

Desenvolvimento e validação de método voltamétrico para determinação de bisfenol A em amostras de água mineral

Development and validation of voltammetric method to determination of bisphenol A in drinking water samples

Yomenson Bello Mercado¹, Amanda Morais¹ , Sthéfane Valle de Almeida², Camila Alves de Lima¹, Mauro Chierici Lopes¹, Maria Lurdes Felsner^{1,3}, Andressa Galli^{1*} 

¹Universidade Estadual do Centro-Oeste, Departamento de Química. Guarapuava, PR, Brasil.

²Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química. São Carlos, SP, Brasil.

³Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Química. Londrina, PR, Brasil.

e-mail: agalli@unicentro.br, ybellomercado@gmail.com, amanda_123morais@hotmail.com, sthefane-1997@hotmail.com, cami_delima@hotmail.com, mauro@unicentro.br, felsner@unicentro.br

RESUMO

O bisfenol A (BPA) é utilizado como matéria prima na fabricação do plástico e apresenta-se como um desregulador endócrino. Foi realizado o desenvolvimento e a validação de um método voltamétrico para determinação de BPA e o método foi baseado em sensores descartáveis de carbono modificados com *carbon black*. A voltametria de onda quadrada foi selecionada para a determinação do BPA em amostras de água mineral, comercializadas em garrafas plásticas, e este método foi validado por meio das figuras de mérito. Observou-se uma resposta linear no intervalo de concentração de 6,10 a 27,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com valores de limites de detecção e de quantificação iguais a 0,137 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,416 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O método demonstrou seletividade adequada e boa precisão, com desvios padrão relativos entre 0,59 e 9,89%, estando abaixo do limite indicado para esta faixa de concentração. A estimativa da exatidão, em termos de recuperação média, foi obtida na faixa de 58,16 e 118,79%, estando dentro dos limites estabelecidos por órgãos reguladores. Deste modo, os resultados obtidos neste trabalho são viáveis frente a outros trabalhos já reportados na literatura para a determinação de BPA, apresentando-se como uma alternativa rápida e de baixo custo para o monitoramento deste contaminante.

Palavras-chave: Bisfenol A; Voltametria de onda-quadrada; Validação de métodos; Eletrodo impresso; Carbon Black.

ABSTRACT

The bisphenol A (BPA) is a raw material in plastic manufacturing and is known as an endocrine disruptor. The development and validation of a voltammetric method for BPA determination were carried out, based on disposable carbon sensors modified with carbon black. Square-wave voltammetry was selected for BPA determination in mineral water samples, marketed in plastic bottles, and this method was validated using figures of merit. A linear response was observed in the concentration range of 6.10 to 27.4 $\mu\text{mol L}^{-1}$, with detection and quantification limits values of 0.137 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 0.416 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The method demonstrated adequate selectivity and good precision, with relative standard deviations ranging from 0.59 to 9.89%, which were below the indicated limit for this concentration range. Accuracy estimation, in terms of average recovery, ranged from 58.16 to 118.79%, falling within the limits established by regulatory agencies. Thus, the results obtained in this study are viable compared to other studies reported in the literature for BPA determination, presenting themselves as a rapid and cost-effective alternative for monitoring this contaminant.

Keywords: Bisphenol A; Square Wave Voltammetry; Screen Printed Electrode; Carbon Black.

1. INTRODUÇÃO

O bisfenol A (BPA) é um conhecido desregulador endócrino que pode causar danos aos tecidos e órgãos do corpo humano [1, 2]. Em especial, pode-se destacar os danos causados aos sistemas reprodutivo [3, 4] e nervoso [3, 5]. Também, há estudos que associam a exposição ao BPA com problemas no sistema imune e consequente desenvolvimento de alergias [6, 7], surgimento de diferentes tipos de câncer [8–11] e doenças cardiovasculares [12, 13]. O BPA é aplicado amplamente na indústria do plástico, policarbonatos e resinas epóxi [14], de modo que a exposição humana a este composto é significativa e de grande preocupação. Uma vez que uma das principais rotas de entrada do BPA no organismo é oral, é comum encontrá-lo em embalagens de alimentos, sendo facilmente transferido para o alimento em si [15].

Estudos encontraram BPA em amostras de água [16], massa de tomate [17], carnes [2], leite [18], frutas e vegetais [19]. Em garrafas fabricadas com policarbonato, é possível encontrar $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ de BPA ($43,8 \text{ pmol L}^{-1}$) após apenas 2h se exposta à temperatura de 40°C [20]. Em garrafas de polietileno tereftalato (PET), observou-se que o tempo e a temperatura de armazenamento influenciam na liberação de BPA, sendo que quanto maior a temperatura e o tempo, mais BPA é liberado na água [21]. Cerca de 1 semana de exposição à 25°C é suficiente para liberar aproximadamente $11,53 \text{ ng L}^{-1}$ de BPA ($50,5 \text{ pmol L}^{-1}$). Entretanto, se a garrafa for deixada dentro de um carro com temperatura variável, em apenas um dia há liberação de aproximadamente $13,53 \text{ ng L}^{-1}$ de BPA ($59,3 \text{ pmol L}^{-1}$) [22].

Devido à alta exposição e toxicidade, a necessidade de detectar até mesmo quantidades pequenas de BPA em diferentes matrizes é essencial. Embora atualmente a detecção seja realizada por técnicas padrão-ouro (cromatografia e espectrometria de massas) [15, 23], ainda é fundamental o desenvolvimento de novos métodos cada vez mais rápidos, baratos e ambientalmente amigáveis. Dentre os métodos que podem ser desenvolvidos para determinar quantidades traço de BPA, pode-se destacar os que utilizam técnicas eletroanalíticas devido ao baixo custo, a rapidez de análise, a alta sensibilidade, facilidade de manipulação, e nos últimos anos, a miniaturização e a portabilidade destes equipamentos [24–26] que os caracterizam como metodologias mais sustentáveis e eco-amigáveis. Entretanto, é necessário ampliar a validação dos métodos eletroanalíticos para promover sua utilização em razão ao aumento de confiabilidade dos resultados.

A validação se caracteriza como uma série de procedimentos que asseguram a confiabilidade da metodologia a ser utilizada. Para tal propósito, órgãos regulamentadores como o INMETRO [27], recomendam procedimentos experimentais e suas análises estatísticas para averiguar seletividade, ajuste de calibração, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão e exatidão para a faixa de concentração a ser utilizada.

FU *et al.* [28] desenvolveram um sensor baseado na modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo com CB e brometo de cetrimônio (CTAB para detecção de BPA. O sensor modificado apresentou bom DPR% no estudo de interferentes, na precisão, com limite de detecção de $0,013 \mu\text{mol L}^{-1}$, sendo comparável com outros encontrados na literatura. Entretanto, não foi avaliado o efeito da matriz em si na análise, ademais, o método de sinal/ruído para detecção de LD e LQ pode levar a erros quando não há sinal no branco [27]. No mesmo sentido, um eletrodo impresso de carbono modificado com 3 camadas de diferentes substâncias catalíticas, incluindo ouro e platina, apresenta bons resultados [29], porém com uma etapa de preparação do eletrodo complexa. Ambos os trabalhos não apresentam estudos de validação de acordo com alguma diretriz regulamentar, tornando necessário o desenvolvimento de novas metodologias validadas e de baixo custo.

Neste contexto, os eletrodos impressos destacam-se pela possibilidade de diminuir ainda mais o custo, sendo totalmente descartáveis, o que torna as análises rápidas e apresentam a vantagem frente aos eletrodos tradicionais [30, 31]. Estes eletrodos são de simples fabricação e fáceis de modificar e adaptar à sistemas portáteis [32, 33]. Além disso, a modificação de superfícies eletródicas é uma estratégia de baixo custo para melhorar a sensibilidade e seletividade destes sensores, tornando-os capazes de detectar analitos até mesmo em concentrações de nível traço [34]. Um agente modificante comumente utilizado para melhorar o perfil eletroquímico e sinal analítico, o carbon black (CB) apresenta propriedades destacáveis na construção de plataformas eletroquímicas de detecção, como grande área superficial, boa condutividade elétrica e térmica, rápida transferência eletrônica e baixo custo [35–38]. Frente ao uso de outros agentes modificantes comuns (nanopartículas metálicas, polímeros condutores e nanotubos de carbono), o CB se destaca pela facilidade de preparo e custo acessível, sendo vantajoso para aplicação em sensores totalmente descartáveis.

Deste modo, este trabalho apresenta o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica parcialmente validada para determinação de BPA em amostras de água mineral com um eletrodo impresso de carbono modificado com uma única etapa com carbon black. A validação foi realizada por meio das figuras de mérito de linearidade, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), seletividade, precisão e exatidão.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Reagentes e soluções

Bisfenol A (BPA, 99,0%), ácido bórico (99,5%), ácido fosfórico (85,0%) e carbon black (CB, 85,0%) foram adquiridos da Sigma-Aldrich®. Ácido acético glacial (98,0%) foi obtido da Reatec® e álcool etílico absoluto (99,8%) foi obtido da Neon®. Ácido nítrico (65,0%) foi adquirido da Synth® e perclorato de sódio anidro (98,0%) foi obtido da Êxodo Científica®. Dimetilformamida (DMF, 98,0%) e hidróxido de sódio (98,0%) foram obtidos da Merck®.

Todas as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura (Mili-Q, Milipore Corporation®). Para o ajuste do pH destas soluções, utilizou-se NaOH 0,1 mol L⁻¹.

A solução estoque de BPA foi preparada em concentração de 1×10^{-2} mol L⁻¹ em uma mistura de etanol e água ultrapura (10% (v/v)). A solução tampão Britton-Robinson (B-R) foi preparado utilizando ácido fosfórico 0,04 mol L⁻¹, ácido bórico 0,04 mol L⁻¹ e ácido acético 0,04 mol L⁻¹.

Para o uso do CB, 1,0 mg do CB foi suspenso em 5,0 mL de DMF e 5,0 mL de água ultrapura. Posteriormente, a suspensão preparada foi levada ultrassom para homogeneização completa por 60 min, em escalas de 20 minutos.

Na fabricação das células eletroquímicas, foi utilizada tinta de carbono (Gwent-C2160602D2) e tinta de prata/cloreto de prata (Gwent-C2051014P10), ambas obtidas da Gwent® Electronic Materials Ltda.

2.2. Instrumentação eletroquímica

As análises eletroquímicas foram realizadas utilizando voltametria cíclica (VC) e voltametria de onda quadrada (VOQ). Para tal, utilizou-se um potenciostato Microautolab® acoplado a um computador para aquisição dos dados por meio do software NOVA 2.1®.

Utilizou-se um compartimento para inserção da célula eletroquímica com capacidade aproximada de 20 mL. Adicionalmente, foi empregada uma tampa em Teflon® com uma abertura para que a célula fosse anexada e mantida fixa durante as análises. A imersão da célula eletroquímica neste compartimento foi realizada visando facilitar o processo de purga, que foi realizada antes de cada análise. Para isso, empregou-se nitrogênio ultrapuro (N₂), promovendo a agitação da solução entre as medidas eletroquímicas.

2.3. Amostras de água mineral para consumo

A metodologia desenvolvida foi aplicada na detecção de BPA em amostras de água mineral, não gaseificadas, para consumo. Assim, foram utilizadas duas amostras de marcas diferentes, ambas obtidas do comércio local da cidade de Guarapuava (Paraná, Brasil). Os produtos são comercializados em garrafas PET (polietileno tereftalato) e, neste trabalho, foram identificados como Amostra 1 de embalagem azul translúcida e Amostra 2 e 3 com embalagens transparentes.

2.4. Fabricação da célula eletroquímica baseada em SPCE

A célula eletroquímica utilizada foi composta por um arranjo de três eletrodos: eletrodo de referência de Ag/AgCl, eletrodo de trabalho (3,0 mm) e contra-eletrodo de carbono. Assim, a fabricação destas células foi realizada utilizando a técnica de serigrafia, conforme metodologia descrita por AFONSO *et al.* [39]. Utilizou-se uma impressora de corte doméstica (Silhouette® CAMEO 3) e o *software* Silhouette Studio® para a criação do *layout* dos eletrodos. Os demais materiais (vinil adesivo e folha de poliéster) foram adquiridos no comércio local, sendo facilmente acessíveis e de baixo custo. Deste modo, as células eletroquímicas produzidas podem ser descartáveis, o que facilita a análise e minimiza erros de medição relacionados à adsorção do analito à superfície eletródica.

Resumidamente, utilizando a impressora de corte doméstica, foi realizado o corte do *layout* em vinil adesivo e as partes indesejadas foram removidas, formando uma máscara negativa. Esta máscara foi transferida para uma folha de poliéster e, em seguida, foi realizada a aplicação da tinta de carbono com o auxílio de um rodo de serigrafia. A folha de poliéster foi levada à estufa para secagem a 90°C por 30 minutos. Em seguida, realizou-se a aplicação da tinta de Ag/AgCl manualmente, utilizando um pincel de ponta fina e novamente secagem em estufa por 30 minutos a 60°C. Por fim, a máscara negativa foi retirada e um delimitador de área, também fabricado em vinil adesivo na impressora de corte, foi adicionado à célula para definir sua área geométrica e garantir que a solução fosse mantida apenas na região desejada. A célula eletroquímica adotada no trabalho é representada na Figura 1.

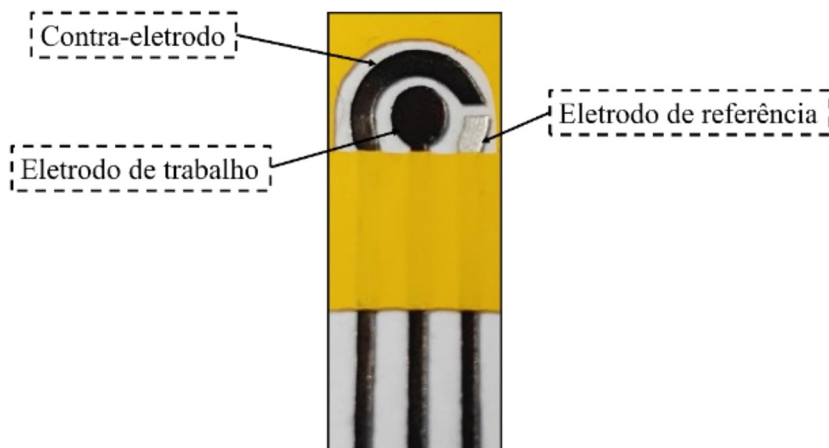


Figura 1: Cella eletroquímica, composta por eletrodo de referência de Ag/AgCl, eletrodo de trabalho de carbono e contra-eletrodo de carbono.

2.5. Modificação do SPCE com CB

O CB foi o agente modificador adotado neste trabalho devido às suas propriedades físico-químicas, alta área superficial, estabilidade química e boa condutividade, o que contribui para uma melhoria na sensibilidade do sensor. Deste modo, utilizou-se a técnica de *drop casting* para adição da suspensão de CB à superfície eletródica, gotejando inicialmente 2,0 μL sobre o eletrodo de trabalho. Após secagem em temperatura ambiente por 3 horas, gotejou-se mais 2,0 μL . O processo de adição da suspensão ao eletrodo foi realizado em duas etapas a fim de obter uma melhor dispersão do modificador sob a superfície do eletrodo de trabalho. A secagem foi realizada novamente a temperatura ambiente, desta vez por 24 horas para secagem completa. Após este período, o sensor SPCE/CB estava pronto para a realização das medidas eletroquímicas.

2.6. Desenvolvimento de metodologia voltamétrica para detecção do BPA

Inicialmente, realizou-se o estudo do comportamento eletroquímico do BPA utilizando o sensor SPCE. Para tal, foram feitos ensaios por VC variando a velocidade de varredura (v) no intervalo de 20 a 150 mVs^{-1} , em um intervalo de potencial de 0,0 V a 0,9 V.

Em seguida, o uso da técnica de VOQ foi avaliado para a detecção do BPA. Deste modo, foram otimizados os parâmetros da técnica, a fim de obter as melhores condições de resposta experimental na determinação do analito. A frequência de pulso de potencial (f) foi avaliada em intervalo de 2,0 a 100 Hz, enquanto a amplitude de potencial (α) foi avaliada entre 1 e 100 mV. O incremento do pulso de potencial (ΔE_s), por sua vez, foi avaliado de 1 a 5 mV.

Todas as análises eletroquímicas foram realizadas em um volume total de 16,8 mL, sendo 800 μL de BPA 0,01 mol L^{-1} e 16 mL de solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} com pH 9,0.

2.7. Validação do método

A validação do método desenvolvido foi realizada avaliando as figuras de mérito: linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), seletividade, precisão (repetibilidade e precisão intermediária) e exatidão (ensaios de recuperação) de acordo com recomendação de guias de validação de métodos e de artigos da literatura [40–44]. Para estes estudos, utilizou-se a técnica de VOQ nas condições otimizadas estabelecidas no item 2.6.

2.8. Linearidade

Para avaliar a linearidade, foi construída uma curva analítica em eletrólito utilizando o método de adição de padrão externo. Foram avaliadas 6 concentrações entre 6,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 27,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sendo cada ponto em triplicata. Por meio da técnica de regressão linear e de um teste de falta de ajuste (ambos no nível de 95% de confiança) foi avaliada a linearidade da metodologia voltamétrica, juntamente com os valores de coeficiente de correlação (r) e coeficiente de determinação (R^2). Estes resultados foram obtidos por meio do *software* Minitab® 18.1.

2.8.1. Limites de detecção e de quantificação

Os valores dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram obtidos pelo método da adição da menor concentração com grau de incerteza satisfatório do analito no branco [27], conforme as Equações 1 e 2, respectivamente, onde s é o desvio padrão da medida dessa concentração e t o valor tabelado para os graus de liberdade usados. As medidas foram no ponto baixo da faixa de trabalho, $12,2 \mu\text{mol L}^{-1}$, em triplicata, tendo o grau de liberdade igual a 2 para um nível de confiança de 0,05%.

$$LD = 0 + t_{n-1, 1-\alpha} \cdot s \quad (1)$$

$$LQ = 0 + 10 \cdot s \quad (2)$$

2.9. Seletividade

A seletividade foi avaliada frente a um composto provável de ser encontrado em amostras de água mineral para consumo: o paracetamol [45]. Para isso, foram preparadas soluções estoque de paracetamol na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. À célula eletroquímica, adicionou-se $350,0 \mu\text{L}$ da solução de BPA $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e realizou-se análise voltamétrica na ausência do interferente (0:1). Em seguida, foram adicionados $350,0 \mu\text{L}$ da solução de paracetamol, na razão de concentração 1:1 frente ao BPA, e a resposta voltamétrica foi obtida na presença do interferente. Avaliou-se a significância da alteração da resposta do BPA causada pela presença de paracetamol por meio da realização de um teste- t a 95% de confiança.

2.10. Precisão

A precisão foi avaliada por meio de estudos de repetitividade (análises realizadas em um mesmo dia) e precisão intermediária (análises realizadas em dias diferentes) de acordo com as recomendações do ICH (2005) [46]. Para cada estudo, foram realizadas análises em três níveis de concentrações dentro da faixa linear utilizada ($12,2 \mu\text{mol L}^{-1}$, $21,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $27,4 \mu\text{mol L}^{-1}$). Assim, para a repetitividade avaliou-se os resultados em triplicata no mesmo dia e condições de análise e para a precisão intermediária avaliou-se a média de triplicatas obtidas em cinco dias consecutivos.

Os estudos foram realizados em eletrólito puro e nas amostras de água mineral (Amostra 1 e Amostra 2) e os resultados obtidos foram expressos em termos de desvio padrão relativo (DPR%), calculado conforme a Equação 3, sendo SD o desvio padrão e \bar{X} a média das medidas experimentais.

$$DPR(\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100 \quad (3)$$

2.11. Exatidão

A exatidão foi avaliada por meio de ensaios de recuperação, avaliando três níveis de concentração ($12,2 \mu\text{mol L}^{-1}$, $21,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $27,4 \mu\text{mol L}^{-1}$) de acordo com as recomendações do INMETRO [27]. Para este estudo, utilizou-se eletrólito puro e ambas as amostras de água mineral (Amostra 1 e Amostra 2). Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em função da porcentagem de recuperação ($Rec\%$), de acordo com a Equação 4. Nesta equação, C_1 é a concentração do analito na amostra fortificada, C_2 é a concentração do analito na amostra não fortificada e C_3 a concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

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

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização eletroquímica do sensor SPCE/CB

Utilizando a técnica de VC, foi realizado um estudo do comportamento eletroquímico do BPA. Para isso, utilizou-se um SPCE sem modificação e um SPCE modificado com CB (SPCE/CB), de modo a comparar o perfil voltamétrico na presença de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de BPA e avaliar a eficiência da modificação do eletrodo. Utilizou-se uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} e solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 9,0.

Conforme observado na Figura 2, a oxidação do BPA ocorre em um potencial de $0,28 \text{ V vs Ag/AgCl}$ e não apresenta pico reverso, indicando que o processo é irreversível. Há melhor definição do pico e do voltamograma

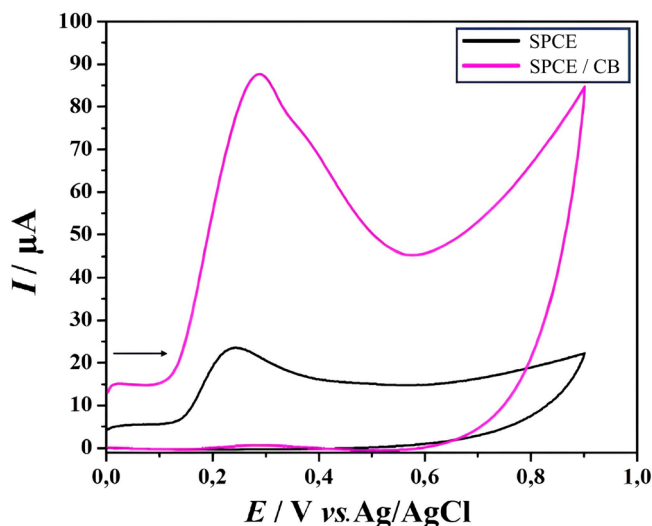


Figura 2: Estudo do comportamento do BPA ($5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) sobre o SPCE sem modificação (—) e modificado com CB (—), em meio de solução tampão Britto-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, ($\text{pH} = 9,0$) e $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$.

no sensor modificado, com pico de oxidação do BPA apresentando maior corrente de pico ($I_p = 60,1 \mu\text{A}$) para o sensor SPCE/CB frente ao observado para o sensor SPCE sem modificação ($I_p = 16,4 \mu\text{A}$). Além disso, houve deslocamento de potencial para região mais positiva no eletrodo modificado, o que se deve ao aumento da área superficial, permitindo assim maior taxa de transferência eletrônica.

Ademais, foi realizado estudo da variação da velocidade de varredura, utilizando um intervalo de potencial de $0,0 \text{ V}$ a $0,9 \text{ V vs Ag/AgCl}$, a fim de avaliar o comportamento eletroquímico do BPA sobre o sensor SPCE/CB. Os voltamogramas cíclicos do BPA obtidos neste estudo podem ser visualizados na Figura 3A. É possível observar um aumento do sinal de I_p com o aumento da velocidade de varredura, com deslocamento dos potenciais de pico para regiões mais positivas. Como observado anteriormente, não há presença de pico de redução, indicando a irreversibilidade do sistema.

Adicionalmente, houve um melhor ajuste linear para I_p em função da raiz quadrada da velocidade de varredura no intervalo de 20 a 150 mV s^{-1} (Figura 3C), que a velocidade do processo de óxido-redução do BPA é controlada pela difusão das espécies à superfície eletródica (Figura 3C). O gráfico de logaritmo da intensidade de corrente em função do logaritmo da velocidade de varredura (Figura 3D) apresentou comportamento linear com inclinação de $0,90$. Este valor está próximo ao encontrado na literatura para sistemas irreversíveis controlados pela adsorção das espécies que prevê uma inclinação próxima a $1,0$. Portanto, pode-se afirmar que o processo de oxidação do BPA é controlado por transferência de massa, seguido de etapas de adsorção. Além disso, a taxa de varredura é aumentada potencialmente e muda para potenciais mais positivos durante o processo da oxidação do BPA, confirmando a irreversibilidade da reação do processo de óxido-redução do BPA [25].

3.2. Otimização dos parâmetros da Voltametria de Onda Quadrada (VOQ)

Os parâmetros da técnica de VOQ foram estudados de modo a obter maior sensibilidade e melhor definição do sinal analítico a ser analisado. Assim, avaliou-se a frequência de pulso de potencial (2 a 100 Hz), amplitude de potencial (10 a 100 mV) e incremento do pulso de potencial (1 a 5 mV). Os voltamogramas podem ser visualizados na Figura 4.

Como pode ser observado na Figura 4A, com o aumento no valor da frequência ocorre uma diminuição na intensidade de corrente de pico como resposta da óxido-redução do BPA, bem como deslocamento dos potenciais de pico para regiões mais positivas. Além disso, a partir de 30 Hz há menor definição do voltamograma, levando à alta interferência de ruído no pico de corrente do analito. Isto ocorre devido à cinética da reação para compostos orgânicos que contém anéis aromáticos homocíclicos ou heterocíclicos com grupos ligantes eletroativos. Estes grupos podem sofrer reduções totalmente irreversíveis devido à baixa velocidade de transferência de carga, ou muitas vezes por inativação do produto de redução [47]. Deste modo, optou-se por utilizar uma frequência de 2 Hz .

Na Figura 4B são ilustrados os voltamogramas obtidos para diferentes valores de amplitude. Observa-se que o maior sinal analítico foi encontrado para amplitude de 20 mV , com deslocamentos para potenciais mais

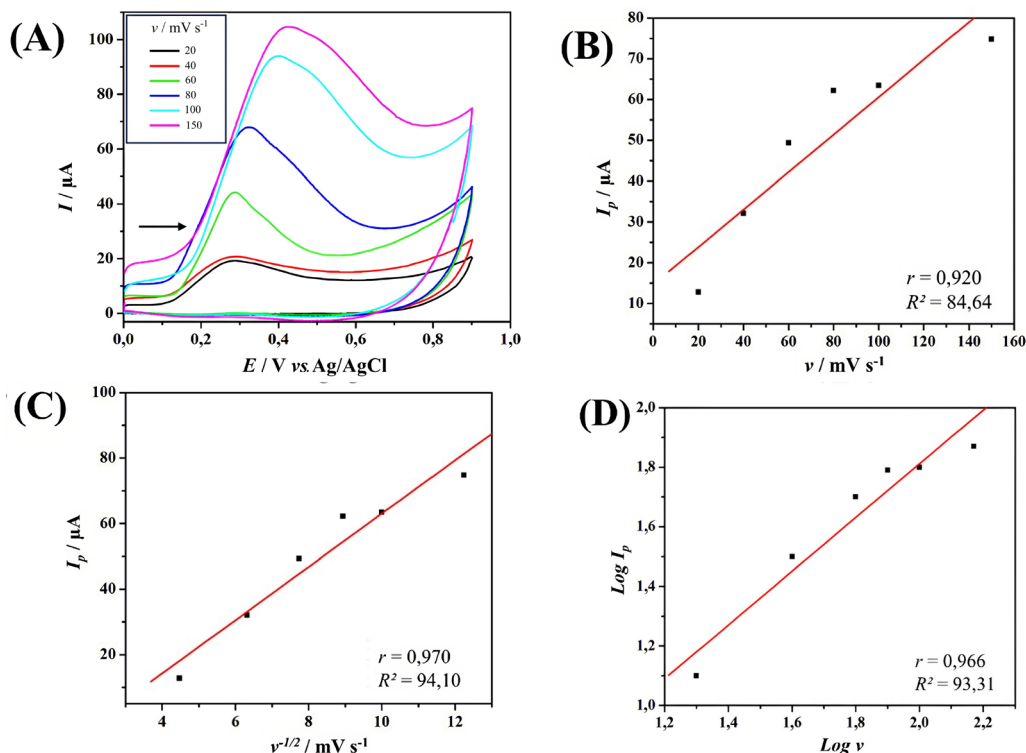


Figura 3: Estudo de velocidade de varredura pela técnica de voltametria cíclica sobre eletrodo de carbono impresso modificado com *carbon black* na presença de $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de BPA em solução tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos com velocidades de 20, 40, 60, 80, 100 e 150 mV s⁻¹; (B) Resposta da I_p em função da v ; (C) Resposta da I_p em função da $v^{1/2}$ do logaritmo da v ; (D) Resposta do $\log I_p$ em função do $\log v$.

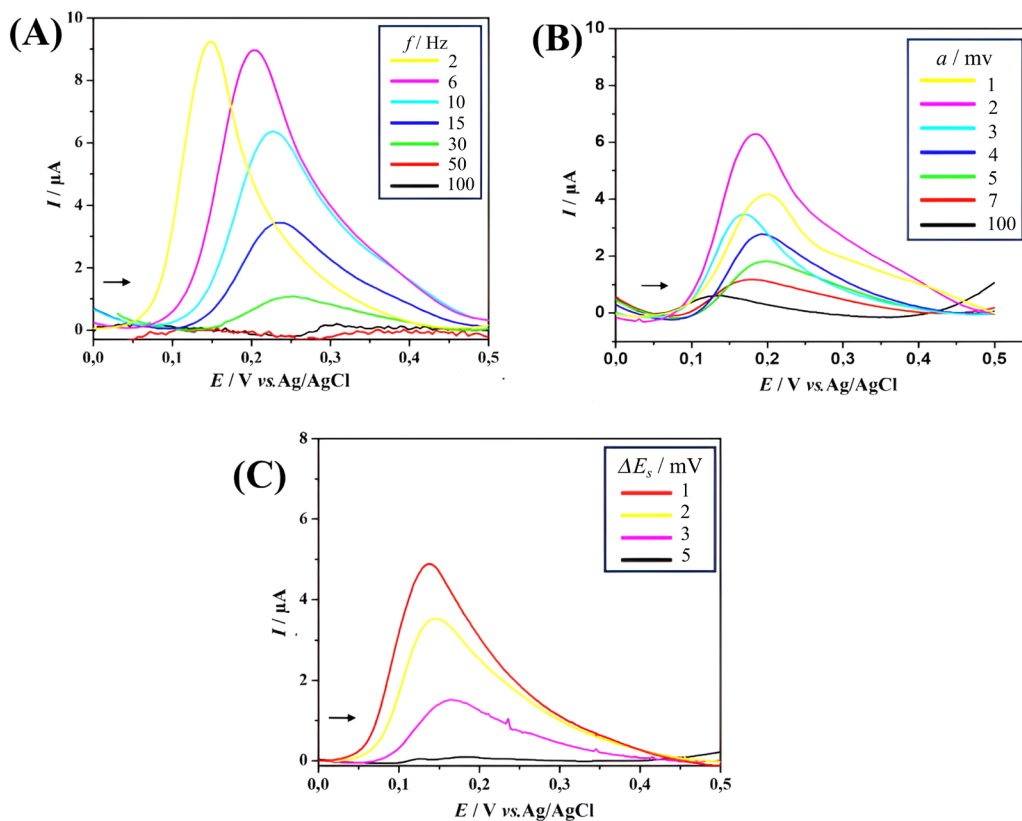


Figura 4: Otimização dos parâmetros da técnica de VOQ para detecção voltamétrica de BPA ($5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, pH = 9,0 solução tampão BR 0,1 mol L⁻¹) sobre SPCE modificado com *carbon black*. (A) Variação da frequência da onda quadrada ($a = 20$ mV, $\Delta E_s = 5$ mV). (B) Variação da amplitude dos pulsos de potencial da onda quadrada ($f = 2$ Hz, $\Delta E_s = 5$ mV). (C) Variação do incremento de potencial da onda quadrada ($a = 20$ mV, $f = 2$ Hz).

positivos na medida em que é diminuída a amplitude da onda e uma melhor definição do voltamograma. Portanto, 20 mV foi escolhido como o valor da amplitude da onda adequada para o desenvolvimento da metodologia. Por fim, a Figura 4C apresenta a variação da resposta voltamétrica frente à diferentes valores de incremento. É possível observar que com o aumento do incremento de varredura ocorreu uma diminuição na intensidade de corrente de pico e deslocamento dos potenciais de pico para regiões mais negativas, com alargamentos dos voltamogramas que comprometem a resolução do mesmo. Desta forma, optou-se em trabalhar com o valor de 1 mV de incremento de varredura, devido ao maior sinal de corrente de pico e à melhor definição do voltamograma.

Deste modo, devido à obtenção do melhor sinal analítico e maior intensidade de corrente de pico, os parâmetros escolhidos para o desenvolvimento do método foram: frequência de 2 Hz, amplitude igual à 20 mV e incremento de 1 mV.

3.3. Validação do método

3.3.1. Linearidade

A linearidade do método voltamétrico foi avaliada com base na construção de uma curva analítica pelo método da adição de padrão externo com concentrações na célula eletroquímica entre 6,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 27,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os voltamogramas de onda quadrada obtidos para cada concentração de BPA são apresentados na Figura 5A. Observa-se que a corrente de pico aumentou proporcionalmente com o aumento da concentração de BPA adicionada. Ademais, há pequenos deslocamentos do potencial do pico para potenciais mais negativos à medida que aumenta a concentração do BPA, acompanhado de uma melhor definição do voltamograma.

Adicionalmente, a relação corrente do pico vs concentração de BPA foi avaliada por meio de uma análise de regressão linear no nível de 95% de confiança (Figuras 5B, 5C e 5D). Observa-se que no gráfico da curva analítica (Figura 5B), alguns pontos não ficaram dentro do intervalo de confiança, porém, todos estão contidos no intervalo de predição, indicando assim que a estimativa da regressão linear apresenta um grau de incerteza que pode ser considerado adequado.

Os resultados da regressão linear são mostrados na Tabela 1. Nota-se que o coeficiente de correlação r foi de 0,955, sendo próximo a 1. Isto indica uma alta probabilidade da existência de uma relação linear entre a

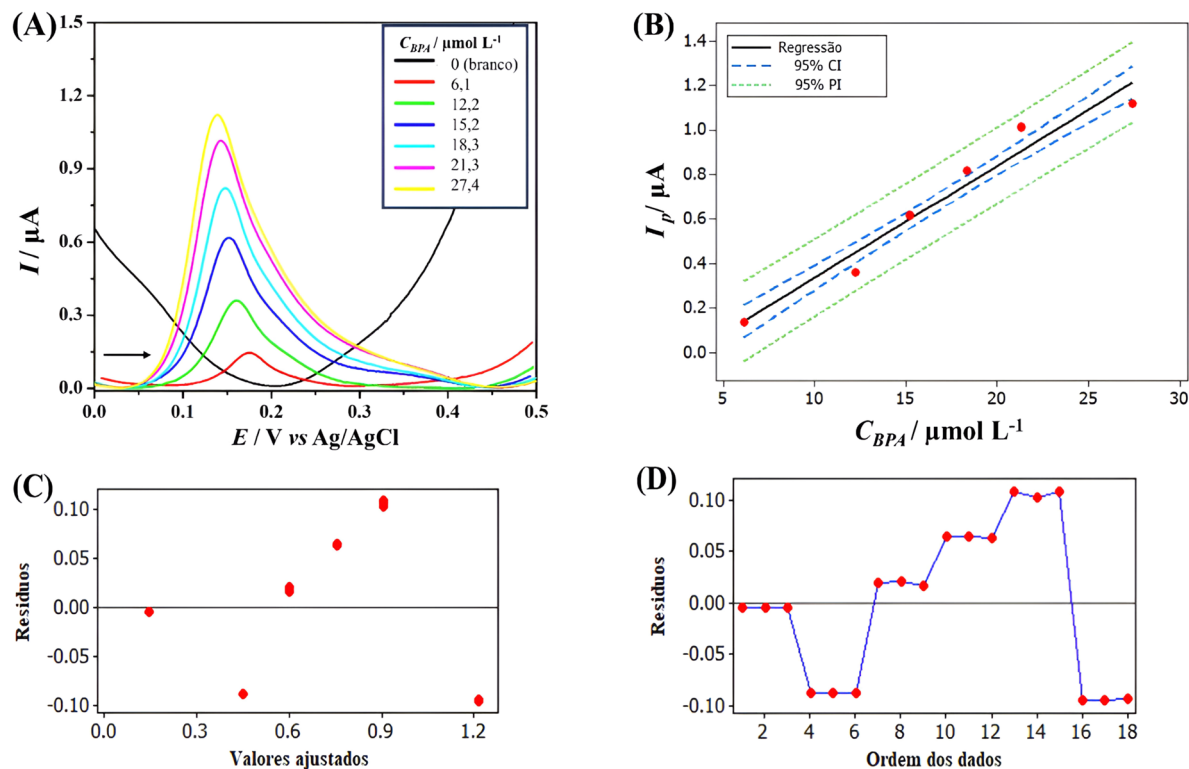


Figura 5: (A) Voltamogramas obtidos em diferentes concentrações de BPA sobre o sensor SPCE/CB. (B) Curva analítica para o BPA. (C) Gráfico de Resíduos x Ajustados. (D) Gráfico de Resíduos x Ordem. Análises realizadas em meio de solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹, pH = 9,0. $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $f = 2 \text{ Hz}$ e $a = 20 \text{ mV}$.

Tabela 1: Dados da regressão linear para a avaliação da linearidade do método voltamétrico.

Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)			6,1–27,4
Regressão	Falta de ajuste	r	$R^2(\%)$
$*F_{\text{regressão}} p$	$**F_{\text{falta de ajuste}} p$	0,955	91,2
342,70 0,000	0,67 0,0000		
Coefficiente da reta \pm erro padrão		$***t_{\text{observado}}$	p
Intercepto: $-0,167 \pm 0,0491$		3,39	0,004
Inclinação: $0,0240 \pm 0,00272$		18,51	0,000

$$*F_{\text{crítico}(0,05;1,16)} = 4,49 \quad **F_{\text{crítico}(0,05;4,12)} = 3,26 \quad ***t_{\text{crítico}(0,05;1,16)} = 2,119$$

resposta de corrente do pico (I_p) e a concentração de BPA. O coeficiente de determinação (R^2) foi igual à 91,2%, indicando que esta é a porcentagem dos dados explicada pelo modelo linear ajustado. O valor de $F_{\text{regressão}} = 342,70$ foi maior do que o valor de $F_{\text{crítico}(0,05;1,16)} = 4,49$. Isto indica que a regressão linear é significativa. Além disso, comparando o valor de F de falta de ajuste ($F_{\text{faj}} = 0,67$) foi menor do que o valor de $F_{\text{crítico}(0,05;4,12)} = 3,26$, o que indica que a falta de ajuste do modelo não é significativa, justificando assim, a adequação dos dados da curva analítica a um modelo linear. Ademais, foi aplicado um teste- t no nível de 95% de confiança para avaliar a significância dos coeficientes da reta de regressão. Nota-se que para o intercepto obteve-se um valor de $t_{\text{calculado}} = 3,39 > t_{\text{crítico}} = 2,12$, indicando sua significância. Da mesma maneira, observou-se $t_{\text{calculado}} = 18,51 > t_{\text{crítico}} = 2,119$. Assim, ambos os coeficientes são estatisticamente significativos neste nível de confiança e devem ser mantidos na equação da curva analítica para o cálculo das concentrações de BPA em amostras de água mineral [48].

Complementarmente, realizou-se uma análise dos gráficos de resíduos obtidos a partir da análise de regressão dos dados da curva analítica com a finalidade de avaliar se a distribuição dos dados é aleatória (Figura 5C) e se nenhum pressuposto da regressão linear foi violado.

É possível observar nesses gráficos que há uma distribuição aleatória dos dados ao redor de zero nos diferentes níveis de concentração, indicando que não há problemas no ajuste do modelo linear aos dados experimentais obtidos. Além disso, pode-se considerar que os resíduos são independentes e apresentam variâncias homogêneas. Por fim, para confirmar a homogeneidade das variâncias nos dados foi realizado um teste de *Cochran* no nível de 95% de confiança. Nota-se que o valor de $g_{\text{calculado}} = 0,4771 < g_{\text{crítico}} = 0,6161$, o que demonstra que não há diferenças estatísticas significativas entre as variâncias nos dados da regressão linear. Deste modo, pode-se corroborar com o gráfico de resíduos sobre existir uma homogeneidade entre estas variâncias.

3.3.2. Limites de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ)

O LD calculado foi de $0,732 \mu\text{mol L}^{-1}$ e o LQ foi de $1,701 \mu\text{mol L}^{-1}$. Esses valores são inferiores ao primeiro valor da concentração utilizada para a construção da curva analítica, indicando assim que o BPA pode ser detectado e quantificado na faixa de trabalho adotada. Ademais, esse valor está abaixo do nível de migração permitido para o BPA em embalagens alimentícias, estabelecido pela ANVISA.

Na Tabela 2 são descritos trabalhos recentes encontrados na literatura que reportam a determinação de BPA em amostras de água utilizando eletrodos impressos e técnicas voltamétricas. São encontrados valores de LD a partir de $0,000438 \mu\text{mol L}^{-1}$ e de LQ a partir de $0,033 \mu\text{mol L}^{-1}$. Embora os valores encontrados em nosso estudo sejam superiores aos reportados na literatura, é preciso salientar que estes trabalhos reportam a modificação de sensores comerciais de carbono, não sendo fabricados em laboratório. Além disso, agentes modificantes como polianilina (PANI) [49] e *quantum dots* (QDs) [50], normalmente adotados nesses estudos requerem maior número de etapas de modificação e também maior custo de síntese e aquisição, consequentemente apresentando maior custo final do método e diminuindo assim sua frequência analítica.

Outro aspecto que deve ser destacado é a forma de cálculo dos limites, uma vez que há várias maneiras diferentes de obter as estimativas para essas figuras de mérito [40–44]. Quando se faz uso do método da curva analítica os valores dos limites são normalmente mais elevados pois incluem os erros envolvidos na construção da curva analítica, mas por outro lado, refletem melhor a variabilidade intrínseca nos dados obtidos a partir da metodologia sendo validada.

3.3.3. Seletividade

Para efeito de estudo da seletividade foi tomado como interferente o paracetamol, um composto que é comumente encontrado nas amostras de água mineral para consumo. Para isso, avaliou-se se haveria ou não mudanças no

Tabela 2: Métodos voltamétricos para detecção de BPA em amostras de água usando eletrodos impressos.

SENSOR	MATRIZ	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	REFERÊNCIA
DPNs/AuNPs/SPCE	Água de torneira	0,00663	Não reportado	[26]
Lacase/PANI/SPE	Água residual	0,000438 (0,1 ppb)	Não reportado	[49]
CdTe@QDs-FG-PEDOT:PSS/SPE	Água de rio	0,034	Não reportado	[50]
MAC-Co-SPE	Água de rio Água mineral Água de torneira	0,010	0,033	[51]
La ³⁺ dopado com Co ₃ O ₄ /SPE	Água de rio Água mineral Água de torneira	0,061	0,18	[52]
GDY-cMWCNT/SPE	Água de lago	0,013	Não reportado	[53]
SPCE/CB	Água mineral	0,732	1,701	Este trabalho

AuNPs: nanopartículas de ouro; CB: *carbon black*; CdTe@QDs: *quantum dots* de CdTe;; FG: grafeno funcionalizado; GDY: grafidino; cMWCNT: nanotubos de carbono de múltiplas paredes carboxilados; DPNs: nanopartículas dendríticas de platina; MAC: carvão ativado magnético; PANI: polianilina; PEDOT:PSS: sulfonato de poliestireno; SPCE: *screen-printed carbon electrode* (eletrodo impresso de carbono); SPE: *screen-printed electrode* (eletrodo impresso).

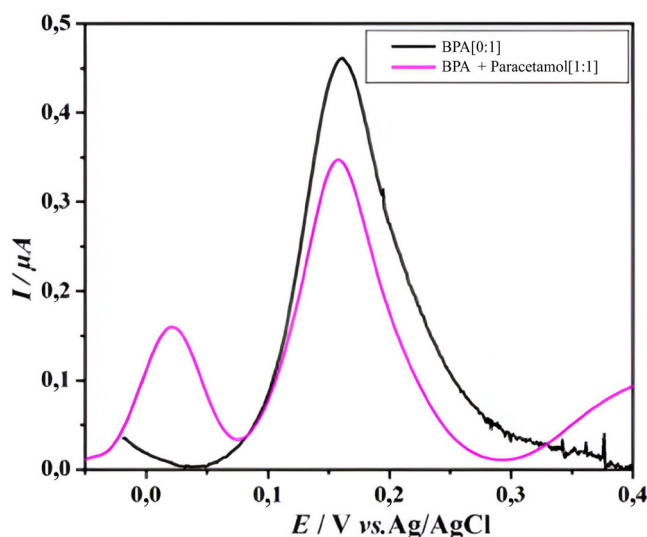


Figura 6: Voltamogramas de estudo de interferência do sinal voltamétrico do BPA para o paracetamol ($21,3 \mu\text{mol L}^{-1}$). Concentração fixa de BPA $21,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R a pH 9,0.

sinal do perfil voltamétrico do BPA na ausência e na presença do interferente. A concentração de BPA foi mantida fixa ($21,3 \mu\text{mol L}^{-1}$) e a mesma concentração de paracetamol foi adicionada à célula eletroquímica (0:1 e 1:1). Os voltamogramas obtidos, como visto na Figura 6, mostraram visualmente que houve uma diferenciação na magnitude do perfil do sinal observado após a adição do interferente. Assim, para averiguar estatisticamente essa interferência, foi realizado um teste-t nível de 95% de confiança para comparar as correntes de pico do BPA com e sem a adição do interferente. O valor de $t_{\text{calculado}} = 0,012 < t_{\text{critico}} = 3,180$, de modo que se pode verificar que não existem diferenças estatísticas significativas entre as médias das correntes obtidas antes e após a adição do paracetamol. Isto significa que o paracetamol não interfere de forma significativa no sinal do perfil voltamétrico do BPA, de modo que afirma-se que a detecção de BPA utilizando o sensor SPCE/CB é seletiva a paracetamol.

Também, foi realizado o efeito de matriz para 3 amostras de água mineral (Figura 7A). Todas as 3 amostras apresentaram uma inclinação para curva de calibração de adição padrão distinta da curva de calibração em padrão externo, dessa forma, apresentando o efeito de matriz. Assim sendo, o LD, LQ, a precisão e exatidão do método foram estimadas para a matriz (Tabela 3). Ademais, nenhuma matriz apresentou sinal de BPA a nível maior que o respectivo LD ou LQ.

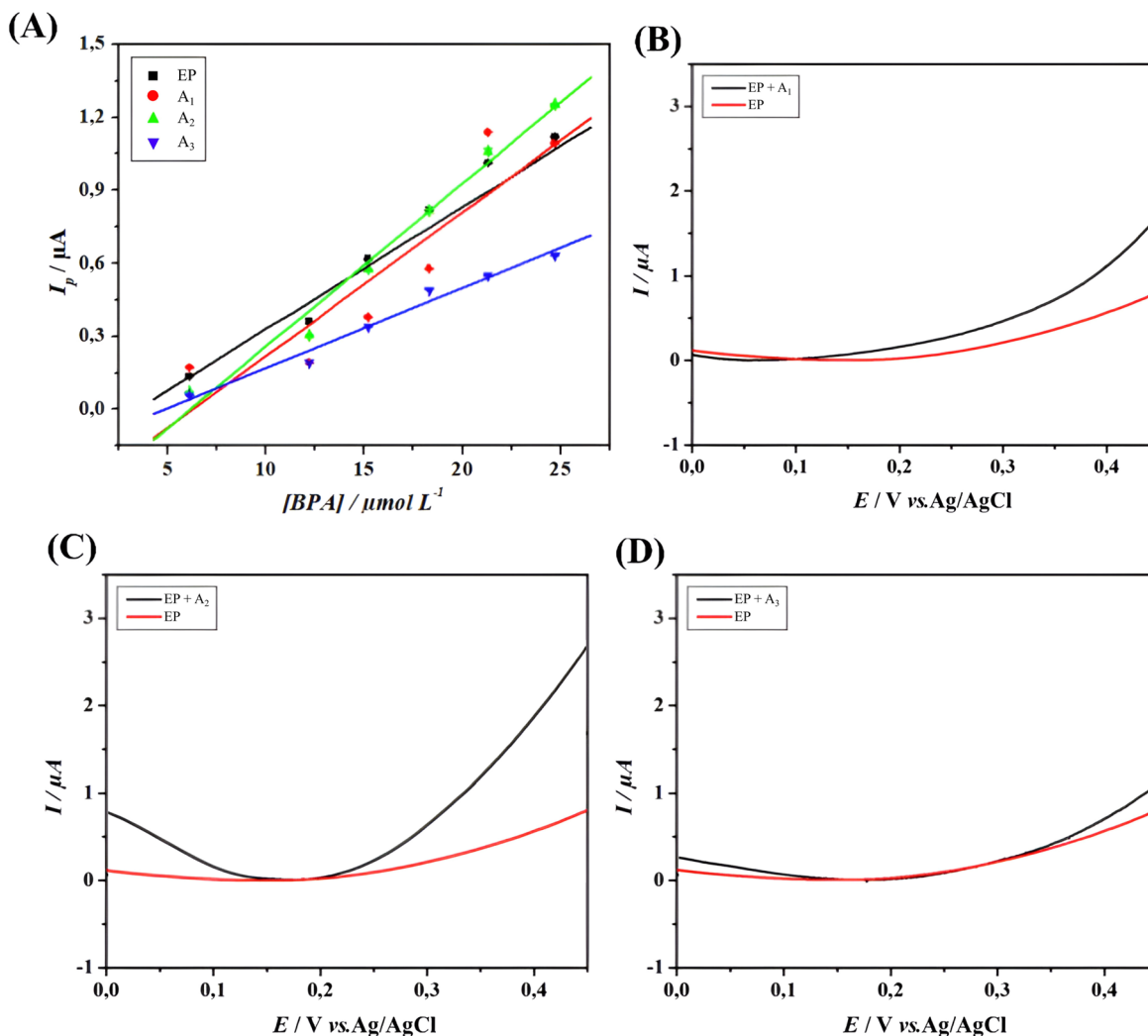


Figura 7: (A) Comparação entre as regressões obtidas para diferentes matrizes e Voltamogramas de onda quadrada sem a presença de BPA comparando o meio de eletrólito puro (solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹, pH = 9,0) e o eletrólito com adição de água para consumo para (B) Amostra 1, (C) Amostra 2 e (D) Amostra 3.

Tabela 3: Equações da reta, limite de detecção e limite de quantificação para cada matriz estudada na metodologia.

AMOSTRA	EQUAÇÃO DA RETA	LD $\mu\text{mol L}^{-1}$	LQ $\mu\text{mol L}^{-1}$
Amostra 1	$-0,50 + 0,06 [\text{BPA}]$	0,39	0,90
Amostra 2	$-0,41 + 0,06 [\text{BPA}]$	0,37	0,86
Amostra 3	$-0,14 + 0,03 [\text{BPA}]$	1,44	3,35

3.3.4. Precisão e Exatidão

A precisão do método desenvolvido foi avaliada em função do desvio padrão relativo (DPR) da concentração de BPA calculada (Tabela 4). Para isso, foram realizados ensaios em triplicatas durante 5 dias ($n = 5$), em três diferentes níveis de concentração, sendo baixo ($12,2 \mu\text{mol L}^{-1}$), médio ($21,3 \mu\text{mol L}^{-1}$) e alto ($27,4 \mu\text{mol L}^{-1}$) de acordo com as recomendações do ICH [47]. A Tabela 3 apresenta os valores encontrados em eletrólito puro e nas amostras de água mineral, 1, 2 e 3. Observa-se que todos os valores, tanto para a repetitividade (DPRR) quanto para a precisão intermediária (DPRPI), encontram-se abaixo do limite máximo recomendado pela literatura que é de 15% [40, 54], indicando que a precisão do método é adequada para faixa de trabalho adotada.

A exatidão foi avaliada por ensaios de recuperação, com adições sucessivas do analito em concentração baixa ($12,2 \mu\text{mol L}^{-1}$), média ($21,3 \mu\text{mol L}^{-1}$) e alta ($27,4 \mu\text{mol L}^{-1}$) de acordo com as recomendações do ICH [43].

Tabela 4: Valores obtidos dos desvios padrão da repetitividade (DPR_R), precisão intermediária (DPR_{PI}) e recuperação para a metodologia.

AMOSTRA	BPA ADICIONADO $\mu\text{mol L}^{-1}$	REPETIBILIDADE DPR%	PRECISÃO INTERMEDIÁRIA DPR%	RECUPERAÇÃO %
Eletrólito puro	12,2	3,48	9,89	84,77
	21,3	0,59	1,33	109,35
	27,4	1,83	3,48	95,81
Amostra 1	12,2	3,21	3,89	88,18
	21,3	2,75	3,73	116,86
	27,4	3,85	4,14	92,14
Amostra 2	12,2	3,65	3,07	93,16
	21,3	1,81	2,78	109,76
	27,4	1,32	1,86	95,45
Amostra 3	12,2	1,57	3,39	93,05
	21,3	2,64	3,06	109,88
	27,4	1,53	2,07	95,38

Com isto, calculou-se a concentração com base na resposta analítica obtida e na curva analítica construída para cada matriz (Tabela 3), obtendo-se assim as porcentagens de recuperação para cada concentração. Conforme pode ser observado na Tabela 4, as recuperações médias obtidas variaram entre 84% e 116%. É recomendado que a recuperação média esteja na faixa de 70 a 120% para análise de resíduos e de 50 a 120% para análise de matrizes muito complexas [40, 55]. Deste modo, os resultados de recuperação estão dentro da faixa esperada e, portanto, demonstram que a exatidão do método proposto é adequada na faixa de trabalho estudada.

4. CONCLUSÃO

Um sensor SPCE/CB foi desenvolvido utilizando materiais de baixo custo e produzido de maneira simplificada. O mesmo, apresentou potencialidade para ser aplicado para a determinação de BPA em amostras de água mineral em garrafas por meio de boa linearidade e baixos valores de LD e LQ, bem como boa precisão e exatidão. A resposta analítica obtida neste trabalho por meio da técnica de voltametria de onda quadrada é rápida, sensível e precisa, apresentando-se como uma alternativa vantajosa frente aos métodos convencionais de análise e a condução da validação como um diferencial a outras metodologias eletroanalíticas. Entretanto, destaca-se a necessidade de em trabalhos futuros avaliar-se a linearidade em matrizes, assim, completando a validação da metodologia. Deste modo, a metodologia criada a partir do sensor SPCE/CB tem potencialidade para a determinação de BPA em água mineral com confiabilidade, uma vez que apresenta bom desempenho nos estudos parciais de validação.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro e as bolsas concedidas pela Coordenação de Aperfeiçoamento do Ensino Superior. Pessoal Educacional – CAPES (bolsa: 001) e Fundação Araucária. Agradecem também ao Grupo de Eletroanalítica e Materiais Nanoestruturados (GEMN) e à UNICENTRO por fornecerem a infraestrutura necessária para esta pesquisa.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] MA, Y., LIU, H., WU, J., *et al.*, “The adverse health effects of bisphenol a and related toxicity mechanisms.”, *Environmental Research*, v. 176, pp. 108575, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2019.108575>. PubMed PMID: 31299621.
- [2] WANG, X., NAG, R., BRUNTON, N.P., *et al.*, “Human health risk assessment of bisphenol A (BPA) through meat products.”, *Environmental Research*, v. 213, pp. 113734, 2022. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2022.113734>. PubMed PMID: 35750124.
- [3] MCDONOUGH, C.M., XU, H.S., GUO, T.L., “Toxicity of bisphenol analogues on the reproductive, nervous, and immune systems, and their relationships to gut microbiome and metabolism: insights from

- a multi-species comparison.”, *Critical Reviews in Toxicology*, v. 51, n. 4, pp. 283–300, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10408444.2021.1908224>. PubMed PMID: 33949917.
- [4] MATUSZCZAK, E., KOMAROWSKA, M.D., DEBEK, W., *et al.*, “The impact of bisphenol a on fertility, reproductive system, and development: a review of the literature.”, *International Journal of Endocrinology*, v. 2019, pp. 4068717, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2019/4068717>. PubMed PMID: 31093279.
- [5] MAKOWSKA, K., GONKOWSKI, S., “Bisphenol A (BPA) affects the enteric nervous system in the porcine stomach.”, *Animals (Basel)*, v. 10, n. 12, pp. 2445, 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.3390/ani10122445>. PubMed PMID: 33419365.
- [6] BERGER, K., ESKENAZI, B., BALMES, J., *et al.*, “Prenatal high molecular weight phthalates and Bisphenol A, and childhood respiratory and allergic outcomes.”, *Pediatric Allergy and Immunology*, v. 30, n. 1, pp. 36–46, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/pai.12992>. PubMed PMID: 30338578.
- [7] WANG, I., CHEN, C.-Y., BORNEHAG, C.-G., “Bisphenol A Exposure may increase the risk of development of atopic disorders in children.”, *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 219, n. 3, pp. 311–316, 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2015.12.001>. PubMed PMID: 26765087.
- [8] LEUNG, Y.-K., GOVINDARAJAH, V., CHEONG, A., *et al.*, “Gestational high-fat diet and bisphenol a exposure heightens mammary cancer risk.”, *Endocrine-Related Cancer*, v. 24, n. 7, pp. 365–378, 2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1530/ERC-17-0006>. PubMed PMID: 28487351.
- [9] NOMIRI, S., HOSHYAR, R., AMBROSINO, C., *et al.*, “A mini review of Bisphenol A (BPA) effects on cancer-related cellular signaling pathways.”, *Environmental Science and Pollution Research International*, v. 26, n. 9, pp. 8459–8467, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-019-04228-9>. PubMed PMID: 30712204.
- [10] SALAMANCA-FERNÁNDEZ, E., RODRÍGUEZ-BARRANCO, M., AMIANO, P., *et al.*, “Bisphenol-A exposure and risk of breast and prostate cancer in the Spanish european prospective investigation into cancer and nutrition study.”, *Environmental Health*, v. 20, n. 1, pp. 88, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/s12940-021-00779-y>. PubMed PMID: 34399780.
- [11] PELLERIN, È., CHABAUD, S., POULIOT, F., *et al.*, “Bisphenol A alters the energy metabolism of stromal cells and could promote bladder cancer progression.”, *Cancers (Basel)*, v. 13, n. 21, pp. 5461, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.3390/cancers13215461>. PubMed PMID: 34771623.
- [12] FONSECA, M.I., LORIGO, M., CAIRRAO, E., “Endocrine-disrupting effects of Bisphenol A on the cardiovascular system: a review.”, *Journal of Xenobiotics*, v. 12, n. 3, pp. 181–213, 2022. doi: <http://dx.doi.org/10.3390/jox12030015>. PubMed PMID: 35893265.
- [13] ZHANG, Y.-F., SHAN, C., WANG, Y., *et al.*, “Cardiovascular toxicity and mechanism of Bisphenol A and emerging risk of Bisphenol S.”, *The Science of the Total Environment*, v. 723, pp. 137952, 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137952>. PubMed PMID: 32213405.
- [14] VOGEL, S.A., “The politics of plastics: the making and unmaking of Bisphenol A ‘safety.’”, *American Journal of Public Health*, v. 99, n. S3, pp. S559–S566, 2009. doi: <http://dx.doi.org/10.2105/AJPH.2008.159228>. PubMed PMID: 19890158.
- [15] VILARINHO, F., SENDÓN, R., VAN DER KELLEN, A., *et al.*, “Bisphenol A in food as a result of its migration from food packaging.”, *Trends in Food Science & Technology*, v. 91, pp. 33–65, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.012>.
- [16] RAZAVIPANAH, I., ROUNAGHI, G.H., DEIMINIAT, B., *et al.*, “A New electrochemical aptasensor based on MWCNT-SiO₂@Au Core-shell nanocomposite for ultrasensitive detection of Bisphenol A.”, *Microchemical Journal*, v. 146, pp. 1054–1063, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2019.02.018>.
- [17] MEHRI-TALARPOSHTI, F., GHORBANI-HASANSARAEI, A., KARIMI-MALEH, H., *et al.*, “Determination of Bisphenol in food samples using an electrochemical method based on modification of a carbon paste electrode with CdO nanoparticle/ionic liquid.”, *International Journal of Electrochemical Science*, v. 15, n. 3, pp. 1904–1914, 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.20964/2020.03.16>.
- [18] ENSAFI, A.A., AMINI, M., REZAEI, B., “Molecularly imprinted electrochemical aptasensor for the attomolar detection of Bisphenol A.”, *Mikrochimica Acta*, v. 185, n. 5, pp. 265, 2018. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00604-018-2810-x>. PubMed PMID: 29691660.
- [19] CAO, P., ZHONG, H., QIU, K., *et al.*, “Exposure to Bisphenol A and its substitutes, Bisphenol F and Bisphenol S from canned foods and beverages on chinese market.”, *Food Control*, v. 120, pp. 107502, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107502>.

- [20] KUBWABO, C., KOSARAC, I., STEWART, B., *et al.*, “Migration of bisphenol A from plastic baby bottles, baby bottle liners and reusable polycarbonate drinking bottles”, *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, v. 26, n. 6, pp. 928–937, 2009. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/02652030802706725>. PubMed PMID: 19680968.
- [21] MÂRŞOLEA, A.C., CHIRIAC, F.L., ORBECI, C., *et al.*, “Migration and leaching behaviour of Bisphenol A from polyethylene terephthalate water bottles under different storage conditions.”, *International Journal of Food Science & Technology*, v. 58, n. 10, pp. 5609–5615, 2023. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.16583>.
- [22] YUN, W.M., HO, Y.B., TAN, E.S.S., *et al.*, “Release of Bisphenol A from polycarbonate and polyethylene terephthalate drinking water bottles under different storage conditions and its associated health risk.”, *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*, v. 14, n. SP2, pp. 18–26, 2018.
- [23] BALLESTEROS-GÓMEZ, A., RUBIO, S., PÉREZ-BENDITO, D., “Analytical methods for the determination of Bisphenol A in food.”, *Journal of Chromatography. A*, v. 1216, n. 3, pp. 449–469, 2009. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2008.06.037>. PubMed PMID: 18635192.
- [24] CHEN, G., WANG, P., “Electroanalytical methods for detecting pesticides in agricultural products: a review and recent developments.”, *International Journal of Electrochemical Science*, v. 15, n. 3, pp. 2700–2712, 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.20964/2020.03.35>.
- [25] WANG, J., *Analytical electrochemistry*, New York, Wiley, 2000. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/0471228230>.
- [26] KARIMI-MALEH, H., KARIMI, F., ALIZADEH, M., *et al.*, “Electrochemical sensors, a bright future in the fabrication of portable kits in analytical systems.”, *Chemical Record (New York, N.Y.)*, v. 20, n. 7, pp. 682–692, 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/tcr.201900092>. PubMed PMID: 31845511.
- [27] INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA, *Guidance in validation of analytical methods*, Brasília, INMETRO, 2016.
- [28] FU, S., MA, X., WANG, S., *et al.*, “Surfactant-assisted carbon black for the electrochemical detection of endocrine disruptors.”, *Surfaces and Interfaces*, v. 24, pp. 101128, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.surfin.2021.101128>.
- [29] SHIM, K., KIM, J., SHAHABUDDIN, M., *et al.*, “Efficient wide range electrochemical bisphenol: a sensor by self-supported dendritic platinum nanoparticles on screen-printed carbon electrode.”, *Sensors and Actuators. B, Chemical*, v. 255, pp. 2800–2808, 2018. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2017.09.096>.
- [30] CINTI, S., MOSCONE, D., ARDUINI, F., “Screen-printed electrodes as versatile electrochemical sensors and biosensors.” In *East-West Design & Test Symposium*, 2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1109/EWDTS.2017.8110130>.
- [31] LI, Q., ZHANG, J., LI, Q., *et al.*, “Review of printed electrodes for flexible devices.”, *Frontiers in Materials*, v. 5, n. January, pp. 1, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fmats.2018.00077>.
- [32] COSTA-RAMA, E., FERNÁNDEZ-ABEDUL, M.T., “Paper-based screen-printed electrodes: a new generation of low-cost electroanalytical platforms.”, *Biosensors (Basel)*, v. 11, n. 2, pp. 51, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.3390/bios11020051>. PubMed PMID: 33669316.
- [33] GARCÍA-MIRANDA FERRARI, A., ROWLEY-NEALE, S.J., BANKS, C.E., “Screen-printed electrodes: transitioning the laboratory in-to-the field.”, *Talanta Open*, v. 3, pp. 100032, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talo.2021.100032>.
- [34] MOUSAZADEH, F., MOHAMMADI, S.Z., AKBARI, S., *et al.*, “Recent advantages of mediator based chemically modified electrodes, powerful approach in electroanalytical chemistry.”, *Current Analytical Chemistry*, v. 18, n. 1, pp. 6–30, 2022. doi: <http://dx.doi.org/10.2174/1573411017999201224124347>.
- [35] ARDUINI, F., CINTI, S., MAZZARACCHIO, V., *et al.*, “Carbon black as an outstanding and affordable nanomaterial for electrochemical (Bio)Sensor design.”, *Biosensors & Bioelectronics*, v. 156, pp. 112033, 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2020.112033>. PubMed PMID: 32174547.
- [36] SILVA, T.A., MORAES, F.C., JANEGITZ, B.C., *et al.*, “Electrochemical biosensors based on nanostructured carbon black: a review.”, *Journal of Nanomaterials*, v. 1, pp. 2017, 2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2017/4571614>.
- [37] FERREIRA, L.M.C., SILVA, P.S., AUGUSTO, K.K.L., *et al.*, “Using nanostructured carbon black-based electrochemical (Bio)Sensors for pharmaceutical and Biomedical analyses: a comprehensive review.”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 221, pp. 115032, 2022. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2022.115032>. PubMed PMID: 36152488.

- [38] MAZZARACCHIO, V., TOMEI, M.R., CACCIOTTI, I., *et al.*, “Inside the different types of carbon black as nanomodifiers for screen-printed electrodes.”, *Electrochimica Acta*, v. 317, pp. 673–683, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2019.05.117>.
- [39] AFONSO, A.S., ULIANA, C.V., MARTUCCI, D.H., *et al.*, “Simple and rapid fabrication of disposable carbon-based electrochemical cells using an electronic craft cutter for sensor and biosensor applications.”, *Talanta*, v. 146, pp. 381–387, 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.09.002>. PubMed PMID: 26695279.
- [40] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, *AOAC Official Methods of Analysis*, Gaithersburg, AOAC International, 2016.
- [41] NATIONAL ASSOCIATION OF TESTING AUTHORITIES, *General Accreditation Guidance: validation and verification of quantitative and qualitative test methods*, Rhodes, National Association of Testing Authorities, 2018.
- [42] ANVISA, “Resolução da Diretoria Colegiada - RDC No. 166, de 25 de Julho de 2017 sobre a validação de métodos analíticos e outras providências”, *Diário Oficial da União*, 2017.
- [43] EURACHEM, *The fitness for purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation and related topics*, Gembloux, Eurachem, 2014.
- [44] THOMPSON, M., ELLISON, S.L.R., WOOD, R., “Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report).”, *Pure and Applied Chemistry*, v. 74, n. 5, pp. 835–855, 2002. doi: <http://dx.doi.org/10.1351/pac200274050835>.
- [45] BEDNER, M., MACCREHAN, W.A., “Transformation of acetaminophen by chlorination produces the toxicants 1,4-benzoquinone and N -Acetyl- p -Benzoquinone imine.”, *Environmental Science & Technology*, v. 40, n. 2, pp. 516–522, 2006. doi: <http://dx.doi.org/10.1021/es0509073>. PubMed PMID: 16468397.
- [46] ICH EXPERT WORKING GROUP, “Q2 (R1): validation of analytical procedures: text and methodology.”, *Federal Register*, v. 60, pp. 11260, 1995.
- [47] PANG, Y.H.; HUANG, Y.Y.; WANG, L.; SHEN, X.F.; WHANG, Y.Y. “Determination of bisphenol A and bisphenol S by a covalent organic framework electrochemical sensor. Parte B.”, *Environmental Pollution*, v. 263, pp. 114616, 2020. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114616>
- [48] ARAUJO, P., “Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation”, *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, v. 877, n. 23, pp. 2224–2234, 2009. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.09.030>. PubMed PMID: 18929516.
- [49] JO, E., LEE, J., “Polyaniline-nanofiber-modified screen-printed electrode with intermediate dye amplification for detection of endocrine disruptor Bisphenol A.”, *Microchemical Journal*, v. 155, pp. 104693, 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2020.104693>.
- [50] SANTOS, A.M., FEITOSA, M.H.A., WONG, A., *et al.*, “Functionalized graphene, quantum dots, and PEDOT:PSS based screen-printed electrode for the endocrine disruptor Bisphenol A determination.”, *Sensors and Actuators. B, Chemical*, v. 399, pp. 134745, 2024. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2023.134745>.
- [51] EMAMBAKSH, F., ASADOLLAHZADEH, H., RASTAKHIZ, N., *et al.*, “Highly sensitive determination of Bisphenol A in water and milk samples by using magnetic activated carbon - cobalt nanocomposite-screen printed electrode.”, *Microchemical Journal*, v. 179, pp. 107466, 2022. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2022.107466>.
- [52] BEITOLLAHI, H., MAHMOUDI MOGHADDAM, H., TAJIK, S., “Voltammetric determination of bisphenol a in water and juice using a Lanthanum (III)-Doped Cobalt (II,III) Nanocube modified carbon screen-printed electrode.”, *Analytical Letters*, v. 52, n. 9, pp. 1432–1444, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/00032719.2018.1545132>.
- [53] HE, S., XIA, H., CHANG, F., “Enzyme free electrochemical determination of bisphenol a using screen-printed electrode modified by graphdiyne and carbon nanotubes.”, *Microchemical Journal*, v. 182, pp. 107858, 2022. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2022.107858>.
- [54] STÖCKL, D., D’HONDT, H., THIENPONT, L.M., “Method validation across the disciplines – critical investigation of major validation criteria and associated experimental protocols”, *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, v. 877, n. 23, pp. 2180–2190, 2009. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.12.056>. PubMed PMID: 19157996.
- [55] TAVERNIERS, I., DE LOOSE, M., VAN BOCKSTAELE, E., “Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance”, *Trends in Analytical Chemistry*, v. 23, n. 8, pp. 535–552, 2004. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2004.04.001>.