrato de chá preto apresenta potencial para ser utilizado na síntese de tais nanopartículas em substituição aos reagentes químicos tradicionalmente utilizados na estratégia “*bottom up*”. Quanto ao sensor eletroquímico desenvolvido, o eletrodo modificado com ambos nanomateriais apresentou melhor desempenho eletroquímico e aumento da corrente de pico anódica em relação aos eletrodos GCE não-modificado e CB-Ch/GCE. Dessa forma, comprovou-se o efeito sinérgico desses modificadores na detecção do analito proposto. Sob condições experimentais ótimas, a técnica de SWV apresentou duas faixas lineares de resposta para o eletrodo AgNPs-CB-Ch/GCE, uma de $3,1 \times 10^{-6}$ a $24,8 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e outra de $36,9 \times 10^{-6}$ a $130,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de 0,48 μmol L⁻¹. O sensor também apresentou boa precisão de medidas, como observado nos ensaios de repetibilidade inter-dias e intra-dia, com valores de desvio-padrão relativo entre 1,32 e 11,3%, além de adequados valores de recuperação, próximos a 100%, para ambas as faixas de concentração linear.

Sendo assim, os materiais de baixo custo propostos tanto na redução dos íons de prata quanto na arquitetura de um sensor eletroquímico modificado apresentaram-se eficientes na produção de um novo sensor voltamétrico para a detecção de ciprofloxacina, tendo sido comprovado o efeito sinérgico dos nanomateriais CB e AgNPs.

7. REFERÊNCIAS

ABDULLAH, H. I.; AL-AMIERY, A. A.; AL-BAGHDADI, S. B. The using of nanomaterials as catalysts for photodegradations. **Journal of Physics: Conference Series**, vol. 1853, no. 1, p. 012052, 1 Mar. 2021. DOI 10.1088/1742-6596/1853/1/012052. Available at: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1853/1/012052>.

ADAMS, F. C.; BARBANTE, C. Nanoscience, nanotechnology and spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, vol. 86, p. 3–13, 2013. DOI 10.1016/j.sab.2013.04.008. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2013.04.008>.

AHMED, S.; AHMAD, M.; SWAMI, B. L.; IKRAM, S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. **Journal of Advanced Research**, vol. 7, no. 1, p. 17–28, 1 Jan. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007>.

ALKHULAIFI, M. M.; ALSHEHRI, J. H.; ALWEHAIBI, M. A.; AWAD, M. A.; AL-ENAZI, N. M.; ALDOSARI, N. S.; HATAMLEH, A. A.; ABDEL-RAOUF, N. Green synthesis of silver nanoparticles using Citrus limon peels and evaluation of their antibacterial and cytotoxic properties. **Saudi Journal of Biological Sciences**, vol. 27, no. 12, p. 3434–3441, Dec. 2020. DOI 10.1016/j.sjbs.2020.09.031. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1319562X20304381>.

ANSHORI, I.; NURAVIANA RIZALPUTRI, L.; RONA ALTHOF, R.; SEAN SURJADI, S.; HARIMURTI, S.; GUMILAR, G.; YULIARTO, B.; HANDAYANI, M. Functionalized multi-walled carbon nanotube/silver nanoparticle (f-MWCNT/AgNP) nanocomposites as non-enzymatic electrochemical biosensors for dopamine detection. **Nanocomposites**, vol. 7, no. 1, p. 97–108, 2 Jan. 2021. DOI 10.1080/20550324.2021.1948242. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/20550324.2021.1948242>.

ARKAN, E.; SHAMSIPUR, M.; SABER, R.; KARIMI, Z.; MAJNOONI, M. A novel electrochemical sensor based on a silver nanoparticle modified carbon ionic liquid electrode for selective and sensitive determination of levetiracetam in pharmaceutical tablets and blood plasma samples. **Analytical Methods**, vol. 6, no. 7, p. 2197, 2014. DOI 10.1039/c3ay42295j. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3ay42295j>.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. a; BEZERRA, D. C.; FOOK, M. V. L.; COSTA, a C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, vol. 2.3, p. 27–34, 2007.

BABAEI, A.; AFRASIABI, M.; BABAZADEH, M. A Glassy Carbon Electrode Modified with Multiwalled Carbon Nanotube/Chitosan Composite as a New Sensor for Simultaneous Determination of Acetaminophen and Mefenamic Acid in Pharmaceutical Preparations and Biological Samples. **Electroanalysis**, vol. 22, no. 15, p. 1743–1749, 11 May 2010. DOI 10.1002/elan.200900578. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elan.200900578>.

BACCARIN, M.; SANTOS, F. A.; VICENTINI, F. C.; ZUCOLOTTO, V.; JANEGITZ, B. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Electrochemical sensor based on reduced graphene oxide/carbon black/chitosan composite for the simultaneous determination of dopamine and paracetamol concentrations in urine samples. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, vol. 799, p. 436–443, Aug. 2017. DOI 10.1016/j.jelechem.2017.06.052. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1572665717304782>.

BALAKUMARAN, M. D.; RAMACHANDRAN, R.; KALAICHELVAN, P. T. Exploitation of endophytic fungus, *Guignardia mangiferae* for extracellular synthesis of silver nanoparticles and their in vitro biological activities. **Microbiological Research**, vol. 178, p. 9–17, Sep. 2015. DOI 10.1016/j.micres.2015.05.009. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944501315001068>.

BRITO, J. E. de; VIANA, D. dos S. F.; VIANA, V. G. F. Síntese verde e caracterização de nanopartículas de prata AgNp estabilizadas em extrato de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*). **Research, Society and Development**, vol. 11, no. 6, p. e21611629051, 2022. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i6.29051>.

CHAABANI, A.; BEN JABRALLAH, T.; BELHADJ TAHAR, N. Electrochemical Oxidation of Ciprofloxacin on COOH-Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotube-Coated Vitreous Carbon Electrode. **Electrocatalysis**, vol. 13, no. 4, p. 402–413, 22 Jul. 2022. DOI 10.1007/s12678-022-00725-7. Available at: <https://link.springer.com/10.1007/s12678-022-00725-7>.

CHEN, H. M.; LIU, R. S. Architecture of metallic nanostructures: Synthesis strategy and specific applications. **Journal of Physical Chemistry C**, vol. 115, no. 9, p. 3513–3527, 10 Mar. 2011. <https://doi.org/10.1021/jp108403r>.

COSTA SILVA, L. P.; PINTO OLIVEIRA, J.; KEIJOK, W. J.; DA SILVA, A. R.; AGUIAR, A. R.; GUIMARÃES, M. C. C.; FERRAZ, C. M.; ARAÚJO, J. V.; TOBIAS, F. L.; BRAGA, F. R. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the cell-free filtrate of nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans*. **International Journal of Nanomedicine**, vol. Volume 12, p. 6373–6381, Aug. 2017. DOI 10.2147/IJN.S137703. Available at: <https://www.dovepress.com/extracellular-biosynthesis-of-silver-nanoparticles-using-the-cell-free-peer-reviewed-article-IJN>.

CUNHA, F. A.; CUNHA, M. da C. S. O.; DA FROTA, S. M.; MALLMANN, E. J. J.; FREIRE, T. M.; COSTA, L. S.; PAULA, A. J.; MENEZES, E. A.; FECHINE, P. B. A. Biogenic synthesis of multifunctional silver nanoparticles from *Rhodotorula glutinis* and *Rhodotorula mucilaginosa*: antifungal, catalytic and cytotoxicity activities. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, vol. 34, no. 9, p. 127, 6 Sep. 2018. DOI 10.1007/s11274-018-2514-8. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11274-018-2514-8>.

DADA, A. O.; ADEKOLA, F. A.; DADA, F. E.; ADELANI-AKANDE, A. T.; BELLO, M. O.; OKONKWO, C. R.; INYINBOR, A. A.; OLUYORI, A. P.; OLAYANJU, A.; AJANAKU, K. O.; ADETUNJI, C. O. Silver nanoparticle synthesis by *Acalypha wilkesiana* extract: phytochemical screening, characterization, influence of

operational parameters, and preliminary antibacterial testing. **Heliyon**, vol. 5, no. 10, p. e02517, 2019. DOI 10.1016/j.heliyon.2019.e02517. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02517>.

DEOBAGKAR, D.; KULKARNI, R.; SHAIWALE, N.; DEOBAGKAR, D. Synthesis and extracellular accumulation of silver nanoparticles by employing radiation-resistant *Deinococcus radiodurans*, their characterization, and determination of bioactivity. **International Journal of Nanomedicine**, , p. 963, Jan. 2015. DOI 10.2147/IJN.S72888. Available at: <http://www.dovepress.com/synthesis-and-extracellular-accumulation-of-silver-nanoparticles-by-em-peer-reviewed-article-IJN>.

DIAS, D. V. S.; ZANCANELLA, C. A.; BANDEIRA, D. M.; CORREA, J. M.; PINTO, F. G. da S.; EISING, R. Síntese verde de nanopartículas de prata utilizando extrato metanólico de *Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl / Green synthesis of silver nanoparticles using methanol extract of *Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl. **Brazilian Journal of Development**, vol. 7, no. 4, p. 42062–42072, 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n4-595>.

ERDOGAN, O.; ABBAK, M.; DEMIRBOLAT, G. M.; BIRTEKOC AK, F.; AKSEL, M.; PASA, S.; CEVIK, O. Green synthesis of silver nanoparticles via *Cynara scolymus* leaf extracts: The characterization, anticancer potential with photodynamic therapy in MCF7 cells. **PLOS ONE**, vol. 14, no. 6, p. e0216496, 20 Jun. 2019. DOI 10.1371/journal.pone.0216496. Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0216496>.

FATIBELLO-FILHO, O. T. A. S. F. C. de M. E. S. **Eletroanálises: aspectos teóricos e práticos**. São Carlos: [s. n.], 2022.

FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; SILVA, T. A.; VICENTINI, F. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Simultaneous voltammetric determination of dopamine and epinephrine in human body fluid samples using a glassy carbon electrode modified with nickel oxide nanoparticles and carbon nanotubes within a dihexadecylphosphate film. **The Analyst**, vol. 139, no. 11, p. 2842, 2014. DOI 10.1039/c4an00229f. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c4an00229f>.

FOTOUHI, L.; ALAHYARI, M. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces Electrochemical behavior and analytical application of ciprofloxacin using a multi-walled nanotube composite film-glassy carbon electrode. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, vol. 81, no. 1, p. 110–114, 2010. DOI 10.1016/j.colsurfb.2010.06.030. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.06.030>.

FRADE, V. M. F.; DIAS, M.; TEIXEIRA, A. C. S. C.; PALMA, M. S. A. Environmental contamination by fluoroquinolones. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 50, no. 1, p. 41–54, 2014. <https://doi.org/10.1590/s1984-82502011000100004>.

FU, B.; SUN, J.; CHENG, Y.; OUYANG, H.; COMPAGNINI, G.; YIN, P.; WEI, S.; LI, S.; LI, D.; SCARDACI, V.; ZHANG, H. Recent Progress on Metal-Based

Nanomaterials: Fabrications, Optical Properties, and Applications in Ultrafast Photonics (Adv. Funct. Mater. 49/2021). **Advanced Functional Materials**, vol. 31, no. 49, p. 2170364, 2 Dec. 2021. DOI 10.1002/adfm.202170363. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adfm.202170363>.

GAHLAWAT, G.; CHOUDHURY, A. R. A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes. **RSC Advances**, vol. 9, no. 23, p. 12944–12967, 2019. DOI 10.1039/C8RA10483B. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C8RA10483B>.

GARDEA-TORRESDEY, J. L.; GOMEZ, E.; PERALTA-VIDEA, J. R.; PARSONS, J. G.; TROIANI, H.; JOSE-YACAMAN, M. Alfalfa Sprouts: A Natural Source for the Synthesis of Silver Nanoparticles. **Langmuir**, vol. 19, no. 4, p. 1357–1361, 18 Feb. 2003. DOI 10.1021/la020835i. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la020835i>.

GARIBO, D.; BORBÓN-NUÑEZ, H. A.; DE LEÓN, J. N. D.; GARCÍA MENDOZA, E.; ESTRADA, I.; TOLEDANO-MAGAÑA, Y.; TIZNADO, H.; OVALLE-MARROQUIN, M.; SOTO-RAMOS, A. G.; BLANCO, A.; RODRÍGUEZ, J. A.; ROMO, O. A.; CHÁVEZ-ALMAZÁN, L. A.; SUSARREY-ARCE, A. Green synthesis of silver nanoparticles using *Lysiloma acapulcensis* exhibit high-antimicrobial activity. **Scientific Reports**, vol. 10, no. 1, p. 12805, 30 Jul. 2020. DOI 10.1038/s41598-020-69606-7. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-69606-7>.

GAYEN, P.; CHAPLIN, B. P. Selective Electrochemical Detection of Ciprofloxacin with a Porous Nafion / Multi-Walled Carbon Nanotube Composite Film Electrode Selective Electrochemical Detection of Ciprofloxacin with a Porous Nafion / Multi-Walled Carbon Nanotube Composite Film Elect. 2015. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b07337>.

GHIACI, M.; TGHIZADEH, M.; ENSAFI, A. A.; ZANDI-ATASHBAR, N.; REZAEI, B. Silver nanoparticles decorated anchored type ligands as new electrochemical sensors for glucose detection. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, vol. 63, p. 39–45, Jun. 2016. DOI 10.1016/j.jtice.2016.03.013. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1876107016001371>.

GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, R. B.; PARRA-ARROYO, L.; PARRA-SALDÍVAR, R.; RAMIREZ-MENDOZA, R. A.; IQBAL, H. M. N. Nanomaterial-based catalysts for the degradation of endocrine-disrupting chemicals – A way forward to environmental remediation. **Materials Letters**, vol. 308, p. 131217, Feb. 2022. DOI 10.1016/j.matlet.2021.131217. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167577X21019157>.

GUO, W.; PI, F.; ZHANG, H.; SUN, J.; ZHANG, Y.; SUN, X. A novel molecularly imprinted electrochemical sensor modified with carbon dots, chitosan, gold nanoparticles for the determination of patulin. **Biosensors and Bioelectronics**, vol. 98, p. 299–304, Dec. 2017. DOI 10.1016/j.bios.2017.06.036. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566317304116>.

HABIBI, B.; POURNAGHI-AZAR, M. H. Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid by use of a MWCNT modified carbon-ceramic electrode and differential pulse voltammetry. **Electrochimica Acta**, vol. 55, no. 19, p. 5492–5498, Jul. 2010. DOI 10.1016/j.electacta.2010.04.052. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013468610006092>.

HEBBALALU, D.; LALLEY, J.; NADAGOUDA, M. N.; VARMA, R. S. Greener techniques for the synthesis of silver nanoparticles using plant extracts, enzymes, bacteria, biodegradable polymers, and microwaves. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, vol. 1, no. 7, p. 703–712, 2013. <https://doi.org/10.1021/sc4000362>.

HUSSEINY, S. M.; SALAH, T. A.; ANTER, H. A. Biosynthesis of size controlled silver nanoparticles by *Fusarium oxysporum*, their antibacterial and antitumor activities. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, vol. 4, no. 3, p. 225–231, Sep. 2015. DOI 10.1016/j.bjbas.2015.07.004. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2314853515000487>.

ISLAM, S.; BHUIYAN, M. A. R.; ISLAM, M. N. Chitin and Chitosan: Structure, Properties and Applications in Biomedical Engineering. **Journal of Polymers and the Environment**, vol. 25, no. 3, p. 854–866, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10924-016-0865-5>.

ISLAS, G.; RODRIGUEZ, J. A. Development of a New Voltammetric Methodology for the Determination of Ciprofloxacin in Beef Samples Using a Carbon Paste Electrode Modified with Nafion and . , p. 1–9, 2021. <https://doi.org/10.1002/elan.202060525>.

JALAL, M.; ANSARI, M.; ALZOHAIRY, M.; ALI, S.; KHAN, H.; ALMATROUDI, A.; RAEES, K. Biosynthesis of Silver Nanoparticles from Oropharyngeal *Candida glabrata* Isolates and Their Antimicrobial Activity against Clinical Strains of Bacteria and Fungi. **Nanomaterials**, vol. 8, no. 8, p. 586, 1 Aug. 2018. DOI 10.3390/nano8080586. Available at: <http://www.mdpi.com/2079-4991/8/8/586>.

JANEGITZ, B. C.; FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; SOUZA, S. P. N.; PEREIRA-FILHO, E. R.; FATIBELLO-FILHO, O. Development of a carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan for cadmium(II) and mercury(II) determination. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, vol. 660, no. 1, p. 209–216, Sep. 2011. DOI 10.1016/j.jelechem.2011.07.001. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1572665711003377>.

KAHLERT, H. Chapter II.9. , p. 237–256, 2010. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-02915-8>.

KANG, H.; BUCHMAN, J. T.; RODRIGUEZ, R. S.; RING, H. L.; HE, J.; BANTZ, K. C.; HAYNES, C. L. Stabilization of Silver and Gold Nanoparticles: Preservation and Improvement of Plasmonic Functionalities. **Chemical Reviews**, vol. 119, no. 1, p. 664–699, 9 Jan. 2019. DOI 10.1021/acs.chemrev.8b00341. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.8b00341>.

KATHIRAVEN, T.; SUNDARAMANICKAM, A.; SHANMUGAM, N.; BALASUBRAMANIAN, T. Green synthesis of silver nanoparticles using marine algae *Caulerpa racemosa* and their antibacterial activity against some human pathogens. **Applied Nanoscience**, vol. 5, no. 4, p. 499–504, 13 Apr. 2015. DOI 10.1007/s13204-014-0341-2. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s13204-014-0341-2>.

KHALIFA, Z.; ZAHRAN, M.; A-H ZAHRAN, M.; AZZEM, M. A. Mucilage-capped silver nanoparticles for glucose electrochemical sensing and fuel cell applications. **RSC Advances**, vol. 10, no. 62, p. 37675–37682, 2020. DOI 10.1039/D0RA07359H. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D0RA07359H>.

KLAUS, T.; JOERGER, R.; OLSSON, E.; GRANQVIST, C.-G. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 96, no. 24, p. 13611–13614, 23 Nov. 1999. DOI 10.1073/pnas.96.24.13611. Available at: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.96.24.13611>.

KORBKANDI, H.; MOHSENI, S.; MARDANI JOUNEGHANI, R.; POURHOSSEIN, M.; IRAVANI, S. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae*. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, vol. 44, no. 1, p. 235–239, 2 Jan. 2016. DOI 10.3109/21691401.2014.937870. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/21691401.2014.937870>.

LAMARCA, R. S.; FARIA, R. A. D. De; ZANONI, M. V. B.; NALIN, M.; LIMA GOMES, P. C. F. De; MESSADDEQ, Y. Simple, fast and environmentally friendly method to determine ciprofloxacin in wastewater samples based on an impedimetric immunosensor. **RSC Advances**, vol. 10, no. 4, p. 1838–1847, 2020. <https://doi.org/10.1039/c9ra09083e>.

LI, C.-T.; LEE, C.-T.; LI, S.-R.; LEE, C.-P.; CHIU, I.-T.; VITTAL, R.; WU, N.-L.; SUN, S.-S.; HO, K.-C. Composite films of carbon black nanoparticles and sulfonated-polythiophene as flexible counter electrodes for dye-sensitized solar cells. **Journal of Power Sources**, vol. 302, p. 155–163, Jan. 2016. DOI 10.1016/j.jpowsour.2015.10.028. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378775315304158>.

LI, J.; KUANG, D.; FENG, Y.; ZHANG, F.; XU, Z.; LIU, M.; WANG, D. Green synthesis of silver nanoparticles–graphene oxide nanocomposite and its application in electrochemical sensing of tryptophan. **Biosensors and Bioelectronics**, vol. 42, p. 198–206, Apr. 2013. DOI 10.1016/j.bios.2012.10.029. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095656631200704X>.

LI, X.; XU, H.; CHEN, Z.-S.; CHEN, G. Biosynthesis of Nanoparticles by Microorganisms and Their Applications. **Journal of Nanomaterials**, vol. 2011, p. 1–16, 2011. DOI 10.1155/2011/270974. Available at: <http://www.hindawi.com/journals/jnm/2011/270974/>.

LINDBERG, R.; JARNHEIMER, P. Å.; OLSEN, B.; JOHANSSON, M.; TYSKLIND, M. Determination of antibiotic substances in hospital sewage water using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry and group analogue internal standards. **Chemosphere**, vol. 57, no. 10, p. 1479–1488, Dec. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.09.015>.

LIU, H.; WANG, D.; SONG, Z.; SHANG, S. Preparation of silver nanoparticles on cellulose nanocrystals and the application in electrochemical detection of DNA hybridization. **Cellulose**, vol. 18, no. 1, p. 67–74, 4 Feb. 2011. DOI 10.1007/s10570-010-9464-0. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10570-010-9464-0>.

LO, T. W. B.; ALDOUS, L.; COMPTON, R. G. The use of nano-carbon as an alternative to multi-walled carbon nanotubes in modified electrodes for adsorptive stripping voltammetry. **Sensors and Actuators B: Chemical**, vol. 162, no. 1, p. 361–368, Feb. 2012. DOI 10.1016/j.snb.2011.12.104. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400511011944>.

LONG, C. M.; NASCARELLA, M. A.; VALBERG, P. A. Carbon black vs. black carbon and other airborne materials containing elemental carbon: Physical and chemical distinctions. **Environmental Pollution**, vol. 181, p. 271–286, Oct. 2013. DOI 10.1016/j.envpol.2013.06.009. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749113003266>.

LUO, X. Advances in nanomaterial-based electrochemical (bio-)sensors. **Microchimica Acta**, vol. 190, no. 1, p. 7–9, 2023. DOI 10.1007/s00604-022-05588-9. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00604-022-05588-9>.

MALAKOOTIAN, M.; FARAJI, M.; MALAKOOTIAN, M.; NOZARI, M. Ciprofloxacin removal from aqueous media by adsorption process: A systematic review and meta-analysis. **Desalination and Water Treatment**, vol. 229, p. 252–282, 1 Jul. 2021. <https://doi.org/10.5004/dwt.2021.27334>.

MASON, D. J.; POWER, E. G. M.; TALSANIA, H.; PHILLIPS, I.; GANT, V. A. Antibacterial action of ciprofloxacin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, vol. 39, no. 12, p. 2752–2758, 1995. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.12.2752>.

MÜLLER, A.; BEHSNILIAN, D.; WALZ, E.; GRÄF, V.; HOGEKAMP, L.; GREINER, R. Effect of culture medium on the extracellular synthesis of silver nanoparticles using *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas jessinii*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, vol. 6, p. 107–115, Apr. 2016. DOI 10.1016/j.bcab.2016.02.012. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878818116300354>.

MUSTAPHA, T.; MISNI, N.; ITHNIN, N. R.; DASKUM, A. M.; UNYAH, N. Z. A Review on Plants and Microorganisms Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles, Role of Plants Metabolites and Applications. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, vol. 19, no. 2, p. 674, 7 Jan. 2022. DOI 10.3390/ijerph19020674. Available at: <https://www.mdpi.com/1660-4601/19/2/674>.

NANOBIOTECHNOL, J.; MA, X.; LEE, C.; ZHANG, T.; CAI, J.; WANG, H.; JIANG, F.; WU, Z. Image - guided selection of Gd @ C - dots as sensitizers to improve radiotherapy of non - small cell lung cancer. **Journal of Nanobiotechnology**, , p. 1–10, 2021. DOI 10.1186/s12951-021-01018-9. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12951-021-01018-9>.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. 2023. **PubChem**. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ciprofloxacin>. Accessed on: 1 Aug. 2022.

NILUXSSHUN, M. C. D.; MASILAMANI, K.; MATHIVENTHAN, U. Green Synthesis of Silver Nanoparticles from the Extracts of Fruit Peel of Citrus tangerina, Citrus sinensis, and Citrus limon for Antibacterial Activities. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, vol. 2021, p. 1–8, 2 Feb. 2021. DOI 10.1155/2021/6695734. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/bca/2021/6695734/>.

NISHIBUCHI, M.; CHIENG; NISHIBUCHI, M.; LOO, Y. Y. Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from Camellia Sinensis. **International Journal of Nanomedicine**, , p. 4263, Aug. 2012. DOI 10.2147/IJN.S33344. Available at: <http://www.dovepress.com/synthesis-of-silver-nanoparticles-by-using-tea-leaf-extract-from-camel-peer-reviewed-article-IJN>.

NSAFI, A. A. E.; AEI, M. T.; HAYAMIAN, T. K.; ASANPOUR, F. H. Simultaneous Voltammetric Determination of Enrofloxacin and Ciprofloxacin in Urine and Plasma Using Multiwall Carbon Nanotubes Modified Glassy Carbon Electrode by Least-Squares Support Vector Machines. vol. 26, no. July, 2010.

ODENIYI, M. A.; OKUMAH, V. C.; ADEBAYO-TAYO, B. C.; ODENIYI, O. A. Green synthesis and cream formulations of silver nanoparticles of Nauclea latifolia (African peach) fruit extracts and evaluation of antimicrobial and antioxidant activities. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, vol. 15, p. 100197, Mar. 2020. DOI 10.1016/j.scp.2019.100197. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352554119302207>.

OTARI, S. V.; PATIL, R. M.; GHOSH, S. J.; THORAT, N. D.; PAWAR, S. H. Intracellular synthesis of silver nanoparticle by actinobacteria and its antimicrobial activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, vol. 136, p. 1175–1180, Feb. 2015. DOI 10.1016/j.saa.2014.10.003. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142514014991>.

PARK, S.-J.; DESHMUKH, M. A.; KANG, B.-C.; JEON, J.-Y.; CHEN, C.; HA, T.-J. Review—A Review of Advanced Electronic Applications Based on Carbon Nanomaterials. **ECS Journal of Solid State Science and Technology**, vol. 9, no. 7, p. 071002, 27 Aug. 2020. DOI 10.1149/2162-8777/abb035. Available at: <https://iopscience.iop.org/article/10.1149/2162-8777/abb035>.

PAULIUKAITE, R.; GHICA, M. E.; FATIBELLO-FILHO, O.; BRETT, C. M. A. Comparative Study of Different Cross-Linking Agents for the Immobilization of Functionalized Carbon Nanotubes within a Chitosan Film Supported on a

Graphite–Epoxy Composite Electrode. **Analytical Chemistry**, vol. 81, no. 13, p. 5364–5372, 1 Jul. 2009. DOI 10.1021/ac900464z. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac900464z>.

PHAM, T. S. H.; HASEGAWA, S.; MAHON, P.; GUÉRIN, K.; DUBOIS, M.; YU, A. Graphene Nanocomposites Based Electrochemical Sensing Platform for Simultaneous Detection of Multi-drugs. **Electroanalysis**, vol. 34, no. 3, p. 435–444, 15 Mar. 2022. DOI 10.1002/elan.202100485. Available at: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elan.202100485>.

RAVI KUMAR, M. N. . A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, vol. 46, no. 1, p. 1–27, Nov. 2000. DOI 10.1016/S1381-5148(00)00038-9. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1381514800000389>.

REETZ, M. T.; HELBIG, W. Size-Selective Synthesis of Nanostructured Transition Metal Clusters. **Journal of the American Chemical Society**, vol. 116, no. 16, p. 7401–7402, 1 Aug. 1994. DOI 10.1021/ja00095a051. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja00095a051>.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, vol. 31, no. 7, p. 603–632, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>.

ROCA JALIL, M. E.; BASCHINI, M.; SAPAG, K. Influence of pH and antibiotic solubility on the removal of ciprofloxacin from aqueous media using montmorillonite. **Applied Clay Science**, vol. 114, p. 69–76, Sep. 2015. DOI 10.1016/j.clay.2015.05.010. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169131715001787>.

RYCENGA, M.; COBLEY, C. M.; ZENG, J.; LI, W.; MORAN, C. H.; ZHANG, Q.; QIN, D.; XIA, Y. Controlling the Synthesis and Assembly of Silver Nanostructures for Plasmonic Applications. **Chemical Reviews**, vol. 111, no. 6, p. 3669–3712, 8 Jun. 2011. DOI 10.1021/cr100275d. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr100275d>.

SALARI, Z.; DANAFAR, F.; DABAGHI, S.; ATA EI, S. A. Sustainable synthesis of silver nanoparticles using macroalgae *Spirogyra varians* and analysis of their antibacterial activity. **Journal of Saudi Chemical Society**, vol. 20, no. 4, p. 459–464, Jul. 2016. DOI 10.1016/j.jscs.2014.10.004. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1319610314001586>.

SALNUS, S.; WAHAB, W.; ARFAH, R.; ZENTA, F.; NATSIR, H.; MURIYATI, M.; FATIMAH, F.; RAJAB, A.; ARMAH, Z.; IRFANDI, R. A Review on Green Synthesis, Antimicrobial Applications and Toxicity of Silver Nanoparticles Mediated by Plant Extract. **Indonesian Journal of Chemistry**, vol. 22, no. 4, p. 1129–1143, 2022. <https://doi.org/10.22146/ijc.71053>.

SALVADORI, M. R.; ANDO, R. A.; NASCIMENTO, C. A. O.; CORRÊA, B. Dead

biomass of Amazon yeast: A new insight into bioremediation and recovery of silver by intracellular synthesis of nanoparticles. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, vol. 52, no. 11, p. 1112–1120, 19 Sep. 2017. DOI 10.1080/10934529.2017.1340754. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10934529.2017.1340754>.

SANTOS, A. M.; WONG, A.; FATIBELLO-FILHO, O. Simultaneous determination of salbutamol and propranolol in biological fluid samples using an electrochemical sensor based on functionalized-graphene, ionic liquid and silver nanoparticles. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, vol. 824, no. June, p. 1–8, 2018. DOI 10.1016/j.jelechem.2018.07.018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.07.018>.

SARAVANAN, M.; BARIK, S. K.; MUBARAKALI, D.; PRAKASH, P.; PUGAZHENDHI, A. Synthesis of silver nanoparticles from *Bacillus brevis* (NCIM 2533) and their antibacterial activity against pathogenic bacteria. **Microbial Pathogenesis**, vol. 116, p. 221–226, Mar. 2018. DOI 10.1016/j.micpath.2018.01.038. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882401017315437>.

SAXENA, A.; TRIPATHI, R. M.; SINGH, R. P. Biological synthesis of silver nanoparticles by using onion (*Allium cepa*) extract and their antibacterial activity. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, vol. 5, no. 2, p. 427–432, 2010. .

SCHOLZ, F. Electroanalytical methods: Guide to experiments and applications. **Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications**, , p. 1–359, 2010. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-02915-8>.

SHAFIEI, H.; KARIM HASSANINEJAD-DARZI, S. Electroanalytical application of Ag@POM@rGO nanocomposite and ionic liquid modified carbon paste electrode for the quantification of ciprofloxacin antibiotic. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, vol. 935, p. 117321, Apr. 2023. DOI 10.1016/j.jelechem.2023.117321. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1572665723001819>.

SHARIATINIA, Z. Pharmaceutical applications of chitosan. **Advances in Colloid and Interface Science**, vol. 263, p. 131–194, 2019. DOI 10.1016/j.cis.2018.11.008. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.11.008>.

SHARMA, P. C.; JAIN, A.; JAIN, S.; PAHWA, R.; YAR, M. S. Ciprofloxacin: Review on developments in synthetic, analytical, and medicinal aspects. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, vol. 25, no. 4, p. 577–589, Aug. 2010. <https://doi.org/10.3109/14756360903373350>.

SHEBL, M.; KHALIL, S. M. E.; KISHK, M. A. A.; EL-MEKKAWI, D. M.; SAIF, M. New less toxic zeolite-encapsulated Cu(II) complex nanomaterial for dual applications in biomedical field and wastewater remediation. **Applied Organometallic Chemistry**, vol. 33, no. 10, 9 Oct. 2019. DOI 10.1002/aoc.5147. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/aoc.5147>.

SHENG, Z.-H.; ZHENG, X.-Q.; XU, J.-Y.; BAO, W.-J.; WANG, F.-B.; XIA, X.-H. Electrochemical sensor based on nitrogen doped graphene: Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. **Biosensors and Bioelectronics**, vol. 34, no. 1, p. 125–131, Apr. 2012. DOI 10.1016/j.bios.2012.01.030. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566312000486>.

SILVA, T. A.; FATIBELLO-FILHO, O. Square-wave adsorptive anodic stripping voltammetric determination of ramipril using an electrochemical sensor based on nanostructured carbon black. **Analytical Methods**, vol. 9, no. 32, p. 4680–4687, 2017. <https://doi.org/10.1039/c7ay01479a>.

SILVA, T. A.; LOURENCAO, B. C.; DIAS DA SILVA, A.; FATIBELLO-FILHO, O. An electrochemical sensing platform based on carbon black and chitosan-stabilized platinum nanoparticles. **Analytical Methods**, vol. 15, no. 8, p. 1077–1086, 2023. DOI 10.1039/D2AY01964G. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D2AY01964G>.

SILVA, T. A.; MORAES, F. C.; JANEGITZ, B. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Electrochemical Biosensors Based on Nanostructured Carbon Black: A Review. **Journal of Nanomaterials**, vol. 2017, p. 1–14, 2017. DOI 10.1155/2017/4571614. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/jnm/2017/4571614/>.

SILVA, T. A.; WONG, A.; FATIBELLO-FILHO, O. Electrochemical sensor based on ionic liquid and carbon black for voltammetric determination of Allura red colorant at nanomolar levels in soft drink powders. **Talanta**, vol. 209, p. 120588, Mar. 2020a. DOI 10.1016/j.talanta.2019.120588. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914019312214>.

SILVA, T. A.; WONG, A.; FATIBELLO-FILHO, O. Electrochemical sensor based on ionic liquid and carbon black for voltammetric determination of Allura red colorant at nanomolar levels in soft drink powders. **Talanta**, vol. 209, 1 Mar. 2020b. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120588>.

SKOOG; WEST; HOLLER; CROUCH. **Fundamentos de Química Analítica**. 9th ed. SAO PAULO: editora Thomson, 2014.

SUN, J.; SAKAI, S.; TAUCHI, Y.; DEGUCHI, Y.; CHEN, J.; ZHANG, R.; MORIMOTO, K. Determination of lipophilicity of two quinolone antibacterials, ciprofloxacin and grepafloxacin, in the protonation equilibrium. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, vol. 54, no. 1, p. 51–58, Jul. 2002. DOI 10.1016/S0939-6411(02)00018-8. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0939641102000188>.

SUN, Q.; CAI, X.; LI, J.; ZHENG, M.; CHEN, Z.; YU, C. P. Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, vol. 444, p. 226–231, 2014. DOI 10.1016/j.colsurfa.2013.12.065. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.12.065>.

TAHIR, MUHAMMAD BILAL; RAFIQUE, MUHAMMAD; RAFIQUE, M. S. Photocatalytic nanomaterials for air purification and self-cleaning. *In: ELSEVIER, U. S. (ed.). Nanotechnology and Photocatalysis for Environmental Applications.* [S. l.: s. n.], 2020.

TERP, D. K.; RYBAK, M. J. Ciprofloxacin. **Drug Intelligence & Clinical Pharmacy**, vol. 21, no. 7–8, p. 568–574, 14 Jul. 1987. DOI 10.1177/1060028087021007-801. Available at: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1060028087021007-801>.

THAI, T.; SALISBURY, B. H.; ZITO, P. M. **Ciprofloxacin.** [S. l.: s. n.], 2023. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20235755>.

VANLALVENI, C.; LALLIANRAWNA, S.; BISWAS, A.; SELVARAJ, M.; CHANGMAI, B.; ROKHUM, S. L. Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: a review of recent literature. **RSC Advances**, vol. 11, no. 5, p. 2804–2837, 2021. DOI 10.1039/D0RA09941D. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D0RA09941D>.

VELMURUGAN, P.; SIVAKUMAR, S.; YOUNG-CHAE, S.; SEONG-HO, J.; PYOUNG-IN, Y.; JEONG-MIN, S.; SUNG-CHUL, H. Synthesis and characterization comparison of peanut shell extract silver nanoparticles with commercial silver nanoparticles and their antifungal activity. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, vol. 31, p. 51–54, Nov. 2015. DOI 10.1016/j.jiec.2015.06.031. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1226086X1500310X>.

VICENTINI, F. C.; RAYMUNDO-PEREIRA, P. A.; JANEGITZ, B. C.; MACHADO, S. A. S.; FATIBELLO-FILHO, O. Nanostructured carbon black for simultaneous sensing in biological fluids. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, vol. 227, p. 610–618, 2016. DOI 10.1016/j.snb.2015.12.094. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2015.12.094>.

VICENTINI, F. C.; SILVA, T. A.; PELLATIERI, A.; JANEGITZ, B. C.; FATIBELLO-FILHO, O.; FARIA, R. C. Pb(II) determination in natural water using a carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan. **Microchemical Journal**, vol. 116, p. 191–196, Sep. 2014. DOI 10.1016/j.microc.2014.05.008. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X14000848>.

WANG, C.; KIM, Y. J.; SINGH, P.; MATHIYALAGAN, R.; JIN, Y.; YANG, D. C. Green synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus methylotrophicus*, and their antimicrobial activity. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, , p. 1–6, 6 Mar. 2015. DOI 10.3109/21691401.2015.1011805. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/21691401.2015.1011805>.

WANG, L.; HE, D.; GAO, S.; WANG, D.; XUE, B.; YOKOYAMA, K. Biosynthesis of silver nanoparticles by the fungus *Arthroderma fulvum* and its antifungal activity against genera of *Candida*, *Aspergillus* and *Fusarium*. **International Journal of Nanomedicine**, , p. 1899, May 2016. DOI 10.2147/IJN.S98339. Available at: <https://www.dovepress.com/biosynthesis-of-silver-nanoparticles-by-the-fungus->

arthroderma-fulvum--peer-reviewed-article-IJN.

WANG, R.; FENG, F.; CHAI, Y.; MENG, X.; SUI, Q.; CHEN, M.; WEI, Y.; QI, K. Screening and quantitation of residual antibiotics in two different swine wastewater treatment systems during warm and cold seasons. **Science of the Total Environment**, vol. 660, p. 1542–1554, 10 Apr. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.127>.

X. DANG, C. HU, Y. WEI, W. C. and S. H. No Title. **Electroanalysis**, vol. 16, p. 1949–1955, 2004. .

YIN, H.; MA, Q.; ZHOU, Y.; AI, S.; ZHU, L. Electrochemical behavior and voltammetric determination of 4-aminophenol based on graphene–chitosan composite film modified glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta**, vol. 55, no. 23, p. 7102–7108, Sep. 2010. DOI 10.1016/j.electacta.2010.06.072. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013468610008881>.

YIN, H.; ZHANG, Q.; ZHOU, Y.; MA, Q.; LIU, T.; ZHU, L.; AI, S. Electrochemical behavior of catechol, resorcinol and hydroquinone at graphene–chitosan composite film modified glassy carbon electrode and their simultaneous determination in water samples. **Electrochimica Acta**, vol. 56, no. 6, p. 2748–2753, Feb. 2011. DOI 10.1016/j.electacta.2010.12.060. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013468610017160>.

YU, J.; LUO, M.; LV, Z.; HUANG, S.; HSU, H.-H.; KUO, C.-C.; HAN, S.-T.; ZHOU, Y. Recent advances in optical and optoelectronic data storage based on luminescent nanomaterials. **Nanoscale**, vol. 12, no. 46, p. 23391–23423, 2020. DOI 10.1039/D0NR06719A. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D0NR06719A>.

ZHANG, H. Preparation of an acetylene black?dihexadecyl hydrogen phosphate composite film modified glassy carbon electrode and the application in the determination of hydroxycamptothecin in blood serum. **Journal of Membrane Science**, vol. 251, no. 1–2, p. 43–49, 1 Apr. 2005. DOI 10.1016/j.memsci.2004.09.049. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738804007380>.

ZHANG, X.; MA, L.-X.; ZHANG, Y.-C. Electrodeposition of platinum nanosheets on C 60 decorated glassy carbon electrode as a stable electrochemical biosensor for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid. **Electrochimica Acta**, vol. 177, p. 118–127, Sep. 2015. DOI 10.1016/j.electacta.2015.01.202. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013468615002613>.

ZHU, C.; YANG, G.; LI, H.; DU, D.; LIN, Y. Electrochemical sensors and biosensors based on nanomaterials and nanostructures. **Analytical Chemistry**, vol. 87, no. 1, p. 230–249, 2015. <https://doi.org/10.1021/ac5039863>.