



FURG

Dissertação de Mestrado

**DESENVOLVIMENTO DE SENSOR QUIMICAMENTE
MODIFICADO COM *CARBON BLACK* E PECTINA PARA
DETECÇÃO DE BENZOFENONA-3**

Mayara Cristina Mombach Lorenz

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2020

**DESENVOLVIMENTO DE SENSOR QUIMICAMENTE
MODIFICADO COM *CARBON BLACK* E PECTINA PARA
DETECÇÃO DE BENZOFENONA-3**

por

MAYARA CRISTINA MOMBACH LORENZ

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA.

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2020

Universidade Federal do Rio Grande
Escola de Química e Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química
Tecnológica e Ambiental

A Comissão Examinadora abaixo assinada aprova a Dissertação de Mestrado

**DESENVOLVIMENTO DE SENSOR QUIMICAMENTE
MODIFICADO COM *CARBON BLACK* E PECTINA PARA
DETECÇÃO DE BENZOFENONA-3**

elaborada por

MAYARA CRISTINA MOMBACH LORENZ

Como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química Tecnológica e
Ambiental

Comissão Examinadora



Prof.^a Dr.^a Daiane Dias (FURG)
(Presidente-Orientador)



Prof.^a Dr.^a Gessica Domingos da Silveira (UNICAMP)



Prof. Dr. Bruno Meira Soares (FURG)

Rio Grande, 24 de setembro de 2020.

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino”.

(Leonardo da Vinci)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por me conceder o dom da vida, pelas oportunidades, pela sabedoria e serenidade nos momentos difíceis;

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Daiane Dias, pela oportunidade de ser sua aluna, por todo aprendizado, pelo acolhimento e principalmente pelo apoio em todos os momentos da minha vida pessoal durante o período do mestrado. Serei eternamente grata por ter te conhecido!

À minha coorientadora Dr^a. Juliana Villela Maciel, por toda paciência e auxílio na execução dos experimentos e principalmente pela amizade.

Ao Prof. Dr. André Ricardo Fajardo e a Dr^a. Géssica Domingos da Silveira, por terem aceitado o convite e pelas valiosas contribuições na banca de qualificação.

Ao professor Dr. Bruno Meira Soares e a Dr^a. Géssica Domingos da Silveira pela disponibilidade e conhecimento compartilhado na banca de defesa.

Ao meu marido Emerson e ao meu filho Nathan, por serem minha base e força diária para ser cada vez melhor. Amo vocês incondicionalmente!

Aos meus pais Alfredo e Nair, meus irmãos (Jair e Mariza), cunhados (Inês e Marcelo) e meus sobrinhos (Bruna, Ariane, Renan e Alícia) pelo apoio e incentivo em todas as minhas decisões. Sem vocês não teria chegado onde cheguei!

Ao meu colega Leandro, por toda sua ajuda e suporte na realização dos experimentos, pela sua paciência ao tirar todas as minhas dúvidas e por levar puxões de orelha por minha culpa. A minha conquista, é sua também!

Aos meus colegas do LEEA, Ana, Mônica, Greyce, Paloma, Sabrine, Roberta, João e Michele por me ensinarem e ajudarem tanto, pelas risadas e companhia aos sábados, domingo e feriados no laboratório.

À Dona Marli, amiga e companheira de cafezinho na portaria da EQA aos finais de semana de trabalho.

À UFFS campus Realeza-PR, em especial à coordenação do curso de Licenciatura em Química pela oportunidade na realização do estágio docência. À professora Gisele e técnica Edineia por ter disponibilizado seu laboratório e potenciostato.

Ao CEME-SUL da FURG pelas análises de microscopia eletrônica de varredura.

Aos professores do PPGQTA por todos os ensinamentos e troca de saberes.

À FURG e ao PPGQTA, pela oportunidade e contribuir tanto na minha formação.

À CAPES pelo apoio financeiro durante o primeiro ano de mestrado.

A todos os meus amigos, colegas e familiares que de uma forma ou de outra torceram por mim e que de uma maneira ou de outra contribuíram para esta conquista.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xiv
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo Geral.....	21
2.2 Objetivos Específicos	21
3. REFERENCIAL TEÓRICO	22
3.1 Filtros UV	22
3.2 Benzofenona-3	24
3.3 Determinação analítica de BZ3	27
3.4 Sensores quimicamente modificados	35
3.5 Pectina	37
3.5.1 Obtenção da pectina.....	37
3.5.2 Caracterização da pectina	38
3.5.3 Reticulação da pectina	39
3.5.4 Aplicação	41
4. MATERIAL E MÉTODO	49
4.1 Instrumentação	49
4.2 Reagentes e soluções.....	49
4.2.1 Preparo das soluções tampões	50

4.2.2	Preparo da solução trabalho de BZ3	50
4.3	Parâmetros avaliados no desenvolvimento do sensor eletroquímico ..	51
4.3.1	Procedimento de preparo do sensor eletroquímico	51
4.3.2	Avaliação da influência do processo de reticulação do filme de pectina na resposta eletroquímica de BZ3	51
4.4	Caracterização eletroquímica de BZ3 e estudo da estabilidade da resposta de BZ3 no sensor eletroquímico.....	52
4.5	Caracterização morfológica do sensor eletroquímico.....	53
4.6	Parâmetros avaliados para determinação voltamétrica	53
4.7	Determinação de BZ3 por espectrofotometria UV/Vis	53
4.8	Tratamento dos dados e análise estatística	54
5.	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	55
5.1	Caracterização eletroquímica de BZ3 utilizando CB-PEC-RF/GCE.....	55
5.2	Desenvolvimento do sensor eletroquímico	56
5.2.1	Avaliação da influência do filme de pectina na resposta eletroquímica de BZ3.....	56
5.2.2	Avaliação da influência do processo de reticulação do filme de pectina na resposta eletroquímica de BZ3	58
5.3	Otimização do método para a determinação de BZ3	65
5.3.1	Avaliação do efeito do pH, composição eletrolítica e concentração na resposta voltamétrica de BZ3	65
5.3.2	Avaliação dos parâmetros inerente à técnica de DPV	69
5.4	Estabilidade da resposta de BZ3 em CB-PEC-RF/GCE.....	73
5.5	Teste preliminar de análise da amostra	74
6.	EXPERIMENTOS ADICIONAIS	77
7.	CONCLUSÕES	78
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura molecular do BZ3.....	24
Figura 2. Estrutura molecular do monômero de pectina.....	37
Figura 3. Esquema representativo do mecanismo de reticulação da pectina com GA (Adaptado de CUI et al., 2017).....	39
Figura 4. Esquema representativo do mecanismo de reticulação da pectina com ECH (Adaptado de CUI et al., 2017).....	40
Figura 5. Representação esquemática da interação entre a pectina e cátions divalentes, chamado de “caixa de ovos” (PICOT-ALLAIN; RAMASAWMY; EMMAMBUX, 2020).....	40
Figura 6. Esquema de preparação do CB-PEC/GCE.....	51
Figura 7. Voltamogramas cíclicos de BZ3 em CB-PEC-RF/GCE em diferentes velocidades de varredura na faixa de potencial de 10 a 100 mV s ⁻¹ . Condições experimentais: 15 mg L ⁻¹ de BZ3 em tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 6,0) e faixa de potencial de -0,7 a -1,5 V.	55
Figura 8. Gráficos das relações i_p e v (A), $\log i_p$ e $\log v$ (B) do pico catódico para as velocidades de varredura de 10 a 100 mV s ⁻¹	56
Figura 9. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos utilizando o GCE sem modificação e com CB-PEC/GCE, na ausência e na presença de 3 mg L ⁻¹ de BZ3 (A) e micrografia obtida para o filme de pectina com CB (B). Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 4,5). Parâmetros da DPV: $E_{inicial}$: -1,0 V; E_{final} : -1,3 V; E_{step} : -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m : 0,05 s; v : 25 mV s ⁻¹ ; $E_{deposição}$: -0,9 V e $t_{deposição}$: 240 s.	57
Figura 10. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para a curva analítica de BZ3 em CB-PEC/GCE (A) e a respectiva curva analítica (B). Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 4,5). Parâmetros da DPV: $E_{inicial}$: -1,0 V; E_{final} : -1,3 V; E_{step} : -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m : 0,05 s; v : 25 mV s ⁻¹ ; $E_{deposição}$: -0,9 V e $t_{deposição}$: 240 s.	58

- Figura 11.** Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para 3 mg L⁻¹ de BZ3 no filme submetido a reticulação química (CB-PEC-ECH/GCE e CB-PEC-GA/GCE) e física (CB-PEC-RF/GCE) (A) e as respectivas curvas analíticas (B). Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,5). Parâmetros da DPV: E_{inicial}: -1,0 V; E_{final}: -1,3 V; E_{step}: -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m: 0,05 s; v: 25 mV s⁻¹; E_{deposição}: -0,9 V e t_{deposição}: 240 s.59
- Figura 12.** Avaliação da estabilidade do filme de pectina submetida a reticulação química e física. Condições experimentais: 3 mg L⁻¹ de BZ3, 15 mL de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,5). Parâmetros da DPV: E_{inicial}: -1,0 V; E_{final}: -1,3 V; E_{step}: -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m: 0,05 s; v: 25 mV s⁻¹, E_{deposição}: -0,9 V e t_{deposição}: 240s.59
- Figura 13.** Micrografias obtidas por MEV para as dispersões de pectina e CB após reticulação com ECH (A), GA (B), reticulação física realizada em solução de K₄Fe(CN)₆ em meio de KCl (C) e figura anterior ampliada em 2000x (D).60
- Figura 14:** Voltamogramas cíclicos da reticulação física de CB-PEC/GCE. Condições experimentais: 25 ciclos em solução de K₄Fe(CN)₆ 0,1 mol L⁻¹ em meio de KCl 0,5 mol L⁻¹, na faixa de potencial de -0,3 a 0,9 V com velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹.61
- Figura 15.** Esquema representativo do possível mecanismo de reticulação física da pectina com solução de K₄Fe(CN)₆ em meio de KCl.62
- Figura 16.** Esquema simplificado da agregação da pectina na presença de sais monovalentes (JONASSEN et al., 2013).63
- Figura 17.** Esquema representativo do processo de desprotonação da pectina em relação ao pH.63
- Figura 18.** Avaliação da influência do número de ciclos na estabilidade do sensor e na resposta eletroquímica de BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,5), 3 mg L⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: E_{inicial}: -1,0 V; E_{final}: -1,3 V; E_{step}: -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m: 0,05 s; v: 25 mV s⁻¹; E_{deposição}: -0,9 V e t_{deposição}: 240 s.64
- Figura 19.** Avaliação da influência do pH na resposta eletroquímica do BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0 a 8,0 com incrementos de 1,0), 3 mg L⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: E_{inicial}: -1,0 V; E_{final}: -1,5 V;

E_{step} : -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m : 0,05 s; v : 25 mV s ⁻¹ ; $E_{deposição}$: -0,9 V e $t_{deposição}$: 240 s.	66
Figura 20. Gráfico de E vs pH.	67
Figura 21. Esquema representativo do mecanismo de redução de BZ3 (VIDAL et al., 2008).	67
Figura 22. Avaliação da influência da composição do eletrólito suporte na resposta eletroquímica de BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR e fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 6,0), 3 mg L ⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: $E_{inicial}$: -1,0 V; E_{final} : -1,3 V; E_{step} : -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m : 0,05 s; v : 25 mV s ⁻¹ ; $E_{deposição}$: -0,9 V e $t_{deposição}$: 240 s.	68
Figura 23. Avaliação da influência da concentração do eletrólito suporte na resposta eletroquímica de BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,01, 0,05 e 0,1 mol L ⁻¹ (pH 6,0), 3 mg L ⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: $E_{inicial}$: -1,0 V; E_{final} : -1,3 V; E_{step} : -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m : 0,05 s; v : 25 mV s ⁻¹ ; $E_{deposição}$: -0,9 V e $t_{deposição}$: 240 s.	69
Figura 24. Avaliação do efeito do potencial de deposição na resposta eletroquímica de BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 6,0), 1 mg L ⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: $E_{inicial}$: -1,0 V; E_{final} : -1,3 V; E_{step} : -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m : 0,05 s; v : 25 mV s ⁻¹ e $t_{deposição}$: 240 s.	70
Figura 25. Gráfico de intensidade de corrente vs E_{step} obtidos na avaliação do efeito do potencial step na resposta eletroquímica do BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 6,0), 1 mg L ⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: $E_{inicial}$: -1,0 V; E_{final} : -1,3 V; amplitude: 0,05 V; t_m : 0,05 s; v : 25 mV s ⁻¹ ; $E_{deposição}$: -0,07 V e $t_{deposição}$: 240 s.	71
Figura 26. Gráfico de intensidade de corrente vs potencial obtidos na avaliação do efeito da modulação da amplitude na resposta eletroquímica do BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 6,0), 1 mg L ⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: $E_{inicial}$: -1,0 V; E_{final} : -1,3 V; t_m : 0,05 s; v : 25 mV s ⁻¹ ; $E_{deposição}$: -0,07 V; E_{step} : -0,012 V e $t_{deposição}$: 240 s.	72
Figura 27. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo da estabilidade do sensor eletroquímico na presença de 2 mg L ⁻¹ de BZ3 no eletrodo CB-PEC-RF/GCE. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 6,0), 2 mg	

L^{-1} de BZ3. Parâmetros da DPV: $E_{inicial}$: -1,1 V; E_{final} : -1,4 V; t_m : 0,05 s; v : 25 $mV s^{-1}$; $E_{deposição}$: -0,07 V; E_{step} : -0,012 V; amplitude: 0,09 V e $t_{deposição}$: 240 s. 74

Figura 28. Espectro de absorção obtido para a amostra de protetor solar contendo BZ3 através da análise por adição de padrão (A) e sua respectiva curva analítica (B).
..... 75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação de trabalhos que fazem a determinação de BZ3 em amostras de cosméticos utilizando técnicas de separação.....	28
Tabela 2: Relação de trabalhos que fazem a determinação de BZ3 em amostras de cosméticos utilizando técnicas voltamétricas.	33
Tabela 3. Trabalhos publicados que utilizam a pectina na fabricação de sensores eletroquímicos.	43
Tabela 4. Parâmetros otimizados para a determinação de BZ3 por DPV utilizando CB-PEC-RF/GCE.	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. ANOVA, análise de variância
2. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária
3. BZ3, benzofenona-3
4. CB, *carbon black*
5. CB-PEC/GCE, eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de pectina e *carbon black*
6. CB-PEC-GA/GCE, eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de pectina reticulada com glutaraldeído e *carbon black*
7. CB-PEC-ECH/GCE, eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de pectina reticulada com epícloridrina e *carbon black*
8. CB-PEC-RF/GCE, eletrodo de carbono vítreo modificado com *carbon black* e filme de pectina reticulada fisicamente através de processo eletroquímico realizado em solução de $K_4Fe(CN)_6$ em meio de KCl
9. CEC, eletrocromatografia capilar, do inglês *capillary electrochromatography*
10. CEME-SUL, Centro de Microscopia da Zona-Sul
11. CV, voltametria cíclica, do inglês *cyclic voltammetry*
12. DPV, voltametria de pulso diferencial, do inglês *differential pulse voltammetry*
13. EC_{50} , concentração de efeito em 50% da população estudada
14. ECH, epícloridrina
15. E, potencial
16. $E_{deposição}$, potencial de deposição
17. E_{final} , potencial final
18. $E_{inicial}$, potencial inicial
19. E_{pc} , potencial de pico catódico
20. E_{step} , potencial step
21. FDA, Administração de Medicamentos e Alimentos dos Estados Unidos, do inglês *Food and Drug Administration*
22. FPS, fator de proteção solar

23. FTIR, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, do inglês *Fourier transform infrared*
24. GA, glutaraldeído
25. GCE, eletrodo de carbono vítreo, do inglês *glassy carbon electrode*
26. GC-MS, cromatografia gasosa acoplada ao detector de espectrometria de massas, do inglês *gas chromatography – mass spectrometry*
27. Hg, mercúrio
28. HPLC, cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês *high performance liquid chromatography*
29. i, corrente
30. Kow, coeficiente de partição octanol-água
31. LaCoPol, Laboratório de Tecnologia e Desenvolvimento de Compósitos e Materiais Poliméricos da Universidade Federal de Pelotas - RS
32. LC, cromatografia líquida, do inglês *liquid chromatography*
33. LD, limite de detecção
34. LQ, limite de quantificação
35. MEKC, cromatografia eletrocinética micelar, do inglês *micellar electrokinetic chromatography*
36. MEV, microscopia eletrônica de varredura
37. Pectina HM, pectina altamente metoxilada
38. Pectina LM, pectina pouco metoxilada
39. pH, potencial hidrogeniônico
40. SFC, cromatografia de fluido supercrítico, do inglês *supercritical fluid chromatography*
41. Tampão BR, tampão Britton-Robinson
42. $t_{\text{deposição}}$, tempo de deposição
43. t_m , tempo de modulação
44. UE, União Europeia
45. v, velocidade de varredura

RESUMO

Título: Desenvolvimento de sensor quimicamente modificado com *carbon black* e pectina para detecção de benzofenona-3

Autor: Mayara Cristina Mombach Lorenz

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daiane Dias

A benzofenona-3 (BZ3) é um ingrediente ativo muito utilizado em formulações cosméticas como filtro UV e em virtude disso tem gerado bastante preocupação devido a comprovação em estudos recentes de atuar como desregulador endócrino comum entre a população. Por isso, propõe-se neste trabalho, o uso de *carbon black* juntamente com o biopolímero pectina na modificação de um eletrodo de carbono vítreo (CB-PEC/GCE) para a determinação de BZ3 em amostras de cosméticos. Dentre os processos de reticulação química ou física que a pectina foi submetida para reticular o polímero, a reticulação física (25 varreduras cíclicas em solução de $K_4Fe(CN)_6$ em meio de KCl) foi a que apresentou uma melhor resposta eletroquímica para o BZ3. Além disso, em análise realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) observou-se a formação de pequenos cristais na superfície do sensor após a reticulação física do biopolímero. Através da avaliação do BZ3 por voltametria de pulso diferencial (DPV), o eletrólito suporte escolhido foi o tampão Britton-Robinson ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), com melhor resposta de corrente obtida em pH 6,0. Para os parâmetros inerentes à DPV, o potencial de deposição de -0,7 V, potencial step de -0,012 V e amplitude de 0,09 V foram as condições otimizadas. Em experimentos futuros, serão realizadas avaliações das figuras de mérito do método, assim como, caracterização eletroquímica por espectroscopia de impedância eletroquímica e determinação da área eletroativa do sensor eletroquímico proposto. Até o momento, o sensor mostrou-se adequado e estável para a determinação de BZ3 e espera-se utilizá-lo com sucesso na quantificação deste analito em amostras de formulações cosméticas.

Palavras-chave: benzofenona, *carbon black*, pectina, sensor eletroquímico.

ABSTRACT

Title: Development of chemically modified sensor with carbon black and pectin for the detection of benzophenone-3

Author: Mayara Cristina Mombach Lorenz

Advisor: Prof^a. Dr^a. Daiane Dias

Benzophenone-3 (BZ3) is an active ingredient most used in cosmetic formulations as a UV filter and because of that it has generated a lot concern due to evidence in recent studies to act as a common endocrine disruptor among the population. Therefore, we propose the use of carbon black and pectin biopolymer in the modification of a glassy carbon electrode (CB-PEC/GCE) for the determination of BZ3 in cosmetic samples. Among the chemical or physical cross-linking processes that pectin was subjected to cross-link the polymer, physical cross-linking (25 cyclic scans in $K_4Fe(CN)_6$ solution in KCl medium) presented the best electrochemical response for BZ3. In addition, in analysis performed by scanning electron microscopy (SEM), the formation of small crystals on the sensor surface was observed after the physical cross-linking of the biopolymer. Using differential pulse voltammetry (DPV), the best current response of BZ3 was obtained in Britton-Robinson buffer (0.1 mol L^{-1}) pH 6.0. For the parameters inherent to DPV, deposition potential of -0.7 V , step potential of -0.012 V and amplitude of 0.09 V were the optimized conditions. In future experiments, evaluations of the figures of merit of the method will be carried out, as well as, electrochemical characterization by electrochemical impedance spectroscopy and determination of the electroactive area of the proposed electrochemical sensor. So far, the sensor has been shown to be suitable and stable for the determination of BZ3 and it is expected to be used successfully in the quantification of this analyte in samples of cosmetic formulations.

Keywords: benzophenone, carbon black, pectin, electrochemical sensor.

1. INTRODUÇÃO

Com a crescente preocupação aos danos causados pelos raios ultravioletas (UV) incididos diariamente na superfície terrestre, filtros ultravioletas de natureza orgânica, também conhecidos como filtros químicos, têm sido incorporados a protetores solares e cosméticos em geral, a fim de diminuir os danos causados por esse tipo de radiação e principalmente prevenir o câncer de pele (AN; ANDERSON, 2018; CARDOSO; ARMONDES; FERREIRA, 2008). Filtros UV são moléculas que absorvem a alta energia dos raios UV (com comprimentos de onda inferiores a 400 nm) e as transformam em comprimentos de onda mais longos de baixa energia (na faixa da luz visível ou no infravermelho) que são menos nocivos à saúde (NEVES *et al.*, 2019; SCHALKA; REIS, 2011).

Dentre os filtros orgânicos presentes no mercado, a benzofenona-3 (BZ3, 2-hidróxi-4-metóxi-benzofenona, também conhecida como oxibenzona) é um dos princípios ativos utilizados nas formulações cosméticas oferecendo proteção contra raios UVA (320-400 nm) e UVB (290-320 nm) (CARDOSO *et al.*, 2007; VIDAL *et al.*, 2008). Porém, estudos recentes apontam suas características lipofílicas com grande potencial de bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia alimentar, sendo considerado um desregulador endócrino e um poluente comum nas áreas costeiras, causando a descoloração e morte gradativa de recifes de corais (DOWNS *et al.*, 2016; JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 2013; ZHANG; LEE, 2012).

O BZ3 é permitido em uma concentração máxima de 6% nas formulações cosméticas prontas para uso nos países da União Europeia e Estados Unidos, e 10% nos países do Mercosul, incluindo o Brasil (ANVISA, 2016; FDA, 1999; UNIÃO EUROPEIA, 2009). Assim, o desenvolvimento de métodos analíticos simples, rápidos e de baixo custo que fazem a determinação do BZ3 em cosméticos são de fundamental importância para a regulamentação deste composto devido aos efeitos colaterais indesejados atrelados ao seu uso (HOJEROVÁ; PERÁČKOVÁ; BERÁNKOVÁ, 2017; JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 2013; SALVADOR; CHISVERT, 2005).

Os métodos mais utilizados atualmente para a quantificação de BZ3 em cosméticos e produtos de cuidado pessoal são a cromatografia gasosa acoplada ao

detector de espectrometria de massas (GC-MS, do inglês *gas chromatography – mass spectrometry*) (RUBIO *et al.*, 2019; VILA *et al.*, 2015) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*) acoplado ao detector UV/Vis (CHISVERT; SALVADOR; PASCUAL-MARTÍ, 2001; CHISVERT; TARAZONA; SALVADOR, 2013; YANG *et al.*, 2011) ou arranjo de diodos (ALMEIDA *et al.*, 2013; WHARTON *et al.*, 2015), sendo a HPLC a técnica recomendada para este fim no Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (ANVISA, 2008).

Métodos desenvolvidos utilizando cromatografia geralmente são bastante sensíveis apresentando baixos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), mas na maioria das vezes, demandam muito tempo de análise, pois necessitam de etapas exaustivas de preparo de amostra, além de gerar uma quantidade alta de resíduos (BONI *et al.*, 2010). Por outro lado, os métodos eletroquímicos têm surgido como uma alternativa, mas ainda pouco utilizada para a quantificação destes compostos em formulações de protetores solares (LORES *et al.*, 2016). Estes métodos, em especial a voltametria, possuem a vantagem de serem mais rápidos quando comparados aos métodos cromatográficos devido ao menor tempo dedicado ao preparo da amostra, menor geração de resíduos e também menor custo com a possibilidade de utilizar materiais sustentáveis na fabricação e/ou modificação de eletrodos (LARANJEIRA *et al.*, 2011).

Além disso, na voltametria é possível utilizar materiais alternativos para a fabricação ou modificação de sensores para a detecção e quantificação de analitos diversos, devido à crescente preocupação com a toxicidade do convencional eletrodo de mercúrio (BONI *et al.*, 2010). Assim, os sensores quimicamente modificados com nanopartículas, nanomateriais, biomoléculas, entre outros utilizados como sensores eletroquímicos apresentam sensibilidade, seletividade, exatidão e, precisão semelhantes aos eletrodos convencionais, pois melhoram a transferência eletrônica na interface eletrodo/solução, aumentando assim a resposta eletroquímica do analito (ARIÑO *et al.*, 2017).

Materiais carbonáceos como o *carbon black* (CB) são utilizados como condutores na modificação de sensores, pois apresenta propriedades como alta condutividade, ampla área superficial, estabilidade e robustez, além de ter um menor

custo-benefício quando comparado com grafeno, grafite e nanotubos de carbono, obtendo respostas eletroquímicas semelhantes (MAZZARACCHIO *et al.*, 2019). O CB pode ser combinado com biopolímeros como por exemplo, a pectina, para a obtenção de dispersões homogêneas que quando depositadas sobre a superfície limpa e polida de um eletrodo sólido, formam filmes capazes de obter respostas eletroquímicas aprimoradas para determinados analitos (ARÉVALO *et al.*, 2017).

A pectina, um biopolímero composto por unidades de ácido D-galacturônico, é extraída principalmente de frutas cítricas, tendo sua principal aplicação na indústria alimentícia e farmacêutica como agente gelificante (CHIRUG *et al.*, 2018; LASCOL *et al.*, 2018). Por ser um polissacarídeo com uma alta solubilidade em água, processos de reticulação são necessários para diminuir a sua solubilidade e aumentar a sua estabilidade. A pectina pode ser reticulada a partir de agentes como glutaraldeído (GA) e epícloridrina (ECH), por exemplo, mas também interage com cátions mono e divalentes, dependendo dos grupos funcionais presentes na pectina.

Considerando que, estudos utilizando CB e pectina na modificação de sensores ainda são escassos, o presente trabalho apresenta o desenvolvimento de um sensor eletroquímico elaborado com materiais sustentáveis (eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de pectina e CB) de fácil preparo podendo ser utilizado várias vezes ao longo do dia na quantificação de BZ3 sem precisar de manutenção e que pode ser aplicado em amostras de formulações cosméticas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Propor um sensor eletroquímico quimicamente modificado a base de filme de pectina e *carbon black* para posterior aplicação na determinação de BZ3 em amostras de protetores solares comerciais.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a influência da pectina (extraída de casca de laranja) na imobilização de CB em eletrodo de carbono vítreo (via *drop casting*) na resposta voltamétrica de BZ3;
- Avaliar o efeito de agentes reticulantes (GA e ECH) no procedimento de reticulação da pectina e na resposta voltamétrica de BZ3;
- Avaliar o efeito de reticulação da pectina através de voltametrias cíclicas realizadas em KCl 0,5 mol L⁻¹ e em meio de K₄Fe(CN)₆ 0,1 mol L⁻¹ e KCl 0,5 mol L⁻¹ e, posterior avaliação na resposta voltamétrica de BZ3;
- Avaliar o efeito do pH, composição e concentração do eletrólito suporte na resposta voltamétrica de BZ3;
- Caracterizar morfologicamente o sensor utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- Otimizar os parâmetros voltamétricos (faixa de varredura, potencial de deposição, potencial step e amplitude) através da técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *differential pulse voltammetry*), utilizando o sensor eletroquímico desenvolvido, na resposta voltamétrica de BZ3;
- Avaliar a estabilidade do sensor eletroquímico desenvolvido;
- Avaliar o comportamento eletroquímico de BZ3 no sensor eletroquímico desenvolvido;
- Analisar amostra de protetor solar comercial por espectrofotometria UV/Vis.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Filtros UV

A demanda por proteção solar tem aumentado em todo o mundo nas últimas décadas, devido aos efeitos nocivos causados pela radiação ultravioleta como queimaduras solares, envelhecimento da pele e o crescente número de casos de câncer de pele diagnosticados anualmente (OSTERWALDER; SOHN; HERZOG, 2014; SEO *et al.*, 2019). Para isso, cremes dermatológicos e outros produtos cosméticos contendo substâncias conhecidas como filtros UV em suas formulações tem sido importantes instrumentos para a diminuição destes danos.

Com o intuito de oferecer produtos com alta proteção, formulações com Fator de Proteção Solar (FPS) cada vez maiores tem sido lançados no mercado, sendo que atualmente, cerca de 70% destes produtos chegam a alcançar um FPS igual ou superior a 30 (OSTERWALDER; SOHN; HERZOG, 2014; SOHN *et al.*, 2020). Em virtude disto, combinações com diferentes filtros UV são feitas para aumentar o FPS sem precisar aumentar a concentração do ingrediente ativo que o compõe, sendo utilizadas duas classes de compostos para este fim: os filtros UV orgânicos e os inorgânicos.

Filtros UV inorgânicos, também conhecidos como filtros físicos, são moléculas inorgânicas (como TiO_2 e ZnO) que refletem a radiação, enquanto os filtros UV orgânicos (também conhecidos como filtros químicos) absorvem a radiação com alta energia e transformam em radiações de menor energia que são inofensivas aos seres humanos (CHISVERT; SALVADOR, 2018; FLOR; DAVOLOS; CORRÊA, 2007). Os filtros orgânicos são classificados em diferentes famílias de acordo com sua estrutura química, como as benzofenonas, ácido *p*-aminobenzóico e derivados, salicilatos, cinamatos, benzotriazóis, cânforas e seus derivados, entre outros (CADENA-AIZAGA *et al.*, 2020; CHISVERT; SALVADOR, 2018).

Estes compostos geralmente possuem estruturas aromáticas simples ou múltiplas, com cadeias laterais mostrando diferentes graus de saturação. Além disso, são geralmente solúveis em matrizes gordurosas, embora possam conter frações ionizáveis como a fração sulfônica ($-\text{SO}_3\text{H}$) ou carboxilato ($-\text{COOH}$), os quais

permitem a sua solubilidade em água (CHISVERT; SALVADOR, 2018). Devido as suas características lipofílicas e seu uso principalmente na aplicação sobre a pele, alguns destes compostos podem ser absorvidos, metabolizados e eventualmente bioacumulados e/ou excretados (CHISVERT *et al.*, 2012; GIOKAS; SALVADOR; CHISVERT, 2007).

Estudos apontam a presença de filtros UV orgânicos na urina (CALAFAT *et al.*, 2008; FREDERIKSEN *et al.*, 2017; KAWAGUCHI *et al.*, 2009; KRAUSE *et al.*, 2017), placenta humana (JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 2013), leite materno (MOLINS-DELGADO *et al.*, 2018) e plasma humano (JANJUA *et al.*, 2008) possibilitando desencadear atividades estrogênicas e antiandrogênicas, podendo afetar a função da tireoide, a puberdade, o crescimento e desenvolvimento dos órgãos genitais (KRAUSE *et al.*, 2012, 2017; LORIGO; MARIANA; CAIRRAO, 2018; WATANABE *et al.*, 2015).

Além disso, filtros UV orgânicos têm se mostrado serem persistentes no meio ambiente, sendo considerados compostos de preocupação emergente, já que os mesmos são encontrados com muita frequência em água do mar, águas superficiais e subterrâneas, e em sedimentos (APEL; JOERSS; EBINGHAUS, 2018; SUNYER *et al.*, 2019; TSUI *et al.*, 2015; ZHANG; LEE, 2012). Estudos toxicológicos realizados com espécies marinhas também demonstram os variados efeitos tóxicos exercidos por estes compostos no ambiente e absorvidos pelas espécies em contato, desencadeando principalmente atividades hormonais e mudanças indesejadas durante as diversas fases de desenvolvimento (ARAÚJO *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2018; LOZANO *et al.*, 2020; WATANABE *et al.*, 2015).

Estes compostos podem ser introduzidos no ambiente marinho de forma direta, através dos banhistas que aplicam filtros UV orgânicos sobre a pele antes de entrarem na água do mar (válido também para águas recreacionais em geral e piscinas), e também de forma indireta, através da descarga de efluentes das estações de tratamento de esgoto. Por isso é que os filtros UV orgânicos, em especial a benzofenona-3, tem causado grande preocupação entre ambientalistas por apresentar efeitos nocivos nos ecossistemas de recifes de corais, pois em concentrações suficientes ($6,5 \mu\text{g L}^{-1}$ na presença de luz e $10 \mu\text{g L}^{-1}$ na ausência de luz), BZ3 pode danificar o DNA dos corais, causar deformidades nos corais juvenis,

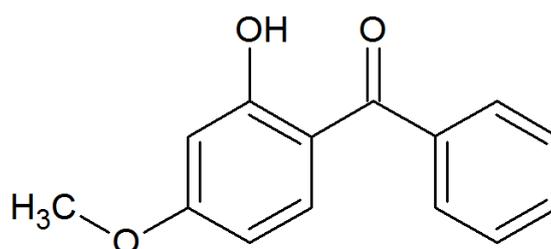
aumentar a suscetibilidade a infecções virais e tornar os corais mais suscetíveis ao branqueamento (DANOVARO *et al.*, 2008; DOWNS *et al.*, 2016; LEVINE, 2020).

Regiões turísticas banhadas pelo Oceano Pacífico, como os arquipélagos do Havaí (estado norte-americano) e a República de Palau (país na Oceania), por exemplo, aprovaram leis que proíbem a venda e distribuição de protetores solares que contenham em sua composição BZ3 e outros 10 ingredientes, com o intuito de preservar o seu ecossistema marinho, incentivando também o uso de protetores *reef-friendly* (amigo do recife, ou seja, que não causam danos aos recifes de corais) e de outros métodos de proteção que não prejudiquem a vida marinha (LEVINE, 2020). Por isso, é de extrema importância o estudo e determinação da concentração destes compostos em produtos cosméticos, em respeito à vida humana e ao meio ambiente.

3.2 Benzofenona-3

Benzofenona-3 (BZ3, 2-hidróxi-4-metóxi-benzofenona, também conhecida como oxibenzona) é um ingrediente ativo utilizado como agente de proteção solar em uma grande variedade de produtos cosméticos, mas também atua como fotoiniciador em tintas e vernizes, como estabilizador de revestimentos plásticos de superfície para evitar a fotodegradação de polímeros e é aprovado como aditivo alimentar indireto pela Administração de Medicamentos e Alimentos dos Estados Unidos (FDA, do inglês *U.S. Food and Drug Administration*) (FDA, 2019; GHAZIPURA *et al.*, 2017; KIM; CHOI, 2014). As benzofenonas em geral, possuem propriedades de absorção de raios UV, característica de suas estruturas compostas por dois anéis benzênicos unidos por um grupo carbonil (diferindo nos grupos funcionais interligados em diferentes posições do anel), como mostrado na Figura 1 (KIM; CHOI, 2014).

Figura 1. Estrutura molecular do BZ3.



BZ3 é um composto fotoestável que absorve a radiação na faixa do UVB ao UVA (288 a 325 nm) e a transforma em comprimentos de onda maiores que são menos danosos ao corpo humano. É lipofílico com potencial de bioacumulação, sendo seu ponto de ebulição igual a 370,3 °C e seu log de Kow aproximadamente a 4,0 sugerindo a sua lenta biodegradação e baixa volatilização em águas superficiais, favorecendo a sua adsorção em sedimentos e sólidos em suspensão (CALAFAT *et al.*, 2008; GHAZIPURA *et al.*, 2017; KIM; CHOI, 2014).

Devido ao seu potencial lipofílico, estima-se que cerca de 1 a 10% de BZ3 seja absorvido pela pele a partir de aplicação tópica de produtos que contenham BZ3 em sua formulação, sendo parcialmente excretada na urina em sua forma original ou também na forma de metabólitos (benzofenona-1, benzofenona-8 e 2,3,4-trihidroxi benzofenona) (KIM; CHOI, 2014; SCHNEIDER; LIM, 2019). Em estudo realizado pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA, no ano de 2008, BZ3 foi encontrada em 96,8% das amostras de urina analisadas, indicando que a população americana está amplamente exposta à BZ3 oriunda, principalmente, do uso diário de produtos cosméticos (CALAFAT *et al.*, 2008).

Além de ser comumente detectada na urina, BZ3 também tem sido encontrada em amostras de leite materno (MOLINS-DELGADO *et al.*, 2018) e plasma humano (JANJUA *et al.*, 2008). Em consequência, estudos tem relacionado BZ3 como um desregulador endócrino, suspeitando que o mesmo pode reduzir a duração do período gestacional (GHAZIPURA *et al.*, 2017; TANG *et al.*, 2013; ZHONG *et al.*, 2020), influenciar no crescimento fetal subótimo (FERGUSON *et al.*, 2018), causar apoptose de células neuronais (WNUK *et al.*, 2018) e ser associada com a doença de Hirschsprung (anormalidade intestinal que afeta neonatos) (DINARDO; DOWNS, 2019).

BZ3 também é frequentemente o filtro UV orgânico com maior índice de detecção entre as amostras ambientais, com altas concentrações encontradas principalmente em águas recreacionais (praias, piscinas públicas, lagos, entre outros) durante o ano todo, mas tem maior ocorrência durante o verão (EKPEGHERE *et al.*, 2016; SCHNEIDER; LIM, 2019). Pesquisadores tem comprovado vários efeitos adversos do BZ3 na biodiversidade aquática, sendo sua toxicidade similar à de metais como cobre, mercúrio, chumbo, cádmio e zinco no meio ambiente, comparando-se

aos seus valores de EC_{50} (concentração de efeito em 50% da população estudada), encontrados no estudo realizado por Paredes *et al.* (2014).

Como apenas um máximo de 10% de BZ3 aplicado sobre a pele é absorvido pelo organismo, o restante acaba sendo lavado em fonte de águas naturais ou no próprio banho, sendo então levado para as estações de tratamento de água e esgoto (SCHNEIDER; LIM, 2019). Devido as características físico-químicas, BZ3 acaba também tendo como destino final as águas superficiais e subterrâneas, pois o mesmo não consegue ser removido das fontes de água pelos tratamentos convencionas de água e esgoto (CADENA-AIZAGA *et al.*, 2020; SCHNEIDER; LIM, 2019).

Nas regiões costeiras, altas concentrações de BZ3 tem causado danos aos recifes de corais (que abrigam milhares de espécies de algas e animais marinhos) sofrendo estresse oxidativo e expelindo as algas de sua superfície tornando o coral branco (fenômeno conhecido como branqueamento) e que geralmente leva à morte do coral (DOWNS *et al.*, 2016; SCHNEIDER; LIM, 2019). Neste sentido, leis têm sido implementadas afim de banir o uso de filtros solares por banhistas e mergulhadores, que contenham em sua formulação BZ3 com o intuito de preservar a biodiversidade dos recifes de corais em diversas regiões turísticas, como o estado americano do Havaí e a República de Palau (LEVINE, 2020).

Ao encontro disto, legislações em todo o mundo também dispõe sobre as concentrações máximas de BZ3 permitidas no produto pronto para uso, para amenizar os efeitos adversos observados para a saúde humana como também os danos causados ao meio ambiente. Na União Europeia (UE) e Estados Unidos, a concentração máxima permitida é de 6%. Além disso, na UE, produtos cosméticos que contenham concentrações maiores que 0,5%, a expressão “contém benzofenona-3” deve estar inclusa no rótulo do produto (FDA, 1999; UNIÃO EUROPEIA, 2009). Já nos países do Mercosul, incluindo o Brasil, BZ3 pode ser utilizada em até 10% da formulação final dos produtos cosméticos (ANVISA, 2016). Assim, desenvolvimento de métodos analíticos que façam a quantificação de BZ3 em cosméticos são necessários afim de regulamentação, especialmente métodos que sejam rápidos, de fácil manipulação e que tenham um bom custo-benefício.

3.3 Determinação analítica de BZ3

A Tabela 1 e 2 apresentam os trabalhos que realizam a determinação de BZ3 em amostras de cosméticos, fazendo uso de técnicas de separação e voltamétricas, respectivamente.

Pode-se observar nas Tabela 1 e 2, que os trabalhos listados que fazem a determinação de BZ3 em cosméticos foram mais estudados por técnicas de separação considerando as características físico-químicas destes compostos, sendo que mais de 50% dos trabalhos citados na Tabela 1 utilizaram a cromatografia líquida pela sua tradicionalidade e por ser um equipamento fundamental em laboratórios de pesquisa. Além disto, as técnicas cromatográficas possuem a vantagem de realizar a quantificação de vários filtros UV em uma mesma análise cromatográfica, como mostrado na Tabela 1.

Apesar da espectrofotometria UV/Vis ser pouco utilizada para a quantificação de BZ3 em cosméticos, a mesma pode ser utilizada adequadamente para este fim, com preparo de amostra simples (diluição em tetrahidrofurano com filtração, por exemplo), desde que a quantificação seja feita apenas para analitos que absorvem comprimentos de onda em faixas diferentes, para que não haja sobreposição de sinal (CHISVERT; SALVADOR; PASCUAL-MARTÍ, 2001). Por este motivo, a separação cromatográfica com posterior detecção por UV/Vis ou DAD é mais indicada para análises simultâneas multianalitos.

Já as técnicas voltamétricas, representam uma menor parcela dentre os trabalhos publicados (Tabela 2) alcançando LDs maiores do que quando comparados com LDs alcançados por métodos cromatográficos, por exemplo. Além disso, percebe-se que os menores LDs são obtidos quando etapas de preparo de amostra morosas são realizados, que incluem processos de extração da amostra (descrito por WU *et al.*, 2008 e YANG *et al.*, 2011, por exemplo) enquanto que para técnicas voltamétricas etapas simples e rápidas que envolvem apenas diluição, sonicação e/ou agitação e centrifugação são necessárias (CARDOSO *et al.*, 2007; CARDOSO; ARMONDES; FERREIRA, 2008; LARANJEIRA *et al.*, 2011). Por isso, para fins de quantificação em amostras de cosméticos, o uso de técnicas com menor sensibilidade (como a voltametria) em vista às técnicas anteriormente citadas é suficientemente

Tabela 1. Relação de trabalhos que fazem a determinação de BZ3 em amostras de cosméticos utilizando técnicas de separação.

Analitos	Amostra	Preparo de amostra	Técnica analítica	LD para BZ3 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
BZ3 e três outras benzofenonas	Protetor solar	microextração com barra adsortiva	HPLC-DAD	10	ALMEIDA <i>et al.</i> , 2013
BZ3 e outros 13 filtros UV	Protetor solar	Diluição em EtOH com sonicação e filtração	HPLC-UV/Vis	360	CHANG; YOO; LEE, 2015
BZ3 e outros 14 filtros UV	Protetor solar, bálsamo labial e loção spray	Diluição em EtOH com sonicação e filtração	LC-UV/Vis	90	CHISVERT; TARAZONA; SALVADOR, 2013
BZ3 e outros 11 filtros UV	Protetor solar em loção e em óleo	Diluição em MeOH:CH ₃ COOH com sonicação e filtração	HPLC-UV/Vis	1200	ORSI <i>et al.</i> , 2006
BZ3 e 3 outros filtros UV	Protetor solar	Diluição em EtOH	HPLC-DAD	NI	DENCAUSSE <i>et al.</i> , 2008

BZ3 e outros 5 filtros UV	Protetor solar, batom e creme de bálsamo	Diluição em EtOH	LTP-MS	31,9	DING <i>et al.</i> , 2018
BZ3 e outros 7 filtros UV	Óleo de bronzear	Diluição em MeOH e sonicação	DART-MS	NI	HAUNSCHMIDT <i>et al.</i> , 2011
BZ3 e outros 9 filtros UV	Cosméticos	Diluição em MeOH com agitação e centrifugação	MEKC-DAD	NI	HSIAO <i>et al.</i> , 2015
BZ3 e outras 9 benzofenonas	Protetor solar	Diluição em MeOH com agitação e centrifugação	MEEKC-UV/Vis	340–730	HUANG <i>et al.</i> , 2005a
BZ3 e outras 7 benzofenonas	Protetor solar	Diluição em acetonitrila com agitação e centrifugação	CEC-DAD	2660	HUANG <i>et al.</i> , 2005b
BZ3 e outros 8 filtros UV	Protetor solar	Diluição em THF:álcool isopropílico com sonicação e filtração	UHPSFC-PDA	NI	KHALIKOVA <i>et al.</i> , 2018
BZ3 e outros 7 filtros UV	Protetor solar	Diluição em MetOH	SFC-PDA	NI	LESELLIER; MITH;

DUBRULLE,
2015

BZ3 e outros 8 filtros UV	Cosméticos (emulsão, pasta e spray)	Diluição em MeOH com agitação e centrifugação Diluição em MeOH:THF:H ₂ O:HClO ₄	MEKC-DAD	456,5	LIN <i>et al.</i> , 2015
BZ3 e outros 10 filtros UV	Cremes, loções, bases, pó e batom	ou somente em THF (dependendo da amostra) com sonicação	HPLC-DAD	300	LIU; WU, 2011
BZ3 e BZ4	Protetor solar	Diluição em MeOH:H ₂ O com sonicação e filtração	MEKC-DAD	2260	LOPEZ- GAZPIO; GARCIA- ARRONA; MILLÁN, 2015
BZ3 e outras 3 benzofenonas	Protetor solar	DDA-IL-DLLME	MEKC-UV/Vis	5,3	MA <i>et al.</i> , 2015

BZ3 e outros 11 filtros UV	Cosméticos em geral	Diluição em EtOH com sonicação e filtração	HPLC-DAD	170	NYEBORG <i>et al.</i> , 2010
BZ3 e outros aditivos	Protetor solar	Diluição em EtOH com agitação e filtração	GC-MS	142,67	RUBIO <i>et al.</i> , 2019
BZ3 e outros 17 filtros UV	Protetor solar	Diluição em EtOH com sonicação e filtração	LC-UV/Vis	1100	SALVADOR; CHISVERT, 2005
BZ3 e outros 14 filtros UV	Creme facial, gloss labial e maquiagens	PLE	HPLC-MS/MS	12	VILA <i>et al.</i> , 2016
BZ3 e outros 15 filtros UV	Protetor solar, batom, esmalte e gel de cabelo	PLE	GC-MS/MS	38	VILA <i>et al.</i> , 2015
BZ3 e outras 6 benzofenonas	Protetor solar	SFE	CZE-UV/Vis	707	WANG; LEE, 2003
BZ3 e outras 6 benzofenonas	Protetor solar, batom, loção refrescante e antibacteriana	Diluição com MeOH ou extração líquido-líquido com filtração	HPLC-UV/Vis	340	WANG, 1999

BZ3 e outros 9 filtros UV	Protetor solar	Diluição em EtOH com sonicação e filtração	HPLC-DAD	250	WHARTON <i>et al.</i> , 2015
BZ3, BZ1 e BZ2	Protetor solar	Diluição em MeOH com sonicação, centrifugação e filtração submetido a CPE	MEKC-UV/Vis	14,6	WU <i>et al.</i> , 2008
BZ3 e outros 4 filtros UV	Protetor solar, loção e base	Diluição em <i>n</i> -hexano com sonicação, centrifugação e filtração submetido a HF-LPME	HPLC-UV/Vis	0,02	YANG <i>et al.</i> , 2011
BZ3 e outros 3 filtros UV	Protetor solar	Diluição em MeOH 2-propanol com sonicação e filtração	HPLC-PDA	NI	AGHA; HAIDAR; AL-KHAYAT, 2013

BZ3: benzofenona-3; HPLC-DAD: cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos; MeOH: metanol; EtOH: etanol; HPLC-UV/Vis: cromatografia de alta eficiência com detector UV/Vis; DART-MS: espectrometria de massa de análise direta em tempo real; THF: tetrahydrofurano; LC-UV/Vis: cromatografia líquida com detector UV/Vis; LTP-MS: ionização por plasma à baixa temperatura com espectrometria de massas; MEKC-DAD: cromatografia eletrocínética micelar com detector de arranjo de diodos; MEKC-UV/Vis: cromatografia eletrocínética micelar com detector UV/Vis; MEEKC-UV/Vis: cromatografia eletrocínética de microemulsão com detector UV/Vis; CEC-DAD: eletrocromatografia capilar com detector de arranjo de diodos; UHPSFC-

PDA: cromatografia de fluido supercrítico de ultra-alto desempenho com detector de arranjo de fotodiodos; SFC-PDA: cromatografia de fluido supercrítico com detector de arranjo de fotodiodos; BZ4: benzofenona-4; DDA-IL-DLLME: microextração dispersiva líquido-líquido com líquido iônico assistida por duplo dispersante; GC-MS: cromatografia a gás com detector de espectrometria de massas; HPLC-MS/MS: cromatografia líquida de alta eficiência acoplado ao espectrômetro de massas sequencial; PLE: extração líquida pressurizada; GC-MS/MS: cromatografia gasosa acoplado ao espectrômetro de massas sequencial; SFE: extração por fluido supercrítico; CZE-UV/Vis: eletroforese em zona capilar com detector UV/Vis; DMF: dimetilformamida; BZ1: benzofenona-1; BZ2: benzofenona-2; CPE: extração de ponto de nuvem; HF-LPME: microextração em fase líquida de fibra oca; HPLC-PDA: cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de fotodiodos; NI: não informado.

Tabela 2: Relação de trabalhos que fazem a determinação de BZ3 em amostras de cosméticos utilizando técnicas voltamétricas.

Analitos alvo	Amostra	Preparo de amostra	Técnica analítica	LD para BZ3 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
BZ3, 4MBC e OMC	Protetor solar	Diluição em MeOH com sonicação e centrifugação	SWV	0,52	CARDOSO <i>et al.</i> , 2007
BZ3, 4MBC e EHMC	Protetor solar	Diluição em MeOH com sonicação	DPP	116,4	CARDOSO; ARMONDES; FERREIRA, 2008
BZ3, OMC e OCR	Protetor solar	Diluição em EtOH com sonicação e centrifugação	SWV	NI	FERREIRA <i>et al.</i> , 2013

BZ3	Protetor solar	Diluição em MeOH com sonicação	SWV	31,3	LARANJEIRA <i>et al.</i> , 2011
BZ3, 4MBC e EHMC	Protetor solar	Diluição em MeOH com sonicação e centrifugação	SWV	470	NEVES <i>et al.</i> , 2019
BZ3, EHMC e 4MBC	Protetor solar	Diluição em MeOH com agitação e centrifugação	DPP	127,8	SILVA; TRINDADE; FERREIRA, 2006
BZ3 e OCR	Protetor solar	Diluição em MeOH com filtração	DPAdSV	433,6	SUNYER <i>et al.</i> , 2019
BZ3, EHMC e EHS	Protetor solar, batom e loção	Diluição em MeOH com agitação e centrifugação e dissolução em DMF com centrifugação (para amostra de batom)	DPV	NI	WANG, 2002

BZ3: benzofenona-3; 4MBC: 4-metilbenzilideno cânfora; OMC: octil metoxicinamato; MeOH: metanol; SWV: voltametria de onda quadrada; DPP: polarografia de pulso diferencial; EHMC: 2-etilhexil-4-metoxicinamato; EtOH: etanol; OCR: octocrileno; DPAdSV: voltametria de pulso diferencial de redissolução adsortiva; EHS: 2-etilhexil(octil) salicilato; DPV: voltametria de pulso diferencial; DMF: dimetilformamida; NI: não informado.

aceitável, já que neste tipo de amostra a concentração de BZ3 costuma ser ligeiramente elevada.

Dentre os oito trabalhos que relatam quantificação de BZ3 por voltametria, seis deles utilizaram eletrodo de Hg como eletrodo de trabalho (CARDOSO *et al.*, 2007; CARDOSO; ARMONDES; FERREIRA, 2008; SILVA; TRINDADE; FERREIRA, 2006; FERREIRA *et al.*, 2013) ou eletrodo de ouro (NEVES *et al.*, 2019) e carbono vítreo (WANG, 2002) modificado com filme de Hg. Apesar da excelente performance analítica dos eletrodos de Hg, muito se tem discutido sobre os riscos tóxicos que o mesmo causa aos analistas e ao meio ambiente e, por isso, eletrodos de trabalho desenvolvidos com materiais alternativos, principalmente do âmbito da química verde, estão sendo cada vez mais utilizados.

Como exemplo, pode-se citar o trabalho desenvolvido por Sunyer *et al.* (2019), que utilizaram eletrodos impressos a base de carbono para a quantificação de BZ3, eletrodos estes que são descartáveis, facilmente fabricados com possibilidade de análises *in situ*. Além disso, eletrodos sólidos como carbono vítreo, impressos e de pasta de carbono, que possuem performance analítica inferior quando comparado com eletrodo de Hg, podem ser facilmente modificados para melhorar a sua sensibilidade. Neste sentido, sensores quimicamente modificados utilizados como sensores eletroquímicos na análise de analitos e amostras diversas, são o destaque atual no campo da eletroanalítica.

3.4 Sensores quimicamente modificados

Os sensores quimicamente modificados são definidos como materiais condutores ou semicondutores que são revestidos com materiais que alteram as propriedades eletroquímicas, ópticas e outras propriedades da interface eletrodo/solução (EDWARDS; BERGREN; PORTER, 2007). Estes materiais também podem ser incorporados à materiais condutores, como o caso de eletrodos de pasta de carbono. As principais vantagens dos sensores quimicamente modificados são a estabilidade química e eletroquímica, maior resistência à incrustação, maior janela útil de potencial, melhora na transferência eletrônica que conseqüentemente aumenta a sensibilidade na detecção de analitos e a possibilidade da utilização dos mesmos

como sensores/biosensores eletroquímicos (EDWARDS; BERGREN; PORTER, 2007; BROWN, 2019).

As modificações podem ser feitas de diferentes formas, que se adaptam a diferentes amostras e analitos com a possibilidade de utilizar materiais alternativos, que diminuem o custo benefício da fabricação destes sensores. Entre os tipos de modificação, se destacam a eletropolimerização, a deposição camada por camada, funcionalização do eletrodo com biomoléculas, método drop-casting (que consiste na imobilização de dispersão contendo o material modificador com o auxílio de uma micropipeta), a incorporação do modificador à pasta de carbono, entre outros (ASADIAN; GHALKHANI; SHAHROKHIAN, 2019).

Nanopartículas, nanomateriais e biomoléculas são exemplos de materiais utilizados na modificação dos eletrodos (ARIÑO *et al.*, 2017). Dentre eles, os materiais carbonáceos, como o CB, destacam-se pela excelente condutividade elétrica, alta área superficial, alta porosidade e capacidade de adsorção, além de serem materiais não tóxicos, biocompatíveis e com a possibilidade de serem sintetizados a partir de materiais de baixo custo com processos “*ecofriendly*” (amigável ao meio ambiente) (ASADIAN; GHALKHANI; SHAHROKHIAN, 2019; NESAKUMAR; BERCHMANS; ALWARAPPAN, 2018).

CB é um nanomaterial de carbono amorfo pertencente à fuligem pura que pode ser produzido pela combustão incompleta de hidrocarbonetos e apresenta custo-benefício muito baixo quando comparado com outros materiais carbonáceos como grafeno, grafite ou nanotubos de carbono, para aplicações eletroanalíticas (MACIEL *et al.*, 2017, 2018; MAZZARACCHIO *et al.*, 2019). Para melhor aderência do CB na superfície de eletrodos sólidos, por exemplo, a utilização de polímeros tem se mostrado bastante promissora, por oferecer vantagens como estabilidade química e física, utilização em uma ampla faixa de pH, grupos funcionais reativos e estrutura controlável (MACIEL *et al.*, 2019).

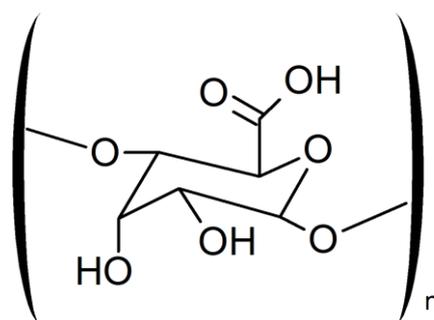
Polímeros naturais são substitutos promissores aos polímeros sintéticos por serem biodegradáveis, com grupos funcionais reativos de baixo custo, nenhuma toxicidade e disponibilidade abundante na natureza (MACIEL *et al.*, 2019). A pectina, um polissacarídeo oriundo de cascas de frutas cítricas é um exemplo de biopolímero

utilizado com sucesso na fabricação de sensores quimicamente modificados empregados como sensores eletroquímicos na análise de amostras diversas.

3.5 Pectina

A pectina é um polissacarídeo onipresente na parede celular de diversas plantas, composta majoritariamente por unidades de ácido D-galacturônico ligados na posição α -1,4, como ilustrado na Figura 2 (PICOT-ALLAIN; RAMASAWMY; EMMAMBUX, 2020).

Figura 2. Estrutura molecular do monômero de pectina.



As unidades de ácido D-galacturônico podem conter graus variados de grupos carboxil metilesterificados, dividindo a pectina em duas categorias, considerando o grau de esterificação (DE): pectina altamente metoxilada (pectina HM) com DE acima de 50% e pectina pouco metoxilada (pectina LM) com DE abaixo de 50% (JONASSEN *et al.*, 2013; LESSA *et al.*, 2017). O grau de esterificação diz muito sobre como a pectina interage em diferentes situações, refletindo nas diferentes áreas em que a mesma pode ser aplicada (industrial, farmacêutica, entre outras) (CELUS *et al.*, 2018).

3.5.1 Obtenção da pectina

A pectina comercial é obtida principalmente de polpa de maçã, cascas de frutas cítricas e da polpa de beterraba. É obtida do subproduto gerado nas indústrias de suco de frutas, óleos essenciais (maçã e frutas cítricas) e também da indústria açucareira (beterraba) (PICOT-ALLAIN; RAMASAWMY; EMMAMBUX, 2020). A pectina também pode ser obtida a partir de frutas tropicais/subtropicais como melão, banana, mamão, manga e melancia (PICOT-ALLAIN; RAMASAWMY; EMMAMBUX, 2020; YAZHINI *et al.*, 2018; YAZHINI; SUJA, 2019).

Convencionalmente, a pectina é extraída em meio ácido (pH 1-3) utilizando ácidos minerais como ácido nítrico, clorídrico ou sulfúrico, mas ácidos orgânicos (como ácido cítrico e acético) também estão sendo utilizados (LESSA *et al.*, 2017; PICOT-ALLAIN; RAMASAWMY; EMMAMBUX, 2020). Métodos como extração assistida por ultrassom, por micro-ondas e por enzimas também tem se mostrado promissoras, tendo como principal vantagem a diminuição do tempo de extração e o aumento do rendimento em alguns casos. Porém, demonstrou-se que diferentes fatores, que incluem temperatura de extração, razão sólido-líquido, pH, tamanho de partícula, tempo e fonte de extração também afetam o rendimento e a qualidade da pectina extraída (PICOT-ALLAIN; RAMASAWMY; EMMAMBUX, 2020).

3.5.2 Caracterização da pectina

A pectina extraída de diferentes fontes pode ser caracterizada utilizando várias técnicas analíticas, para a compreensão de suas características físico-químicas, sendo crucial para determinar a sua funcionalidade e interação com outras moléculas. Como a pectina é formada a partir de diferentes moléculas ligadas às unidades de ácido D-galacturônico, é necessário determinar seu peso molecular médio. Para isso, a cromatografia de exclusão por tamanho de alta pressão (também conhecida como cromatografia de permeação em gel) é a técnica comumente adotada para este fim, que consiste nos diferentes tempos de eluição de moléculas de diferentes volumes, sendo detectada ao final (geralmente por um refratômetro) a quantidade de polímeros eluídos (CINDIO; GABRIELE; LUPI, 2015).

Já para determinar a pureza da pectina, pelo conteúdo de ácido D-galacturônico presente na amostra, a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) tem sido bastante utilizada. Esta técnica é capaz de identificar os diferentes grupos funcionais presentes na estrutura principal da pectina, especialmente o grupamento metil éster que é utilizada para classificar a pectina com alto ou baixo DE. Métodos de titulação e HPLC também podem ser utilizadas para este fim (CINDIO; GABRIELE; LUPI, 2015; LESSA *et al.*, 2017; PICOT-ALLAIN; RAMASAWMY; EMMAMBUX, 2020).

Determinar a pureza da pectina e dos grupamentos presentes em sua estrutura também é indispensável para o estudo da viscosidade, sendo esta característica

importante para pectina utilizada como agente gelificante e espessante. Como a pectina existe em meio aquoso em sua forma dissociada, processos de reticulação com cátions divalentes ou agentes reticulantes, por exemplo, são comumente utilizados para aumentar a estabilidade da pectina em meio aquoso.

3.5.3 Reticulação da pectina

Processos de reticulação são definidos como a união química ou física (também chamada de ionotrópica) de uma rede polimérica a outra, tendo esta classificação devido ao tipo de interação que acontece entre o polímero e o reticulante (LASCOL *et al.*, 2018).

A reticulação química acontece quando o agente reticulante interage através de ligações covalentes com o polímero, sendo estas interações consideradas irreversíveis e como exemplo de agentes reticulantes podemos citar GA e ECH, como demonstrado nas Figuras 3 e 4.

Figura 3. Esquema representativo do mecanismo de reticulação da pectina com GA (Adaptado de CUI *et al.*, 2017).

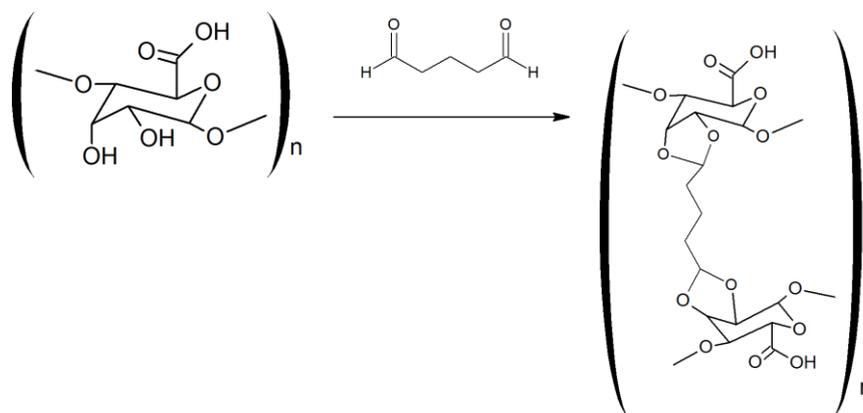
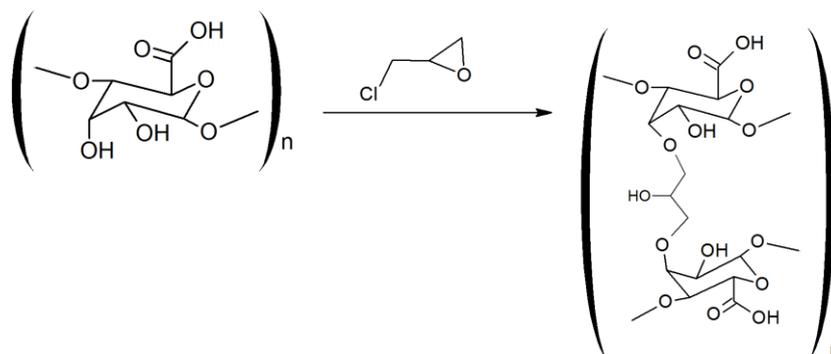


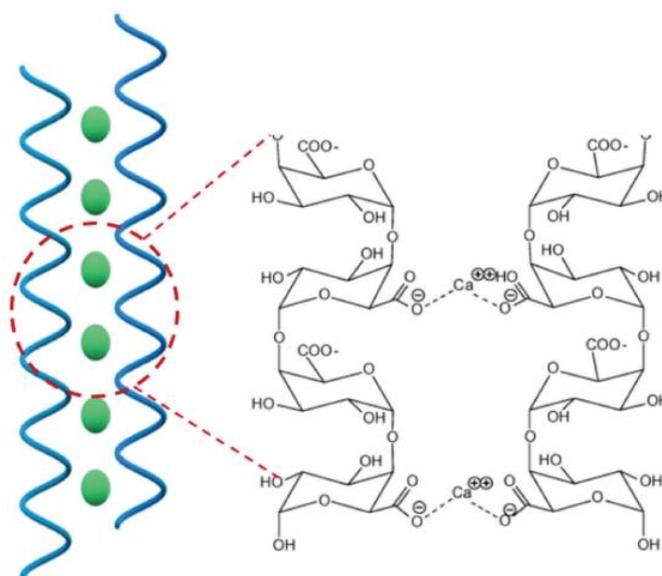
Figura 4. Esquema representativo do mecanismo de reticulação da pectina com ECH (Adaptado de CUI *et al.*, 2017).



Já a reticulação física são consideradas reações reversíveis e acontece a partir de ligações iônicas entre o agente reticulante e as cadeias poliméricas, sendo os cátions mono e divalentes as espécies mais utilizadas na reticulação física da pectina (CUI *et al.*, 2017).

A reticulação física da pectina realizada com cátions divalentes são bem estabelecidos na literatura, principalmente para o íon Ca^{2+} , formando uma estrutura chamada de “caixa de ovos”, como ilustrado na Figura 5 (CELUS *et al.*, 2018).

Figura 5. Representação esquemática da interação entre a pectina e cátions divalentes, chamado de “caixa de ovos” (PICOT-ALLAIN; RAMASAWMY; EMMAMBUX, 2020).



Observa-se na Figura 5, que a interação entre a pectina e cátions divalentes, acontece pelos grupamentos carboxílicos presentes na estrutura da pectina. Por isso, para este tipo de reticulação acontecer de forma eficiente, é importante o uso de pectinas LM (com baixo teor de grupos metóxi), pois neste tipo de pectina estão presentes um maior número de grupamentos carboxílicos, que em condições de pH ótimos, estão desprotonados e interagem com a carga oposta do cátion, formando as chamadas zonas de junção (JONASSEN *et al.*, 2013; WEHR; MENZIES; BLAMEY, 2004).

Dentre a infinidade de cátions divalentes que podem interagir com a pectina no meio, pesquisadores relatam que quanto menor a afinidade do cátion pela água, maior será a afinidade pela pectina. Além disso, interações entre pectina e cátions mono e trivalentes também são relatados como mecanismos de reticulação, porém como acontece esta interação, ainda está sendo esclarecido (CELUS *et al.*, 2018).

3.5.4 Aplicação

De maneira geral, a pectina tem ampla aplicação na indústria alimentícia, atuando como agente gelificante de compotas e geleias, espessante em bebidas (dando maior viscosidade à bebida) e estabilizante em laticínios (como bebidas lácteas e iogurte), além de ser utilizada na fabricação de uma variedade de doces. Recentemente, tem sido utilizada para preparar películas e revestimentos comestíveis, com o intuito de aumentar a vida útil de frutas e legumes (CINDIO; GABRIELE; LUPI, 2015).

No setor farmacêutico, pectina tem sido utilizada na fabricação de medicamentos, devido a sua capacidade de liberação controlada dos ingredientes ativos. Medicamentos utilizados para tratamento da flora intestinal que possuem pectina em sua formulação, por exemplo, resistem às enzimas digestivas liberando a droga apenas quando o mesmo chega ao intestino (CINDIO; GABRIELE; LUPI, 2015; PICOT-ALLAIN; RAMASAWMY; EMMAMBUX, 2020). Além disso, tem-se demonstrado a sua eficiência na remoção de metais tóxicos (Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , La^{3+} , entre outros) de estações de tratamento de água e esgoto (CELUS *et al.*, 2018; KUSRINI *et al.*, 2018).

No campo da eletroanalítica, a pectina também sido utilizada com sucesso na fabricação de sensores eletroquímicos para quantificação de analitos diversos em uma ampla variedade de amostras, como ilustrado na Tabela 3.

Observa-se na Tabela 3 que a pectina foi utilizada principalmente na estabilização de nanopartículas metálicas na superfície de eletrodo de carbono vítreo, mas também foi utilizada com sucesso como modificador em pasta de carbono. Além disso, sensores fabricados com pectina, demonstraram a sua viabilidade no uso em amostras de alimentos, fármacos, amostras ambientais e biológicas. Estes sensores também apresentaram LDs satisfatórios para as análises realizadas, que foram da faixa de alta sensibilidade (fmol L^{-1}) a baixa sensibilidade (mmol L^{-1}), além de demonstrarem ter boa estabilidade, reprodutibilidade, repetibilidade e de fácil fabricação.

Pela facilidade da preparação de filmes e de seu processo de reticulação, na agregação de nanopartículas, biomoléculas e biomateriais, seu uso tem sido cada vez mais incentivado nos últimos anos, já que mais de 90% dos trabalhos relatados na Tabela 3, são publicados nos últimos seis anos. Assim como demonstrado na Tabela 3, materiais carbonáceos, como nanotubos de carbono de paredes múltiplas e óxido de grafeno, combinados com pectina na modificação de eletrodos também são promissores na análise de analitos orgânicos e inorgânicos.

Tabela 3. Trabalhos publicados que utilizam a pectina na fabricação de sensores eletroquímicos.

Eletrodo/Modificação	Analito	Amostra	Faixa útil de trabalho	LD	Referência
Imobilização de dispersão de MWCNTs e pectina sobre a superfície do GCE e posterior formação de NPs de óxido de cobre	glicerol	biodiesel	0,098-10,86 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,063 $\mu\text{mol L}^{-1}$	ARÉVALO <i>et al.</i> , 2017
Deposição eletroquímica de filme composto por polipirrol, pectina e grafeno sobre GCE	Hg (II)	água	2 μM -29 $\mu\text{mol L}^{-1}$	4 fmol L^{-1}	ARULRAJ <i>et al.</i> , 2016
Imobilização de dispersão de MWCNTs sobre a superfície do GCE e posterior formação de NPs de ouro estabilizada com pectina reticulada com cálcio	L-cisteína	Sangue humano	0,1-1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$	19 nmol L^{-1}	DEVA SENATHIPATHY <i>et al.</i> , 2014a

GO foi depositado na superfície do GCE e imerso em solução contendo pectina reticulada com cálcio e HAuCl_4 , para redução de GO e formação de nanopartículas de ouro	hidrazina	Urina e água	10–600 nmol L^{-1}	1,6 nmol L^{-1}	DEVASENATHIPATHY <i>et al.</i> , 2014b
Deposição eletroquímica de NPs de ouro + pectina sobre GCE	dopamina	fármaco	20 nmol L^{-1} -0,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (sob agitação constante)	6,1 nmol L^{-1} (sob agitação constante)	DEVASENATHIPATHY <i>et al.</i> , 2014c
Filme de pectina e MWCNTs com eletrodeposição de NPs de óxido de cobre e imobilização de dispersão de NPs magnéticas modificadas com lipase sobre GCE	Triglicerídeos totais	Sangue humano	0,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ -1 mmol L^{-1}	0,64 $\mu\text{mol L}^{-1}$	DI TOCCO <i>et al.</i> , 2018

Imobilização sobre a superfície de eletrodo de trabalho de carbono em SPE de dispersão de pectina e enzimas	Investigar a qualidade de frutas com o uso de enzimas	frutas	NI	NI	JAWAHEER <i>et al.</i> , 2002
Formação de NPs de ouro a partir da eletrodeposição em uma solução de pectina reticulada com cobre e KAuCl_4 sobre GCE	H_2O_2	Solução de limpeza de lentes	$1-2110 \mu\text{mol L}^{-1}$	$0,22 \mu\text{mol L}^{-1}$	RANI <i>et al.</i> , 2019
Imobilização de dispersão hidrogel de GO reduzido com pectina sobre GCE	Dopamina e paracetamol	Sangue humano e fármacos	$0,003-90,21$ (dopamina) $0,003-91,04$ (paracetamol) $\mu\text{mol L}^{-1}$	$1,5 \text{ nmol L}^{-1}$ (dopamina) e $1,8 \text{ nmol L}^{-1}$ (paracetamol)	KOKULNATHAN <i>et al.</i> , 2018

Eletr deposição de pectina reticulada com cálcio e NPs de ouro e posterior imobilização de antígeno da bactéria alvo sobre GCE	Bactéria <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	água	0–9,0 CFU/mL	9×10^2 CFU/mL	KRITHIGA <i>et al.</i> , 2016
Eletr deposição de NPs de cobre suportadas em pectina sobre grafeno inicialmente imobilizado na superfície de GCE	Glicose e H_2O_2	Sangue humano e solução de limpeza de lentes de contato	10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ – 5,5 mmol L^{-1} (glicose) 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ – 1 mmol L^{-1} (H_2O_2)	2,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (glicose) 0,35 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (H_2O_2)	MANI <i>et al.</i> , 2015a
Eletr deposição de um filme composto por NPs de ouro estabilizadas por pectina reticulada por cálcio sobre superfície de GCE	Amitrol	água	100 –1500 pmol L^{-1} (condição de baixa concentração)	36 pmol L^{-1} (condição de baixa concentração)	MANI <i>et al.</i> , 2015b

			100 –1500 nmol L ⁻¹ (condição de alta concentração)	20 nmol L ⁻¹ (condição de alta concentração)	
Biopolieletrólito de quitosana e pectina imobilizado sobre GCE	Metronidazol e metribuzin	Sangue humano e solo	0,01–465 µmol L ⁻¹	0,009 µmol L ⁻¹	RANGANATHAN <i>et al.</i> , 2019
Modificação feita com MNPs/APBA/FBP e complexo de pectina/tionina sobre eletrodo de ouro	Enzima aldolase	Sangue humano	0,1-1,25 UL ⁻¹	0,01 UL ⁻¹	WANG <i>et al.</i> , 2016
Bionanocompósito de pectina e MWCNTs foi incorporado a pasta de carbono	Creatinina	urina	16 nmol L ⁻¹ – 3,3 µmol L ⁻¹ (condição de baixa concentração)	0,6241 µmol L ⁻¹ (condição de baixa concentração)	YAZHINI <i>et al.</i> , 2018

16,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ – 0,0605 mmol
 0,3 mmol L^{-1} L^{-1} (condição
 (condição de de alta
 alta concentração)
 concentração)

Compósito de pectina com
 nanopartículas de óxido de cobre e
 óxido de ferro foram misturadas a pasta
 de carbono

NI

NI

NI

NI

YAZHINI; SUJA, 2019

GCE: Eletrodo de carbono vítreo; MWCNTs: Nanotubos de carbono de paredes múltiplas; NPs: Nanopartículas; GO: óxido de grafeno; SPE: eletrodo impresso; MNPs/APBA/FBP: nanopartículas magnéticas funcionalizadas por ácido 3-aminofenilborônico com imobilização de frutose-1,6-bifosfato; CPE: eletrodo de pasta de carbono; UL^{-1} : concentração de atividade enzimática; NI: não informado.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Instrumentação

Todas as análises voltamétricas para a determinação de BZ3, foram realizadas em um Multipotenciostato/Galvanostato M204 (Autolab, Holanda) com analisador voltamétrico 663 VA Stand (Metrohm, Suíça), conectados por uma interface IME 663 (Autolab, Suíça) e controlado pelo Software Nova 2.1. Os ensaios voltamétricos foram realizados em uma célula eletroquímica composta por três eletrodos, sendo: eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹), contra-eletrodo de platina e eletrodo de trabalho composto por filme de pectina contendo *carbon black* sobre a superfície de um eletrodo de carbono vítreo (CB-PEC/GCE).

Para os procedimentos de pesagem, foi utilizada uma balança analítica de precisão ± 1 mg (Shimadzu, Japão). Para a pipetagem das soluções, micropipetadores automáticos com capacidade variável de 0,1 a 10 μ L (Eppendorf, Alemanha) 10 a 100 μ L, 100 a 1000 μ L e de 1 a 10 mL (HTL, Polônia) foram utilizados.

Água ultrapura obtida em sistema de purificação Milli-Q (Direct-Q UV3®, Alemanha) com resistividade 18,2 M Ω cm⁻¹, foi utilizada para o preparo das soluções e lavagem das vidrarias. Para a aferição do pH das soluções, um pHmetro HI2221 (Hanna Instruments, Brasil), foi utilizado. Além disso, um banho ultrassônico (Cristófoli, Brasil) foi utilizado para o preparo das dispersões e uma lixadeira/politriz simples (Entex, Brasil) para o polimento e limpeza dos eletrodos.

As análises espectrofotométricas foram realizadas utilizando um Espectrofotômetro UV-2550 (Shimadzu, Japão) com célula de quartzo de 1,0 cm. Para as análises morfológicas dos filmes obtidos foi utilizado um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), em modo alto e baixo vácuo, JSM 6610 LV (JEOL, Japão), operando a 15 kV e Metalizador Desk V (Denton Vacuum, Estados Unidos).

4.2 Reagentes e soluções

Todos os reagentes citados abaixo e utilizados na realização dos experimentos foram de grau analítico e as soluções preparadas em água ultrapura.

- Ácido acético (Neon, Brasil);
- Ácido bórico (Synth, Brasil);

- Ácido nítrico (Synth, Brasil);
- Ácido ortofosfórico (Acros, Brasil);
- Benzofenona-3 (Sigma-Aldrich, EUA);
- *Carbon black* (VXC72R cedido pela empresa Cabot Corporation);
- Cloreto de potássio (Sigma-Aldrich, EUA);
- Epicloridrina (Sigma-Aldrich, EUA);
- Ferrocianeto de potássio (Isofar, Brasil);
- Fosfato de sódio dibásico (Sigma-Aldrich, EUA);
- Fosfato de sódio monobásico (Neon, Brasil);
- Glutaraldeído (Sigma-Aldrich, EUA);
- Hidróxido de sódio (NaOH) (Merck, Alemanha);
- Pectina (extraída de casca de laranja conforme Lessa *et al.*, (2017) e cedida pelo LaCoPol – UFPel).

4.2.1 Preparo das soluções tampões

As soluções tampão utilizadas neste trabalho foram o tampão Britton-Robinson (tampão BR) e fosfato. O tampão BR ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) foi preparado a partir da massa ou volume adequado de ácido ortofosfórico (H_3PO_4), ácido bórico (H_3BO_3), ácido acético (CH_3COOH), hidróxido de sódio (NaOH) e cloreto de potássio (KCl), tendo seu pH ajustado (de 4,0 a 8,0) a partir de uma solução de NaOH. A solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0 do tampão BR também foi diluída para se obter as concentrações de 0,01 e 0,05 mol L^{-1} para a realização de alguns experimentos. Já o tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0 foi obtido a partir da dissolução da massa adequada dos sais fosfato de sódio monobásico (NaH_2PO_4) e fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4).

4.2.2 Preparo da solução trabalho de BZ3

A solução trabalho de BZ3 1000 mg L^{-1} foi preparada pela dissolução de 10 mg do sólido em 5 mL de etanol e 5 mL de água ultrapura e conservada sob refrigeração ($10 \text{ }^\circ\text{C}$) por no máximo 7 dias, sendo toda a otimização realizada a partir desta solução trabalho.

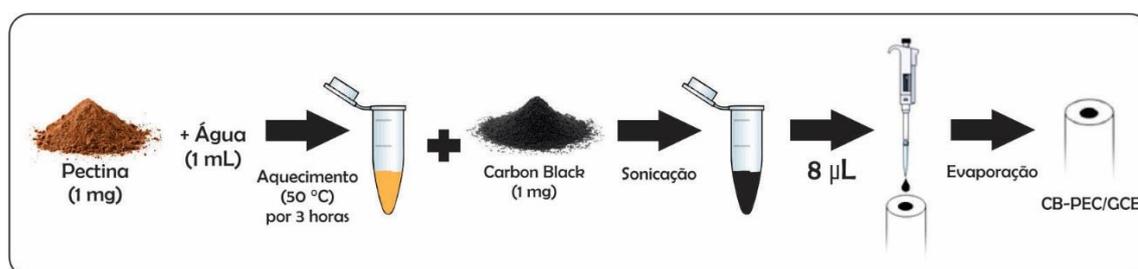
4.3 Parâmetros avaliados no desenvolvimento do sensor eletroquímico

Anteriormente à imobilização do filme sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês *glassy carbon electrode*) ($\varnothing = 3$ mm), o mesmo foi polido com o auxílio de uma politriz, utilizando pano para polimento metalográfico (Teclago, Brasil) e suspensão de alumina $0,05 \mu\text{m}$ (Teclago, Brasil) para a obtenção de uma superfície limpa e espelhada. Posteriormente ao polimento, os eletrodos foram sonicados em banho ultrassônico em álcool isopropílico e água ultrapura por 2 minutos em cada etapa.

4.3.1 Procedimento de preparo do sensor eletroquímico

A dispersão utilizada para a modificação do GCE foi preparada seguindo o procedimento desenvolvido por Pacheco *et al.*, 2019, com modificações. Para isso, 1 mg de pectina foi solubilizada em 1 mL de água ultrapura e mantida sob aquecimento ($50 \text{ }^\circ\text{C}$) por 3 horas. Posteriormente, 1 mg de CB foi adicionado à esta solução e solubilizado em banho ultrassônico por 50 minutos a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. A partir da dispersão pronta, $8 \mu\text{L}$ foi imobilizado sob a superfície do GCE previamente limpa e polida, e mantido em dessecador para a evaporação do solvente (*overnight*). A Figura 6, mostra um esquema do preparo do sensor sem etapa de reticulação, nomeado CB-PEC/GCE.

Figura 6. Esquema de preparação do CB-PEC/GCE.



4.3.2 Avaliação da influência do processo de reticulação do filme de pectina na resposta eletroquímica de BZ3

O melhor processo de reticulação da pectina na resposta catalítica de BZ3, assim como na estabilidade do sensor, foi avaliada a partir de processos químicos e físico (ionotrópico). Foram realizadas três avaliações, onde cabe destacar que para ambas foram utilizadas a mesma proporção CB:pectina (1:1).

Para o processo de reticulação química, 0,2 mL dos agentes reticulantes GA 1% ou ECH 1% foram adicionados ao eppendorf contendo a dispersão pronta de pectina e CB. Após a imobilização do filme na superfície do eletrodo, o eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de pectina reticulada com glutaraldeído e *carbon black* foi nomeado CB-PEC-GA/GCE e o eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de pectina reticulada com epiclóridrina e *carbon black* foi nomeado CB-PEC-ECH/GCE.

O processo de reticulação física foi realizado em solução de $K_4Fe(CN)_6$ 0,1 mol L^{-1} em meio de KCl 0,5 mol L^{-1} através de sucessivas varreduras (com avaliação feita de 10 a 50 ciclos) por voltametria cíclica (CV, do inglês *cyclic voltammetry*) após o filme de pectina contendo CB ser imobilizado na superfície do GCE. As condições da CV utilizada foram varreduras catódicas e anódicas na faixa de -0,3 a 0,9 V, com velocidade de varredura de 100 mV/s. Para melhor organização do trabalho, o eletrodo de carbono vítreo modificado com *carbon black* e filme de pectina reticulada fisicamente através de processo eletroquímico realizado em solução de $K_4Fe(CN)_6$ em meio de KCl, foi nomeado CB-PEC-RF/GCE.

4.4 Caracterização eletroquímica de BZ3 e estudo da estabilidade da resposta de BZ3 no sensor eletroquímico

O comportamento eletroquímico, no que se refere à cinética reacional de BZ3 foi investigado utilizando o CB-PEC-RF/GCE. Para isso foram feitas varreduras cíclicas de -0,7 a -1,5 V, com velocidades de 10 a 100 $mV s^{-1}$, em 15 mL de tampão BR (0,1 mol L^{-1} pH 6,0) contendo 15 $mg L^{-1}$ de BZ3.

Após a otimização das condições de reticulação do filme de pectina contendo CB, avaliou-se a estabilidade do sensor através de 35 sucessivas varreduras utilizando o CB-PEC-RF/GCE. O estudo da estabilidade foi realizado por DPV, com $E_{deposição}$ de -0,7 V, E_{step} de -0,012 V, amplitude de 0,09 V e $t_{deposição}$ de 240 s entre cada leitura. Na célula eletroquímica, tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 6,0 foi utilizado como eletrólito suporte e 2 $mg L^{-1}$ foi a concentração de BZ3 utilizada para esta avaliação.

4.5 Caracterização morfológica do sensor eletroquímico

Os filmes obtidos através das dispersões foram caracterizados morfológicamente através de imagens obtidas utilizando MEV. Para a realização desta análise, as amostras contendo o filme de pectina reticulada com ECH e GA, foram depositadas em um *stub*, através de uma fita adesiva dupla face e em seguida foram metalizadas com ouro. Já para a amostra de filme de pectina reticulada em solução de $K_4Fe(CN)_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, a análise foi realizada no próprio eletrodo (CB-PEC-RF/GCE), a partir da fixação do mesmo em um suporte do equipamento.

Para a metalização, as amostras ficaram expostas por 180 s a uma corrente de $20 \mu A$. Tanto a metalização quanto a análise microscópica das amostras foram realizadas no Centro de Microscopia da Zona-Sul (CEME-SUL), da Universidade Federal do Rio Grande – FURG.

4.6 Parâmetros avaliados para determinação voltamétrica

A reticulação física do filme de pectina contendo CB foi realizada através de 25 sucessivas varreduras por CV em solução de $K_4Fe(CN)_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Para a determinação voltamétrica de BZ3 foi utilizado na célula eletroquímica como eletrólito suporte tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,0). Na DPV, foi utilizado um $E_{\text{deposição}}$ de $-0,7 \text{ V}$, E_{step} de $-0,012 \text{ V}$ e amplitude de $0,09 \text{ V}$.

4.7 Determinação de BZ3 por espectrofotometria UV/Vis

Um teste preliminar para determinar a concentração de BZ3 em uma amostra de protetor solar FPS 60, foi realizado por espectrofotometria UV/Vis como método comparativo, sendo a amostra adquirida no comércio local da cidade de Rio Grande – RS. Para isso, $0,25 \text{ g}$ da amostra foi transferida para um balão volumétrico de 250 mL , solubilizada e o volume aferido com etanol. Posteriormente, a solução contendo a amostra, foi homogeneizada em banho ultrassônico por 30 minutos.

Após, $0,2 \text{ mL}$ da amostra preparada foi adicionada a um tubo de Falcon e o volume aferido (4 mL) com água ultrapura. A curva analítica foi construída a partir da adição de $0,2 \text{ mL}$ de amostra mais padrão de BZ3 e volume aferido (4 mL) com água ultrapura (sendo adições sucessivas do padrão em $3, 6, 9, 12$ e 15 mg L^{-1}). Após, a

amostra e os demais pontos da curva foram analisados separadamente no espectrofotômetro utilizando a cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico.

4.8 Tratamento dos dados e análise estatística

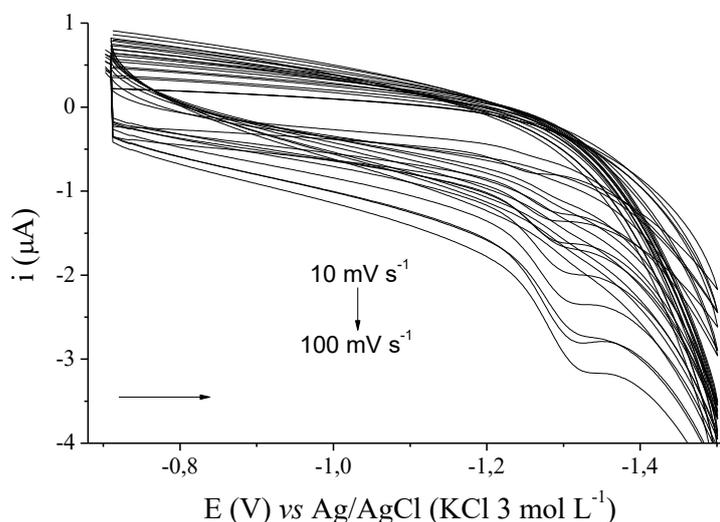
Os voltamogramas e gráficos apresentados ao longo deste trabalho foram todos obtidos a partir do software OriginPro 8 e a análise estatística foi realizada utilizando o software Statistica. Os resultados foram então expressos pela média e avaliadas por análise de variância (ANOVA) e comparadas pelo Teste de *Tukey*, com um nível de confiança de 95%.

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 Caracterização eletroquímica de BZ3 utilizando CB-PEC-RF/GCE

O comportamento eletroquímico de BZ3 foi avaliado utilizando o CB-PEC-RF/GCE e os voltamogramas cíclicos são apresentados na Figura 7, utilizando diferentes velocidades de varredura (de 10 a 100 mV s^{-1}).

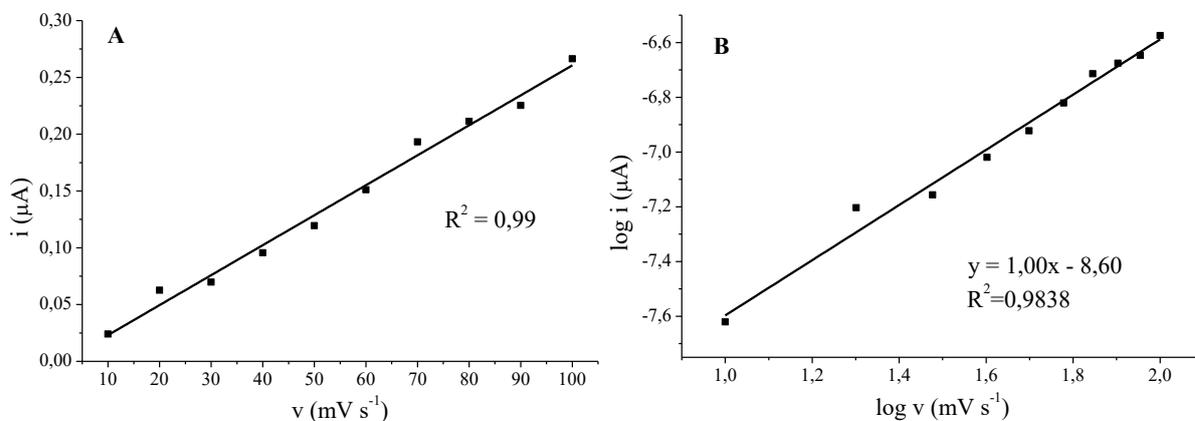
Figura 7. Voltamogramas cíclicos de BZ3 em CB-PEC-RF/GCE em diferentes velocidades de varredura na faixa de potencial de 10 a 100 mV s^{-1} . Condições experimentais: 15 mg L^{-1} de BZ3 em tampão BR 0,1 mol L^{-1} (pH 6,0) e faixa de potencial de -0,7 a -1,5 V.



Observa-se na Figura 7 que na faixa de potencial estudada, o BZ3 apresenta apenas o pico de redução, quando o mesmo interage na superfície do CB-PEC-RF/GCE, em potencial próximo a -1,3 V vs Ag/AgCl, ou seja, este comportamento é característico de sistemas irreversíveis, nas condições estudadas.

Na Figura 8, estão apresentadas as relações de corrente e velocidade de varredura para o pico de redução de BZ3 na faixa de velocidade estudada (10 a 100 mV s^{-1}). Foram avaliadas as relações de corrente e velocidade de varredura (i vs v) e o logaritmo da corrente e logaritmo da velocidade de varredura ($\log i$ vs $\log v$), a fim de avaliar a dependência da corrente de pico com o tipo de transporte de massa preferencialmente envolvido.

Figura 8. Gráficos das relações i_p e v (A), $\log i_p$ e $\log v$ (B) do pico catódico para as velocidades de varredura de 10 a 100 mV s^{-1} .



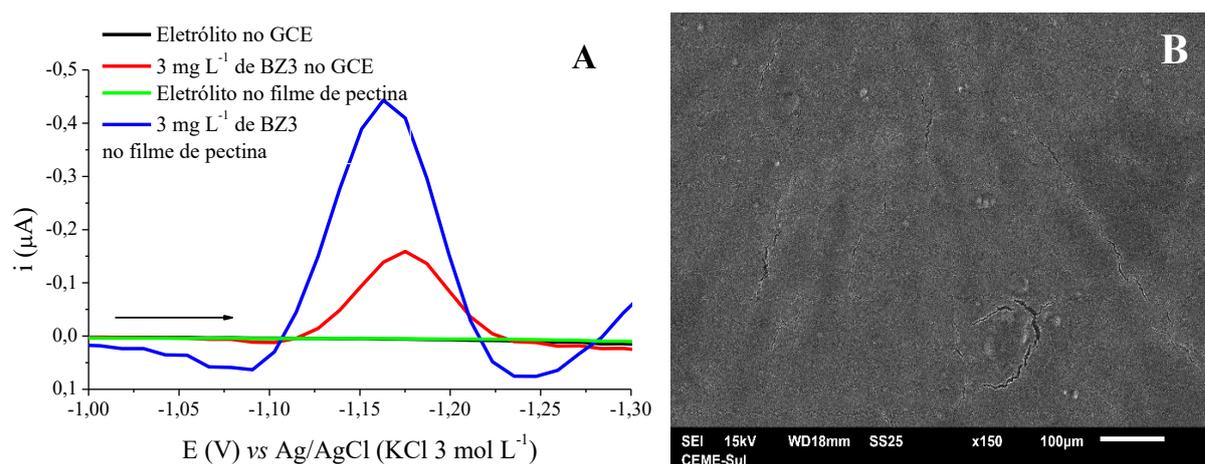
Observa-se na Figura 8A, um comportamento linear para a relação de i vs v ($R^2 = 0,99$) que é característico de processos controlados por adsorção porque ocorre a diminuição da camada de difusão fazendo com que, mais moléculas de BZ3 sejam adsorvidas na superfície do eletrodo e conseqüentemente trazendo maior sensibilidade ao método (ELGRISHI *et al.*, 2018). Para confirmar o tipo de transporte de massa que controla esse processo, a relação entre $\log i$ vs $\log v$ (Figura 8B) também foi avaliada e, seu coeficiente angular apresentou um valor de 1, que é característico de processos adsorptivos (BRETT; BRETT, 1993). Portanto, o transporte de massa envolvido majoritariamente na redução de BZ3 na superfície do CB-PEC-RF/GCE, é a adsorção.

5.2 Desenvolvimento do sensor eletroquímico

5.2.1 Avaliação da influência do filme de pectina na resposta eletroquímica de BZ3

Inicialmente foi realizada a avaliação da influência do filme de pectina não reticulada contendo CB (eletrodo CB-PEC/GCE), na resposta eletroquímica de BZ3, através da DPV. Na Figura 9, é possível observar os voltamogramas de pulso diferencial obtidos utilizando-se o GCE sem modificação e com CB-PEC/GCE, na ausência e na presença de 3 mg L^{-1} de BZ3.

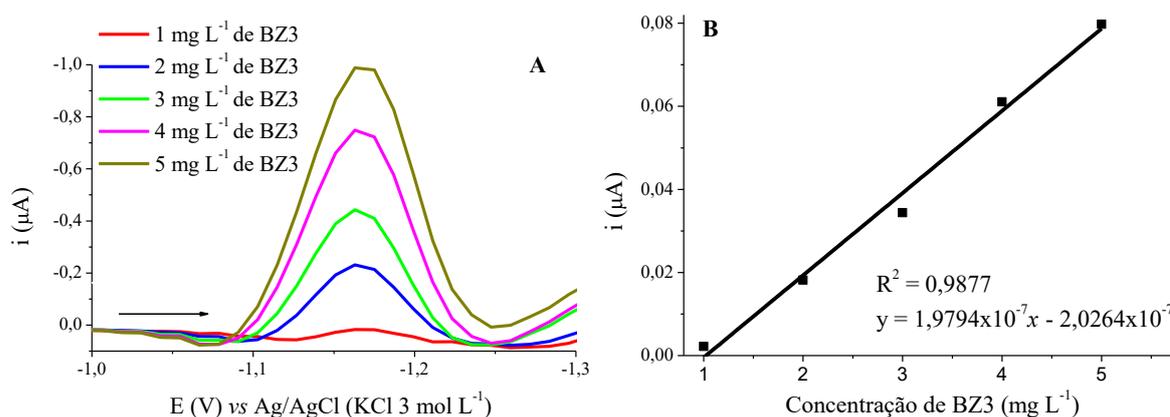
Figura 9. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos utilizando o GCE sem modificação e com CB-PEC/GCE, na ausência e na presença de 3 mg L^{-1} de BZ3 (A) e micrografia obtida para o filme de pectina com CB (B). Condições experimentais: 15 mL de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5). Parâmetros da DPV: E_{inicial} : $-1,0 \text{ V}$; E_{final} : $-1,3 \text{ V}$; E_{step} : $-0,012 \text{ V}$; amplitude: $0,05 \text{ V}$; t_m : $0,05 \text{ s}$; v : 25 mV s^{-1} ; $E_{\text{deposição}}$: $-0,9 \text{ V}$ e $t_{\text{deposição}}$: 240 s .



Assim como descrito na literatura e também observado na Figura 9A, um pico de redução foi observado no potencial em torno de $-1,18 \text{ V}$, quando uma varredura no sentido catódico é realizada (CARDOSO; ARMONDES; FERREIRA, 2008; FERREIRA et al., 2013; VIDAL et al., 2008). Observa-se também na Figura 9A, que CB-PEC/GCE apresentou um aumento na resposta de corrente de BZ3, cerca de 2,8 vezes maior quando comparado com a resposta de corrente de BZ3 no GCE, demonstrando que a modificação do GCE aumenta a sensibilidade na detecção de BZ3 e tal modificação pode ser utilizada de maneira satisfatória na detecção eletroquímica deste analito. Além disso, na micrografia apresentada na Figura 9B, o filme formado pela dispersão de pectina não reticulada e CB, mostra-se com boa homogeneidade sem a formação de aglomerados, devido a boa interação existente entre a pectina e o CB.

Na Figura 10, apresenta-se o voltamograma obtido com CB-PEC/GCE, com faixa de concentração de BZ3 de 1 a 5 mg L^{-1} (A) e sua respectiva curva analítica (B).

Figura 10. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para a curva analítica de BZ3 em CB-PEC/GCE (A) e a respectiva curva analítica (B). Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,5). Parâmetros da DPV: E_{inicial}: -1,0 V; E_{final}: -1,3 V; E_{step}: -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m: 0,05 s; v: 25 mV s⁻¹; E_{deposição}: -0,9 V e t_{deposição}: 240 s.

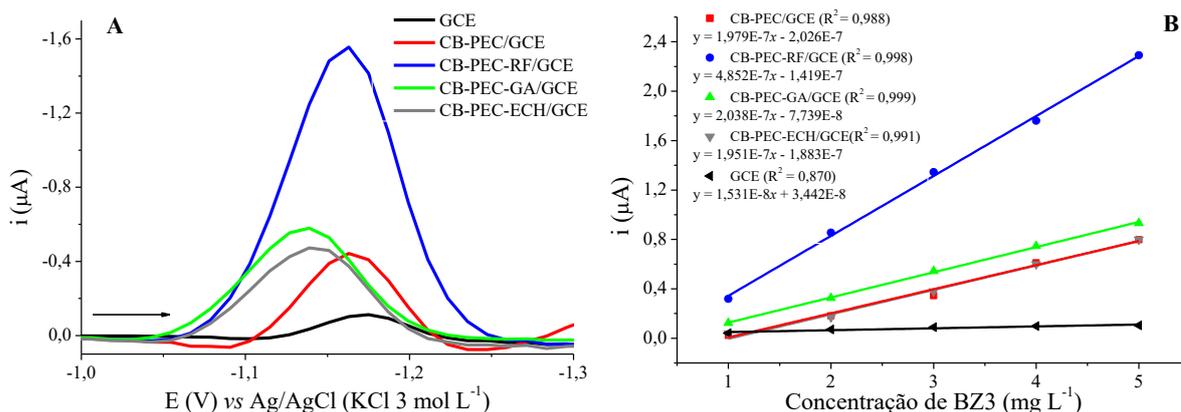


Observa-se na Figura 10A que o pico de redução de BZ3 apresenta um perfil adequado com formato gaussiano e que a curva analítica observada em (B) apresenta um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9877, o que demonstra uma boa dispersão dos dados apresentados. A partir da apresentação destes dados, CB-PEC/GCE foi considerado adequado para a determinação eletroquímica de BZ3.

5.2.2 Avaliação da influência do processo de reticulação do filme de pectina na resposta eletroquímica de BZ3

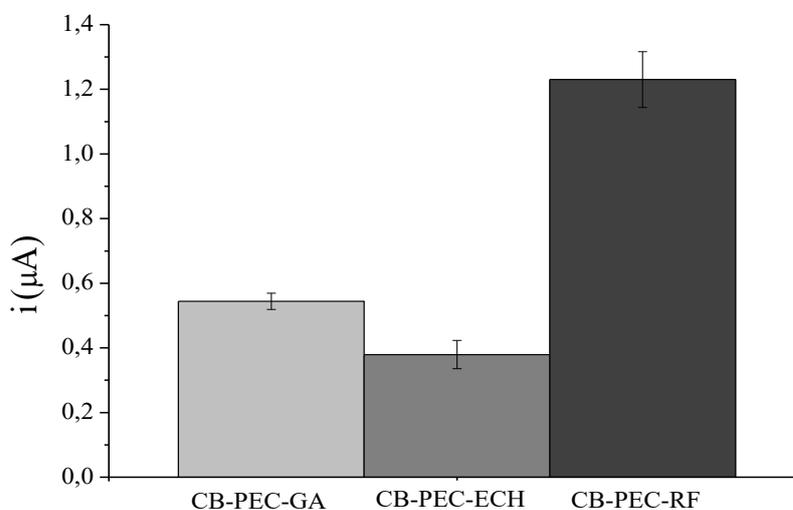
Uma vez que filmes poliméricos tendem a ter baixa estabilidade, como o caso da pectina que é solúvel em água o que compromete suas propriedades mecânicas (FARAHNAKY *et al.*, 2018; KALATHAKI *et al.*, 2019; TANG *et al.*, 2012), inicialmente avaliou-se a influência do processo de reticulação na resposta eletroquímica de BZ3 e também em relação à estabilidade dos eletrodos. Na Figura 11A estão demonstrados os voltamogramas de 3 mg L⁻¹ de BZ3 em tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,5) nos sensores obtidos com reticulação química (CB-PEC-ECH/GCE e CB-PEC-GA/GCE) e física (CB-PEC-RF/GCE). Além disso, é demonstrada a diferença na resposta eletroquímica de BZ3 nos sensores (Figura 11B).

Figura 11. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para 3 mg L^{-1} de BZ3 no filme submetido a reticulação química (CB-PEC-ECH/GCE e CB-PEC-GA/GCE) e física (CB-PEC-RF/GCE) (A) e as respectivas curvas analíticas (B). Condições experimentais: 15 mL de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5). Parâmetros da DPV: E_{inicial} : $-1,0 \text{ V}$; E_{final} : $-1,3 \text{ V}$; E_{step} : $-0,012 \text{ V}$; amplitude: $0,05 \text{ V}$; t_m : $0,05 \text{ s}$; v : 25 mV s^{-1} ; $E_{\text{deposição}}$: $-0,9 \text{ V}$ e $t_{\text{deposição}}$: 240 s .



Na Figura 12, é apresentada a estabilidade do filme de pectina com os diferentes filmes em solução com 3 mg L^{-1} de BZ3, resultado este obtido após 20 varreduras consecutivas por DPV.

Figura 12. Avaliação da estabilidade do filme de pectina submetida a reticulação química e física. Condições experimentais: 3 mg L^{-1} de BZ3, 15 mL de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5). Parâmetros da DPV: E_{inicial} : $-1,0 \text{ V}$; E_{final} : $-1,3 \text{ V}$; E_{step} : $-0,012 \text{ V}$; amplitude: $0,05 \text{ V}$; t_m : $0,05 \text{ s}$; v : 25 mV s^{-1} , $E_{\text{deposição}}$: $-0,9 \text{ V}$ e $t_{\text{deposição}}$: 240 s .

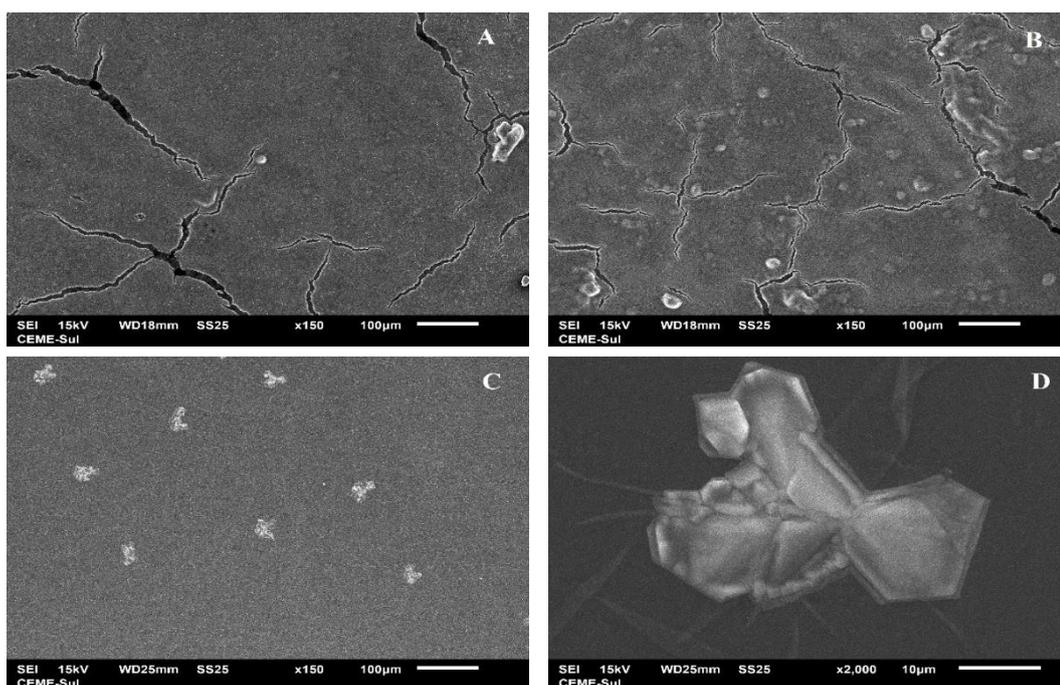


Observa-se na Figura 12, que os filmes de pectina reticulada com GA e ECH apresentam uma menor resposta de corrente quando comparadas com o filme de pectina em solução de $K_4Fe(CN)_6$ em meio de KCl, que possui uma resposta eletroquímica frente ao BZ3 cerca de 2,3 vezes maior para o GA e 3,2 para o ECH (assim como os resultados demonstrados na Figura 11).

Pode-se observar na Figura 11 (A) e (B), que a maior resposta eletroquímica para BZ3 é obtida no filme de pectina submetida a reticulação física (coeficiente angular = $4,852 \times 10^{-7}$) e que a reticulação realizada com GA e ECH (coeficiente angular igual a $2,038 \times 10^{-7}$ e $1,951 \times 10^{-7}$, respectivamente) demonstram uma resposta de corrente muito semelhante ao voltamograma obtido com filme de pectina não reticulada.

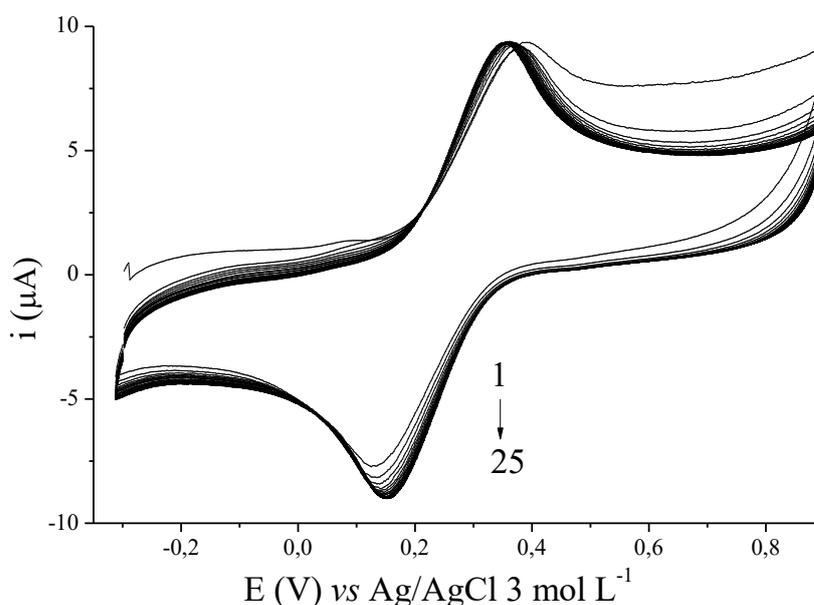
Visto que a pectina pode se reticular a partir de ligações iônicas e/ou covalentes, avaliou-se a interação entre a pectina e o reticulante a partir de micrografias eletrônicas de varredura, afim de caracterizar os diferentes tipos de filme formados. Na Figura 13, estão demonstradas as micrografias dos filmes de pectina submetidos a processos de reticulação química e física.

Figura 13. Micrografias obtidas por MEV para as dispersões de pectina e CB após reticulação com ECH (A), GA (B), reticulação física realizada em solução de $K_4Fe(CN)_6$ em meio de KCl (C) e figura anterior ampliada em 2000x (D).



Observa-se nas micrografias das dispersões de CB-PEC-ECH e CB-PEC-GA (Figura 13A e 13B) que os filmes formados apresentam-se com uma superfície heterogênea, com rupturas e agregados irregulares em sua superfície, que podem desfavorecer a interação do filme com o analito. Já nas Figuras 13C e 13D (CB-PEC-RF), observa-se um filme homogêneo com a formação de alguns cristais formados após o processo de reticulação realizado na solução de $K_4Fe(CN)_6$ em meio de KCl. Lessa *et al.*, (2017), ao caracterizar a pectina extraída por análise de difração de raios-X, observaram uma estrutura semicristalina da pectina, muito provavelmente devido às interações de hidrogênio inter e intramoleculares que favorecem a ordenação das cadeias, que após a realização do procedimento eletroquímico pode ter favorecido ainda mais a formação de cristais de sal de pectina formado com íon K^+ e também pela aplicação de um potencial ao realizar sucessivas varreduras por CV, cristais estes que são melhor observados na Figura 13D (LOVRIĆ; SCHOLZ, 1997; RIGBY, *et al.*, 2000; WALKINSHAW; ARNOTT, 1981). Adicionalmente, a Figura 14 apresenta os voltamogramas cíclicos oriundos da reticulação física de CB-PEC/GCE, a fim de investigar a ocorrência de uma possível eletropolimerização durante o processo.

Figura 14: Voltamogramas cíclicos da reticulação física de CB-PEC/GCE. Condições experimentais: 25 ciclos em solução de $K_4Fe(CN)_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, na faixa de potencial de $-0,3$ a $0,9 \text{ V}$ com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

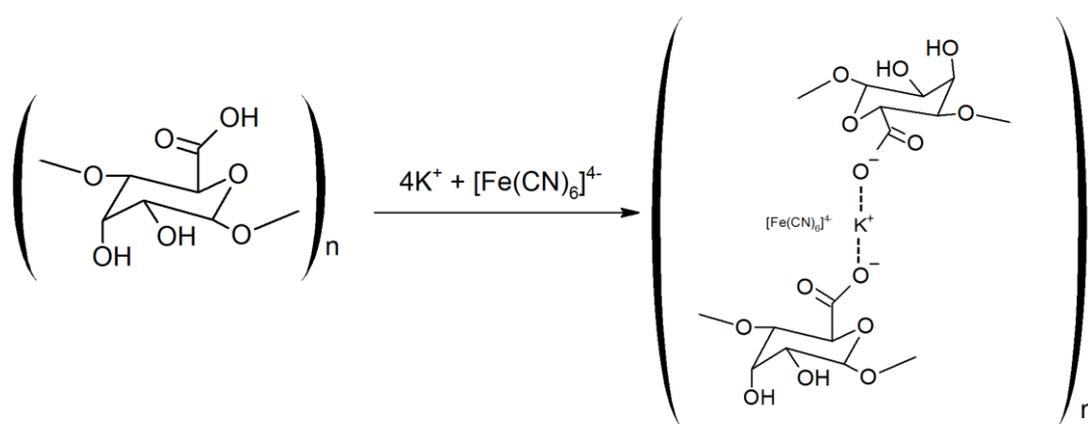


É possível observar na Figura 14, que não houve um aumento na resposta de corrente anódica e catódica com o aumento no número de ciclos, permanecendo praticamente estável. Desta forma, considera-se que não houve um processo de eletropolimerização da pectina durante a realização do experimento de reticulação física (NAJAFI-ASHTIANI; BAHARI, 2016).

De forma complementar, a diferença observada entre os filmes, tanto nas micrografias quanto na resposta eletroquímica de BZ3, pode se dever ao fato de que a reticulação da pectina com GA e ECH acontece através dos grupamentos OH⁻ presentes na estrutura molecular da pectina, grupamento este que possivelmente também é o sítio de interação com a molécula de BZ3 (como demonstrado no esquema das Figuras 3 e 4, da seção 3.5.3). Neste caso, BZ3 irá se ligar somente aos grupamentos OH⁻ restantes da pectina, que não foram utilizados durante o processo de reticulação com GA e ECH (CUI *et al.*, 2017).

Já no processo de reticulação física, a interação do K₄Fe(CN)₆ acontece através dos grupamentos carboxílicos da pectina, deixando todos os grupamentos OH⁻ livres para interagir com as moléculas de BZ3 (Figura 15), o que justifica a maior resposta eletroquímica observada na Figura 11 (CUI *et al.*, 2017; KYOMUGASHO *et al.*, 2017).

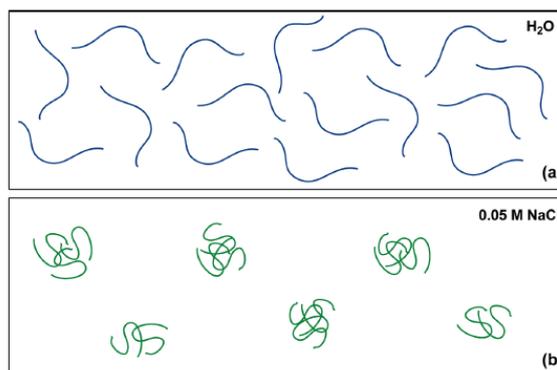
Figura 15. Esquema representativo do possível mecanismo de reticulação física da pectina com solução de K₄Fe(CN)₆ em meio de KCl.



Adicionalmente, acredita-se que este processo de reticulação diminui a solubilidade da pectina em meio aquoso. Como descrito por Jonassen *et al.*, 2013, a adição de sal (como KCl ou NaCl) pode induzir um efeito *salting out* do sistema

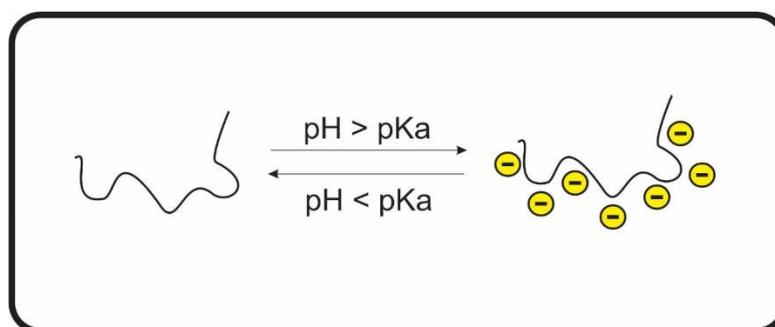
polimérico, resultando em uma maior tendência de agregação do polímero, como ilustra a Figura 16.

Figura 16. Esquema simplificado da agregação da pectina na presença de sais monovalentes (JONASSEN *et al.*, 2013).



Portanto, os cátions monovalentes se ligam à pectina apenas por meio de ligações eletrostáticas sem a presença de zonas de junção que é observado na pectina reticulada com cátions divalentes (CELUS *et al.*, 2018), facilitando a agregação dos monômeros de pectina, que é resultado da blindagem dos grupos carboxila com o íon K⁺ (WEHR; MENZIES; BLAMEY, 2004). Além disso, considerando que a pectina utilizada neste trabalho tem confirmado a sua desesterificação (LESSA *et al.*, 2017), característica esta importante, pois quanto menor o grau de esterificação maior é o número de grupos carboxílicos livres em sua estrutura, dando a pectina uma alta densidade de carga em condições de pH ótimos (pH bem acima do valor de seu valor de pKa (~3,5)), como mostrado no esquema da Figura 17.

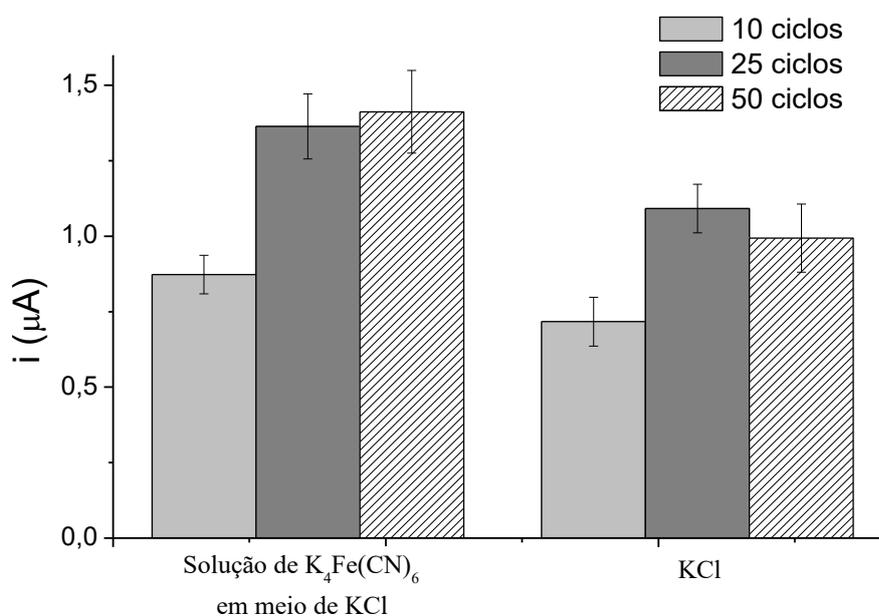
Figura 17. Esquema representativo do processo de desprotonação da pectina em relação ao pH.



Assim, o K^+ irá interagir com os grupamentos carboxílicos presentes na estrutura molecular da pectina, devido à atração existente entre as altas densidades das cargas opostas. Porém, o procedimento eletroquímico realizado neste trabalho incluiu a presença de $K_4Fe(CN)_6$ (K^+ e $Fe(CN)_6^{4-}$ em meio aquoso), ou seja, acredita-se que a reticulação seja realizada pelo íon K^+ e que o íon $Fe(CN)_6^{4-}$ atua na estabilização desta interação, já que o mesmo é um ânion volumoso e com isso pode estabilizar a interação entre a carboxila da pectina e o potássio, deixando os grupamento OH^- ainda mais livres para interagir com BZ3.

Supondo que o processo de reticulação física e a diminuição da solubilidade da pectina em meio aquoso pode acontecer na presença de KCl e/ou na presença de $K_4Fe(CN)_6$, avaliou-se a influência do número de ciclos na reticulação do filme com e sem a presença de $K_4Fe(CN)_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ assim como na resposta eletroquímica de BZ3, resultado este demonstrado na Figura 18.

Figura 18. Avaliação da influência do número de ciclos na estabilidade do sensor e na resposta eletroquímica de BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5), 3 mg L^{-1} de BZ3. Parâmetros da DPV: E_{inicial} : -1,0 V; E_{final} : -1,3 V; E_{step} : -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m : 0,05 s; v : 25 mV s^{-1} ; $E_{\text{deposição}}$: -0,9 V e $t_{\text{deposição}}$: 240 s.



Na Figura 18, é possível observar que as correntes obtidas no experimento com 25 e 50 ciclos não possuem diferença significativa tanto no procedimento realizado em KCl ($p = 0,21$) quanto em $K_4Fe(CN)_6$ em meio de KCl ($p = 0,19$). Porém, observa-se que a resposta eletroquímica de BZ3 no procedimento de reticulação do filme de pectina realizado somente em KCl apresenta resposta de corrente menor nos diferentes números de ciclos testados, quando comparado ao procedimento realizado em $K_4Fe(CN)_6$ em meio de KCl. Como mencionado anteriormente, o ânion $Fe(CN)_6^{4-}$ possivelmente estabiliza a interação entre o grupo carboxila da pectina e o potássio de maneira mais efetiva por se tratar de um ânion mais volumoso que o ânion Cl^- , deixando os grupamentos OH^- mais livres para interagir com BZ3.

Levando-se em consideração a diminuição do tempo do procedimento de reticulação do filme de pectina no eletrodo assim como a maior resposta de corrente para o BZ3, o procedimento com 25 ciclos em meio de $K_4Fe(CN)_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foi o escolhido para as próximas etapas do trabalho.

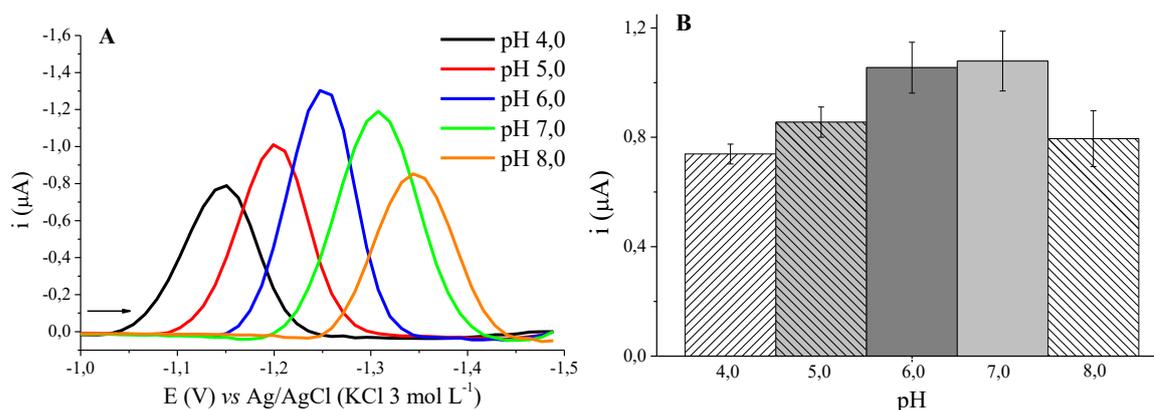
5.3 Otimização do método para a determinação de BZ3

Após a definição do melhor procedimento para diminuir a solubilidade da pectina e da constituição final do eletrodo (carbono vítreo modificado com *carbon black* e filme de pectina reticulada fisicamente através de processo eletroquímico realizado em solução de $K_4Fe(CN)_6$ em meio de KCl, CB-PEC-RF/GCE), realizou-se a otimização do método voltamétrico através de experimentos em que variou-se a faixa de pH, composição e concentração do eletrólito suporte e os parâmetros inerentes à DPV.

5.3.1 Avaliação do efeito do pH, composição eletrolítica e concentração na resposta voltamétrica de BZ3

Na Figura 19A e B são apresentados os voltamogramas e o gráfico de corrente vs a influência do pH na resposta eletroquímica de BZ3, avaliado através de DPV.

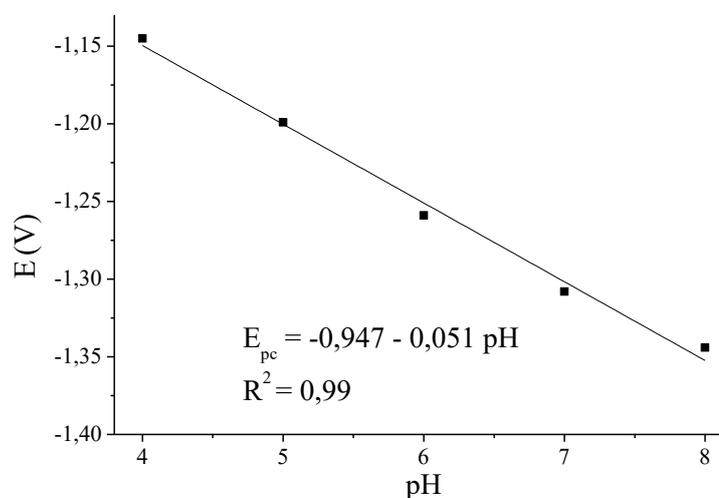
Figura 19. Avaliação da influência do pH na resposta eletroquímica do BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0 a 8,0 com incrementos de 1,0), 3 mg L⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: E_{inicial}: -1,0 V; E_{final}: -1,5 V; E_{step}: -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m: 0,05 s; v: 25 mV s⁻¹; E_{deposição}: -0,9 V e t_{deposição}: 240 s.



Observa-se na Figura 19A e B que as maiores correntes de pico são obtidas em pH próximos ao neutro (6,0 e 7,0), com diminuição desta resposta à medida que o pH aumenta. Este comportamento tem relação com a desprotonação da pectina em meio neutro ou levemente ácido que tem disponível um maior número de sítios de ligação para BZ3, ao contrário de pH mais elevados (pH 8,0) onde há uma competição entre os íons OH⁻ do meio alcalino e o grupo carboxílico da pectina pelos íons K⁺ (JONASSEN *et al.*, 2013). Realizou-se o Teste de *Tukey* (com nível de significância de 95%) nas respostas médias de corrente obtidas em pH 6,0 e 7,0 e verificou-se que não há diferenças significativas entre esses resultados ($p = 0,05$). Levando-se em consideração a resposta de corrente obtida em pH 6,0 e 7,0 ($1,055 \pm 0,094 \mu\text{A}$ e $1,079 \pm 0,109 \mu\text{A}$, respectivamente), escolheu-se o pH 6,0 para as próximas etapas de otimização do método, por apresentar um menor valor de desvio padrão.

Observa-se também na Figura 19A, que há um deslocamento de pico para potenciais mais negativos à medida que o pH aumenta, comportamento este característico de processos redox que apresentam influência de prótons na reação (BRETT; BRETT, 1993; RAZAK; GAZY; WAHBI, 2002). Além disso, na Figura 20, é mostrado a relação entre E_{pc} e pH, obtido no intervalo de pH estudado.

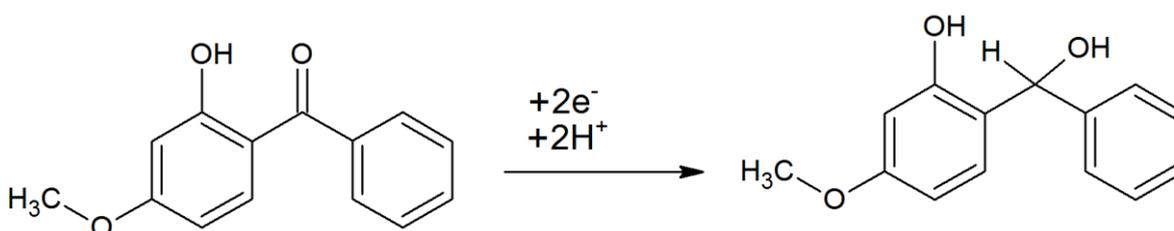
Figura 20. Gráfico de E vs pH.



Pode-se observar na Figura 20, que a equação de regressão linear e o coeficiente de correlação (R^2) obtidos foram $E_{pc} (V) = -0,947 - 0,051 \text{ pH} (V \text{ pH}^{-1}) \text{ pH}$ e $R^2 = 0,99$, respectivamente. O valor da inclinação obtido (-51 mV) indica que a reação eletroquímica envolve o mesmo número de prótons e elétrons transferidos, valor este que é próximo ao valor teórico de 59,2 mV/pH (BRETT; BRETT, 1993; NEMATOLLAHI *et al.*, 2009).

Chandrasekaran, Noel e Krishnan (1991) relatam um processo de transferência de 2 elétrons e 2 prótons na redução de BZ3, sendo que o valor do número de elétrons envolvidos na reação calculado pelos autores, em meio neutro ou próximo ao neutro em um GCE, foi de 1,7 ou aproximadamente 2 (VIDAL *et al.*, 2008), como sugere a reação demonstrada na Figura 21.

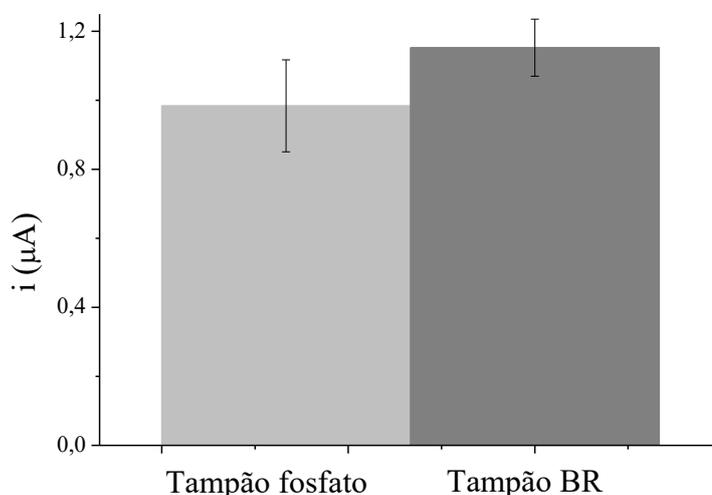
Figura 21. Esquema representativo do mecanismo de redução de BZ3 (VIDAL *et al.*, 2008).



Após a escolha do melhor pH, foi avaliada a composição do eletrólito de suporte, já que o mesmo, na voltametria, é responsável por minimizar o processo de migração presente no transporte de massa, para que esse transporte seja realizado

preferencialmente por difusão (BARD; FAULKNER, 2001). Para isso, duas composições eletrolíticas foram testadas: tampão fosfato e tampão BR (ambos com concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 6,0). Na Figura 22 é apresentado o gráfico de corrente vs composição do eletrólito de suporte.

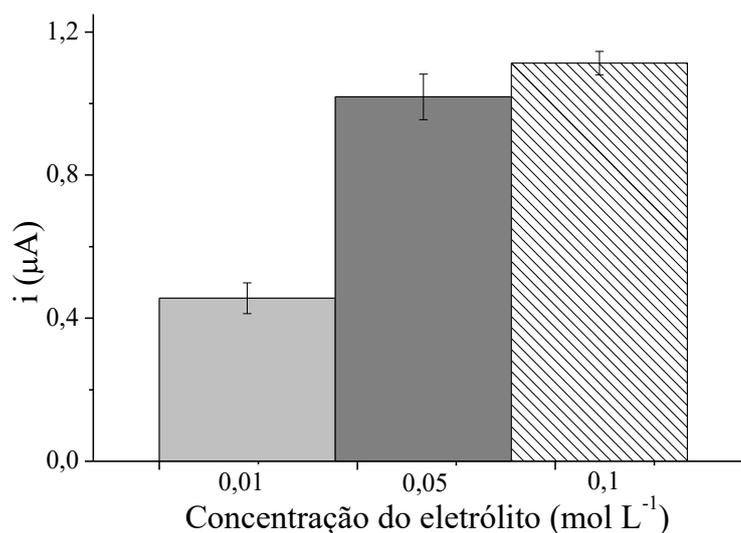
Figura 22. Avaliação da influência da composição do eletrólito suporte na resposta eletroquímica de BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR e fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,0), 3 mg L^{-1} de BZ3. Parâmetros da DPV: E_{inicial} : -1,0 V; E_{final} : -1,3 V; E_{step} : -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m : 0,05 s; v : 25 mV s^{-1} ; $E_{\text{deposição}}$: -0,9 V e $t_{\text{deposição}}$: 240 s.



Pode-se observar na Figura 22 que em ambos os eletrólitos, a resposta de corrente foi estatisticamente igual ($p = 0,08$) ($1,152 \pm 0,083$ para tampão BR e $0,984 \pm 0,133$ para tampão fosfato), porém em tampão BR BZ3 apresentou um perfil mais gaussiano (resultado não apresentado). Por isso, a composição do eletrólito suporte escolhido para as próximas etapas foi o tampão BR.

Após a escolha do pH e do eletrólito, foi realizada a avaliação da concentração do eletrólito, variando-se a concentração do tampão BR (pH 6,0) em 0,01, 0,05 e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. As intensidades de corrente de pico obtidas estão demonstradas na Figura 23.

Figura 23. Avaliação da influência da concentração do eletrólito suporte na resposta eletroquímica de BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,01, 0,05 e 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,0), 3 mg L⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: E_{inicial}: -1,0 V; E_{final}: -1,3 V; E_{step}: -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m: 0,05 s; v: 25 mV s⁻¹; E_{deposição}: -0,9 V e t_{deposição}: 240 s.



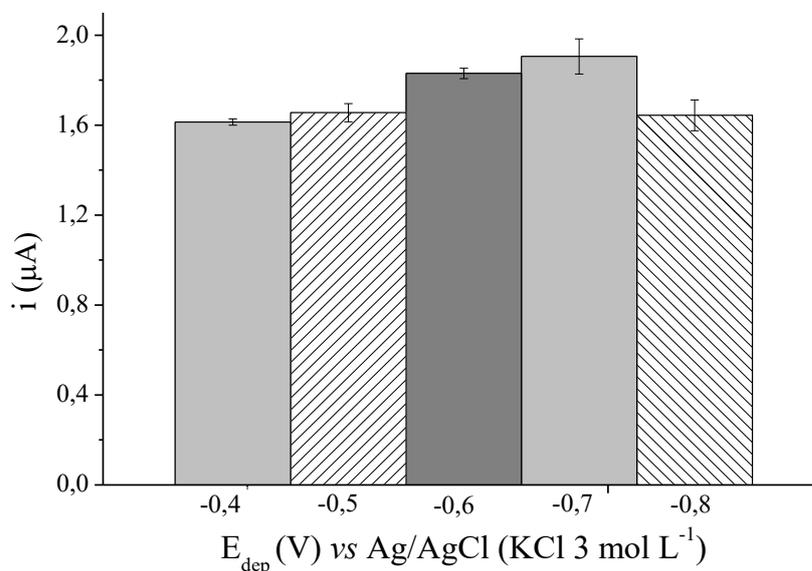
Observando a Figura 23, percebe-se que a maior intensidade de corrente de pico catódico para BZ3, é obtida na concentração de 0,1 mol L⁻¹, assim como, o menor desvio padrão entre os experimentos (1,113 ± 0,033 µA). Além disso, o valor de p obtido no Teste de *Tukey*, não demonstrou diferença significativa entre a concentração de 0,1 e 0,05 mol L⁻¹ (p = 0,12). Portanto, o eletrólito suporte composto pelo tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,0) foi o eletrólito escolhido para garantir adequada condutividade elétrica ao sistema e para minimizar o transporte de massa ocorrido por migração.

5.3.2 Avaliação dos parâmetros inerente à técnica de DPV

Considerando-se o pico catódico de BZ3, também avaliou-se a resposta voltamétrica do analito através das variáveis instrumentais da técnica de DPV, a fim de otimização do método.

Na Figura 24 é apresentado o gráfico de intensidade de corrente de pico vs potencial de deposição (V), avaliados aplicando-se potencial de deposição de -0,4 a -0,8 V.

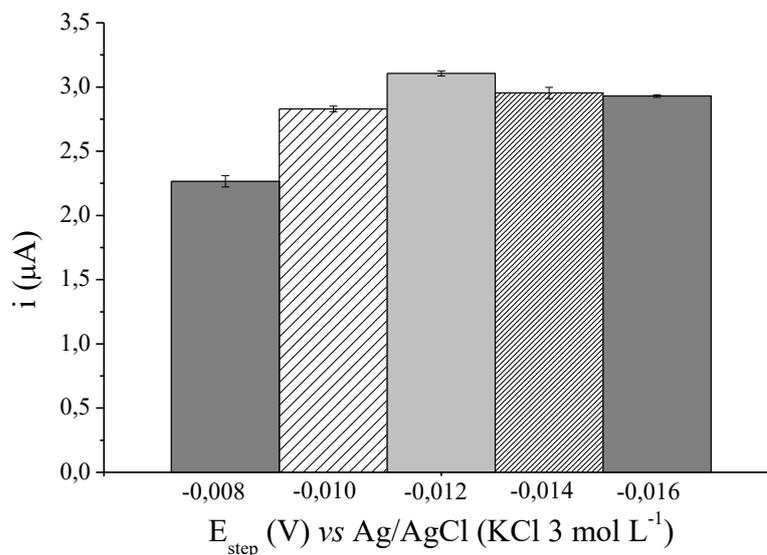
Figura 24. Avaliação do efeito do potencial de deposição na resposta eletroquímica de BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,0), 1 mg L⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: E_{inicial}: -1,0 V; E_{final}: -1,3 V; E_{step}: -0,012 V; amplitude: 0,05 V; t_m: 0,05 s; v: 25 mV s⁻¹ e t_{deposição}: 240 s.



Observa-se na Figura 24 que os valores de intensidade de corrente obtidos, aumentaram e mantiveram-se constantes em potenciais de -0,7 e -0,6 V ($p = 0,56$), e tendo um decaimento na resposta de corrente à potenciais mais positivos (anódicos). Devido a isso, o potencial de deposição -0,7 V foi escolhido para as próximas etapas.

Posteriormente, avaliou-se também o efeito do potencial step (E_{step}) sobre a resposta eletroquímica de BZ3. Para isso, variou-se o E_{step} entre -0,008 V e -0,016 V (com incrementos de 0,002 V), sendo os resultados obtidos para esta avaliação apresentados na Figura 25.

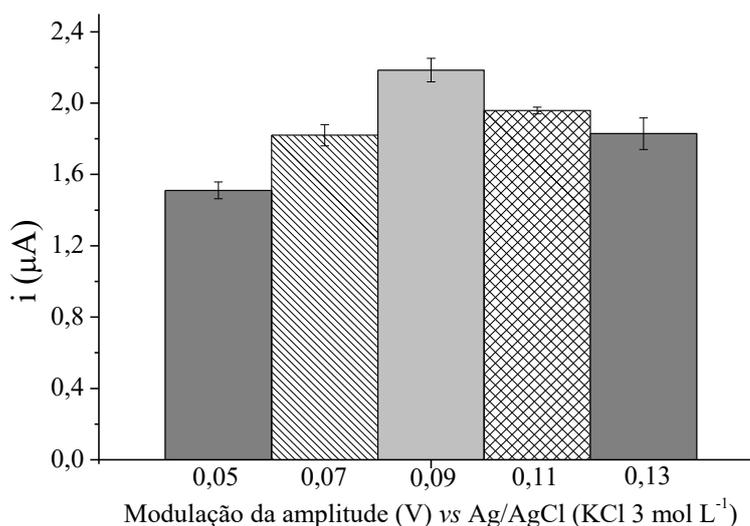
Figura 25. Gráfico de intensidade de corrente vs E_{step} obtidos na avaliação do efeito do potencial step na resposta eletroquímica do BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,0), 1 mg L⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: E_{inicial} : -1,0 V; E_{final} : -1,3 V; amplitude: 0,05 V; t_m : 0,05 s; v : 25 mV s⁻¹; $E_{\text{deposição}}$: -0,07 V e $t_{\text{deposição}}$: 240 s.



Observa-se na Figura 25 que a maior corrente de pico é obtida no potencial de -0,012 V ($3,105 \pm 0,018$ µA). Havendo diferenças significativas entre a média de intensidade de corrente encontrada para o valor de -0,012 V e a média dos demais valores utilizados ($p < 0,05$), fixou-se então como parâmetro do E_{step} , o valor de -0,012 V para os estudos posteriores.

O próximo parâmetro avaliado foi o efeito da modulação da amplitude sobre a resposta eletroquímica de BZ3, variada entre 0,05 a 0,13 V (com intervalos de 0,02 V), com resultados demonstrados na Figura 26.

Figura 26. Gráfico de intensidade de corrente vs potencial obtidos na avaliação do efeito da modulação da amplitude na resposta eletroquímica do BZ3. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,0), 1 mg L⁻¹ de BZ3. Parâmetros da DPV: E_{inicial}: -1,0 V; E_{final}: -1,3 V; t_m: 0,05 s; v: 25 mV s⁻¹; E_{deposição}: -0,07 V; E_{step}: -0,012 V e t_{deposição}: 240 s.



Como observado na Figura 26, a maior corrente de pico é obtida quando uma amplitude de 0,09 V é aplicada (2,19 ± 0,066 µA). No Teste de *Tukey* realizado, o valor de p foi menor que 0,05 ($p < 0,05$) para a média de intensidade de corrente encontrada para o valor de 0,09 V e a média dos demais valores testados, e por isso, a modulação de amplitude de 0,09 V foi escolhida para as próximas etapas do trabalho.

Em síntese, as condições do método voltamétrico para a determinação de BZ3 utilizando o sensor eletroquímico CB-PEC-RF/GCE em amostras de formulações cosméticas otimizadas, estão sumarizadas na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros otimizados para a determinação de BZ3 por DPV utilizando CB-PEC-RF/GCE.

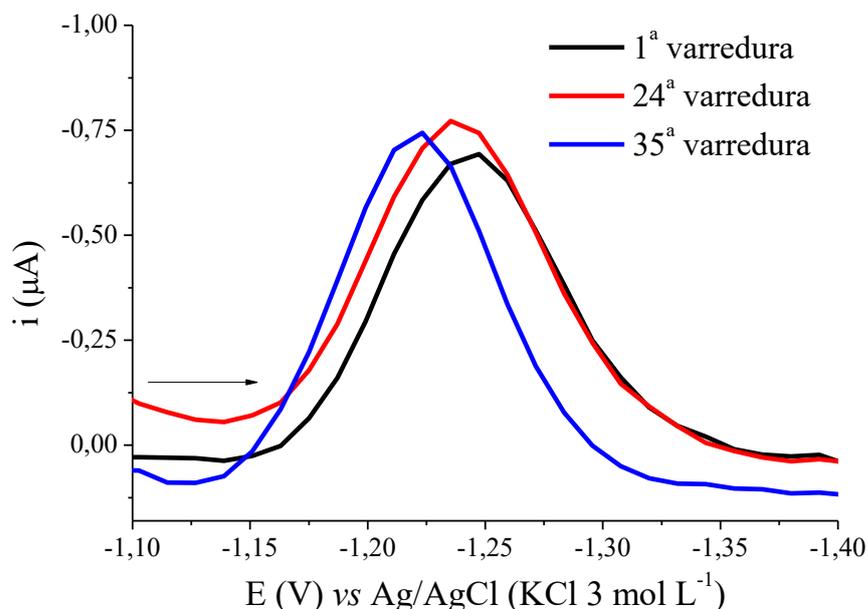
Parâmetro	Condição otimizada
	25 ciclos em solução de $K_4Fe(CN)_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$
Procedimento de reticulação da pectina	Condições CV: varreduras anódicas e catódicas de $-0,3$ a $0,9 \text{ V}$ com velocidade de varredura de 100 mV/s .
pH	6,0
Composição do eletrólito	Tampão BR
Concentração do eletrólito	$0,1 \text{ mol L}^{-1}$
Potencial de deposição	$-0,7 \text{ V}$
Potencial <i>step</i>	$-0,012 \text{ V}$
Modulação da amplitude	$0,09 \text{ V}$
Potencial inicial	$-0,5 \text{ V}$
Potencial final	$-1,5 \text{ V}$

Destaca-se também o tempo hábil de preparo do sensor CB-PEC-RF/GCE, que é de cerca de 12 horas, mas apesar de ser um tempo longo, aproveita-se o final de expediente no laboratório para a imobilização do filme e posterior evaporação do solvente por *overnight* e no dia seguinte, com aproximadamente 10 minutos a reticulação física do sensor é realizada podendo-se então utilizar o CB-PEC-RF/GCE preparado em várias análises ao longo do dia, assim como demonstrado no estudo de estabilidade apresentado a seguir.

5.4 Estabilidade da resposta de BZ3 em CB-PEC-RF/GCE

Na Figura 27, estão apresentados alguns dos voltamogramas obtidos afim de investigar a estabilidade da resposta eletroquímica de BZ3 em CB-PEC-RF/GCE.

Figura 27. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo da estabilidade do sensor eletroquímico na presença de 2 mg L^{-1} de BZ3 no eletrodo CB-PEC-RF/GCE. Condições experimentais: 15 mL de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,0), 2 mg L^{-1} de BZ3. Parâmetros da DPV: E_{inicial} : $-1,1 \text{ V}$; E_{final} : $-1,4 \text{ V}$; t_m : $0,05 \text{ s}$; v : 25 mV s^{-1} ; $E_{\text{deposição}}$: $-0,07 \text{ V}$; E_{step} : $-0,012 \text{ V}$; amplitude: $0,09 \text{ V}$ e $t_{\text{deposição}}$: 240 s .

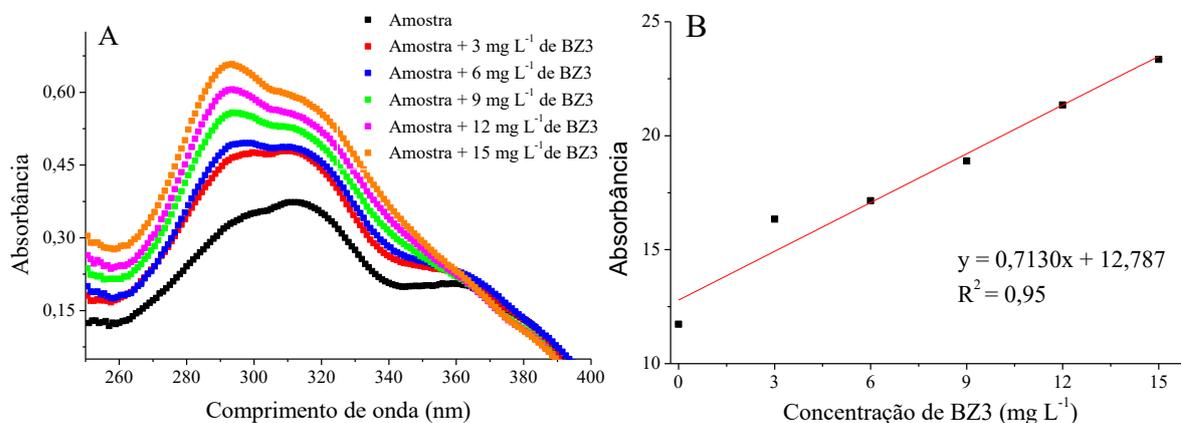


Pode-se observar na Figura 27, que os valores de correntes obtidos na 1ª, 24ª e 35ª varredura praticamente não são alterados obtendo-se um RSD de 9%. A estabilidade da resposta de corrente de BZ3 em CB-PEC-RF/GCE pode ser atribuída à boa aderência do filme na superfície do GCE, além do processo de reticulação física da pectina que contribui para que a mesma não se solubilize em meio aquoso, fazendo com que o CB também não se desprenda da superfície do eletrodo.

5.5 Teste preliminar de análise da amostra

O método espectrofotométrico foi utilizado para a determinação de BZ3 em uma amostra de protetor solar FPS 60, sendo os experimentos realizados em triplicata. Ressalta-se ainda que, os resultados obtidos foram apenas um teste preliminar realizado e serão repetidos assim que possível. O espectro de absorção e respectiva curva analítica na matriz para este teste, estão demonstrados na Figura 28.

Figura 28. Espectro de absorção obtido para a amostra de protetor solar contendo BZ3 através da análise por adição de padrão (A) e sua respectiva curva analítica (B).



É possível observar no espectro de absorbância (Figura 28A) que BZ3 apresenta maior absorção na faixa de 280 a 325 nm, assim como descrito na literatura (KIM; CHOI, 2014). Porém, observa-se que há efeito de matriz, confirmado pelo perfil da curva analítica.

Utilizando a equação da reta obtida na Figura 28B, a concentração média de BZ3 encontrada na amostra foi de 352,97 mg L⁻¹ com um RSD de 1,55%, o que leva a uma porcentagem média de 35,3% (m/m) de BZ3 no frasco de amostra adquirida para análise. Em comparação com trabalhos encontrados na literatura, esta concentração encontra-se muito acima do que já foi relatado em amostras de protetores solares, que obtiveram concentrações em torno de 3 a 4%, abaixo do que é permitido pela legislação (10% de BZ3 na formulação pronta para uso) (ANVISA, 2016), utilizando métodos como espectrofotometria UV/Vis (CHISVERT, *et al.*, 2001), HPLC-UV/Vis (SALVADOR e CHISVERT, 2005; CHISVERT, *et al.*, 2013), GC-MS/MS (VILA, *et al.*, 2015) e voltametria (LARANJEIRA, *et al.*, 2011; NEVES, *et al.*, 2018; SILVA, *et al.*, 2006; SUNYER, *et al.*, 2019).

Esta alta concentração encontrada deve-se ao fato de que o efeito de matriz está muito presente na amostra e para diminuí-la o método de preparo de amostra assim como o método de calibração (para a construção da curva) deverá sofrer algumas alterações. Assim, acredita-se que resultados mais confiáveis serão obtidos

para posterior comparação com a análise da amostra utilizando o método otimizado com o sensor CB-PEC-RF/GCE, em ações futuras.

6. EXPERIMENTOS ADICIONAIS

Devido à pandemia de Covid-19 que se alastrou não somente no Brasil, mas em todo o mundo e obrigou representantes governamentais a tomarem medidas de isolamento social, o que consequentemente afetou as atividades de pesquisa da FURG, parte das atividades experimentais deste trabalho teve de ser suspensa nos meses que antecederam a sua defesa. Por isso, quando as atividades forem retomadas, alguns experimentos irão ser realizados para completar o trabalho com o intuito de publicar o artigo referente a essa dissertação.

Os experimentos a serem realizados, são:

- Avaliação da faixa de trabalho, exatidão, precisão, limite de detecção e quantificação instrumental e do método utilizando CB-PEC-RF/GCE;
- Avaliar a influência de compostos interferentes (como outros filtros UV orgânicos 3-(4-metilbenzilideno) cânfora, 2-etilhexil 4-metoxicinamato e octocrileno) na resposta eletroquímica de BZ3, utilizando CB-PEC-RF/GCE;
- Analisar a amostra de protetor solar FPS 60 pelo método otimizado com CB-PEC-RF/GCE, afim de avaliar a exatidão do método proposto comparando-se aos resultados que serão repetidos por espectrofotometria UV/Vis;
- Avaliar a dispersão CB-PEC-RF por espectroscopia de energia dispersiva para avaliar a constituição dos cristais formados após tratamento eletroquímico do sensor;
- Analisar o sensor desenvolvido por espectroscopia de impedância eletroquímica afim de avaliar a resistência à transferência de carga do CB-PEC/GCE, CB-PEC-GA/GCE, CB-PEC-ECH/GCE e CB-PEC-RF/GCE;
- Realizar análise por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier e análise termogravimétrica de CB-PEC-GA, CB-PEC-ECH e CB-PEC-RF para confirmar os sítios ativos aos quais acontecem os diferentes tipos de reticulação e avaliar a influência da temperatura sobre o material reticulado;
- Determinar a área eletroativa de CB-PEC-RF/GCE.

7. CONCLUSÕES

Através das avaliações realizadas até o momento, é possível inferir que o CB-PEC-RF/GCE apresenta potencial para ser aplicado na quantificação de BZ3. O CB-PEC-RF/GCE se mostrou de fácil preparo, que com apenas 25 voltametrias cíclicas em solução de $K_4Fe(CN)_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, reticula a pectina do filme formado com CB e deixa os sítios de interação livres na pectina para BZ3 se reduzir, apresentando uma melhora na quantificação de BZ3, além de apresentar boa estabilidade.

Em análise realizada por MEV, observou-se a formação de cristais na superfície do filme após tratamento eletroquímico, o que torna o sensor desenvolvido ainda mais interessante, já que tal procedimento de preparo de eletrodo com pectina ainda não foi descrito na literatura. Porém, experimentos adicionais ainda precisam ser realizados para confirmar a constituição elementar destes cristais e confirmar os sítios de interação entre a pectina e os diferentes tipos de reticulantes estudados neste trabalho.

Em experimentos posteriores, serão feitas avaliações com o intuito de comprovar a aplicabilidade do sensor eletroquímico desenvolvido através da análise de amostra real, comparando-se os resultados obtidos com o método comparativo (espectrofotometria UV/Vis). Além disso, um estudo eletroquímico (utilizando espectroscopia de impedância eletroquímica) dos diferentes sensores estudados (CB-PEC/GCE, CB-PEC-GA/GCE, CB-PEC-ECH/GCE e CB-PEC-RF/GCE) será realizado para corroborar com os resultados já obtidos, onde o CB-PEC-RF/GCE demonstrou ter uma maior transferência de cargas. Com isso, objetiva-se aplicar com sucesso o método voltamétrico otimizado com CB-PEC-RF/GCE na análise de BZ3 em amostras de formulações cosméticas, além de colaborar com estudos futuros sobre a utilização de polímeros naturais e materiais carbonáceos na fabricação de sensores eletroquímicos de baixo custo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGHA, N. Y.; HAIDAR, S.; AL-KHAYAT, M. A. Development and validation of RP-HPLC method for analysis of four UV filters in sunscreen products. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 23, n. 2, p. 254–258, 2013.
- ALMEIDA, C. et al. Determination of trace levels of benzophenone-type ultra-violet filters in real matrices by bar adsorptive micro-extraction using selective sorbent phases. **Journal of Chromatography A**, v. 1311, p. 1–10, 2013.
- AN, J.; ANDERSON, J. L. Determination of UV filters in high ionic strength sample solutions using matrix-compatible coatings for solid-phase microextraction. **Talanta**, v. 182, n. November 2017, p. 74–82, 2018.
- ANVISA. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos: Uma abordagem sobre os ensaios físicos e químicos**, 2008.
- ANVISA. Resolução RDC n. 69 de 23 de março de 2016. **Brasil**, v. 2016, p. 1–8, 2016.
- APEL, C.; JOERSS, H.; EBINGHAUS, R. Environmental occurrence and hazard of organic UV stabilizers and UV filters in the sediment of European North and Baltic Seas. **Chemosphere**, v. 212, p. 254–261, 2018.
- ARAÚJO, M. J. et al. Effects of UV filter 4-methylbenzylidene camphor during early development of *Solea senegalensis* Kaup, 1858. **Science of the Total Environment**, v. 628–629, p. 1395–1404, 2018.
- ARÉVALO, F. J. et al. Development of an electrochemical sensor for the determination of glycerol based on glassy carbon electrodes modified with a copper oxide nanoparticles/multiwalled carbon nanotubes/pectin composite. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 244, p. 949–957, 2017.
- ARIÑO, C. et al. Voltammetric determination of metal ions beyond mercury electrodes. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 990, p. 11–53, 2017.
- ARULRAJ, A. D. et al. Femtomolar detection of mercuric ions using polypyrrole, pectin and graphene nanocomposites modified electrode. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 483, p. 268–274, 2016.
- ASADIAN, E.; GHALKHANI, M.; SHAHROKHIAN, S. Electrochemical sensing based on carbon nanoparticles: A review. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 293, n. April, p. 183–209, 2019.
- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. John Wiley & Sons, Inc: 2 ed, 2001.
- BONI, A. C. et al. Application of a biomimetic sensor based on iron phthalocyanine chloride: 4-methylbenzylidene-camphor detection. **Journal of the Brazilian Chemical**

Society, v. 21, n. 7, p. 1377–1383, 2010.

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. Principles , Methods , and Applications, 1993.

BROWN, K. L. Electrochemical Preparation and Characterization of Chemically Modified Electrodes. **Voltammetry**, p. 1–15, 2019.

CADENA-AIZAGA, M. I. et al. Organic UV filters in marine environments: An update of analytical methodologies, occurrence and distribution. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 25, 2020.

CALAFAT, A. M. et al. Concentrations of the sunscreen agent benzophenone-3 in residents of the United States: National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2004. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 7, p. 893–897, 2008.

CARDOSO, J. C. et al. Determination of 4-methylbenzilidene camphor in sunscreen by square wave voltammetry in media of cationic surfactant. **Microchemical Journal**, v. 85, n. 2, p. 301–307, 2007.

CARDOSO, J. C.; ARMONDES, B. M. L.; FERREIRA, J. B. G. J. E. V. S. Simultaneous electrochemical determination of three sunscreens using cetyltrimethylammonium bromide. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 63, n. 1, p. 34–40, 2008.

CELUS, M. et al. Influence of Pectin Structural Properties on Interactions with Divalent Cations and Its Associated Functionalities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 6, p. 1576–1594, 2018.

CHANDRASEKARAN, M.; NOEL, M.; KRISHNAN, V. Glassy carbon surface effects on the electroreduction of aromatic carbonyl compounds . II* benzophenone. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, v. 56, p. 2055–2066, 1991.

CHANG, N. I.; YOO, M. Y.; LEE, S. H. Determination of fourteen sunscreen agents in cosmetics using high-performance liquid chromatography. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 37, n. 2, p. 175–180, 2015.

CHEN, L. et al. Multigenerational effects of 4-methylbenzylidene camphor (4-MBC) on the survival, development and reproduction of the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Aquatic Toxicology**, v. 194, n. November 2017, p. 94–102, 2018.

CHIRUG, L. et al. Iron ions as mediators in pectin-flavonols interactions. **Food Hydrocolloids**, v. 84, n. June, p. 441–449, 2018.

CHISVERT, A. et al. An overview of the analytical methods for the determination of organic ultraviolet filters in biological fluids and tissues. **Analytica Chimica Acta**, v. 752, p. 11–29, 2012.

CHISVERT, A.; SALVADOR, A. **Ultraviolet Filters in Cosmetics: Regulatory Aspects and Analytical Methods**. Elsevier B.V., 2018.

CHISVERT, A.; SALVADOR, A.; PASCUAL-MARTÍ, M. C. Simultaneous determination of oxybenzone and 2-ethylhexyl 4-methoxycinnamate in sunscreen formulations by

flow injection-isodifferential derivative ultraviolet spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 428, n. 2, p. 183–190, 2001.

CHISVERT, A.; TARAZONA, I.; SALVADOR, A. A reliable and environmentally-friendly liquid-chromatographic method for multi-class determination of fat-soluble UV filters in cosmetic products. **Analytica Chimica Acta**, v. 790, p. 61–67, 2013.

CINDIO, B.; GABRIELE, D.; LUPI, F. R. **Pectin: Properties Determination and Uses**. 1. ed., Elsevier Ltd., 2015.

CUI, S. et al. Effects of pectin structure and crosslinking method on the properties of crosslinked pectin nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 766–774, 2017.

DANOVARO, R. et al. Sunscreens cause coral bleaching by promoting viral infections. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 4, p. 441–447, 2008.

DENCAUSSE, L. et al. Validation of HPLC method for quantitative determination of Tinosorb®S and three other sunscreens in a high protection cosmetic product. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 30, n. 5, p. 373–382, 2008.

DEVASENATHIPATHY, R. et al. Highly selective determination of cysteine using a composite prepared from multiwalled carbon nanotubes and gold nanoparticles stabilized with calcium crosslinked pectin. **Microchimica Acta**, v. 182, n. 3–4, p. 727–735, 2014a.

DEVASENATHIPATHY, R. et al. Highly stable and sensitive amperometric sensor for the determination of trace level hydrazine at cross linked pectin stabilized gold nanoparticles decorated graphene nanosheets. **Electrochimica Acta**, v. 135, p. 260–269, 2014b.

DEVASENATHIPATHY, R. et al. Electrodeposition of gold nanoparticles on a pectin scaffold and its electrocatalytic application in the selective determination of dopamine. **RSC Advances**, v. 4, n. 99, p. 55900–55907, 2014c.

DI TOCCO, A. et al. Development of an electrochemical biosensor for the determination of triglycerides in serum samples based on a lipase/magnetite-chitosan/copper oxide nanoparticles/multiwalled carbon nanotubes/pectin composite. **Talanta**, v. 190, n. July, p. 30–37, 2018.

DINARDO, J. C.; DOWNS, C. A. Can oxybenzone cause Hirschsprung's disease? **Reproductive Toxicology**, v. 86, n. March, p. 98–100, 2019.

DING, X. et al. Reactive low temperature plasma ionization mass spectrometry for the determination of organic UV filters in personal care products. **Talanta**, v. 178, n. September 2017, p. 780–787, 2018.

DOWNS, C. A. et al. Toxicopathological Effects of the Sunscreen UV Filter, Oxybenzone (Benzophenone-3), on Coral Planulae and Cultured Primary Cells and Its Environmental Contamination in Hawaii and the U.S. Virgin Islands. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 70, n. 2, p. 265–288, 2016.

EDWARDS, G. A.; BERGREN, A. J.; PORTER, M. D. Chemically modified electrodes.

Handbook of Electrochemistry, p. 295–327, 2007.

EKPEGHERE, K. I. et al. Distribution and seasonal occurrence of UV filters in rivers and wastewater treatment plants in Korea. **Science of the Total Environment**, v. 542, p. 121–128, 2016.

ELGRISHI, N. et al. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 95, n. 2, p. 197–206, 2018.

FARAHNAKY, A. et al. Physicochemical and mechanical properties of pectin-carbon nanotubes films produced by chemical bonding. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, n. May 2017, p. 8–14, 2018.

FERGUSON, K. K. et al. Environmental phenol associations with ultrasound and delivery measures of fetal growth. **Environment International**, v. 112, n. November 2017, p. 243–250, 2018.

FERREIRA, V. S. et al. Voltammetric analysis of sun-block preparations containing octocrylene and its association with 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone and octyl methoxycinnamate. **Microchemical Journal**, v. 106, p. 378–383, 2013.

FLOR, J.; DAVOLOS, M.; CORRÊA, M. Protetores solares. **Quimica Nova**, v. 30, 1 fev. 2007.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Sunscreen drug products for over-the-counter human use: final monograph. **Federal Register**, v. 64, n. 98, 1999.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Department of Health and Human Services**, CFR 21, Subchapter B, part 177 indirect food additives: polymers, v. 3, 2019.

FREDERIKSEN, H. et al. UV filters analyzed by isotope diluted TurboFlow-LC–MS/MS in urine from Danish children and adolescents. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 220, n. 2, p. 244–253, 2017.

GHAZIPURA, M. et al. Exposure to benzophenone-3 and reproductive toxicity: A systematic review of human and animal studies. **Reproductive Toxicology**, v. 73, p. 175–183, 2017.

GIOKAS, D. L.; SALVADOR, A.; CHISVERT, A. UV filters: From sunscreens to human body and the environment. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 5, p. 360–374, 2007.

HAUNSCHMIDT, M. et al. Identification and semi-quantitative analysis of parabens and UV filters in cosmetic products by direct-analysis-in-real-time mass spectrometry and gas chromatography with mass spectrometric detection. **Analytical Methods**, v. 3, n. 1, p. 99–104, 2011.

HOJEROVÁ, J.; PERÁČKOVÁ, Z.; BERÁNKOVÁ, M. Margin of safety for two UV filters estimated by in vitro permeation studies mimicking consumer habits: Effects of skin shaving and sunscreen reapplication. **Food and Chemical Toxicology**, v. 103, p. 66–78, 2017.

HSIAO, W. Y. et al. Determining ultraviolet absorbents in sunscreen products by combining direct injection with micelle collapse on-line preconcentration capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 1383, p. 175–181, 2015.

HUANG, H. Y. et al. Comparison of microemulsion electrokinetic chromatography and micellar electrokinetic chromatography as methods for the analysis of ten benzophenones. **Electrophoresis**, v. 26, n. 4–5, p. 895–902, 2005a.

HUANG, H. Y. et al. Analyses of benzophenones by capillary electrochromatography using methacrylate ester-based monolithic columns. **Journal of Chromatography A**, v. 1089, n. 1–2, p. 250–257, 2005b.

JANJUA, N. R. et al. Sunscreens in human plasma and urine after repeated whole-body topical application. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 22, n. 4, p. 456–461, 2008.

JAWAHEER, S. et al. Enzyme stabilization using pectin as a novel entrapment matrix in biosensors. **Analytical Letters**, v. 35, n. 13, p. 2077–2091, 2002.

JIMÉNEZ-DÍAZ, I. et al. Simultaneous determination of the UV-filters benzyl salicylate, phenyl salicylate, octyl salicylate, homosalate, 3-(4-methylbenzylidene) camphor and 3-benzylidene camphor in human placental tissue by LC-MS/MS. Assessment of their in vitro endocrine activity. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 936, p. 80–87, 2013.

JONASSEN, H. et al. Preparation of ionically cross-linked pectin nanoparticles in the presence of chlorides of divalent and monovalent cations. **Biomacromolecules**, v. 14, n. 10, p. 3523–3531, 2013.

KALATHAKI, I. et al. Fabrication and characterisation of metal-doped pectin films. **Food Hydrocolloids**, v. 92, n. December 2018, p. 259–266, 2019.

KAWAGUCHI, M. et al. Miniaturized hollow fiber assisted liquid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for determination of benzophenone and derivatives in human urine sample. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 877, n. 3, p. 298–302, 2009.

KHALIKOVA, M. A. et al. Development and validation of ultra-high performance supercritical fluid chromatography method for quantitative determination of nine sunscreens in cosmetic samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 1034, p. 184–194, 2018.

KIM, S.; CHOI, K. Occurrences, toxicities, and ecological risks of benzophenone-3, a common component of organic sunscreen products: A mini-review. **Environment International**, v. 70, p. 143–157, 2014.

KOKULNATHAN, T. et al. Eco-Friendly Synthesis of Biocompatible Pectin Stabilized Graphene Nanosheets Hydrogel and Their Application for the Simultaneous Electrochemical Determination of Dopamine and Paracetamol in Real Samples. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 165, n. 5, p. B240–B249, 2018.

KRAUSE, M. et al. Sunscreens: Are they beneficial for health? An overview of

endocrine disrupting properties of UV-filters. **International Journal of Andrology**, v. 35, n. 3, p. 424–436, 2012.

KRAUSE, M. et al. Exposure to UV filters during summer and winter in Danish kindergarten children. **Environment International**, v. 99, p. 177–184, 2017.

KRITHIGA, N. et al. Specific and selective electrochemical immunoassay for *Pseudomonas aeruginosa* based on pectin-gold nano composite. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 79, p. 121–129, 2016.

KUSRINI, E. et al. Kinetics, mechanism, and thermodynamics of lanthanum adsorption on pectin extracted from durian rind. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 5, p. 6580–6588, 2018.

KYOMUGASHO, C. et al. Pectin nanostructure influences pectin-cation interactions and in vitro-bioaccessibility of Ca^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} and Mg^{2+} -ions in model systems. **Food Hydrocolloids**, v. 62, p. 299–310, 2017.

LARANJEIRA, M. T. et al. Analytical Determination of Benzophenone-3 in Sunscreen Preparations Using Boron-Doped Diamond Electrodes. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 02, n. 03, p. 383–391, 2011.

LASCOL, M. et al. Development of pectin microparticles by using ionotropic gelation with chlorhexidine as cross-linking agent. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 542, n. 1–2, p. 205–212, 2018.

LESELLIER, E.; MITH, D.; DUBRULLE, I. Method developments approaches in supercritical fluid chromatography applied to the analysis of cosmetics. **Journal of Chromatography A**, v. 1423, p. 158–168, 2015.

LESSA, E. F. et al. Orange waste: A valuable carbohydrate source for the development of beads with enhanced adsorption properties for cationic dyes. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 660–668, 2017.

LEVINE, A. Sunscreen use and awareness of chemical toxicity among beach goers in Hawaii prior to a ban on the sale of sunscreens containing ingredients found to be toxic to coral reef ecosystems. **Marine Policy**, n. November 2019, p. 103875, 2020.

LIN, Y. H. et al. Application of a multivariate approach for analyte focusing by micelle collapse-micellar electrokinetic chromatography for analyzing sunscreen agents in cosmetics. **Electrophoresis**, v. 36, n. 19, p. 2396–2403, 2015.

LIU, T.; WU, D. Simultaneous determination of some ultraviolet-absorbing chemicals in sunscreen cosmetics using a high-performance liquid chromatography method. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 33, n. 5, p. 408–415, 2011.

LOPEZ-GAZPIO, J.; GARCIA-ARRONA, R.; MILLÁN, E. Simultaneous determination of multiclass preservatives including isothiazolinones and benzophenone-type UV filters in household and personal care products by micellar electrokinetic chromatography. **Electrophoresis**, v. 36, n. 7–8, p. 1064–1072, 2015.

LORES, M. et al. Positive lists of cosmetic ingredients: Analytical methodology for

regulatory and safety controls - A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 915, p. 1–26, 2016.

LORIGO, M.; MARIANA, M.; CAIRRAO, E. Photoprotection of ultraviolet-B filters: Updated review of endocrine disrupting properties. **Steroids**, v. 131, n. September 2017, p. 46–58, 2018.

LOVRIĆ, M.; SCHOLZ, F. A model for the propagation of a redox reaction through microcrystals. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 1, n. 1, p. 108–113, 1997.

LOZANO, C. et al. Toxicity of UV filters on marine bacteria: Combined effects with damaging solar radiation. **Science of the Total Environment**, v. 722, p. 137803, 2020.

MA, T. et al. Double dispersant-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction coupled with capillary electrophoresis for the determination of benzophenone-type ultraviolet filters in sunscreen cosmetic product. **Electrophoresis**, v. 36, n. 20, p. 2530–2537, 2015.

MACIEL, J. V. et al. A combination of voltammetry of immobilized microparticles and carbon black-based crosslinked chitosan films deposited on glassy carbon electrode for the quantification of hydroquinone in dermatologic cream samples. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 21, n. 10, p. 2859–2868, 2017.

MACIEL, J. V. et al. Electroanalytical determination of eugenol in clove oil by voltammetry of immobilized microdroplets. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 22, n. 7, p. 2277–2285, 2018.

MACIEL, J. V. et al. Polysaccharides derived from natural sources applied to the development of chemically modified electrodes for environmental applications: A review. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 22, p. e00062, 2019.

MANI, V. et al. Electrodeposition of copper nanoparticles using pectin scaffold at graphene nanosheets for electrochemical sensing of glucose and hydrogen peroxide. **Electrochimica Acta**, v. 176, p. 804–810, 2015a.

MANI, V. et al. A simple electrochemical platform based on pectin stabilized gold nanoparticles for picomolar detection of biologically toxic amitrole. **Analyst**, v. 140, n. 16, p. 5764–5771, 2015b.

MAZZARACCHIO, V. et al. Inside the different types of carbon black as nanomodifiers for screen-printed electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 317, p. 673–683, 2019.

MOLINS-DELGADO, D. et al. Determination of UV filters in human breast milk using turbulent flow chromatography and babies' daily intake estimation. **Environmental Research**, v. 161, n. November 2017, p. 532–539, 2018.

NAJAFI-ASHTIANI, H.; BAHARI, A. Optical and cyclic voltammetry behavior studies on nanocomposite film of copolymer and WO₃ grown by electropolymerization. **Synthetic Metals**, v. 217, p. 19–28, 2016.

NEMATOLLAHI, D. et al. Electrochemical oxidation of acetaminophen in aqueous

solutions: Kinetic evaluation of hydrolysis, hydroxylation and dimerization processes. **Electrochimica Acta**, v. 54, n. 28, p. 7407–7415, 2009.

NESAKUMAR, N.; BERCHMANS, S.; ALWARAPPAN, S. Chemically modified carbon based electrodes for the detection of reduced glutathione. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 264, p. 448–466, 2018.

NEVES, R. A. et al. Electrochemical Determination of Sunscreens Agents in Cosmetic Using Square Wave Voltammetry. **Electroanalysis**, v. 31, n. 3, p. 496–503, 2019.

NYEBORG, M. et al. Validation of HPLC method for the simultaneous and quantitative determination of 12 UV-filters in cosmetics. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 32, n. 1, p. 47–53, 2010.

ORSI, D. et al. Simple extraction and HPLC determination of UV-A and UV-B filters in sunscreen products. **Chromatographia**, v. 64, n. 9–10, p. 509–515, 2006.

OSTERWALDER, U.; SOHN, M.; HERZOG, B. Global state of sunscreens. **Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine**, v. 30, n. 2–3, p. 62–80, 2014.

PACHECO, M. R. et al. Glassy carbon electrode modified with carbon black and cross-linked alginate film: a new voltammetric electrode for paraquat determination. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, n. 15, p. 3269–3280, 2019.

PAREDES, E. et al. Ecotoxicological evaluation of four UV filters using marine organisms from different trophic levels *Isochrysis galbana*, *Mytilus galloprovincialis*, *Paracentrotus lividus*, and *Siriella armata*. **Chemosphere**, v. 104, p. 44–50, 2014.

PICOT-ALLAIN, M. C. N.; RAMASAWMY, B.; EMMAMBUX, M. N. Extraction, Characterisation, and Application of Pectin from Tropical and Sub-Tropical Fruits: A Review. **Food Reviews International**, v. 00, n. 00, p. 1–31, 2020.

RANGANATHAN, P. et al. Biocompatible chitosan-pectin polyelectrolyte complex for simultaneous electrochemical determination of metronidazole and metribuzin. **Carbohydrate Polymers**, v. 214, n. March, p. 317–327, 2019.

RANI, K. K. et al. Simple preparation of gold nanoparticle-decorated copper cross-linked pectin for the sensitive determination of hydrogen peroxide. **Ionics**, v. 25, n. 1, p. 309–317, 2019.

RAZAK, O. A.; GAZY, A. A.; WAHBI, A. M. Polarographic determination of phenytoin and benzophenone (as impurity) in pharmaceutical preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, n. 3–4, p. 613–619, 2002.

RIGBY, N. M.; MACDOUGALL, A. J.; RING, S. G.; CAIRNS, P.; MORRIS, V. J. . G. P. A. Observations on the crystallization of oligogalacturonates. **Carbohydrate Research**, v. 328, p. 235–239, jan. 2000.

RUBIO, L. et al. Improvement in the identification and quantification of UV filters and additives in sunscreen cosmetic creams by gas chromatography/mass spectrometry through three-way calibration techniques. **Talanta**, v. 205, n. June, p. 120156, 2019.

SALVADOR, A.; CHISVERT, A. An environmentally friendly (“green”) reversed-phase liquid chromatography method for UV filters determination in cosmetics. **Analytica Chimica Acta**, v. 537, n. 1–2, p. 15–24, 2005.

SCHALKA, S.; REIS, V. M. S. Fator de proteção solar: Significado e controvérsia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 3, p. 507–515, 2011.

SCHNEIDER, S. L.; LIM, H. W. Review of environmental effects of oxybenzone and other sunscreen active ingredients. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 80, n. 1, p. 266–271, 2019.

SEO, C. et al. Elimination efficiency of organic UV filters during ozonation and UV/H₂O₂ treatment of drinking water and wastewater effluent. **Chemosphere**, v. 230, p. 248–257, 2019.

SILVA, A. P.; TRINDADE, M. A. G.; FERREIRA, V. S. Polarographic determination of sunscreen agents in cosmetic products in micellar media. **Talanta**, v. 68, n. 3, p. 679–685, 2006.

SOHN, M. et al. Effect of emollients on UV filter absorbance and sunscreen efficiency. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 205, n. September 2019, p. 111818, 2020.

SUNYER, A. et al. First application of carbon-based screen-printed electrodes for the voltammetric determination of the organic UV filters oxybenzone and octocrylene. **Talanta**, v. 196, n. December 2018, p. 381–388, 2019.

TANG, R. et al. Associations of prenatal exposure to phenols with birth outcomes. **Environmental Pollution**, v. 178, p. 115–120, 2013.

TANG, X. Z. et al. Recent Advances in Biopolymers and Biopolymer-Based Nanocomposites for Food Packaging Materials. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 5, p. 426–442, 2012.

TSUI, M. M. P. et al. Occurrence, distribution and ecological risk assessment of multiple classes of UV filters in marine sediments in Hong Kong and Japan. **Journal of Hazardous Materials**, v. 292, p. 180–187, 2015.

UNIÃO EUROPEIA. Regulamento (CE) N^o1223/2009 Do Parlamento Europeu e do Conselho. **Jornal Oficial da União Europeia**, p. 151, 2009.

VIDAL, L. et al. Chemically surface-modified carbon nanoparticle carrier for phenolic pollutants: Extraction and electrochemical determination of benzophenone-3 and triclosan. **Analytica Chimica Acta**, v. 616, n. 1, p. 28–35, 2008.

VILA, M. et al. Optimization of an analytical methodology for the simultaneous determination of different classes of ultraviolet filters in cosmetics by pressurized liquid extraction-gas chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1405, p. 12–22, 2015.

VILA, M. et al. Determination of fifteen water and fat-soluble UV filters in cosmetics by pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography tandem mass

spectrometry. **Analytical Methods**, v. 8, n. 37, p. 6787–6794, 2016.

WALKINSHAW, M. D.; ARNOTT, S. Conformations and interactions of pectins. I. X-ray diffraction analyses of sodium pectate in neutral and acidified forms. **Journal of Molecular Biology**, v. 153, n. 4, p. 1055–1073, 1981.

WANG, L. H. Simultaneous determination of seven sunscreen benzophenones in cosmetic products by high-performance liquid chromatography. **Chromatographia**, v. 50, n. 9–10, p. 565–570, 1999.

WANG, L. H. Voltammetric behavior of sunscreen agents at mercury film electrode. **Electroanalysis**, v. 14, n. 11, p. 773–781, 2002.

WANG, S. P.; LEE, W. T. Determination of benzophenones in a cosmetic matrix by supercritical fluid extraction and capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 987, n. 1–2, p. 269–275, 2003.

WANG, X. et al. Electrochemical biosensor based on enzyme substrate as a linker: Application for aldolase activity with pectin-thionine complex as recognition element and signal amplification probe. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 83, p. 91–96, 2016.

WATANABE, Y. et al. Metabolism of UV-filter benzophenone-3 by rat and human liver microsomes and its effect on endocrine-disrupting activity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 282, n. 2, p. 119–128, 2015.

WEHR, J. B.; MENZIES, N. W.; BLAMEY, F. P. C. Alkali hydroxide-induced gelation of pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 3, p. 375–378, 2004.

WHARTON, M. et al. Simultaneous Liquid Chromatographic Determination of 10 Ultra-Violet Filters in Sunscreens. **Journal of Chromatographic Science**, v. 53, n. 8, p. 1289–1295, 2015.

WNUK, A. et al. Benzophenone-3 Impairs Autophagy, Alters Epigenetic Status, and Disrupts Retinoid X Receptor Signaling in Apoptotic Neuronal Cells. **Molecular Neurobiology**, v. 55, n. 6, p. 5059–5074, 2018.

WU, Y. W. et al. Cloud point extraction combined with micellar electrokinetic capillary chromatography determination of benzophenones in cosmetic matrix. **Electrophoresis**, v. 29, n. 4, p. 819–826, 2008.

YANG, H. Y. et al. Combination of dynamic hollow fiber liquid-phase microextraction with HPLC analysis for the determination of UV filters in cosmetic products. **Science China Chemistry**, v. 54, n. 10, p. 1627–1634, 2011.

YAZHINI, K. et al. Non-enzymatic sensing of kidney dysfunction biomarker using pectin – MWCNT nanocomposite. **Applied Surface Science**, v. 449, p. 736–744, 2018.

YAZHINI, K.; SUJA, S. K. Synthesis and characterization of hetero-metal oxide nano-hybrid composite on pectin scaffold. **Applied Surface Science**, v. 491, n. June, p. 195–205, 2019.

ZHANG, H.; LEE, H. K. Simultaneous determination of ultraviolet filters in aqueous samples by plunger-in-needle solid-phase microextraction with graphene-based sol-gel coating as sorbent coupled with gas chromatography-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 742, p. 67–73, 2012.

ZHONG, Q. et al. Association of prenatal exposure to phenols and parabens with birth size: A systematic review and meta-analysis. **Science of the Total Environment**, v. 703, n. 81, p. 134720, 2020.