



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA**



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA DOS MATERIAIS - PPGCIMAT**

CARLOS FABIANO ALTENETA GARSS

**DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO SERIGRAFADO
À BASE DE CARBONO E SÍLICA DO TIPO MCM-41
CONTENDO MAGNETITA PARA DETECÇÃO E
QUANTIFICAÇÃO DE 17 α -ETINILESTRADIOL**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Ciência de Materiais.

Porto Alegre, dezembro de 2024.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA DOS MATERIAIS - PPGCIMAT**

CARLOS FABIANO ALTENETA GARSS

**DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO SERIGRAFADO
À BASE DE CARBONO E SÍLICA DO TIPO MCM-41
CONTENDO MAGNETITA PARA DETECÇÃO E
QUANTIFICAÇÃO DE 17 α -ETINILESTRADIOL**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Ciência de Materiais.

Prof. Dr. Edilson Valmir Benvenuti

Orientador

Prof. Dra. Leliz Ticona Arenas

Co-Orientadora

Porto Alegre, dezembro de 2024.

CIP - Catalogação na Publicação

Alteneta Garss, Carlos Fabiano
DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO SERIGRAFADO À BASE DE
CARBONO E SÍLICA DO TIPO MCM-41 CONTENDO MAGNETITA
PARA DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE 17 α -ETINILESTRADIOL
/ Carlos Fabiano Alteneta Garss. -- 2024.
51 f.
Orientador: Edilson Valmir Benvenuto.

Coorientadora: Leliz Ticona Arenas.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Programa de
Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Porto Alegre,
BR-RS, 2024.

1. 17 alfa-etinilestradiol. 2. eletroquímica. 3.
eletrodos impressos. 4. MCM-41. 5. magnetita. I.
Benvenuto, Edilson Valmir, orient. II. Arenas, Leliz
Ticona, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A presente Dissertação de Mestrado foi desenvolvida inteiramente pelo aluno Carlos Fabiano Alteneta Garss, exceto nas colaborações as quais estão citadas na seção de agradecimentos, no período de dezembro de 2022 a dezembro de 2024 no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob a Orientação do Prof. Dr. Edilson Valmir Benvenuti e Co-Orientação da Prof. Dr. Leliz Ticona Arenas. A dissertação foi julgada adequada pela seguinte banca examinadora:

- Profa. Dra. Silvia Regina Grandó (IF – Porto Alegre)
- Profa. Dra. Rosângela Jacques – (PPGCIMAT/UFRGS)
- Prof. Dr. Marcelo Barbalho Pereira (UFRGS)

Dedicatória

“A poluição, a ganância e a estupidez são as maiores ameaças ao planeta.”

(Stephen Hawking)

Dedico este trabalho ao meus pais, Mauro e Sueli (in memorian), minha esposa amada, Claudia, e aos meus filhos, Lucas e Kimberly.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao meu orientador, Prof. Dr. Edilson Valmir Benvenuti, por acreditar no meu trabalho e pelos ensinamentos sobre química dos sólidos e reflexões sobre a vida.

À professora Dra. Leliz Ticona Arenas, pela co-orientação do meu trabalho e pelos ensinamentos sobre eletroquímica, pelo apoio e principalmente pelas discussões constantes sobre o meu trabalho.

À Dra. Rafaela Carvalho de Andrade do Instituto de Química da UFRGS, pela colaboração no trabalho. Aos colegas Bruno Bauer Marques, César Augusto Dídó e Lizz Gabi Luza Mamani pelo apoio e troca de ideias.

À profa. Marli Leite de Moraes da UNIFESP pela impressão dos eletrodos com o material modificado.

Agradeço profundamente todo o apoio da minha esposa Claudia Duarte Vergara que estava sempre ao meu lado nesta caminhada e dos meus filhos Lucas Sant'Ana Garss e Kimberly Vergara Garss.

RESUMO

Os sensores eletroquímicos são dispositivos miniaturizados que vêm sendo utilizados para análise e quantificação de várias espécies químicas de interesse nas áreas de saúde e principalmente meio ambiente. Dentre as espécies que têm despertado crescente interesse, destacam-se os contaminantes emergentes, principalmente compostos endócrinos que podem alterar o metabolismo biológico, as funções reprodutivas, o funcionamento do sistema nervoso e do crescimento e entre outros processos no organismo humano. Nesse contexto, esse trabalho tem o objetivo de desenvolver um sensor eletroquímico tipo eletrodo impresso para detecção e quantificação do composto endócrino 17 α -etinilestradiol (EE2), pois trata-se do componente mais utilizado em pílulas anticoncepcionais orais no Brasil. Entretanto, os eletrodos impressos para a detecção do EE2 atualmente, utilizam enzimas que são caras e tem pouca estabilidade frente a variação de temperatura. O sensor é constituído de um eletrodo impresso por serigrafia, composto de carbono condutor e sílica com estrutura de poros altamente ordenada e elevada área superficial, do tipo MCM-41, que foi sintetizada em presença de nanopartículas de magnetita, previamente preparadas pelo método solvotérmico. Os eletrodos impressos por serigrafia são muito versáteis, pois são produzidos em batelada diminuindo os custos e por serem descartáveis, eliminam etapas de limpeza e reativação entre as análises. O eletrodo impresso foi avaliado por voltametria de onda quadrada onde obteve o valor de pico de oxidação em cerca de 0,029 V e reprodutibilidade satisfatória. Curvas analíticas foram obtidas com excelente linearidade na faixa de 0,5 a 5,0 mmol L⁻¹. Este sistema tem potencialidade para ser aplicado em escala industrial, na quantificação do contaminante emergente EE2 em águas tratadas e brutas, possibilitando um monitoramento de forma confiável e instantânea.

Palavras-chave: 17 α -etinilestradiol, eletroquímica, eletrodos impressos, MCM-41, magnetita.

ABSTRACT

Electrochemical sensors are miniaturized devices that have been used to analyze and quantify various chemical species of interest in the areas of health and especially the environment. Among the species that have aroused increasing interest, emerging contaminants stand out, mainly in endocrine compounds that can alter biological metabolism, reproductive functions, nervous system functioning, growth, among other processes of the human body. In this context, this work aims to develop a printed electrode type electrochemical sensor for the detection and quantification of the endocrine compound 17 α -ethinylestradiol (EE2), as it is the most widely used component in oral contraceptive pills in Brazil. However, printed electrodes for the detection of EE2 currently use enzymes that are expensive and have little stability against temperature variations. The sensor consists of a screen-printed electrode composed of conductive carbon and high ordered pore structured silica, MCM-41 type, synthesized in the presence of magnetite nanoparticles, previously prepared by the solvothermal method. Screen-printed electrodes are very versatile, since they are produced in batches, reducing costs, and because they are disposable, they eliminate cleaning and reactivation steps between analyses. Screen-printed electrodes containing these nanostructures showed highly ordered pore structure and high surface area. The printed electrode was evaluated by square wave voltammetry, where the oxidation peak value was obtained at approximately 0.029 V and satisfactory reproducibility. Analytical curves were obtained with excellent linearity in the range of 0.5 to 5.0 mmol L⁻¹. This system has potential to be applied on an industrial scale, on the quantification of EE2 in treated and raw water, enabling reliable and instantaneous monitoring.

Keywords: 17 α -ethinylestradiol, printed electrodes, MCM-41, magnetite.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Distribuição esquemática dos momentos magnéticos de spin dos íons Fe^{2+} e Fe^{3+} na magnetita.....	4
Figura 2:	Possíveis grupos silanóis presentes na superfície dos sólidos de sílica: (a) livre, (b) geminais, (c) vicinais e (d) silanotrióis.....	6
Figura 3:	Reações de hidrólise (a) e condensação (b) de um alcóxido de silício para a obtenção de sílica.....	7
Figura 4:	Ilustração do mecanismo de formação da sílica mesoporosa MCM-41	8
Figura 5:	Fórmula estrutural do 17 α -etinilestradiol.....	10
Figura 6:	Representação esquemática da voltametria de onda quadrada.....	12
Figura 7:	Representação esquemática de (A) um sistema eletroquímico de 3 eletrodos e todos os componentes e (B) um eletrodo impresso, onde ET é o eletrodo de trabalho, ER é o eletrodo de referência e CE o contra-eletrodo.....	13
Figura 8:	Foto do eletrodo segrigrafado.....	16
Figura 9:	Eletrodo e o suporte desenvolvido pela oficina da física para a leitura do eletrodo impresso.....	17
Figura 10:	Difratograma de raios X de nanopartículas de magnetita e do $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$	19
Figura 11:	Análise textural da amostra MCM-41 com magnetita ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$) (a) isotermas de adsorção e dessorção de N_2 ; (b) distribuição do tamanho dos poros pelos métodos BJH.....	20
Figura 12:	Imagens de microscopia eletrônica da amostra MCM-41 com magnetita ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$): (a) sintetizada micrografia MEV a 60k (b) no eletrodo micrografia MEV a 30k.....	21
Figura 13:	Imagem de microscopia eletrônica de transmissão da amostra $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$	22
Figura 14:	Voltamogramas de onda quadrada obtidos na presença de EE2 com concentração de $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para os eletrodos impressos de grafite, MCM-41 e $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$	23
Figura 15:	Voltamogramas cíclicos obtidos em solução contendo solução tampão de fosfato pH 7 com EE2 $250 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, para velocidades de varredura 10, 50, 100, 150 e 200 mV s^{-1}	24
Figura 16:	Gráfico da corrente de pico (I_p) em função da velocidade de varredura.....	25
Figura 17:	Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes valores de pH...	26
Figura 18:	Gráfico do pH versus entre os valores de 5,5 a 8,0.....	27
Figura 19:	Reação eletroquímica global do processo de oxidação do EE2.....	27
Figura 20:	Voltamogramas de onda quadrada do dia 04/10/2024, obtidos com o eletrodo $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$, nas concentrações 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4 e $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de EE2.....	29
Figura 21:	Corrente de pico (I_p) versus concentração de EE2.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Altura de pico de corrente obtida para diferentes eletrodos nas concentrações 0,5, 1, 2, 3, 4 e 5×10^{-6} mol L ⁻¹ de EE2 em análise de onda quadrada.....	28
Tabela 2	Desempenho comparativo de sensores eletroquímicos para determinação de EE2.....	3

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BET	Brunauer, Emmett e Teller
BJH	Barret, Joyner e Halenda
CAS	Chemical American Society
CE	Contra Eletrodo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CTAB	Brometo de Cetrimônio
CV	Voltametria Cíclica
EE2	17 α -etinilestradiol
ER	Eletrodo de Referência
ET	Eletrodo de Trabalho
Fe ₃ O ₄ @MCM	Material MCM-41 contendo magnetita
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
GM/MS	Gabinete Ministerial/ Ministério da Saúde
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
La ⁺³ /Co ₃ O ₄	Material cubico formado por Lantânio e Óxido de Cobalto
LC-MS/MS	Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massa
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MCM-41	Mobil Composition of Matter-41
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
AuNP	Nanopartículas de Ouro
S _b	Desvio Padrão
SBA-15	Santa Barbara Amorphous-15
SWV	Voltametria de Onda Quadrada
TEOS	Ortosilicato Tetraetila

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 <i>Magnetita.....</i>	4
2.2 <i>Materiais de Sílica.....</i>	6
2.3 <i>Sistemas combinados de magnetita e sílica</i>	9
2.4 <i>Contaminantes Emergentes.....</i>	10
2.5 <i>Técnicas para a determinação de Contaminantes Emergentes</i>	11
3. OBJETIVOS	15
3.1 <i>Objetivo Geral</i>	15
3.2 <i>Objetivos específicos.....</i>	15
4. PARTE EXPERIMENTAL	16
4.1 <i>Materiais.....</i>	16
4.2 <i>Síntese de partículas de magnetita pelo método solvotérmico</i>	16
4.3 <i>Síntese do material MCM-41 contendo magnetita ($Fe_3O_4@MCM$).....</i>	16
4.4 <i>Caracterização do material $Fe_3O_4@MCM$.....</i>	17
4.5 <i>Confecção dos eletrodos serigrafados.....</i>	17
4.6 <i>Preparo das Soluções.....</i>	18
4.7 <i>Procedimento para leitura das concentrações de EE2</i>	18
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5.1 <i>Caracterização estrutural, textural e morfológica do $Fe_3O_4@MCM$.....</i>	20
5.2 <i>Resposta eletroquímica do material $Fe_3O_4@MCM$.....</i>	23
5.3 <i>Efeito da velocidade de varredura na corrente de pico (I_p) e no potencial de pico. ...</i>	24
5.4 <i>Efeito do pH para quantificação do EE2.....</i>	26
5.5 <i>Curva de calibração para quantificação do EE2.....</i>	29
6. CONCLUSÃO.....	33
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1. INTRODUÇÃO

Os contaminantes emergentes estão cada vez mais presentes nos corpos hídricos, principalmente fármacos¹, provocado pelos elevados descartes destes no solo, na água e no ar, através dos efluentes domésticos, industriais e hospitalares não tratados, são produtos que apresentam potencial risco à saúde humana e ao ecossistema^{2,3}. Essa denominação de contaminantes emergentes, refere-se a produtos que apresentam toxicidade para o meio ambiente, como, por exemplo, hormônios, anticoncepcionais, fármacos de diversas composições, agrotóxicos, produtos de limpeza, entre outros. Muitos destes contaminantes apresentam ação endócrina, interferindo na produção hormonal e podendo causar efeitos adversos em organismos saudáveis ou em seus descendentes. Um agravante em relação a esses contaminantes é que eles têm sido gerados em grandes quantidades. Estas substâncias têm como via principal a água, esgoto doméstico ou hospitalar sem tratamento e acabam contaminando diferentes ecossistemas. Adicionalmente, muitos desses contaminantes emergentes podem se decompor em subprodutos, gerando novas formulações que, além de apresentarem toxicidade, são difíceis de serem identificadas. Devido à exposição crônica, os danos que esses contaminantes podem causar às pessoas e o meio ambiente ainda é uma incógnita. Portanto, é imperativo dedicar atenção para o controle desses contaminantes emergentes, visando sua redução em efluentes e contribuindo positivamente para a saúde humana, dos animais e dos organismos aquáticos de um modo geral^{4,5}.

Um dos contaminantes emergentes hormonal mais utilizado em todo o mundo é o 17 α -etinilestradiol (EE2), pois é amplamente encontrado em pílulas anticoncepcionais orais. O EE2 é um estrogênio sintético derivado do estradiol, possuindo uma difícil degradação e alta resistência metabólica comparado com o estradiol natural⁶. Assim, o EE2 é encontrado cada vez mais em águas residuais devido à excreção humana e animal. Alguns relatórios encontraram ligações entre este estrogênio e vários problemas reprodutivos humanos, tais como baixas contagens de esperma em homens adultos, adiamento da maturidade sexual e declínio nas características sexuais secundárias, mesmo em baixas concentrações⁷.

A detecção quantitativa e qualitativa desses contaminantes emergentes no meio ambiente têm sido desenvolvidas para realizar sua detecção de forma precisa e rápida. Dentre as técnicas analíticas, a detecção via eletroquímica vem se destacando por sua simplicidade, boa sensibilidade, baixo custo e rapidez na análise, em comparação com métodos tradicionais como cromatografia líquida e gasosa, espectrofotometria, dentre outros⁸⁻¹⁰.

A análise eletroquímica avalia reações que envolvem transferências de elétrons de um

eletrodo para a interface da solução eletrolítica através da diferença de potencial elétrico aplicado em uma célula eletroquímica. Dentro das diferentes técnicas eletroquímicas se destaca a voltametria que caracteriza e determina processos redox no analito de interesse^{11,12}. A célula eletroquímica se caracteriza por três eletrodos, sendo um eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência e um contra eletrodo¹³. As reações redox ocorrem na superfície do eletrodo de trabalho, que por sua vez pode ser manipulado e modificado para melhorar propriedades como sensibilidade, seletividade, estabilidade e faixa de potencial de trabalho, visando a obtenção do melhor desempenho para um determinado analito^{14,15}.

As células eletroquímicas de três eletrodos podem ser aplicadas em técnicas eletroquímicas como voltametria cíclica, pulso diferencial, cronoamperometria, entre outras, que permitem a detecção e quantificação de analitos em concentrações muito baixas, e em alguns casos, abaixo do nível de micromol¹⁵. Um exemplo importante de eletrodo de trabalho são os eletrodos de pasta de carbono. Esses eletrodos são constituídos de carbono condutor, geralmente grafite, um aglutinante, comumente óleo mineral e um agente modificador. Este último, com morfologia, textura e propriedades químicas planejadas em função do analito escolhido¹⁶.

Os sensores eletroquímicos miniaturizados vêm sendo utilizados, principalmente, na forma de eletrodos serigrafados impressos para análise e quantificação de várias espécies químicas de interesse nas áreas de saúde e meio ambiente^{17, 18}. O uso dos eletrodos serigrafados tem aumentado exponencialmente desde o início desta década, estes eletrodos começaram usando o substrato principal a cerâmica, mas atualmente usam-se materiais mais baratos e largamente disponíveis como papel ou outros materiais de baixo custo¹⁸.

Especificamente para a confecção de eletrodos serigrafados a base de carbono, um dos materiais mais utilizados são silicatos como *Santa Barbara Amorphous-15* (SBA-15) e *Mobil Composition of Matter-41* (MCM-41), pois apresentam mesoporos em formato cilíndrico interconectados com as paredes dos mesoporos por frações de microporos¹⁷. Essas sílicas, além de aumentar a área eletroativa do eletrodo de trabalho, permitem uma maior difusão dos analitos até a sua superfície, melhorando o desempenho dos eletrodos já existentes bem como propiciando o desenvolvimento de novos eletrodos com novas propriedades, ampliando suas perspectivas^{19,20}. Assim, a aplicação dos eletrodos serigrafados de pasta de carbono modificado com sílica, tipo MCM-41 para a detecção de EE2 é promissor, pois reduz custos e permite a fabricação de aparelhos portáteis e de análise imediata. Diminuindo o tempo com a limpeza dos eletrodos tradicionais e evitando problemas de envenenamento da superfície do eletrodo^{17,21}.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Magnetita

A pedra-ímã é conhecida pela humanidade há três mil anos. Os registros dos fenômenos magnéticos são de aproximadamente 800 a.C. pelos gregos que descrevem um mineral que apresenta atração por peças de ferro²². A pedra-ímã possui em sua composição óxido de ferro o qual é abundante na região da Magnésia, Grécia, também conhecida como magnetita. A Magnésia, do grego Μαγνησία, significa “local de pedras mágicas”, por suas pedras, magnetitas, terem atração umas sobre as outras²².

2.1.1. Estrutura e propriedades da magnetita

A fórmula química da magnetita é $\text{FeO}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$ (ferrita) ou representada como Fe_3O_4 . Sua estrutura é cúbica de face centrada, apresentando empacotamento compacto dos ânions O^{2-} que dão origem a duas subredes de sítios tetraédricos e octaédricos a serem preenchidos pelos cátions Fe^{2+} e Fe^{3+} . Normalmente, no cristalino, os cátions trivalentes ocupam os sítios octaédricos, enquanto os cátions divalentes se localizam nos sítios tetraédricos. Na magnetita, os íons Fe^{3+} estão em sítios tetraédricos, circundados por 4 átomos de oxigênio, enquanto que os sítios octaédricos são ocupados por números iguais de íons Fe^{2+} e Fe^{3+} , cada átomo de ferro circundado por 6 átomos de oxigênio. A cela unitária apresenta 32 átomos de oxigênio com 64 sítios tetraédricos (apenas $\frac{1}{8}$ ocupados por Fe^{3+}) e 32 sítios octaédricos ($\frac{1}{4}$ ocupados por Fe^{2+} e $\frac{1}{4}$ ocupados Fe^{3+}). Assim, a cela unitária da Fe_3O_4 tem fórmula $[(\text{Fe}^{3+})_8]_{\text{tetraédricos}} [(\text{Fe}^{3+})_8 (\text{Fe}^{2+})_8]_{\text{octaédricos}} \text{O}_{32}$.²³

As propriedades magnéticas e eletrônicas são significativamente influenciadas pelo estado de oxidação e pela localização do cátion nos dois sítios intersticiais. A boa condutividade eletrônica da magnetita, em comparação com outros óxidos FeO e Fe_2O_3 , pode ser explicada pelo processo de *electron hopping* entre os cátions Fe^{2+} e Fe^{3+} .^{24,25} A condutividade magnética pode ser explicada pelos spins dos cátions Fe^{3+} nos sítios tetraédricos (T) e os spins dos cátions Fe^{2+} e Fe^{3+} nos sítios octaédricos (H), os quais estão acoplados pelo mecanismo de super-troca, tendo como heteroátomo o oxigênio. Existem três interações de super-troca, T–O–H, T–O–T e H–O–H, entretanto a interação entre os sítios tetraédricos e octaédricos mais determinante é a T–O–H.²⁶ O acoplamento dos íons Fe^{3+} por super-troca T–O–H é antiparalelo, levando assim ao cancelamento das contribuições magnéticas na estrutura, resultando unicamente na contribuição do cátions Fe^{2+} nos sítios octaédricos, dando assim o caráter ferrimagnético da magnetita.^{24, 26} A Figura 1 apresenta esquematicamente os

momentos magnéticos de spin dos íons Fe^{2+} e Fe^{3+} na magnetita.

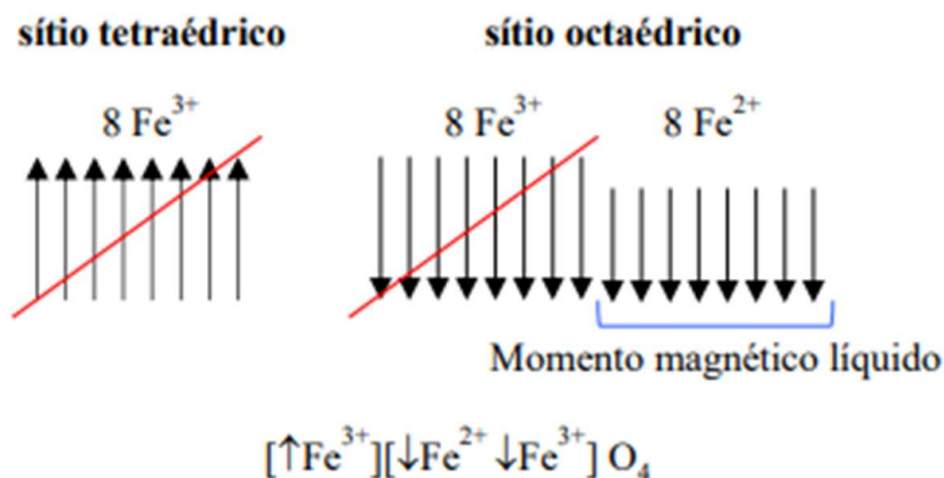


Figura 1. Distribuição esquemática os momentos magnéticos de spin dos íons Fe^{2+} e Fe^{3+} na magnetita.

As propriedades magnéticas, na magnetita, são dependentes do tamanho da partícula. Portanto, quando alcançado valores menores que 20 nm, em sistemas nanométricos, testes podem apresentar um único domínio magnético em presença de um campo magnético aplicado.^{27,28,29,30}

Os comportamentos ferrimagnéticos e superparamagnéticos são constatados na aplicação de um campo magnético externo (H) e medindo a magnetização (M). O gráfico da medida de magnetização x campo magnético externo (M contra H) é efetuado em materiais ferrimagnéticos, os quais apresentem domínios magnéticos orientados em direção favorável ao campo. A saturação ocorre quando todos os domínios se encontram orientados ao campo H. Ao reduzir e inverter o campo magnético externo, em materiais com multidomínios magnéticos, a curva de magnetização não retorna pelo seu caminho inicial, dando origem a uma histerese. Produzindo, assim, um efeito remanescente. O comportamento de materiais superparamagnéticos não produz histerese na medida M contra H, portanto somente tem propriedades magnéticas sob um campo externo.^{27,28}

2.1.2. Potencialidades e limitações da magnetita

As propriedades magnéticas da magnetita são as melhores comparadas aos outros metais de transição.²⁷ Além disso, a magnetita apresenta baixa toxicidade, biocompatibilidade,³¹ e são utilizadas em: materiais para remediação de recursos naturais,³² tratamentos de efluentes,³³

catalisadores recuperáveis,³⁴ armazenamentos de dados³⁵ e na medicina, destaca-se em mapeamento por ressonância magnética,³⁶ agentes terapêuticos para tratamento de câncer³⁷,³⁸ e nanosensores magnéticos *in vivo e ex vivo*.³⁹

A principal limitação do uso da magnetita é a tendência natural à oxidação, a qual o íon Fe^{+2} pode ser facilmente oxidado a Fe^{+3} na presença de O_2 .⁴⁰ A oxidação da magnetita produz dois óxidos a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e a hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$). A maghemita apresenta o mesmo arranjo cristalino, cúbico compacto, que a magnetita, pois a rota de oxidação possui menor energia de ativação. Já a hematita apresenta uma energia de ativação um pouco mais elevada, se comparada com a rota de oxidação da magnetita a maghemita, pois a hematita possui arranjo hexagonal compacto.⁴¹ Para manter as propriedades magnéticas da magnetita é importante evitar a oxidação à maghemita.

O tamanho da partícula influencia na cinética de oxidação da magnetita, já que o mecanismo de oxidação da magnetita é difusivo, portanto quanto menor a partícula, mais rapidamente ocorrerá sua oxidação. A oxidação de nanopartículas de magnetita apresenta maior área superficial e maior disponibilidade de grupos -OH em sua superfície, se comparado com micropartículas, sendo assim maior a velocidade de oxidação.⁴² A magnetita, também, apresenta a formação de aglomerados, tanto na presença ou ausência de um campo magnético externo, afetando assim as propriedades magnéticas.⁴³

Para evitar a oxidação da magnetita, perdendo assim as propriedades magnéticas, as nanopartículas podem ser recobertas com materiais orgânicos e inorgânicos⁴⁴, o que limita a mobilidade e o contato com o O_2 .⁴⁰

Os materiais orgânicos utilizados para o recobrimento, podem ser: ácido graxos⁴⁵, aminoácidos⁴⁶, polímeros sintéticos⁴⁷ e naturais⁴⁸. Para o recobrimento com materiais inorgânicos, podemos citar: os óxidos de titânia⁴⁹ e sílica.⁵⁰ O recobrimento de partículas magnéticas com sílica é amplamente pesquisada, seja imobilizada na microestrutura da sílica,^{51,52} sejam preparadas *in situ* dentro de sílicas porosas.⁵³

2.2 Materiais de Sílica

2.2.1 Estrutura e propriedades da sílica

A sílica ou óxido de silício é um sólido covalente que apresenta um arranjo tetraédrico em sua estrutura. Cada átomo de silício está ligado a quatro átomos de oxigênio e cada átomo de oxigênio está ligado a dois átomos de silício. Portanto a rede tridimensional da sílica é formada por tetraedros ligados pelos oxigênios.⁵⁴

Os sólidos de sílica mais conhecidos são a cristobalita e o quartzo que são sólidos cristalinos. O empacotamento dos tetraedros de SiO_4 determinam as propriedades do material.⁵⁵ Quando a rede dos tetraedros SiO_4 são dispostos irregularmente a consequência da variação do ângulo de ligação siloxano Si—O—Si e, portanto, da discrepância no tamanho dos poros entre unidades tetraédricas.⁵⁴

O sólido é constituído por ligações infinitas de siloxanos, mas os materiais são finitos, apresentando em sua superfície grupos silanois (Si—OH).⁵⁴ Na superfície do sólido podem existir três tipos de silanois: silanois livres, silanois geminais, silanois vicinais e silanos trióis (Figura 2).⁵⁶

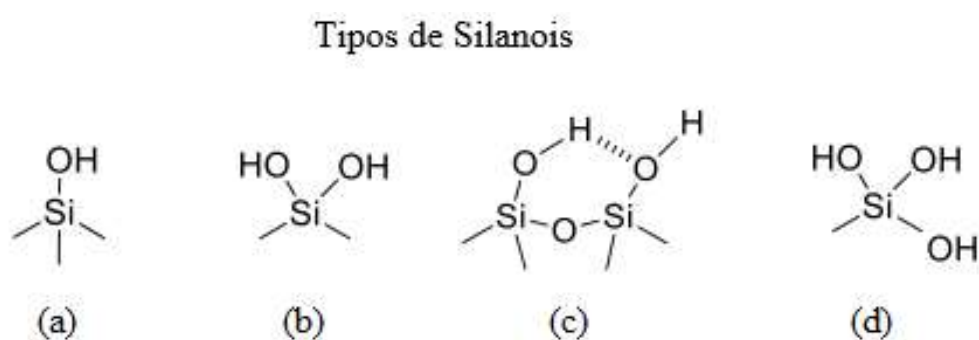


Figura 2. Possíveis grupos silanois presentes na superfície dos sólidos de sílica: (a) livre, (b) geminais, (c) vicinais e (d) silanotrióis.

A superfície da sílica é composta por silanois distribuído heterogeneamente, consideram-se todos estes sítios como ácidos de Lewis; portanto, passíveis de protonação e formação de ligações de H, em pH acima de 2.⁵⁶ Esta reatividade dos grupos silanois facilita a inserção de grupos orgânicos ou inorgânicos, aumentando suas potencialidades e usos.

Os materiais de sílicas são normalmente sintetizados via rota de hidrólise e condensação de alcóxidos de silício, tendo em vista que as cinéticas das reações são relativamente lentas e permitem interferência.⁵⁷ Primeiramente, o alcóxido de silício é hidrolisado formando o silanol e o respectivo álcool como subproduto. Após, é iniciada as reações de condensação que podem ocorrer de duas formas distintas: entre um grupo silanol e um alcóxido e entre grupos silanol de moléculas diferentes, formando as ligações siloxano que compõem a rede da sílica. Desta reação de condensação, temos como subprodutos água e álcool correspondente.⁵⁷ A Figura 3 ilustra as reações de hidrólise e condensação dos alcóxidos de silício.

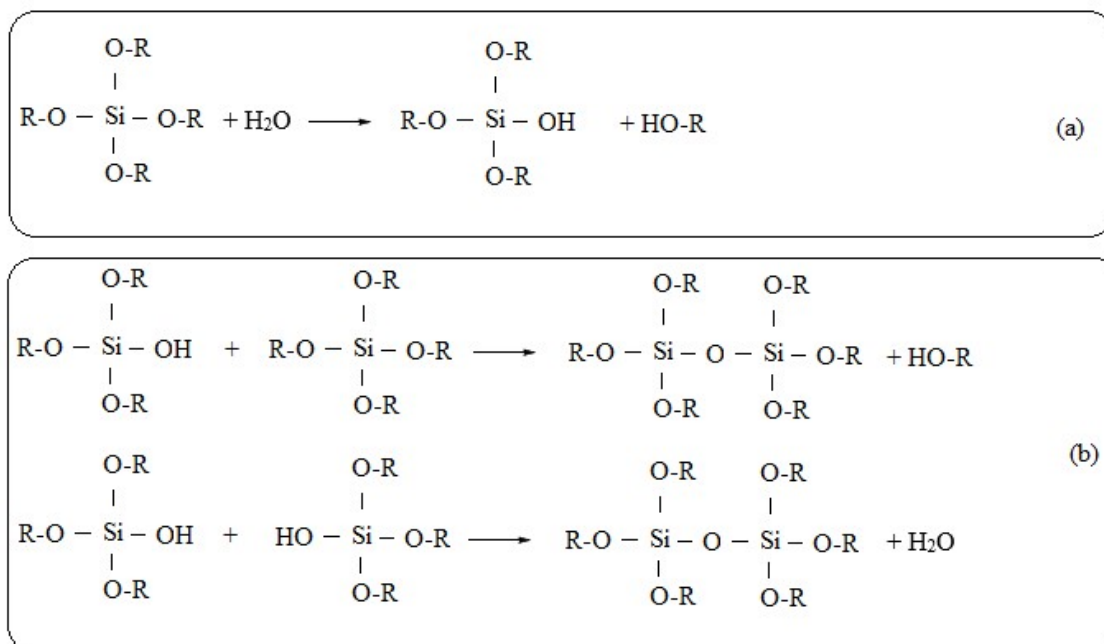


Figura 3: Reações de hidrólise (a) e condensação (b) de um alcóxido de silício para a obtenção de sílica.

Estas reações de hidrólise e condensação dos alcóxidos de silício, devido a cinética lenta proporcionam a formação de estruturas porosas, com diâmetros de poros que podem variar dentro de uma faixa muito ampla, desde microporos (<2 nm), passando por mesoporos (<50 nm) até macroporos (>50 nm). Especificamente para materiais mesoporosos, estes podem apresentar alta superfície.⁵⁷

Desde 1967 é conhecido o procedimento de preparação de sílica mesoporosa⁵⁸, mas começou a ter mais atenção. Somente em meados dos anos 90, com o desenvolvimento da síntese dos *Mobil Composition of Matter* (MCM) da empresa Mobil,⁵⁹ para o uso como peneira molecular.

Os MCM são geralmente preparados por hidrólise controlada de ortossilicato de tetraetila na presença de concentrações significativas de surfactante em soluções de água/solvente orgânico, onde a rede de sílica sintetizada forma estruturas mesoporosas altamente ordenadas. A utilização do brometo de cetiltrimetilamônio como surfactante produz o MCM-41.⁵⁷ O mecanismo de síntese é ilustrado na Figura 4.

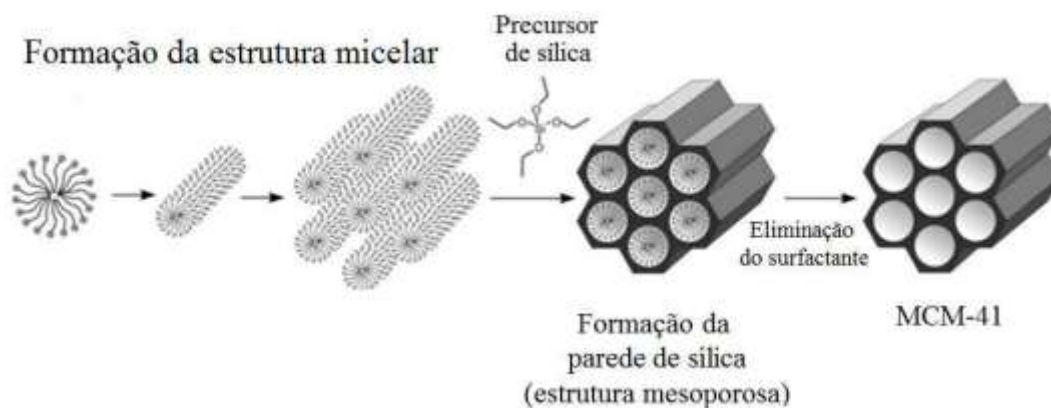


Figura 4: Ilustração do mecanismo de formação da sílica mesoporosa MCM-41.⁶⁰

O MCM-41 apresenta matrizes mesoporosas hexagonais que podem ser usadas para várias aplicações como, por exemplo, sensores eletroquímicos, biossensores, carregamento de medicamentos e outras aplicações que exigem grandes áreas de superfície e materiais porosos. Os poros hexagonais do MCM-41 apresentam uma grande vantagem, pois tem a capacidade de realizar processos de adsorção com muita eficiência.⁶¹

2.3 Sistemas combinados de magnetita e sílica

O uso combinado da magnetita e sílica leva ao desenvolvimento de materiais com novas propriedades e aplicações, entre elas as mais comuns descritas na literatura são:

- Em filmes finos: Magnetita depositada sobre sílica por *laser* pulsado.⁶²
- Dispersão na matriz: Magnetita encapsulada em xerogel de SiO₂/TiO₂ mesoporoso funcionalizado com a enzima tirosinase⁵¹ e em Sílica mesoporosa do tipo SBA-15, funcionalizada com complexo de Pd (II).⁵²
- Dispersão nos poros da matriz: Magnetita sintetizadas *in situ* nos poros por redução térmica.⁵³
- Esfera de sílica: esfera de magnetita no interior do mesoporo e fixada com grupos tetrassulfeto⁶³, com -NH₂-AuNP⁶⁴, com albumina⁶⁵ e com anidrido glutárico⁶⁶; Esfera de magnetita no interior da esfera de sílica⁶⁷ e dupla esfera oca de magnetita (interna) e sílica (externa).⁶⁸

Podemos observar que a sílica atua como agente de proteção contra a oxidação da magnetita, e as aplicações mais comuns são: biossensor eletroquímico⁵¹, catálise^{69,70}, adsorção de metais potencialmente tóxicos⁶³ e sistemas de terapia e diagnóstico em meio biológico.⁶⁷

Algumas vantagens da aplicação do MCM-41, combinado com a magnetita, destacam-se a baixa toxicidade em seres humanos e a possibilidade de controle da magnetização;⁷¹ modificar a forma e tamanho dos poros, juntamente com a reatividade dos grupos silanois, permitindo a imobilização de uma grande gama de moléculas.⁷² Pesquisas continuam a explorar novas propriedades e aplicações para esses materiais.

2.4 Contaminantes Emergentes

Contaminantes emergentes são produtos que apresentam toxicidade para o meio ambiente os quais podem ser naturais ou sintéticos como, por exemplo, hormônios, anticoncepcionais, fármacos de diversas composições, agrotóxicos, produtos de limpeza, entre outros. Os contaminantes emergentes apresentam potencial de bioacumulação, baixa degradabilidade e alta persistência no ambiente.⁷³

Os contaminantes emergentes são compostos não legislados, ou seja, não contemplados por nenhuma legislação ambiental, sendo assim, não estão incluídos nos monitoramentos de rotina.⁷⁴ As legislações de controle da qualidade da água no Brasil são: Resolução CONAMA nº 357 de 17/03/2005 - dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento⁷⁵ e Portaria GM/MS nº 888 de 04/05/2021 - dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.⁷⁶

Um dos contaminantes emergentes hormonal mais utilizado no mundo é o 17 α -etinilestradiol (EE2), pois é amplamente encontrado em pílulas anticoncepcionais orais. O EE2 é um estrogênio sintético derivado do estradiol de difícil degradação e alta resistência metabólica comparado com o estradiol natural.⁶ O EE2 não é completamente metabolizado, aproximadamente 45% está presente na excreção humana e animal. Na urina, uma média de 32% é excretada e 62% nas fezes, sendo assim encontrado em corpos hídricos que recebem esgoto não tratado.⁷⁷

O EE2 liberado no meio ambiente impacta negativamente o ecossistema aquático, pois este hormônio apresenta bioacumulação, é recalcitrante, persistindo por longos períodos de tempo no meio ambiente. O EE2 pode causar o desenvolvimento de vários efeitos adversos, como feminização, esterilidade, efeitos no fígado, rins e cérebro, além de modificações no desenvolvimento humano e animal.⁷⁸

O EE2 apresenta a fórmula estrutural representada na Figura 5. Sua estrutura é formada por álcool e um grupo etinil. O nº CAS é 57-63-6, fórmula molecular $C_{20}H_{24}O_2$ e massa molar 296,40 g mol⁻¹, solubilidade em água à 25 °C de 11,3 mg L⁻¹.

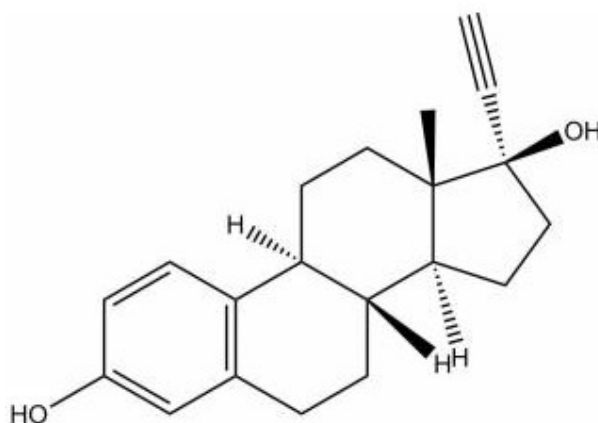


Figura 5: Fórmula estrutural do 17 α -etinilestradiol.

2.5 Técnicas para a determinação de Contaminantes Emergentes

Em geral os contaminantes emergentes são encontrados em concentrações em níveis de traços.⁷⁹ Uma das principais técnicas analíticas destas substâncias para sua identificação e quantificação é a cromatografia em fase gasosa ou líquida acoplada à espectrometria de massas (GC-MS, LC-MS/MS ou HPLC) nos casos de fármacos, herbicidas, pesticidas, hormônios e produtos de limpeza.⁸⁰⁻⁸² Os agrotóxicos quirais, também podem ser analisados por eletroforese capilar.⁸³

A detecção quantitativa e qualitativa dos contaminantes emergentes no meio ambiente, têm sido desenvolvidas para realizar sua detecção de forma precisa e rápida. Dentre as técnicas analíticas, a detecção via eletroquímica vem se destacando por sua simplicidade, boa sensibilidade, baixo custo e rapidez na análise, em comparação com métodos tradicionais que muitas vezes requerem equipamentos caros e que envolvem longos processos de extração, como GC-MS, LC-MS/MS ou HPLC.^{8-10, 84}

2.5.1 Sensores eletroquímicos

Os sensores eletroquímicos são células eletroquímicas compostas de um eletrodo de trabalho (ET), um eletrodo de referência (ER) e um contra eletrodo (CE). Para a análise, estes eletrodos são imersos na amostra contendo espécies químicas eletroativas de interesse.⁸⁵ O ET é onde o analito é oxidado ou reduzido. O ER é responsável por manter o potencial constante e estável durante as medidas. O CE garante que a corrente gerada seja aplicada no eletrodo de trabalho, o que reduz oscilações na passagem da corrente elétrica durante as análises.⁸⁵

Para um melhor entendimento da correlação entre corrente medida e concentração do analito, podemos associar a diferença de potencial estabelecida entre os eletrodos mediante uma alimentação de fonte externa, que induz um fluxo de corrente. A diferença de potencial faz com que os elétrons se movam pela interface do eletrodo/eletrólito, gerando uma transferência de elétrons. A quantidade de elétrons transferidos está diretamente relacionada a quantidades de reagentes consumidos e de produtos formados.

A detecção via eletroquímica, chamada tradicional, são eletrodos volumosos e células pesadas, tipo pHmêtro. Estes sensores proporcionam uma resposta imediata para determinadas espécies químicas dependentes da concentração por meio da transformação em um sinal de resposta da espécie química. O grande desafio é desenvolver sensores que permitem determinar espécies químicas com alta sensibilidade, reprodutibilidade, baixos custos e principalmente boa seletividade.⁸⁶ Os sensores eletroquímicos que se destacam são os de: potenciometria, condutometria, amperometria, voltametria, coulometria e capacitância.⁸⁷

Sensores potenciométricos medem espécies químicas do tipo iônica, este tem como elemento ativo uma membrana que efetua as medidas de potenciais na superfície do eletrodo. A detecção por sensores potenciométricos relaciona a diferença de potencial elétrico entre dois eletrodos com a concentração de íons em uma solução. Para este tipo de sensores, a mudança de condutividade na superfície do eletrodo é influenciada a partir dos analitos presentes no meio da solução.⁸⁸

Sensores condutométricos medem a condutividade elétrica de uma substância ou meio, geralmente para detectar mudanças em sua composição ou propriedades. A condutividade elétrica é a capacidade de conduzir corrente elétrica. Os sensores que utilizam este método de análise não são muitos seletivos.⁸⁹

O princípio de funcionamento dos sensores amperométricos é a aplicação de um potencial constante em função do tempo, cuja resposta obtida é a corrente que com a aplicação do potencial, decai gradativamente com o tempo da análise. Essa característica define a amperometria convencional como uma técnica usada para medir um valor de corrente a partir de um único potencial constante fixado, e uma vantagem associada é a baixa corrente capacitiva gerada no processo.⁹⁰

A detecção pela técnica de voltametria depende do controle de potencial aplicado. As técnicas voltamétricas de pulso e de varredura são as mais comumente empregadas nas análises eletroquímicas. Pode se destacar nas técnicas de varredura a Voltametria Cíclica (CV) e a de pulso, a Voltametria de Onda Quadrada (SWV).⁸⁵

A CV apresenta o processo global das reações de oxidação e redução das espécies ativas, obtendo informações termodinâmicas e cinéticas de transferência de elétrons e sugere o tipo de reações entre o eletrodo e analito.⁸⁵

A SWV apresenta simetria entre as amplitudes de correntes, uma no final do pulso direto e outro do pulso reverso, e sobrepostas a uma rampa de potencial.⁸⁵ Na SWV, pode-se definir como uma onda quadrada simétrica de amplitude definida sobreposta a uma rampa de potencial na forma de escada, conforme apresentada na Figura 6, caracterizada pela amplitude, largura e período aplicadas ao eletrodo de trabalho.⁹¹ A corrente é aplicada por duas vezes, no final do pulso direto, quando a direção do pulso é igual à direção da varredura, e outro no final do pulso reverso (formando assim degraus), onde a direção do pulso é contrária à direção da varredura. Então, com a dupla aplicação da corrente é garantida a diminuição da contribuição da corrente capacitiva sobre a corrente total medida.⁹¹ O voltamograma resultante consiste da diferença entre estas duas correntes versus a rampa de potencial aplicado. A vantagem desta técnica de SWV é a velocidade de aquisição dos dados. As frequências de 1 a 100 ciclos de onda quadrada por segundo permitem o uso de velocidades de varredura de potenciais extremamente rápidas.⁹¹

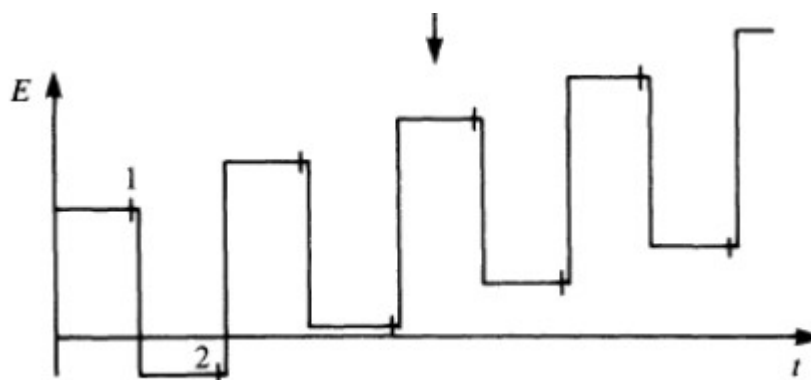


Figura 6: Representação esquemática da voltametria de onda quadrada.⁹¹

2.5.2 Sensores eletroquímicos impressos

O sensor eletroquímico impresso tem como maior vantagem a análise portátil com monitoramento em tempo real, oferecendo também baixo custo, sendo reproduzíveis e confiáveis. A miniaturização dos sensores permite a redução no volume de reagentes, resultando em uma análise mais econômica e com um menor impacto ambiental, gerando menos resíduos.

Os sensores impressos, diferente dos sensores tradicionais, apresentam um

sistema de três eletrodos: eletrodo de trabalho (ET); eletrodo de referência (ER) e contra-eletrodo (CE) em uma única plataforma, enquanto os tradicionais possuem os três eletrodos dispostos separadamente.⁸⁵ Conforme é apresentado na Figura 7.

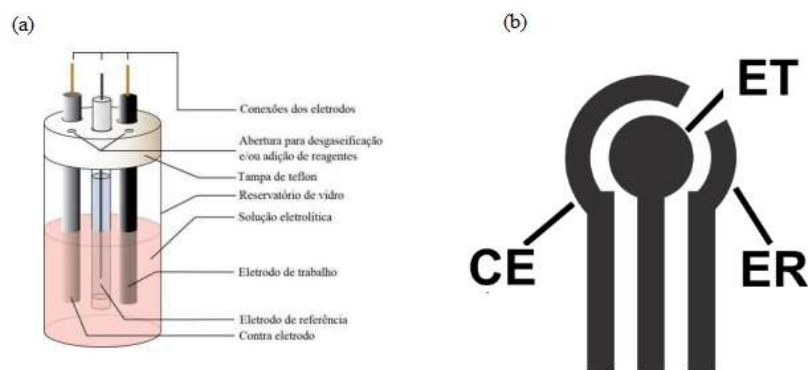


Figura 7: Representação esquemática de (A) um sistema eletroquímico de 3 eletrodos e todos os componentes e (B) um eletrodo impresso, onde ET é o eletrodo de trabalho, ER é o eletrodo de referência e CE o contra-eletrodo.

Os eletrodos impressos podem ser produzidos da seguinte forma, aderir uma tinta condutora e geralmente inerte, com um rodo, na superfície de um substrato sólido com o auxílio de uma tela de serigrafia de nylon®.⁹²

Os eletrodos impressos de carbono podem ser adquiridos comercialmente. No entanto, produzir o eletrodo impresso proporciona que o eletrodo de trabalho possua características de sensibilidade, seletividade diferenciada, a adição de diferentes tipos de modificadores, tais como enzimas para biossensores, polímeros e agentes complexantes. Alguns tipos e aplicações usando modificadores do eletrodo de trabalho: com nanopartículas de ouro para análise de ácido ascórbico,⁹³ nanocubos de óxido de ferro para análise de meclizina,⁹⁴ líquido iônico para análise de dopamina,⁹⁵ nanocubos de $\text{La}^{+3}/\text{Co}_3\text{O}_4$ para análise de vitamina B9⁹⁶ e óxido de níquel para análise de *paration* (pesticida agrícola).⁹⁷

O eletrodo impresso de carbono modificado com magnetita possui vantagens quando comparados com outros eletrodos modificados,⁹⁸ entre elas: sensibilidade, detecção de baixas concentrações de analito e reprodutibilidade. Pode-se incluir, também, a facilidade de preparação, baixo custo dos nanomateriais utilizados e resposta rápida.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver eletrodo serigrafado contendo nanoestruturas, de fácil manipulação, que apresente características apropriadas para ser utilizado na detecção e quantificação eletroquímica de 17 α -etinilestradiol (EE2).

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- a) Sintetizar partículas de magnetita pelo método solvotérmico;
- b) Sintetizar o material de sílica tipo MCM-41 (Mobil Composition of Matter-41) modificado com magnetita;
- c) Caracterizar o material desenvolvido;
- d) Confeccionar o eletrodo de pasta de carbono (convencional) com o material do tipo MCM-41 modificado com magnetita;
- e) Testar a resposta do eletrodo convencional frente ao hormônio 17 α -etinilestradiol (EE2);
- f) Confeccionar o eletrodo impresso pela técnica de serigrafia com o material do tipo MCM-41 modificado com magnetita;
- g) Executar análises do EE2 com o eletrodo impresso utilizando técnicas voltamétricas.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Materiais

Os reagentes químicos utilizados nesta pesquisa foram: cloreto férrico hexahidratado (Vetec), etilenoglicol (Dinâmica), acetato de sódio trihidratado (Dinâmica), etanol (Merck), brometo de cetrimônio (CTAB, Vetec), tetraetil ortossilicato (TEOS, 98%, Sigma Aldrich), grafite (Dinâmica), acetato de celulose (Sigma-Aldrich), acetona (Vetec), fosfato de sódio monobásico (Neon), fosfato de sódio dibásico heptahidratado (Neon),¹⁷ α -etinilestradiol (Sigma-Aldrich) e hidróxido de sódio (Neon).

4.2 Síntese de partículas de magnetita pelo método solvotérmico

Para a síntese da magnetita utilizou-se como precursor o sal cloreto férrico hexahidratado (4 mmol, 2,16 g) dissolvido em etilenoglicol (100 mL), o qual é empregado como solvente devido ao seu alto ponto de ebulição e caráter redutor. Adicionou-se acetato de sódio trihidratado (40 mmol, 10,88 g) e a solução, antes amarelada e límpida, assumiu a coloração marrom e turva. Após 1 h sob agitação magnética, a mistura foi transferida para uma autoclave de aço inoxidável com copo interno de Teflon. O sistema foi aquecido a 180 °C por 10 h. Após resfriado, o precipitado preto foi recuperado com um ímã, e lavado extensivamente com etanol para remover quaisquer impurezas. A esse precipitado nomeou-se Fe₃O₄. O mesmo foi seco sob vácuo, a temperatura ambiente, até evaporação do etanol.

4.3 Síntese do material MCM-41 contendo magnetita (Fe₃O₄@MCM)

Inicialmente, o material MCM-41 (*Mobil Composition of Matter-41*) foi sintetizado dissolvendo-se 2,40 g de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) em 80 mL de água destilada, a qual foi adicionada uma dispersão de magnetita (0,6 g em 30 mL água destilada) dispersa com auxílio de ultrassom. Após, foi adicionado 9 mL de solução de NH₃ (28%). A mistura foi aquecida a 50°C sob agitação magnética. Após a homogeneização, foi adicionado 11,4 mL de TEOS, gota a gota, e a reação foi mantida sob agitação por 24 h. Em seguida, a mistura foi transferida para autoclave e mantida a 100 °C por 24 h (tratamento hidrotermal). Posteriormente, o precipitado foi separado da mistura por filtração à vácuo, lavado com água destilada e seco a 80°C durante 4 h. Por fim, a amostra foi calcinada a 550°C por 6 h.

4.4 Caracterização do material Fe₃O₄@MCM

O material Fe₃O₄@MCM foi caracterizado por: difração de raios X no equipamento XRD6000, Shimadzu, usando radiação Cu-K α ; Microscopia eletrônica de Varredura e Transmissão nos equipamentos EVO 50, Zeiss e JEM-1011, JEOL, respectivamente; Isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio no equipamento Micromeritics Tristar II Krypton 3020, as amostras foram previamente degasadas por 8h na temperatura de 120 °C; A área superficial foi estimada usando-se o método BET e a distribuição de tamanho de poros usando-se o método BJH.

4.5 Confeção dos eletrodos serigrafados

Os eletrodos foram impressos pela técnica de serigrafia,¹⁷ confeccionados na UNIFESP, através de colaboração previamente estabelecida. Sua confecção consiste em aplicar com o auxílio de um molde produzido a partir de uma folha de PVC (0,08 mm de espessura) e uma máquina de corte modificada (CNC) com uma espessura de lâmina de 0,2 mm.¹⁸

Para tornar a camada de tinta mais uniforme, um “rodo” de poliuretano 60shore foi empregado para escovar a tinta em um ângulo de ~45° com o substrato. A tinta produzida com a mistura do material nanoestruturado tipo MCM-41 modificado com magnetita, grafite, acetato de celulose (aglutinante) e acetona foi forçada a preencher a máscara criando um sistema completo com 3 eletrodos impressos no mesmo suporte, conforme apresentado na Figura 8.

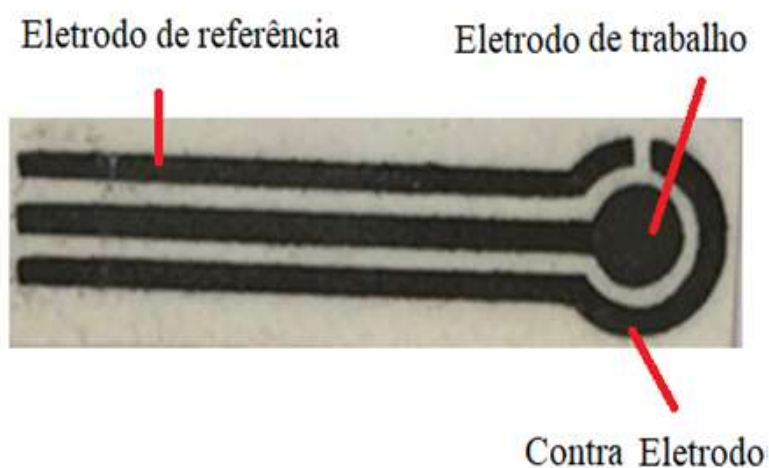


Figura 8: Foto do eletrodo serigrafado.

4.6 Preparo das Soluções

4.6.1. Preparo da solução tampão

Foi preparado duas soluções estoque da seguinte forma:

A: em um bécker (50 mL) foi pesado 2,78 g de fosfato de sódio monobásico e adicionado água. Esta solução foi colocada em um balão de 100 mL e completado o volume.

B: em um bécker (50 mL) foi pesado 5,365 g de fosfato de sódio dibásico heptahidratado e adicionado água. Nesta solução foi completado o volume para 100 mL.

A solução tampão de trabalho foi preparada misturando 39 mL da solução A e 61 mL da solução B em um balão de 200 mL e adicionado água até completar o volume.

4.6.2. Preparo da solução estoque de EE2

A solução estoque de EE2 foi preparada pesado 1,482 mg de EE2 e diluído em 1 mL etanol, obtendo uma solução de concentração de $0,005 \text{ mol L}^{-1}$.

4.6.3 Preparo das soluções para a curva analítica

Foram preparadas três soluções com concentrações 10 , 25 e $50 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ por diluição da solução estoque. As soluções de trabalho $0,1$, $0,5$, 1 , 2 , 3 , 4 , 5 , 6 e $7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ foram preparadas a partir das três soluções acima citadas, também, por diluição.

4.7 Procedimento para leitura das concentrações de EE2

O eletrodo impresso foi conectado a um suporte desenvolvido pela oficina da física da UFRGS e este suporte ligado ao potenciostato. A Figura 9 apresenta o eletrodo e o suporte desenvolvido.



Figura 9: eletrodo e o suporte desenvolvido pela oficina da física para a leitura do eletrodo impresso.

Nas cinco primeiras leituras de voltametria de onda quadrada foram utilizadas 10 μL de solução tampão. Após a estabilização da leitura, o eletrodo foi seco utilizando-se um fluxo de ar. Com o eletrodo seco foram efetuadas as medições nas concentrações de trabalho. Entre cada medição, o eletrodo foi lavado 1x com solução de hidróxido de sódio $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ e 3x com solução tampão pH 7 e seco com fluxo de ar. As condições de leitura dos SWV são as seguintes: tempo de equilíbrio 5 s, frequência de 3Hz e amplitude de 0,02 V.

O potenciostato utilizado foi o PalmSens4 que é um instrumento alimentado por bateria e USB, que permite aplicação de técnicas voltamétricas, amperométricas e potenciométricas, bem como espectroscopia de impedância (EIS).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização estrutural, textural e morfológica do $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$.

A Figura 10 apresenta os difratogramas de raios X obtidos para nanopartículas de magnetita e $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$. Os picos observados no difratograma da magnetita são compatíveis com as distâncias interplanares da estrutura cúbica de face centrada da magnetita (Fe_3O_4 , PDF 88-0315). Esse padrão é mantido no difratograma do material $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$, indicando que a estrutura da magnetita é preservada, mesmo após o processo de síntese da sílica mesoporosa magnética ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$). Também é possível observar no difratograma do material $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$, um halo na região entre $2\theta = 15^\circ$ e 30° que é característico de sílica amorfa.

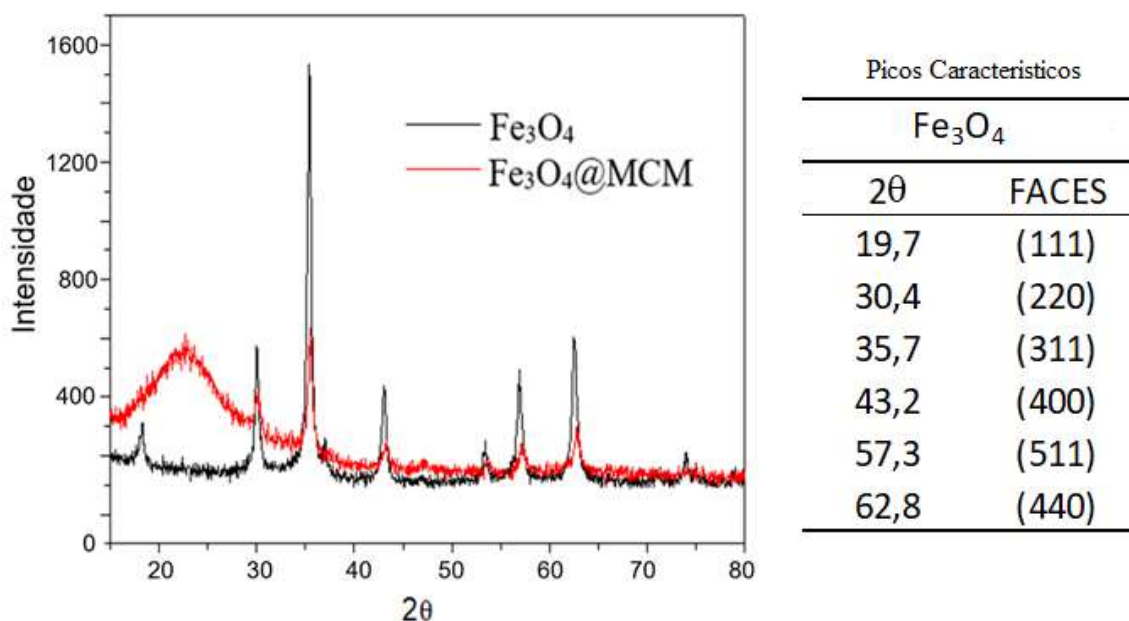


Figura 10: Difratogramas de raios X de magnetita e amostra $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$ e tabela de picos característicos.

Na Figura 11 são apresentados os resultados da análise textural, isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio, bem como a distribuição de tamanho de poros. Pode-se observar que o material $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$ apresenta distribuição estreita de diâmetro de poros, com máximo da curva em 2,7 nm, compatível com a estrutura de material mesoporoso do tipo MCM-41. Esse resultado é importante, porque mostra que a estratégia de síntese teve sucesso, ou seja, foi possível alcançar uma estrutura de poros altamente ordenada mesmo em presença de magnetita. O material apresentou expressiva área superficial específica (570

m^2g^{-1}), que é uma característica importante para obtenção de eletrodos com elevada área eletroativa. Vale ressaltar que na literatura, várias tentativas de sintetizar materiais magnéticos MCM-41 foram relatadas, muitas vezes resultando em uma redução drástica da área de superfície que não foi observada neste trabalho.^{16,19,20}

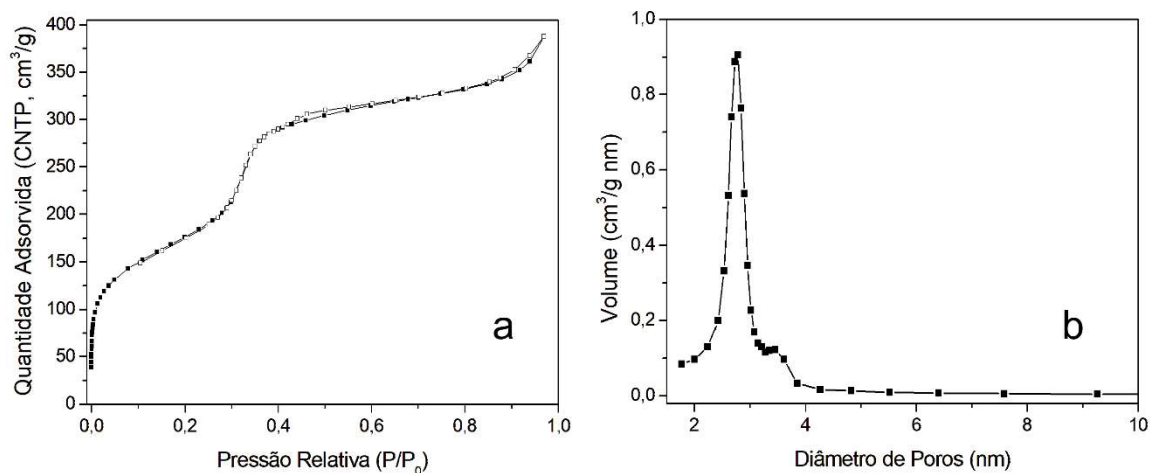


Figura 11: Análise textural da amostra $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$: (a) isotermas de adsorção e dessorção de N_2 ; (b) distribuição do tamanho dos poros (métodos BJH).

Para análise morfológica, imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram obtidas e estão mostrados na Figura 12. Pode-se observar que o material $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$ apresenta morfologia de partículas esféricas, de 100 a 200 nm de diâmetro. A Figura 12b mostra imagem do eletrodo, onde pode-se verificar que as morfologias das partículas são mantidas. Entretanto, aparentemente mais aglomeradas, provavelmente devido ao aglutinante. Grafite usado na composição do eletrodo também pode ser identificado na imagem.

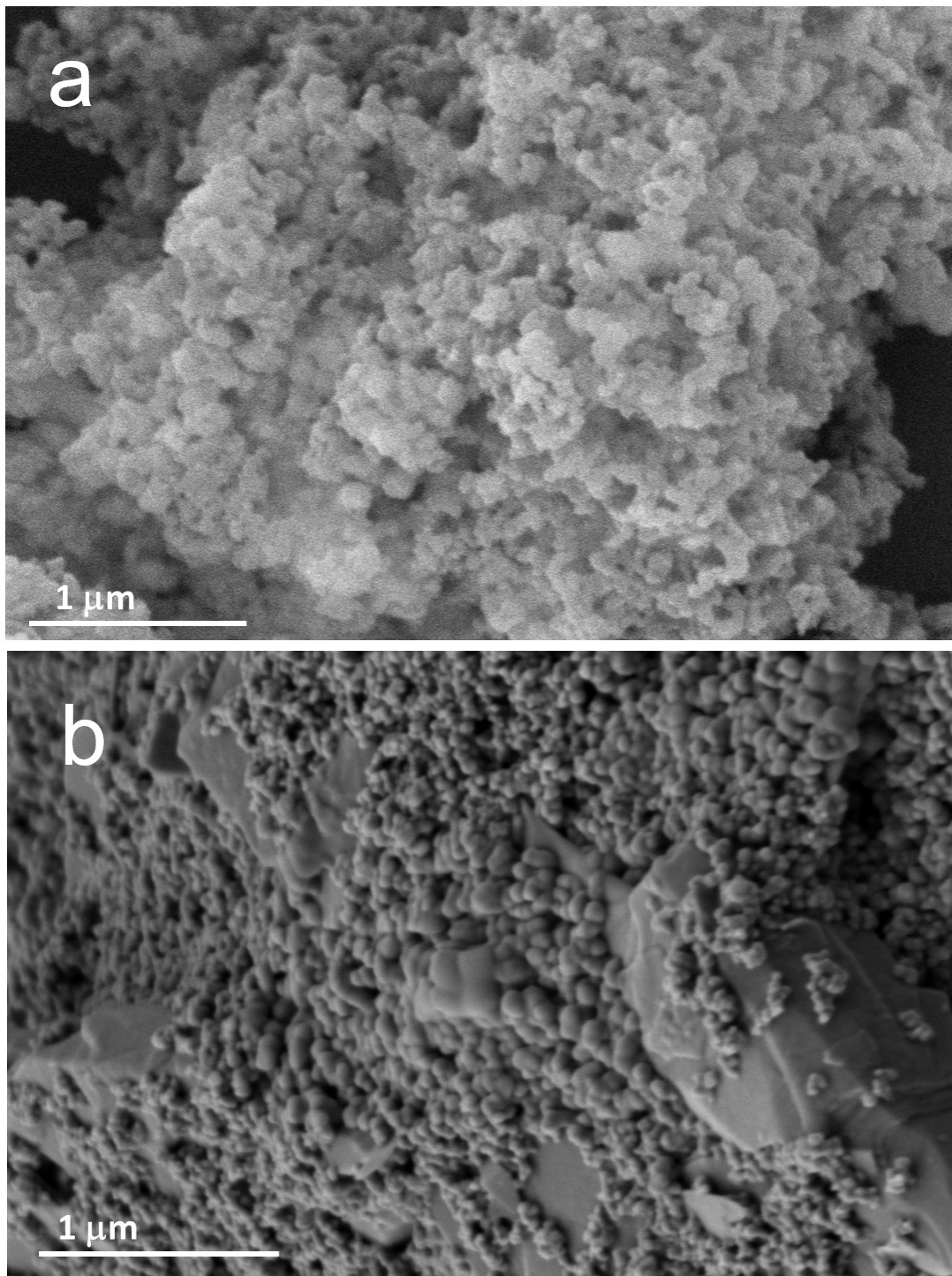


Figura 12: Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura: (a) Fe₃O₄@MCM; (b) eletrodo impresso.

Imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) é mostrada na Figura 13, onde pode-se identificar as nanopartículas magnéticas apresentando diâmetros que variam de 60 a 80 nm, bem como é possível identificar um padrão na sílica devido à estrutura ordenada de poros, em concordância com os resultados obtidos através da análise textural apresentadas na Figura 12.

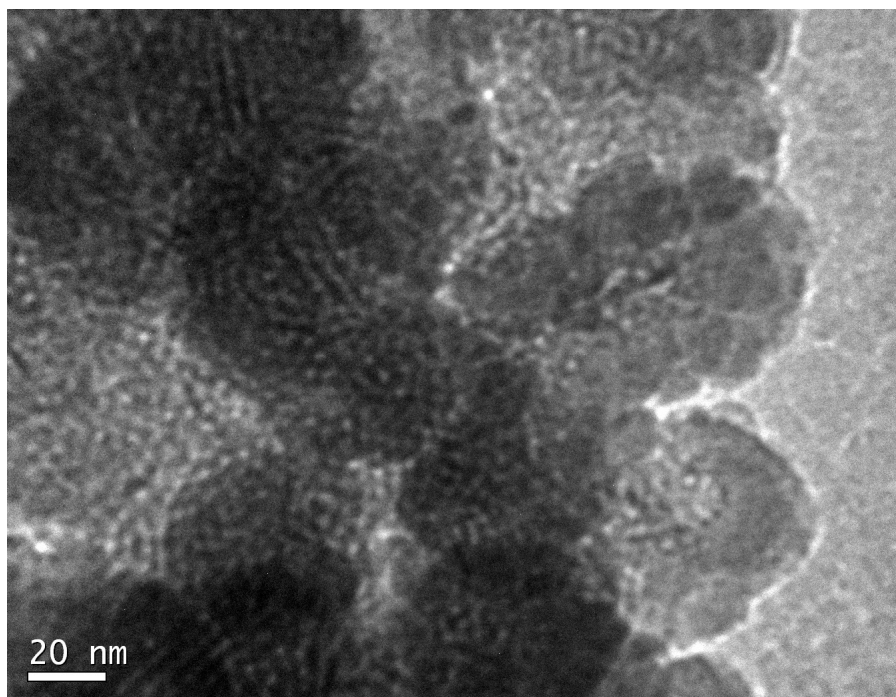


Figura13: Imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão da amostra $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$.

5.2 Resposta eletroquímica do material $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$.

Inicialmente, o analito EE2 foi testado na concentração de $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em solução tampão de fosfato (pH 7). Voltamogramas de onda quadrada foram obtidos para eletrodos serigrafados, confeccionados com dois materiais: MCM-41 e $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MCM}$. Os resultados estão apresentados na Figura 14.

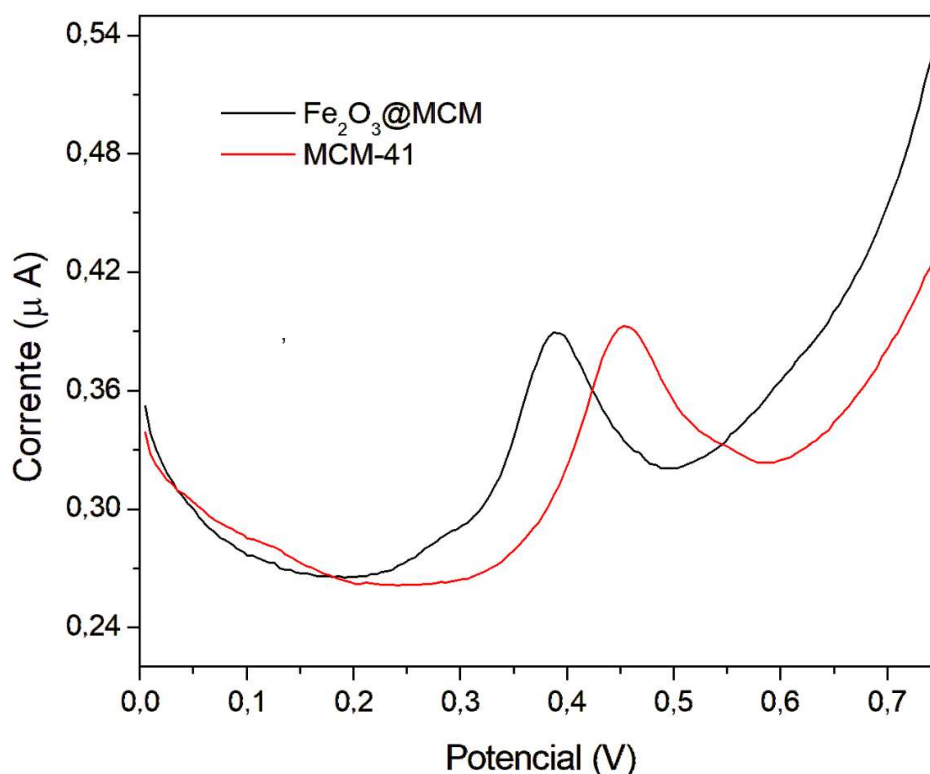


Figura 14: Voltamogramas de onda quadrada obtidos na presença de EE2 na concentração de $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para os eletrodos impressos MCM-41 (sem magnetita) e Fe_3O_4 @MCM.

Na comparação dos voltamogramas obtidos com os eletrodos, o potencial do eletrodo Fe_3O_4 @MCM, que contém magnetita, ligeiramente menor que o MCM-41. Isto indica que existe uma interação maior do EE2 com Fe_3O_4 @MCM, facilitando o processo de oxidação e com isso diminuindo o potencial. Adicionalmente, o eletrodo de MCM-41 não apresentou linearidade na curva de calibração.

5.3 Efeito da velocidade de varredura na corrente de pico (I_p) e no potencial de pico.

A Figura 15 mostra o voltamograma cíclico obtido em soluções contendo $250 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de EE2 em solução tampão fosfato pH 7 com velocidades de varredura que variaram de 10 a 300 mV s^{-1} . Apenas os picos anódicos foram obtidos. Os dados mostram que a corrente de pico aumenta com a velocidade de varredura. A ausência de qualquer pico catódico implica que a reação eletroquímica é irreversível²⁶. Os dados também mostram que o potencial de pico muda para um valor mais positivo com o aumento da velocidade de varredura.

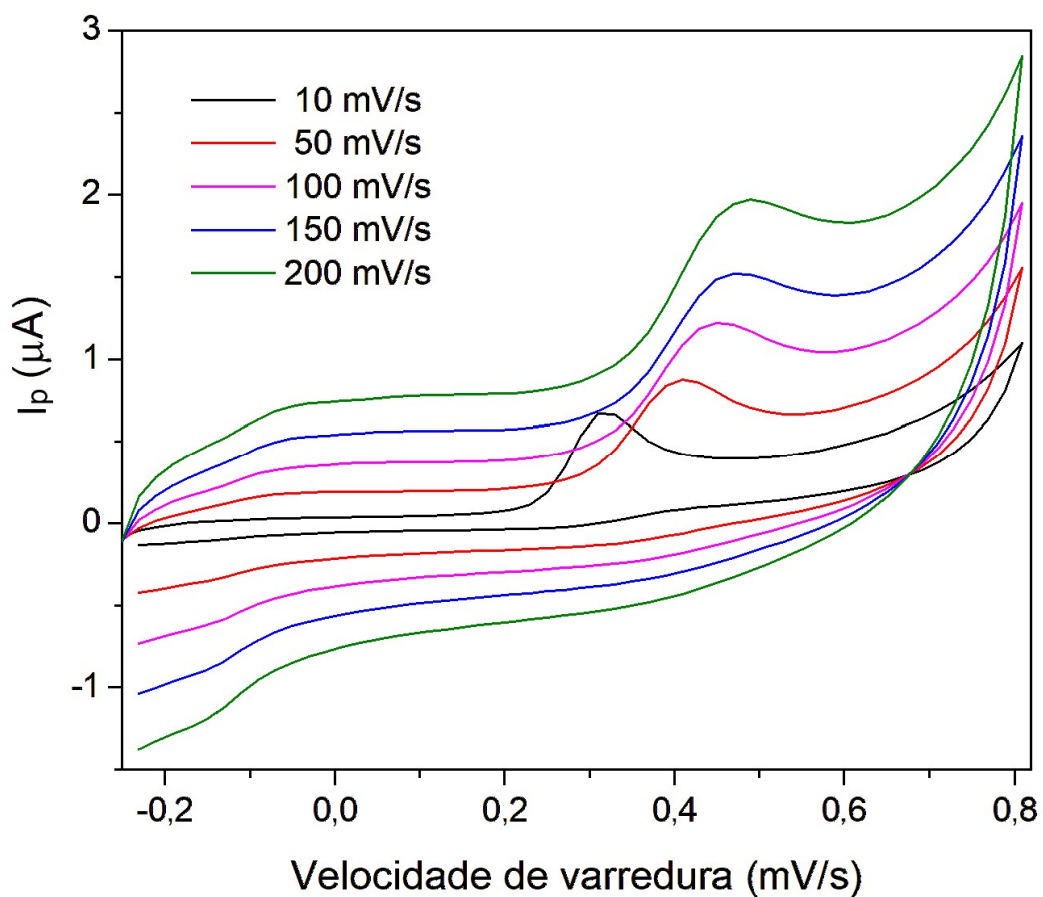


Figura 15: Voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão de fosfato pH 7 com EE2 $250 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, para velocidades de varredura 10, 50, 100, 150 e 200 mVs^{-1} .

Para elucidar o mecanismo da reação na interface superfície do eletrodo/solução, foi obtido um gráfico da corrente de pico em função da velocidade de varredura (Figura 16). O fator de correlação foi de $R^2 = 0,9907$. A equação linear é apresentada na Figura 16, dando suporte à hipótese de que o processo de oxidação da EE2 é controlado por mecanismo de adsorção na interface eletrodo/solução.¹⁰¹

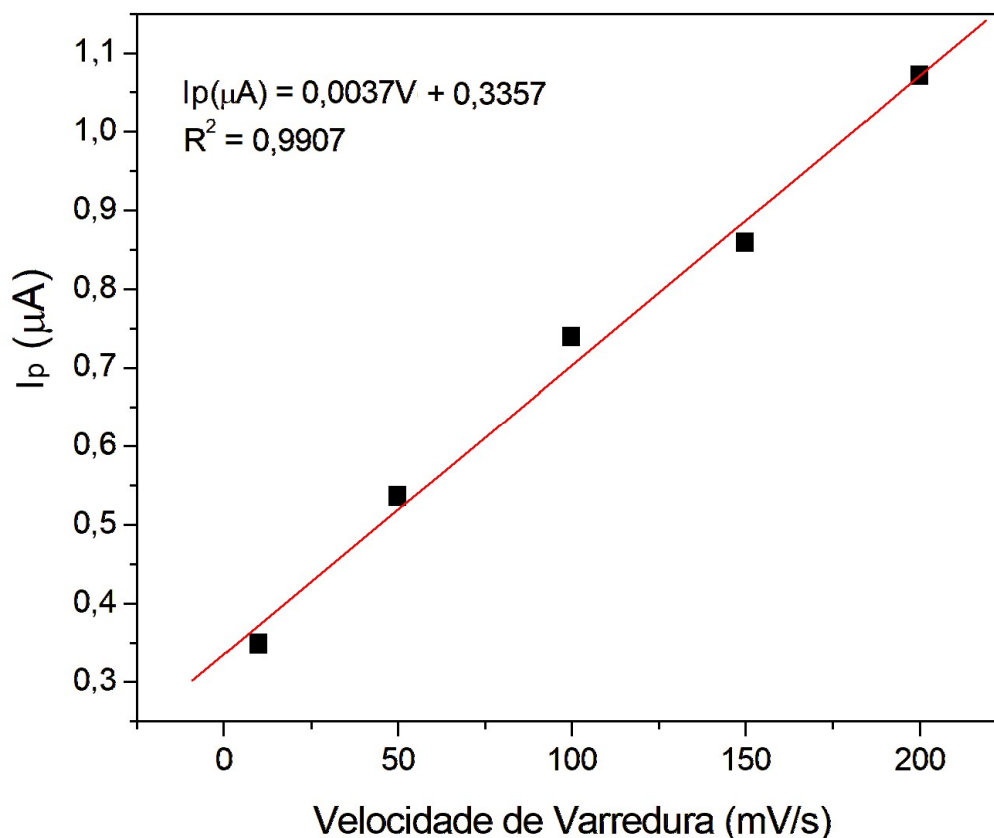


Figura 16: Gráfico da corrente de pico (I_p) em função da velocidade de varredura

5.4 Efeito do pH para quantificação do EE2

O efeito do pH na resposta da quantificação do EE2 foi avaliado por voltametria de onda quadra na faixa entre 5,5 e 8,0 (concentração de $2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e os respectivos voltamogramas obtidos em diferentes valores de pH, são mostrados na Figura 17. Foram observadas que para os pHs de 5,5 até 7,0, as análises tiveram uma linha de base em menor potencial. Embora os picos de oxidação do potencial sejam parecidos para os pHs de 5,5 a 7,0, foi escolhido para as medições o pH 7. A variação do pH indica uma robustez na análise de EE2 por sensores impressos modificados com magnetita e sugere que as nanopartículas de magnetitas apresentam estabilidade frente a um pH abaixo de 7.

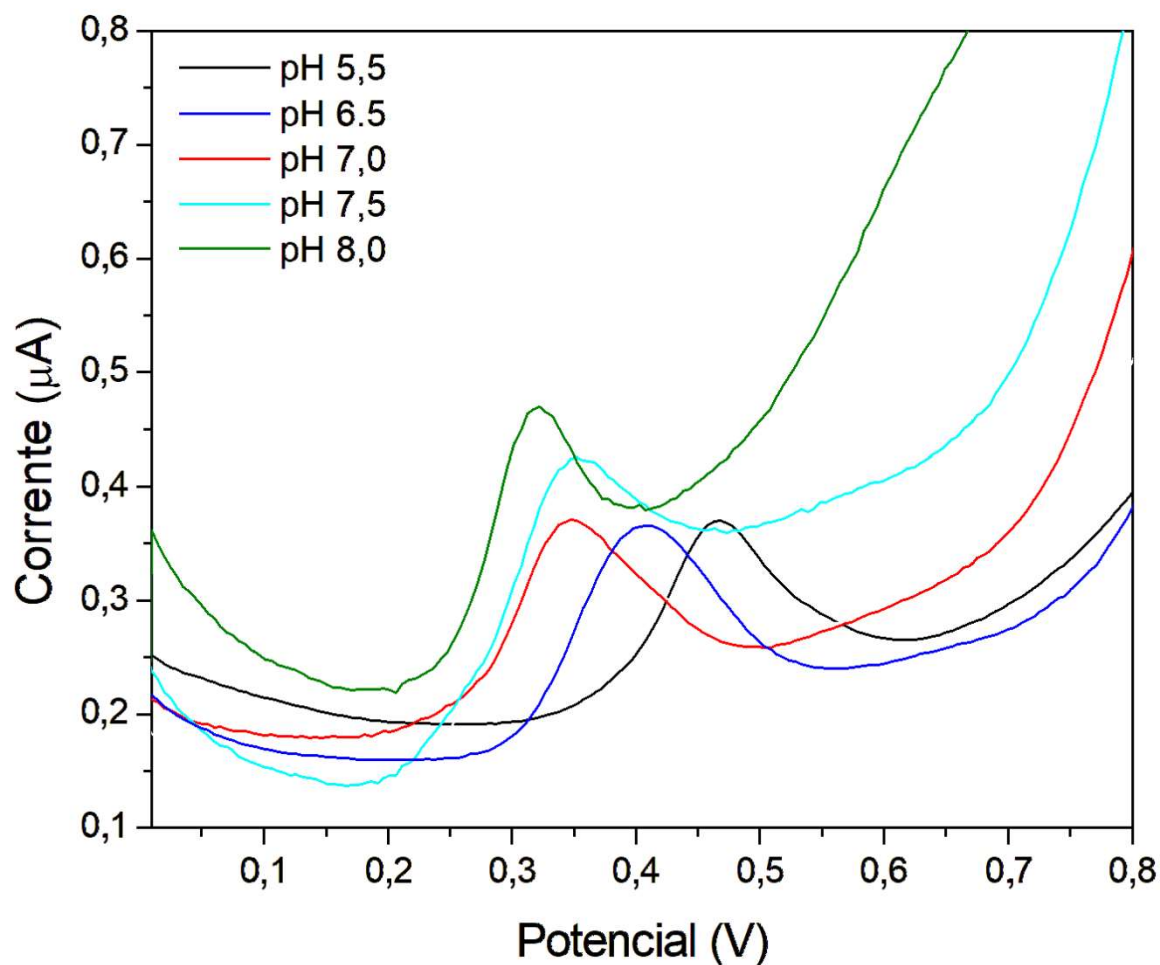


Figura 17: Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes valores de pH.

Observa-se um deslocamento de potencial para valores mais negativos. Como podemos observar na Figura 18, o gráfico de potencial de pico *versus* pH possui o coeficiente angular da reta igual a $0,0565 \text{ V pH}^{-1}$, o que sugere que o número de prótons e elétrons é igual no processo de oxidação, tendo como parâmetro o valor na equação de Nernst que é $0,0592$.⁹⁹

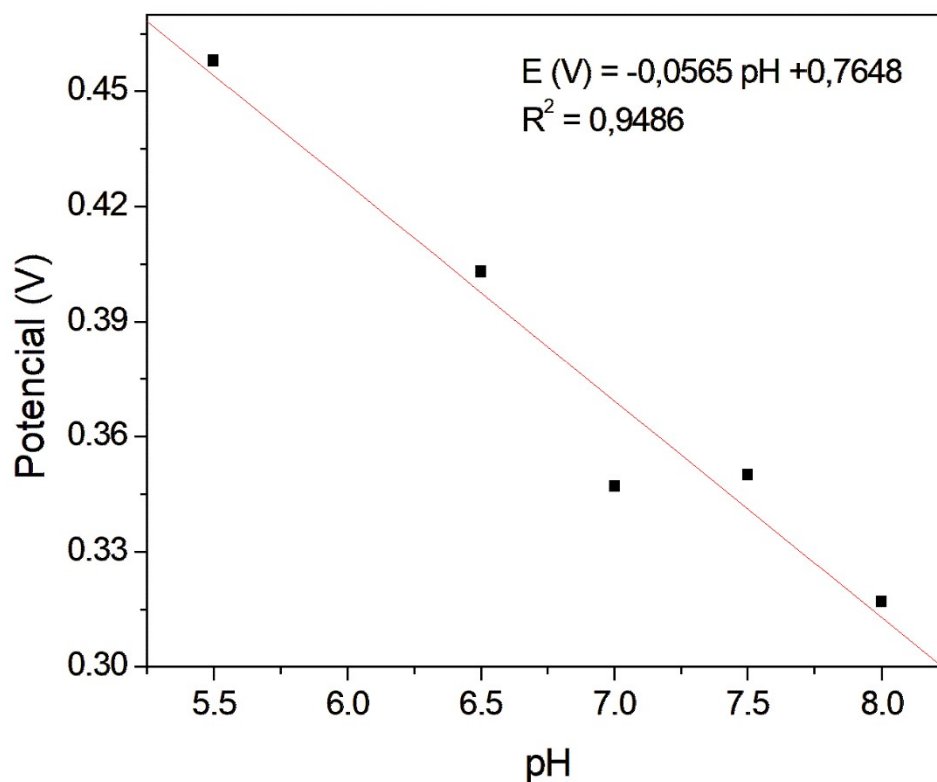


Figura 18: Gráfico do potencial de pico versus pH entre os valores de 5,5 a 8,0.

O mecanismo proposto por Alonso-Lomillo¹⁰⁰ para a oxidação do estradiol foi adaptado na reação eletroquímica do processo de oxidação do EE2, o qual é mostrado na Figura 19. A oxidação do EE2 produz uma quinona e para este processo estão envolvidos dois elétrons e dois prótons.

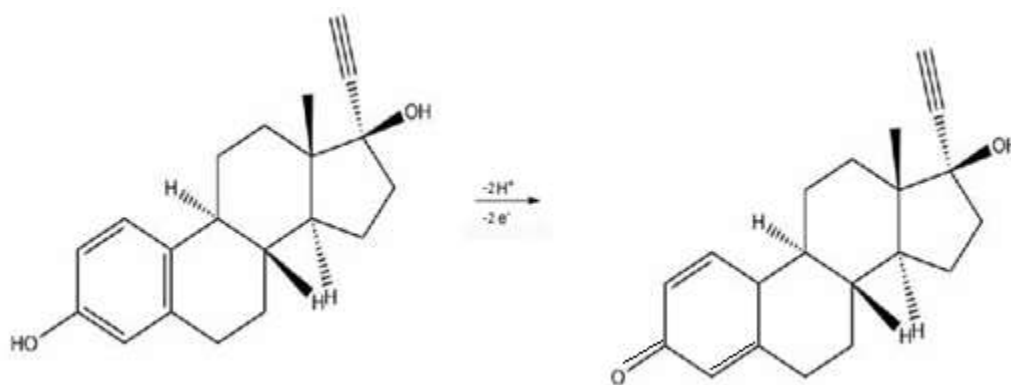


Figura 19: Reação eletroquímica global do processo de oxidação do EE2.¹⁰⁰

5.5 Curva de calibração para quantificação do EE2

Foi utilizada voltametria de onda quadrada para as medições das concentrações de EE2, pois essa técnica é mais sensível que a voltametria cíclica. Foram efetuadas quatro medidas em dias diferentes, usando diferentes eletrodos (1 – 4) e concentrações na faixa entre de 0,5 a 5.0×10^{-6} mol/L, em solução tampão de fosfato (pH 7). Os valores de altura de pico, obtidas para os quatro eletrodos nas diferentes concentrações, estão apresentados na Tabela 1, juntamente com os valores médios e os respectivos valores de desvio padrão. Pode-se observar que os diferentes eletrodos mostraram boa reprodutibilidade nas medidas. A Figura 20 apresenta as curvas obtidas nas diferentes concentrações de EE2 para o eletrodo 4. Pode-se observar um aumento da intensidade de pico com o incremento da concentração.

Tabela 1: Altura de pico de corrente obtida para diferentes eletrodos nas concentrações 0,5, 1, 2, 3, 4 e 5×10^{-6} mol L⁻¹ de EE2 em análise de onda quadrada.

[EE2] ($\times 10^{-6}$ mol/L)	Altura do pico ^a				hm ^b	σ ^c
	1	2	3	4		
0,5	0,098	0,129	0,060	0,102	0,097	0,00081
1,0	0,110	0,139	0,089	0,135	0,118	0,00054
2,0	0,151	0,162	0,158	0,166	0,159	0,00004
3,0	0,213	0,174	0,220	0,172	0,195	0,00064
4,0	0,291	0,197	0,220	0,217	0,231	0,00169
5,0	0,291	0,291	0,271	0,259	0,278	0,00025

^a = Altura do pico de corrente, obtido para eletrodos usados em diferentes dias:
1=12/08/2024, 2=19/08/2024, 3=13/09/2024, 4=04/10/2024;

^b = médias das medidas de altura do pico;

^c = desvio padrão das medidas.

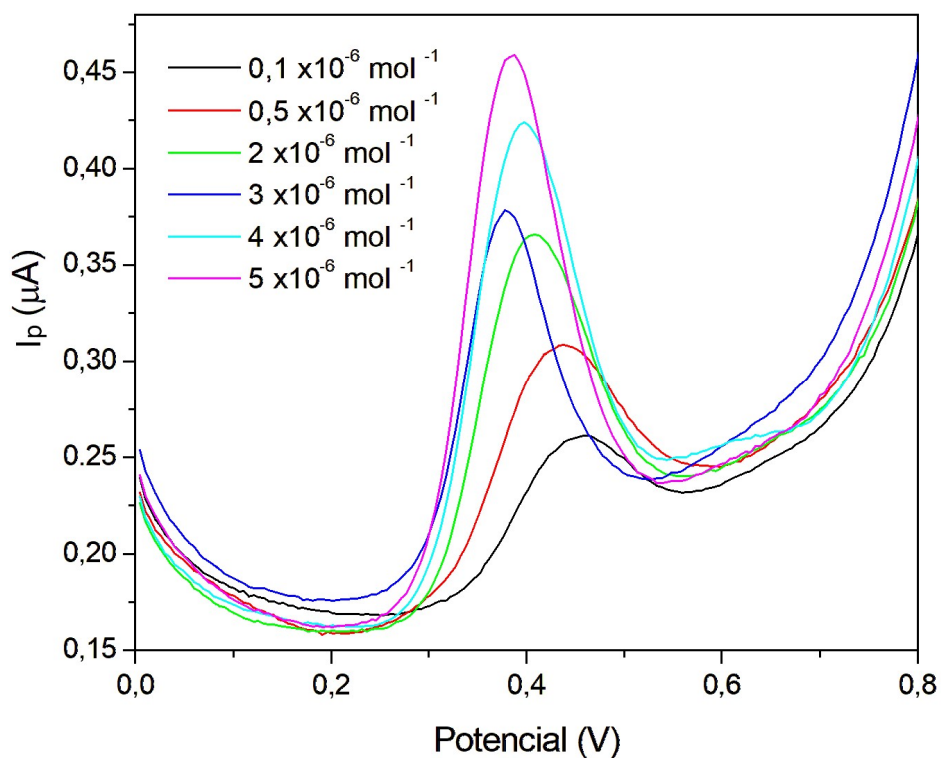


Figura 20: Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo 4 (04/10/2024), nas concentrações 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4 e 5×10^{-6} mol L^{-1} de EE2.

Figura 21 mostra uma relação linear entre a altura do pico (μA) e a concentração de EE2. Para a construção do gráfico foi utilizado a média das alturas de pico. A equação de linearidade mostra boa correlação linear, com R^2 de 0,9984, o que é um indicativo de que o eletrodo pode ser utilizado como sensor de EE2.

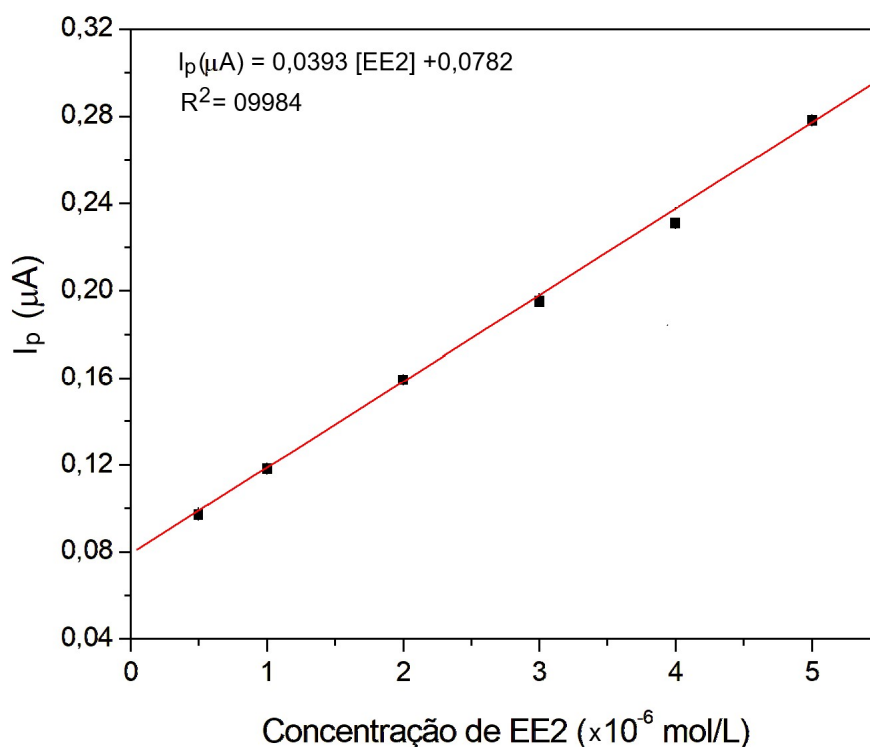


Figura 21: Corrente de pico (I_p) versus concentração de EE2.

O limite de detecção (LD) é definido como a menor quantidade de analito presente em uma amostra que pode ser verdadeiramente distinguido de zero ou detectado. Já o limite de quantificação (LQ) é definido como a menor concentração que pode ser determinada em confiabilidade de precisão e exatidão aceitáveis²⁶. O cálculo do LD é efetuado da seguinte maneira desvio padrão (S_b) da linha de base do branco multiplicado por 3 e dividido pelo coeficiente angular da reta da curva analítica, e do LQ segue a mesma fórmula, mas multiplicado por 10. O S_b calculado foi de 0,001398, portanto o LD é de $0,24 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e o LQ é de $0,83 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

Na Tabela 2 é apresentado o desempenho de outros eletrodos utilizados na quantificação de EE2. Pode-se observar que o eletrodo desenvolvido no presente trabalho apresenta um desempenho comparável aos eletrodos relatados na literatura¹⁰¹⁻¹⁰⁸, para LD e LQ do EE2. O Limite de Detecção do eletrodo desenvolvido está na mesma ordem de grandeza que os demais eletrodos reportados. Embora existam trabalhos que apresentem eletrodos com menores limites de detecção, é importante destacar que o eletrodo impresso, desenvolvido no presente trabalho, apresenta características altamente desejáveis, tais como: boa reprodutibilidade, miniaturização, fácil confecção, manipulação e portabilidade.

Adicionalmente, o presente eletrodo não necessita da adição de outras nanoestruturas tais como grafeno, nanotubos de carbono ou nanopartículas metálicas.

Tabela 2: Desempenho comparativo de sensores eletroquímicos para determinação de EE2.

Eletrodo	LD ^a ($\times 10^{-6}$ mol/L)	Referência
Au/Fe ₃ O ₄ @TA/MWNT ^b	0,27	101
Carbono vítreo / C ^c	0,13	102
Pontos quânticos / SWCNT ^d	0.004	103
CPE/CPB ^e	0,03	104
CNT Films ^f	0,05	105
FTO-Chi/CNTs ^g	0,09	106
DDB ^h	0,79	107
SPCE-Ni ⁱ	0,52	108
Fe ₃ O ₄ @MCM/grafite - impresso	0,24	Este Trabalho

^a = Limite de Detecção;

^b = Multiwall carbon nanotubes, magnetite functionalized with tannic acid and AuNPs;

^c = Carbono Vitreo/negro de fumo;

^d = Carbono vítreo modificado com pontos quânticos e nanotubo de carbono;

^e = Pasta de carbono modificada com cetyl pyridine bromide;

^f = Filmes finos de nanotubos de carbono;

^g = filmes de chitosana e nanotubo de carbono em oxido de estanho fluorado;

^h = Diamante dopado com boro;

ⁱ = Eletrodo de carbono serigrafado modificado com filme de níquel eletrodepositado.

6. CONCLUSÃO

Nesse trabalho, foi sintetizada uma sílica mesoporosa do tipo MCM-41, contendo nanopartículas de magnetita incorporadas em sua estrutura. A presença de magnetita não afetou significativamente a estrutura ordenada de poros da sílica, que apresentou mesoporos com diâmetro de 2,7 nm e uma elevada área de superfície ($570 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$). A morfologia do material revelou aglomerados de partículas aproximadamente esféricas, com diâmetros entre 100 e 200 nm. O material foi utilizado para fabricar eletrodos de grafite serigrafados, que foram aplicados com sucesso na detecção do contaminante emergente 17 α -etinilestradiol.

Os eletrodos impressos são uma tecnologia inovadora que está revolucionando a área da eletroquímica. Uma das principais vantagens do uso de eletrodos impressos é a sua flexibilidade e versatilidade. Outra vantagem importante é a redução de custos. Os eletrodos impressos são significativamente mais econômicos do que os eletrodos tradicionais, o que os torna uma opção atraente para aplicações em larga escala. Outra vantagem é a possibilidade de miniaturização. Os eletrodos impressos podem ser projetados para serem muito pequenos, o que os torna ideais para aplicações em que o espaço é limitado, como em dispositivos portáteis ou em sistemas de monitorização remota.

O eletrodo impresso demonstrou excelente reprodutibilidade na detecção do contaminante emergente 17 α -etinilestradiol, com uma resposta linear na faixa de concentração de 0,5 a $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. Além disso, o eletrodo apresentou um Limite de Detecção (LD) de $0,24 \mu\text{mol L}^{-1}$ e um Limite de Quantificação (LQ) de $0,83 \mu\text{mol L}^{-1}$. Esses resultados, combinados com a simplicidade de obtenção e portabilidade do sistema, tornam o eletrodo impresso uma ferramenta potencialmente importante para a determinação quantitativa de 17 α -etinilestradiol.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Branco, N. M. C.; Pereira, M. U.; Ferreira, R. G.; Spisso, B. F.; Albert, A. L. M.; Romão, C. M. C. P. A. Anais do 9º Simpósio Brasileiro de Vigilância Sanitária -2023, Vol. 2 - 182424, disponível em: <<https://proceedings.science/simbravisa/simbravisa-2023/trabalhos/contaminantes-emergentes-na-agua-um-olhar-critico-acerca-da-falta-de-regulacao?lang=pt-br>> (acesso em 21/08/ 2024).
- 2- Diamanti-kandarakis, E.; Bourguignon, J.; Giudice, L. C.; Hauser, R.; Prins, G. S.; Soto, A. M.; Zoeller, R. T.; Gore, A. C.; **Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society scientific statement**, *Endocrine Reviews*, **2009**, v. 30 n. 4, p. 293–342.
- 3- Rout, P. R.; Zhang, T. C.; Bhunia, P.; Surampalli, R. Y. **Treatment technologies for emerging contaminants in wastewater treatment plants: A review**. *Science of the Total Environment*, **2021**, v. 753, p. 141990.
- 4- Campestrini I, Jardim W. F., *Sci. Total Environm.* **Occurrence of cocaine and benzoylecgonine in drinking and source water in the São Paulo State region, Brazil**, *Sci. Total Environm*, **2017**, 576, 374.
- 5- Montagner C. C., Sodr  F. F., Acayaba, R. D., Vidal C., Campestrini I, Locatelli M. A., Pescara I. C., Albuquerque A. F., Umbuzeiro G. A., Jardim, W. F., **Ten Years-Snapshot of the Occurrence of Emerging Contaminants in Drinking, Surface and Ground Waters and Wastewaters from São Paulo State, Brazil**, *J. Braz. Chem. Soc.* **2019**, 30, 614.
- 6- Miyagawa, S.; Sato, T.; Iguchi, T. Subchapter 129E - 17 α -Ethinylestradiol; *Handbook of Hormones (Second Edition)*; Academic Press; 2021; Pages 1007-1008.
- 7- Zepeng, Q.; Lalvani L.S.; Kerr, L. L.; **Detection of α -Ethinyl Estradiol in Water by Voltammetry: Mechanistic Study and Practical Implications**, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2021**, 16, 210746.
- 8- Lopez R.; Khan, S.; Wong, A.; Sotomayor, M. P. T.; Picasso G.; **Development of a New Electrochemical Sensor Based on Mag-MIP Selective Toward Amoxicillin in Different Samples**, *Frontiers in Chemistry*, **2021**, 9, 615602.
- 9- Hrioua, A.; Loudiki, A.; Farahi, A.; Bakasse, M.; Lahrich, S.; Saqrane, S.; El Mhammedi, M. A.; **Recent advances in electrochemical sensors for amoxicillin detection in biological and environmental samples**, *Bioelectrochemistry*, 2021,137, 107687.

- 10- Alsaiani, N. S.; Katubi, K. M. M.; Alzahrani, F. M.; Siddeeg, S. M.; Tphoon, M. A.; **The Biocatalytic Degradation of Organic Dyes Using Laccase Immobilized Magnetic Nanoparticles**, *Micromachines*, **2021**, 12, 308.
- 11- Mirceski, V.; Skrzypek, S.; Stojanov, L.; **Square-wave voltammetry**. *ChemTexts*, **2018**, 4, 17.
- 12- Scholz, F.; **Voltammetric techniques of analysis: the essentials**. *ChemTexts*, **2015**, 1, 17, 1 - 24.
- 13- Stradiotto, N. R.; Yamanaka, H. M.; Zanoni, V. B.; **Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry**, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2003**, 14, 159.
- 14- Boumya, W.; Taoufik, N.; Achak, M.; Barka, N.; **The state of art on the prediction of efficiency and modeling of the processes of pollutants removal based on machine learning**, *J. Pharmac Anal.*, **2021**, 11, 138.
- 15- Sharma, S.; Singh, N.; Tomar, Chandra, V. R.; **A review on electrochemical detection of serotonin based on surface modified electrodes**, *Biosens. Bioelect.*, **2018**, 107, 76.
- 16- Quant, J. S. P.; Da Rosa, S. D.; Didó, C. A., Gil, M. P., Pereira, M. B., Costa, T. M. H., Arenas, L. T., Benvenuti, E. V.; **Silver nanoparticles in situ synthesized inside of the SBA-15 pores for carbon paste–modified electrode applied as a sensor for amoxicillin determination**; *Jornal of Solid State Electrochemistry*, 2024, vol.28, 2189-2202.
- 17- Li, M.; Li, Y.-T.; Li, D.-W.; Long, Y.-T.; **Recent developments and applications of screenprinted electrodes in environmental assays-A review**. *Analytica Chimica Acta*, **2012**, 734, 31.
- 18- Palley, B. F.; Artur, J. C.; Arruda, M. N.; de Souza, G. F.; Graves, D. A.; Bovoplato, A. L. C.; Deffune, E.; Schelp, A. O.; Gonçalves, E. S.; de Moraes, M. L.; **Screen-Printed Electrodes on Tyvek Substrate as Low-Cost Device to Applications in Alzheimer's Disease Detection**; *Journal of The Electrochemical Society*, **2022**, 169, 037505.
- 19- de Souza, L. V.; Tkachenko, O.; Cardoso, B. N.; Pizzolato, T. M.; Dias, S. L. P.; M. Vasconcellos, A. Z.; Arenas, L. T.; Costa; T. M. H.; Moro, C. C.; Benvenuti, E. V., **Strategy to control the amount of titania dispersed on SBA-15 surface preserving its porosity, aiming to develop a sensor for electrochemical evaluation of antibiotics**. *Micropor. Mesopor. Mater.*, **2019**, 287, 203–210.

- 20- de Souza, L. V.; da Rosa, D. S.; Tkachenko, O. S.; Gomes, A. A.; Costa, T. M. H.; Arenas, L. T.; Benvenuti, E. V.; **The role silica pore structure plays in the performance of modified carbon paste electrodes**, *Ionics*, **2019**, 25, 3259.
- 21- Soltani, N.; Haddadi, H.; Asgari, M.; Rajabzadeh, N.; **Adsorptive stripping voltammetric detection of thorium on the multi-walled carbon nanotube modified screen printed electrode**. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2015**, 220, 1212.
- 22- Mattis, D. C. **History of Magnetism**. In *The Theory of Magnetism I*; Springer, Berlin, Heidelberg: Berlin, **1981**; p 1–38.
- 23- Cornell, R. M.; Schwertmann, U. *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, 2 ed.; Wiley-VCH, 2003.
- 24- Wang, X.; Liao, Y.; Zhang, D.; Wen, T.; Zhong, Z. **A Review of Fe₃O₄ Thin Films: Synthesis, Modification and Applications**. *J. Mater. Sci. Technol.* **2018**, 34, 1259–1272.
- 25- Moyer, J. A.; Vaz, C. A. F.; Arena, D. A.; Kumah, D.; Negusse, E.; Henrich, V. E. **Magnetic Structure of Fe-Doped CoFe₂O₄ Probed by x-Ray Magnetic Spectroscopies**. *Phys. Rev. B* **2011**, 84, 054447.
- 26- Silva, F. G. da; Depeyrot, J.; Campos, A. F. C.; Aquino, R.; Fiorani, D.; Peddis, D. **Structural and Magnetic Properties of Spinel Ferrite Nanoparticles**. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2019**, 19, 4888–4902.
- 27- Teja, A. S.; Koh, P. Y. **Synthesis, Properties, and Applications of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles**. *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* **2009**, 55, 22–45.
- 28- Koo, K. N.; Ismail, A. F.; Othman, M. H. D.; Rahman, M. A.; Sheng, T. Z. **Preparation and Characterization of Superparamagnetic Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles: A Short Review**. *Malaysian J. Fundam. Appl. Sci.* **2019**, 15 (1), 23–31.
- 29- Colombo, M.; Carregal-Romero, S.; Casula, M. F.; Gutiérrez, L.; Morales, M. P.; Böhm, I. B.; Heverhagen, J. T.; Prospero, D.; Parak, W. J. **Biological Applications of Magnetic Nanoparticles**. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 4306–4334.
- 30- Lin, C.-R.; Chu, Y.-M.; Wang, S.-C. **Magnetic Properties of Magnetite Nanoparticles Prepared by Mechanochemical Reaction**. *Mater. Lett.* **2006**, 60, 447–450.
- 31- Radoń, A., Włodarczyk, A., Sieroń, Ł. *et al.* **Influence of the modifiers in polyol method on magnetically induced hyperthermia and biocompatibility of ultrafine magnetite nanoparticles**. *Sci Rep* **2023**, 13, 7860
- 32- Aboelkheir M, Gomes F, Meiorin C, Galdino T. *Tenebrio molitor* Larvae-Based Magnetic Polyurea Employed as Crude Oil Spill Removal Tool. *Materials*. **2022**; 15(14):5063.

- 33- Zabermaawi, N.M., Bestawy, E.E. Effective treatment of petroleum oil-contaminated wastewater using activated sludge modified with magnetite/silicon nanocomposite. *Environ Sci Pollut Res* , **2024**, 31 17634–17650.
- 34- Oboudatian, H. S., Naeimi, H., Moradian, M.; **A Brønsted acidic ionic liquid anchored to magnetite nanoparticles as a novel recoverable heterogeneous catalyst for the Biginelli reaction**, *RSC Adv.*, **2021**, 11, 7271.
- 35- Döpke, C., Grothe, T., Steblinski, P., Klöcker, M., Sabantina, L., Kosmalska, D., Blachowicz, T., Ehrmann, A.; **Magnetic Nanofiber Mats for Data Storage and Transfer**. *Nanomaterials* **2019**, 9, 92.
- 36- Mazur, A. S., Pleshakov, I. V., Khudyakov, A. V., Bibik, E. E., Kuzmin Y. I.; **NMR investigation of iron-containing magnetically ordered nanomaterial used for preparing of magnetic fluid**; *J. Phys.: Conf. Ser.* **2019**,1326, 012009
- 37- Yang S.J., Huang, C.H., Wang, C.H., Shieh, M.J., Chen, K.C.; **The Synergistic Effect of Hyperthermia and Chemotherapy in Magnetite Nanomedicine-Based Lung Cancer Treatment**. *Int J Nanomedicine*. **2020**;15:10331-10347.
- 38- Rezanezhad, A., Hajalilou, A., Eslami, F. *et al.* **Superparamagnetic magnetite nanoparticles for cancer cells treatment via magnetic hyperthermia: effect of natural capping agent, particle size and concentration**. *J Mater Sci: Mater Electron*, **2021**, 32, 24026–24040.
- 39- Doswald, S., Stark, W. J., Beck-Schimmer, B.; **Biochemical Functionality of Magnetic Particles as Nanosensors: How Far Away Are We to Implement Them into Clinical Practice?** *J. Nanobiotechnology* **2019**, 17, 73.
- 40- Kinebuchi, I., Kyono, A.; **Study on magnetite oxidation using synchrotron X-ray diffraction and X-ray absorption spectroscopy: vacancy ordering transition in maghemite (γ -Fe₂O₃)**. *Journal of Mineralogical and Petrological Sciences*, **2021**, 116, 211–219.
- 41- Khan, U. S., Amanullah, Manan, A., Khan, N., Mahmood, A., Rahim, A.; **Transformation Mechanism of Magnetite Nanoparticles**. *Mater. Sci. Pol.* **2015**, 33, 278–285.
- 42- Sandeep Kumar, T.K., Viswanathan, N.N., Ahmed, H. *et al.* **Investigation of Magnetite Oxidation Kinetics at the Particle Scale**. *Metall Mater Trans B*, **2019**, 50, 150–161.
- 43- Favela-Camacho, S. E.; Samaniego-Benítez, E. J.; Godínez-García, A.; Avilés-Arellano, L. M.; Pérez-Robles, J. F. **How to Decrease the Agglomeration of Magnetite Nanoparticles and Increase Their Stability Using Surface Properties**. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2019**, 574, 29–35.

- 44- Vakhneev, S. N., Sha M.; **Preparation and Characterization of Magnetite – Silica Core – Shell Nanoparticles**, International Journal of Circuits, Systems and Signal Processing, **2021**, 15, 1457-1463.
- 45- Dadwal, A.; Joy, P. A.; **Influence of Chain Length of Long-Chain Fatty Acid Surfactant on the Thermal Conductivity of Magnetite Nanofluids in a Magnetic Field**. Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp. **2018**, 555, 525–531.
- 46- Tie, S. L., Lin, Y. Q., Lee, H. C., Bae, Y. S., Lee, C. H.; **Amino Acid-Coated Nano-Sized Magnetite Particles Prepared by Two-Step Transformation**. Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp. **2006**, 273, 75–83.
- 47- Keihan, A. H., Veisi, H., Biabri, P. M.; **Facile Synthesis of PEG-Coated Magnetite (Fe₃O₄) and Embedment of Gold Nanoparticle as a Nontoxic Antimicrobial Agent**. Appl. Organomet. Chem. **2017**, 31, e3873.
- 48- Hiremath, C. G., Kariduraganavar, M. Y., Hiremath, M. B.; **Synergistic Delivery of 5-Fluorouracil and Curcumin Using Human Serum Albumin-Coated Iron Oxide Nanoparticles by Folic Acid Targeting**. Prog. Biomater. **2018**, 7, 297–306.
- 49- Deon, M., Morawski, F.M., Passaia, C., Dalmás, M., Laranja, D.C., Malheiros, P.S., Nicolodi, S., Arenas, L.T., Costa, T.M.H., de Menezes, E.W., Benvenutti, E.V.; **Chitosan-stabilized gold nanoparticles supported on silica/titania magnetic xerogel applied as antibacterial system**. J Sol-Gel Sci Technol, **2019**, 89, 333-342.
- 50- Deon, M., de Andrade, R.C., Nicolodi S., da Cunha, J.B.M., Costa, T.M.H., Rodembusch, F.S., de Menezes, E.W., Benvenutti E.V.; **Magnetically responsive silica hollow spheres: straightforward synthesis of accessible micro-sized containers**. Part Syst Char, **2018**, 35, 1800160.
- 51- Morawski, F. M., Deon, M., Nicolodi, S., de Menezes, E. W., Costa, T. M. H., Dias, S. L. P., Benvenutti, E. V., Arenas, L. T.; **Magnetic Silica/Titania Xerogel Applied as Electrochemical Biosensor for Catechol and Catecholamines**. Electrochim. Acta **2018**, 264, 319–328.
- 52- Nuri, A., Mansoori, Y., Bezaatpour, A., Shchukarev, A., Mikkola, J. P.. **Magnetic Mesoporous SBA-15 Functionalized with a NHC Pd(II) Complex: An Efficient and Recoverable Nanocatalyst for Hiyama Reaction**. ChemistrySelect **2019**, 4, 1820–1829.
- 53- Yiu, H. H. P., Keane, M. A., Lethbridge, Z. A. D., Lees, M. R., El Haj, A. J., Dobson, J.; **Synthesis of Novel Magnetic Iron Metal-Silica (Fe-SBA-15) and Magnetite-Silica (Fe₃O₄-SBA-15) Nanocomposites with a High Iron Content Using Temperature-Programed Reduction**. Nanotechnology **2008**, 19, 255606.
- 54- McLean, B, Yarovsky, I; **Structure, Properties, and Applications of Silica Nanoparticles: Recent Theoretical Modeling Advances, Challenges, and Future Directions**, Small **2024**, 2405299
- 55- Rimola, A., Costa, D., Sodupe, M., Lambert, J.-F., Ugliengo, P.; **Silica Surface Features and Their Role in the Adsorption of Biomolecules: Computational Modeling and Experiments**. Chem. Rev. **2013**, 113, 4216–4313.
- 56- Zucca, P., Sanjust, E.; **Inorganic Materials as Supports for Covalent Enzyme Immobilization: Methods and Mechanisms**. Molecules **2014**, 19, 14139–14194.

- 57- Ciriminna, R., Fidalgo, A., Pandarus, V., Béland, F., Ilharco, L. M., Pagliaro, M.; **The Sol-Gel Route to Advanced Silica-Based Materials and Recent Applications**. *Chem. Rev.* **2013**, 113, 6592–6620.
- 58- Beau, R., Duchene, J., Page, M.L.; **Porous Silica Particles Containing a Crystallized Phase and Method**. U.S. Patent 3493341, **1970**.
- 59- Beck, J.S., Vartuli, J.C., Roth, W.J., Leonowicz, M.E., Kresge, C.T., Schmitt, K.D., Chu, C.T.W., Olson, D.H., Sheppard, E.W., McCullen, S.B., et al.; **A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates**. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 10834–10843.
- 60- V
- 61- Boora, A., Kumar, V. & Duhan, S.; **Engineered nano-porous Cr₂O₃/TUD-1 nanocomposites for efficient and reliable humidity sensor**. *Appl. Phys. A*, **2024**, 130, 737.
- 62- Yin, J. X., Liu, Z. G., Wu, S. F., Wang, W. H., Kong, W. D., Richard, P., Yan, L., Ding, H.; **Unconventional Magnetization of Fe₃O₄ Thin Film Grown on Amorphous SiO₂ Substrate**. *AIP Adv.* **2016**, 6, 065111.
- 63- Vojoudi, H., Badieli, A., Bahar, S., Ziarani, G. M., Faridbod, F., Ganjali, M. R.; **A New Nano-Sorbent for Fast and Efficient Removal of Heavy Metals from Aqueous Solutions Based on Modification of Magnetic Mesoporous Silica Nanospheres**. *J. Magn. Magn. Mater.* **2017**, 441, 193–203.
- 64- Bhaduri, K., Das, B. D., Kumar, R., Mondal, S., Chatterjee, S., Shah, S., BravoSuárez, J. J., Chowdhury, B.; **Recyclable Au/SiO₂-Shell/Fe₃O₄-Core Catalyst for the Reduction of Nitro Aromatic Compounds in Aqueous Solution**. *ACS Omega* **2019**, 4, 4071–4081.
- 65- Maboudi, S. A., Shojaosadati, S. A., Aliakbari, F., Arpanaei, A.; **Theranostic Magnetite Cluster@silica@albumin Double-Shell Particles as Suitable Carriers for Water-Insoluble Drugs and Enhanced T₂ MR Imaging Contrast Agents**. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, 99, 1485–1492.
- 66- Cai, W., Guo, M., Weng, X., Zhang, W., Chen, Z.; **Adsorption of Doxorubicin Hydrochloride on Glutaric Anhydride Functionalized Fe₃O₄@SiO₂ Magnetic Nanoparticles**. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, 98, 65–73.
- 67- Zhu, Y., Ikoma, T., Hanagata, N., Kaskel, S.; **Rattle-Type Fe₃O₄@SiO₂ Hollow Mesoporous Spheres as Carriers for Drug Delivery**. *Small* **2010**, 6, 471–478.
- 68- Zhao, M., Liu, J., Lei, Z.; **PLA-PEG-Grafted Hollow Magnetic Silica Microspheres as the Carrier of Iodinated Contrast Media**. *J. Appl. Polym. Sci.* **2017**, 44914.
- 69- Abravi, Z., Setoodehkhah, M. & Moradian, M.; **Synthesis and characterization of Ni(II) complex supported on magnetite-silica nanoparticles and investigation of its catalytic activity in Biginelli reaction under solvent-free conditions**. *Res Chem Intermed.* **2024**, 50, 2067–2090.
- 70- Kidkhunthod, P., Chanlek, N., Wittayakun, J., & Osakoo, N.; **Iron hematite-magnetite composite supported on mesoporous SBA-15 synthesized by using silica from cogon grass as a solid catalyst in phenol hydroxylation**. *Materials Chemistry and Physics*, **2024**, 130057.

- 71- de Andrade, R., Schmidt, R.d.C.d.R., Gomes, L.S., Colina-Vegas, L., Hinrichs, R., Vasconcellos, M.A.Z., Costa, T.M.H., Deon, M., Villarreal, W., Benvenuto, E.V.; **Magnetic Mesoporous Silica for Targeted Drug Delivery of Chloroquine: Synthesis, Characterization, and In Vitro Evaluation.** *Pharmaceutics* **2024**, *16*, 357.
- 72- Zanardi, F. B.; **Manganêsporfirina Imobilizada em Compósito Magnético Fe₃O₄@nSiO₂@MCM-41: Catalizador Biominético Aplicado na Oxidação de Hidrocarbonetos e Fármacos.** **2015**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Filosofia Ciência e Letras de riberão Preto da Universidade de São Paulo.
- 73- Cunha, M. R., Naushad, M., Ponce-Vargas, M., Lima, E. C., Sher, F., Rabiee, N., Franco D. S. P., Thue, P. S., Tran, H. N., Badawi, M.; **Removal of enalapril maleate drug from industry waters using activated biochar prepared from *Butia capitata* seed. Kinetics, equilibrium, thermodynamic, and DFT calculations.** *Journal of Molecular Liquids*. **2023**. 386. 122470.
- 74- Das Chagas, F. W. M., Mangas, M. B. P., da Silva J.G.; **Determination of Emerging Contaminants in Water Samples in Brazil by Voltammetric Techniques: A Literature Review.** *Rev. Virtual Quim.*, **2023**, *15*(1), 92-121.
- 75- CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução n. 357, de março de 2009. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 17.03.2009.
- 76- Portaria GM/MS Nº 88, de maio de 2021, Ministério da Saúde, Diário Oficial da União. 07.05.2021.
- 77- Tang, Z., Liu, Z. hua, Wang, H., Dang, Z., & Liu, Y.; **A review of 17 α -ethynylestradiol (EE2) in surface water across 32 countries: Sources, concentrations, and potential estrogenic effects.** *Journal of Environmental Management*. **2021**. 292.
- 78- Klaić, M., Jirsa, F.; **17 α -Ethinylestradiol (EE2): concentrations in the environment and methods for wastewater treatment - an update.** In *RSC Advances*. **2022**. *12*. 20. 12794–12805.
- 79- Gil, M. L., Melgaço, S., da Cunha, D. L., Bila, D. M., da Fonseca, E. M.; **Contaminantes emergentes e indicadores de contaminação em ambientes costeiros brasileiros: ocorrência, distribuição geográfica e procedimentos analíticos utilizados.** *Pesquisas em Geociências*. **2023**. *50*. 2. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/index.php/PesquisasemGeociencias/article/view/131523>. Acesso em: 29 out. 2024.
- 80- Alves, M. C. P., Pereira, A. R., Sanson, A. L., Aquino, S. F.; **Ocorrência de fármacos e desreguladores endócrinos em mananciais de abastecimento de água no Brasil.** *Cad. Téc. Eng. Sanit. Ambient.* **2023**. *3*. 3. 95-103.
- 81- Castaño-Ortiz, J. M., Gago-Ferrero, P., Barceló, D., Rodríguez-Mozaz, S., Gil-Solsona, R.; **HRMS-based suspect screening of pharmaceuticals and their transformation products in multiple environmental compartments: An alternative to target analysis?.** *Journal of Hazardous Materials*. **2024**. 465. 132974.
- 82- Kadadou, D., Tizani, L., Alsafar, H., Hasan. S. W.; **Analytical methods for determining environmental contaminants of concern in water and wastewater.** *MethodsX*, **2024**, *12*, 102582.

- 83- Garcia-Cansino, L., Marina, M. L., Garcia, M. A.; **Chiral Analysis of Pesticides and Emerging Contaminants by Capillary Electrophoresis—Application to Toxicity Evaluation.** *Toxics*. **2024**, 12(3), 185.
- 84- Da Costa, F. M., Duarte, K.D., de Oliveira, T. B., Lira, W. M.; **Análise Analíticas em parâmetros de Tecnologia dos Alimentos Farmacêuticos.** *Revista PPC –Políticas Públicas e Cidades*, **2024**, 13 (2), 01-16.
- 85- Monteiro, M. D. S.; Santos Júnior, J. C.; Sussuchi, E. M.; **Eletroquímica: Eletrodos Modificados e suas Potencialidades.** *Rev. Virtual Quim.*, **2020**, 12 (5), 1145-1160.
- 86- Ahmed, J., Faisal, M., Algethami, J. S., Alsaiari, M., Harraz, F. A.; **A novel In₂O₃-doped ZnO decorated mesoporous carbon nanocomposite as a sensitive and selective dopamine electrochemical sensor.** *Journal of Materials Research and Technology*. **2024**, 29, 540-549.
- 87- Naqebullah, Ahmad, A., Tabassum, H., Mumtaz, T., Pervaiz. M., Saeed, Z., Younas, U., Zaidi, A., Khan, R. R. M., Rashid, A., Adnan, A.; **1 - Introduction: nanomaterials and electrochemical sensors.** In *Micro and Nano Technologies, Nanomaterials-Based Electrochemical Sensors : Properties, Applications and Recent Advances*, Elsevier, **2024**, 1-17.
- 88- Wang, C., Qi, L., Liang, R., Qin, W.; **Multifunctional Molecularly Imprinted Receptor-Based Polymeric Membrane Potentiometric Sensor for Sensitive Detection of Bisphenol A.** *Analytical Chemistry* **2022** 94 (22), 7795-7803.
- 89- Zanon, M. V. B., Borges, A. S., Benedetti, A. V., Yamanaka, H., Sotomayor, M. P. T., Bessegato, G. G., Stradiotto, N. R., Zantac, P. C. L. S., Andrade, A. R.; **Panorama de Eletroquímica e Eletroanalítica no Brasil.** *Quim. Nova*, **2017**, 40, 6, 663-669.
- 90- De Resende, M. A. C., Da Silva, D. N., Pereira, A. C.; **Flow and batch injection systems with electrochemical detection applied in drugs determination.** *Revista Virtual de Química*. **2020**, 12, 5, 1186–1209.
- 91- Pacheco, W. F., Semaan, F. S., de Almeida, V. G. K., Ritta, A. G. S. L., Aucélio, R. Q.; **Voltamétricas: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos,** *Revista Virtual de Química*, **2013**, 5, 4, 516-537.
- 92- dos Santos, S. M. V., Oliveira, P. R., Oliveira, M. C., Bergamini, M. F., Marcolino-Jr, L. H.; **Eletrodos Impressos Construídos por Serigrafia Utilizando Negro de Fumo como Material Condutor.** *Rev. Virtual Quim.*, **2017**, 9 (2), 626-640.
- 93- Alonso-Lomillo, M. A., Domínguez-Renedo, O., Saldanã-Botín, A., Arcos-Martínez, J.; **Determination of ascorbic acid in serum samples by screen-printed carbon electrodes modified with gold nanoparticles.** *Talanta*, **2017**, 174, 733–737.
- 94- Khorshed, A. A., Khairy, M., Banks, C. E.; **Voltammetric determination of meclizine antihistamine drug utilizing graphite screen-printed electrodes in physiological medium.** *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **2018**, 824, 39–44, 2018.
- 95- Ping, J., Wu, J., Ying, Y.; **Development of an ionic liquid modified screen-printed graphite electrode and its sensing in determination of dopamine.** *Electrochemistry Communications*, **2010**, 12, 12, 1738–1741.

- 96- Aflatoonian, M. R., Tajik, S., Ekrami-Kakhki, M., Aflatoonian, B., Beitollahi, H.; **A nano-sensor based on screen printed electrode (SPE) for electrochemical detection of vitamin B9.** Eurasian Chemical Communications, **2020**, 2, 609–618.
- 97- Khairy, M., Ayoub, H. A., Banks, C. E.; **Non-enzymatic electrochemical platform for parathion pesticide sensing based on nanometer-sized nickel oxide modified screen-printed electrodes.** Food Chemistry, **2018**, 255, 104–111.
- 98- Silva, G. J. L., Andrade, C. A. S., Oliveira, I. S^c, de Melo, C. P., Oliveira, M.D.L.; **Impedimetric sensor for toxigenic *Penicillium sclerotigenum* detection in yam based on magnetite-poly(allylamine hydrochloride) composite,** Journal of Colloid and Interface Science, **2013**, 396, 258-263.
- 99- Silva, D. C., Borges, E.; **A Equação de Nernst: Origens e Contexto Termodinâmico.** Quím. Nova, **2025**, 48, 2, e-20250029, 1-9.
- 100- Ngundi, M. M.; Sadik, O. A.; Yamaguchi, T.; Suye, S.; **First comparative reaction mechanisms of β -estradiol and selected environmental hormones in a redox environment,** Electrochem. commun. **2003**, 5, 61.
- 101- Nodehi, M., Baghayeri, M., Ansari, R., Veisi, H.; **Electrochemical quantification of 17 α – Ethinylestradiol in biological samples using a Au/Fe₃O₄@TA/MWNT/GCE sensor,** Materials Chemistry and Physics, **2020**, 244, 122687.
- 102- Smajdor, J., Piech, R., Piek, M., Paczosa-Bator, B., **The electrochemical society sensitive voltammetric determination of ethinyl estradiol on carbon black modified electrode,** J. Electrochem. Soc., **2017**, 164, 885-889.
- 103- Canevari, T.C., Cincotto, F.H., Nakamura, M., Machado, S.A.S., Toma, H.E.; **Efficient electrochemical biosensors for ethinylestradiol based on the laccase enzyme supported on single walled carbon nanotubes decorated with nanocrystalline carbon quantum dots,** Anal. Methods, **2016**, 8, 7254-7259.
- 104- Li, C.; **Voltammetric determination of ethinylestradiol at a carbon paste electrode in the presence of cetyl pyridine bromine.** Bioelectrochemistry, **2007**, 70, 263-268.
- 105- Zheng, H.Y., Alsager, O.A., Wood, C.S., Hodgkiss, J.M., Plank, N.O.; **Carbon nanotube field effect transistor aptasensors for estrogen detection in liquids.** J. Vac. Sci. Technol. B, **2015**, 33, 904-910.
- 106- Pavinatto, A., Mercante, L.A., C. S., Mattoso, L.H.C., Correa, D.S.; **Layer-by-Layer assembled films of chitosan and multi-walled carbon nanotubes for the electrochemical detection of 17 α -ethinylestradiol.** J. Electroanal. Chem., **2015**, 15, 215-220.
- 107- Perez, C., Simões, F.R., Codognot, L.; **Voltammetric determination of 17 α -ethinylestradiol hormone in supply dam using BDD electrode.** J. Solid State Electrochem, **2016**, 20, 2471-2478.
- 108- Silva, L.R.G., Rodrigues, J.G.A., Franco, J.P., Santos, L.P., D'Elia, E., Romão, W., Ferreira, R.Q.; **Development of a portable electroanalytical method using nickel modified screen-printed carbon electrode for ethinylestradiol determination in organic fertilizers.** Ecotoxicol. Environmen. Safety **2021**, 208, 111430.