

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Determinação de peróxido de hidrogênio em água e leite usando nanopartículas de ferro como mimetizadoras da catalase

Luísa Faria Monteiro Mazzini
Doctor Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

LUÍSA FARIA MONTEIRO MAZZINI

Determinação de peróxido de hidrogênio em água e leite usando nanopartículas de ferro como mimetizadoras da catalase

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Renata P. Lopes Moreira

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M477d
2024
Mazzini, Luísa Faria Monteiro, 1994-
Determinação de peróxido hidrogênio em água e leite
usando nanopartículas de ferro com mimetizadoras da catalase /
Luísa Faria Monteiro Mazzini. – Viçosa, MG, 2024.
1 tese eletrônica (149 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Renata Pereira Lopes Moreira.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Química, 2024.
Inclui bibliografia.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.755>
Modo de acesso: World Wide Web.

1. Nanopartículas - Síntese. 2. Catálise. 3. *Eucalyptus grandis*. I. Moreira, Renata Pereira Lopes, 1979-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. III. Título.

CDD 22. ed. 541.395

LUÍSA FARIA MONTEIRO MAZZINI

Determinação de peróxido de hidrogênio em água e leite usando nanopartículas de ferro como mimetizadoras da catalase

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 28 de junho de 2024.

Assentimento:

Luísa Faria Monteiro Mazzini
Autora

Renata Pereira Lopes Moreira
Orientadora

Essa tese foi assinada digitalmente pela autora em 11/04/2025 às 11:03:13 e pela orientadora em 11/04/2025 às 12:58:14. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **PPC8.7XMR.D97K** e clique no botão 'Validar documento'.

*Aos meus pais, Argeu e Suely por todo amor e dedicação
À minha irmã, Sarah, por ser uma grande inspiração
Ao meu marido, Lucas, por todo amor e companheirismo*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pela oportunidade dessa vida maravilhosa e por ser meu porto seguro nas horas difíceis.

Agradeço a minha querida orientadora, Prof. Renata, por todo o carinho, aprendizado e dedicação ao longo desses anos.

Aos meus pais, Argeu e Suely, que com todo amor e dedicação fazem com que meus sonhos se tornem realidade, sendo os responsáveis por essa conquista.

À minha querida irmã, Sarah, pelo amor, amizade e por ser a minha grande inspiração.

Ao meu marido Lucas, por todo amor, companheirismo e amizade;

Ao Caio, pela amizade de sempre;

Aos meus familiares, por todo apoio, dedicação e pelas orações;

Agradeço aos meus amigos de laboratório, Ana Clara, Kleryton, Alana, João Lucas e Rodrigo que foram apoio e alicerce para a realização desse trabalho.

Aos meus amigos de Viçosa, Gabriela e Marcelo, por todos os momentos vividos, pela amizade e por sempre vibrarem com as minhas conquistas.

Aos órgãos de fomento, CNPq, CAPES e FAPEMIG.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química pela oportunidade de realização do trabalho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química que com seu carinho e dedicação também fizeram parte dessa conquista!

RESUMO

MAZZINI, Luísa Faria Monteiro, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2024. **Determinação de peróxido de hidrogênio em água e leite usando nanopartículas de ferro como mimetizadoras da catalase.** Orientadora: Renata Pereira Lopes Moreira.

O peróxido de hidrogênio é utilizado em diversos setores industriais. No tratamento de água, atua como um agente oxidante, promovendo a remoção de substâncias recalcitrantes aos tratamentos convencionais. Na indústria alimentícia é usado como sanitizante, podendo ser adicionado ao leite como adulterante, para aumentar a sua vida útil. O contato com a pele ou ingestão podem causar efeitos adversos e acarretar doenças. Portanto, faz-se necessário o seu monitoramento em diferentes matrizes. Os métodos empregados para análise de H_2O_2 são muitas vezes custosos, com análises demoradas, além da utilização de reagentes tóxicos. Neste trabalho, buscou-se desenvolver um método baseado nos princípios da química verde. Para isso, nanopartículas de ferro (FeNPs) foram sintetizadas por um processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis* como agente redutor e estabilizador. Pela técnica de espectroscopia na região do infravermelho foi possível confirmar a presença de grupos funcionais do extrato que foram incorporados às nanopartículas. Picos característicos de ferro de valência zero foram observados por difração de raios X, além de hematita, magnetita e goethita. As nanopartículas apresentaram morfologia esférica com tamanho de $96,4 \pm 36,8$ nm e potencial zeta de $|35|$ mV, mostrando boa estabilidade do material. As FeNPs foram utilizadas como nanocatalisadores da oxidação de o-fenilenodiamina (OPD) por H_2O_2 , exibindo uma ótima atividade catalítica com valores de velocidade máxima aparente (V_{max}) de $2,0 \mu\text{mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ e constante de Michaelis-menten (K_m) de $307 \mu\text{mol L}^{-1}$. A OPD, incolor, forma uma substância colorida na presença de H_2O_2 , porém necessita de catalisadores específicos. A partir desses resultados promissores, foi desenvolvido um método espectrofotométrico para a quantificação de H_2O_2 em água e leite. A curva analítica em água ($18,3$ - $112,6 \mu\text{mol L}^{-1}$) apresentou um bom ajuste linear e limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) de $,48$ e $18,3 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Para o leite integral UHT, foi obtida uma curva analítica na faixa de $8,97$ a $112,16 \mu\text{mol L}^{-1}$, com LOD e LOQ de $2,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $9,89 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O método para o leite foi validado, apresentando uma exatidão entre $85,1$ e $102,8\%$, com uma repetibilidade = $3,9\%$ e uma precisão intermediária = $7,5\%$. O método também foi testado para outros tipos de leite, podendo ser aplicado para

leite

desnatado, semidesnatado e leite integral pasteurizado tipo A. Além disso, foi comparado com métodos convencionais de análise usados na indústria láctea, sendo bastante eficaz. Pode-se, portanto, concluir que o método demonstrou eficácia para detecção e quantificação de peróxido em leite e água.

Palavras-chave: Síntese verde; *Eucalyptus grandis* ; Nanomateriais; Catálise

ABSTRACT

MAZZINI, Luísa Faria Monteiro, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2024. **Determination of hydrogen peroxide in water and milk using iron nanoparticles as catalase mimetics.** Adviser: Renata Pereira Lopes Moreira.

MAZZINI, Luísa Faria Monteiro. D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2024. Determination of hydrogen peroxide in water and milk samples using iron nanoenzymes as catalase mimetics. Advisor: Renata Pereira Lopes Moreira.

Hydrogen peroxide is used in a variety of industries. In water treatment, it acts as an oxidizing agent, promoting the removal of substances that are recalcitrant to conventional treatments. It is used in the food industry as a disinfectant and may be added to milk as an adulterant to extend its shelf life. Skin contact or ingestion can cause adverse effects and illness in humans. Therefore, it is necessary to monitor it in different matrices. The methods used to analyze H_2O_2 are often costly, with time-consuming analyses and the use of toxic reagents. In this work, we sought to develop a method based on the principles of green chemistry. For this purpose, iron nanoparticles (FeNPs) were synthesized by a green process using *Eucalyptus grandis* leaf extract as reducing and stabilizing agent. Infrared spectroscopy was used to confirm the presence of functional groups from the extract incorporated into the nanoparticles. Characteristic peaks of zero valence iron were observed by X-ray diffraction, as well as hematite, magnetite and goethite. The nanoparticles had a spherical morphology with a size of 96.4 ± 36.8 nm and a zeta potential of $|35|$ mV, showing good material stability. The FeNPs were used as nanocatalysts for the oxidation of o-phenylenediamine (OPD) by H_2O_2 and showed excellent catalytic activity with values of maximum apparent velocity (V_{max}) of $2.0 \mu\text{mol L}^{-1} \text{s}^{-1}$ and Michaelis-menten constant (K_m) of $307 \mu\text{mol L}^{-1}$. OPD, which is colorless, forms a colored substance in the presence of H_2O_2 , but requires specific catalysts. Based on these promising results, a spectrophotometric method was developed for the quantification of H_2O_2 peroxide in water and milk. The analytical curve for water (18.3 - $112.6 \mu\text{mol L}^{-1}$) showed a good linear fit and limits of detection (LoD) and quantification (LoQ) of 5.48 and $18.3 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. For UHT whole milk, an analytical curve was obtained in the range of 8.97 to $112.16 \mu\text{mol L}^{-1}$, with LoD and LoQ of $2.96 \mu\text{mol L}^{-1}$ and $9.89 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The method was validated for milk and showed an accuracy between 85.1 and 102.8% , with a repeatability = of 3.9% and an intermediate precision = of

7.5%. The method was also tested on other types of milk and can be applied to skimmed, semi-skimmed and pasteurized whole milk type A. In addition, it was compared with conventional analytical methods used in the dairy industry and was very effective. Therefore, it can be concluded that the method was effective in detecting and quantifying peroxide in milk and water.

Keywords: Green synthesis; *Eucalyptus grandis*; Nanomaterial; Catalysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Principais aplicações do peróxido de hidrogênio.....	21
Figure 1.2. Processo Riedl-Pfleiderer	22
Figura 1.3. Incubadora giratório para o controle de patógenos em brotos pela técnica de Luz UV e uso de solução de H ₂ O ₂	32
Figura 1.4. Etapas da cadeia produtiva de leite e formas de aplicação peróxido de hidrogênio ao longo do processo.....	33
Figura 1.5. Esquema do Trabalho de Kim <i>et al.</i> (2023)	36
Figure 1.6. Esquema de preparação do biosensor da peroxidase do rábano incorporada em gel de poliacrilamida	42
Figura 1.7. Esquema do método desenvolvido por Lu e colaboradores (2023) usando uma sonda fluorescente para determinação de peróxido em água.....	43
Figura 1.8. Nanopartículas bimetálicas de Ag-Pt decoradas em óxidos de grafeno para determinação de H ₂ O ₂	43
Figura 1.9. Esquema do dispositivo analítico eletroquímico baseado em papel (ePADs). Adaptado de Wang et al. (2024).....	45
Figura 1.10. Nanossonda fluorescente para detecção H ₂ O ₂ em efluente. Ali et al. (2020).....	45
Figura 1.11. Esquema de representação do método desenvolvido por Zambrano et al. (2020)	46
Figura 1.12. Ilustração esquemática da síntese in situ de Co ₃ (PO ₄) ₂ · 8H ₂ O (A) e sua aplicação como mimetizador da peroxidase na oxidação de TBM na análise de H ₂ O ₂ em leite (B).....	52
Figura 1.13. Esquema de síntese do nanocompósito de Fe ₂ O ₃ a partir da planta agulha de pinus usado como mimetizador da peroxidase	53
Figura 1.14. Esquema do método desenvolvido no trabalho de Peng <i>et al.</i>	54
Figura 1.15. Esquema do método desenvolvido por Althomali e colaboradores baseado em um sensor voltamétrico com eletrodo de carbono vítreo.....	55

Figura 2.1. Imagem de (a) solução de sulfato de ferro (0,100 mol L ⁻¹), (b) extrato da planta de <i>E. grandis</i> e (c) FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas por processo verde utilizando o extrato da folha de <i>Eucalyptus grandis</i>	89
Figura 2.2. Monitoramento da condutância (mS cm ⁻¹) e do potencial (mV) durante a síntese de FeNPs (nanopartículas de ferro) a partir de uma solução de sulfato de ferro do extrato vegetal de <i>E. grandis</i>	90
Figura 2.3. Diagrama de Pourbaix simplificado para o sistema Fe-H ₂ O a 25 °C, [Fe ²⁺] = 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , [Fe ³⁺] = 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	91
Figura 2.4. Potencial zeta, ζ, (mV) e condutância (mS cm ⁻¹) de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas por processo verde utilizando extrato de folhas de <i>Eucalyptus grandis</i> em diferentes valores de pH.....	92
Figura 2.5. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde e do extrato de folhas de <i>Eucalyptus grandis</i>	93
Figura 2.6. Difratoograma de raios X de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de <i>Eucalyptus grandis</i>	94
Figura 2.7. Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de <i>E. grandis</i>	95
Figura 2.8. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de <i>Eucalyptus grandis</i> (a) FeNPs estabilizadas pela matriz orgânica. (b) Tamanho das FeNPs.....	96
Figura 2.9. Espalhamento de luz dinâmico de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde usando extrato de folhas de <i>Eucalyptus grandis</i>	97
Figura 2.10. Espectro de raios X por dispersão de energia de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de <i>Eucalyptus grandis</i>	98
Figura 2.11. Curvas TGA (análise termogravimétrica) - DTA (análise térmica diferencial) de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de <i>Eucalyptus grandis</i>	98
Figura 2.12. Espectros UV/Vis da oxidação da <i>o</i> -fenilenodiamina mediada por FeNPs (nanopartículas de ferro). Condições experimentais: 200 μL de solução de OPD 200 μL de solução de OPD (10,0 mmol L ⁻¹), 100 μL de H ₂ O ₂ 30% (v/v), 2,85 mL de tampão citrato, 250 μL de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L ⁻¹). Inserção: Absorbância em função do tempo em λ= 451 nm. (a) pH 3,00, (b) pH 5,00 e (c) pH 7,00.....	99

Figura 2.13. (a) Influência da dose de FeNPs (nanopartículas de ferro) na oxidação da *o*-fenilenodiamina para formar 2,3-diaminofenazina (cor amarela) com monitorização no comprimento de onda de 451 nm. (b) Modelo de Michaelis-Menten. Condições: 100 µL de H₂O₂ 30% (v/v), 2,85 mL de tampão citrato; 250 µL de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹); Tempo de reação: 35 min, V_{max} = 2·10⁻⁶ mol L⁻¹ s⁻¹, Km = 307 µmol L⁻¹.....100

Figura 2.14. Espectros UV/Vis da oxidação da *o*-fenilenodiamina sem e com FeNPs (4,165 mmol L⁻¹). Condições: 200 µL de solução de OPD (10,0 mmol L⁻¹), 100 µL de H₂O₂ 30% (v/v), 2,85 mL de tampão citrato, 250 µL de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹).....100

Figura 2.15. (a) Curva analítica para determinação de H₂O₂ obtida a partir da oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*; (b) Gráfico de resíduos da curva analítica para a determinação de H₂O₂ (18,3 a 112,6 µmol L⁻¹).....102

Figura 2.16. (a) Espectros UV/Vis e (b) Porcentagem de inibição da oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*. (■) sem inibidor; na presença de inibidor a 80,3 mmol L⁻¹ (■) metanol; (■) etanol; (■) álcool isopropílico; (■) álcool t-butílico; (■) azida de sódio. Condições: 200 µL de solução de OPD (10,0 mmol L⁻¹), 100 µL de H₂O₂ (11,22 mmol L⁻¹), 2,85 mL de tampão citrato contendo o inibidor, 250 µL de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹).....104

Figura 2.17. Mecanismo proposto para a oxidação catalítica de OPD na presença de H₂O₂ mediada por FeNPs sintetizadas a partir de extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*. (i) adsorção de H₂O₂ no catalisador; (ii) equilíbrio ácido-base de OPD em solução aquosa; (iii) abstração de hidrogênio; (iv) acoplamento oxidativo, seguido de prototropismo e eliminação para formar DAP.....105

Figura 3.1. 1: Adição de ácido nítrico concentrado sob uma solução de leite contendo H₂O₂, volume final = 1000 µL; 2: Adição em vórtex durante 2 min; 3: centrifugação a 4000 rpm em 5 min; 4: coleta de 100 µL do sobrenadante (soro); 5: Aplicação na reação de oxidação da OPD; 6: centrifugação a 4000 rpm em 2 min para sedimentação das FeNPs.....118

Figura 3.2. (a) Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão das FeNPs sintetizadas a partir do extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*; (b) Tamanho das FeNPs obtido pelo software ImageJ.....124

Figura 3.3. Análise BET de nanopartículas de ferro sintetizadas a partir de extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*.....125

Figura 3.4. (a) Espectros UV/Vis da oxidação da *o*-fenilenodiamina (OPD) mediada por FeNPs em soro de leite integral UHT. (b) Cinética da reação (monitorada a $\lambda = 451$ nm). Condições experimentais: 100 μL de H_2O_2 ($112,16 \mu\text{mol L}^{-1}$), 200 μL de OPD ($10,0 \text{ mmol L}^{-1}$), 2,85 mL de tampão citrato (pH 3), 250 μL de suspensão de FeNPs ($4,165 \text{ mmol L}^{-1}$).....126

Figura 3.5. Espectros UV/Vis da oxidação de *o*-fenilenodiamina (OPD) mediada por FeNPs em soro de leite integral UHT com ($112,16 \mu\text{mol L}^{-1}$) e sem H_2O_2 . Condições experimentais: 200 μL de OPD ($10,0 \text{ mmol L}^{-1}$), 2,85 mL de tampão citrato (pH 3), 250 μL de sus suspensão de FeNPs ($4,165 \text{ mmol L}^{-1}$).....126

Figura 3.6. Imagens do sobrenadante (soro de leite) resultante da precipitação das proteínas do leite com diferentes ácidos: (A) ácido tricloroacético; (B) ácido sulfúrico; (C) ácido acético; (D) ácido nítrico; (E) ácido clorídrico. Legenda da concentra: (1) 30% (v/v); (2) 50% (v/v); (3) concentrado.....127

Figura 3.7. Espectros UV/Vis de oxidação da *o*-fenilenodiamina (OPD) mediada por FeNPs em soro de leite integral UHT com diferentes agentes precipitantes. Condições experimentais: 100 μL de soro contendo H_2O_2 , 200 μL de OPD ($10,0 \text{ mmol L}^{-1}$), 2,85 mL de ta tampão citrato pH 3, 250 μL de suspensão de FeNPs ($4,165 \text{ mmol L}^{-1}$).....129

Figura 3.8. (A) Curva analítica (de 8,97 a $112,16 \mu\text{mol L}^{-1}$); (B) Gráfico de resíduos da curva analítica; (C) Espectros UV/Vis e (D) realce do aumento de cor com a concentração de H_2O_2 no soro de leite integral UHT obtido a partir da oxidação da *o*- fenilenodiamina mediada por FeNPs.....130

Figura 3.9. Avaliação do efeito de matriz para a determinação de H_2O_2 pelo método de oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas por um processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*.....131

Figura 3.10. Curvas analíticas em diferentes tipos de leite para determinação de H_2O_2 obtido pelo método de oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas por um processo verde usando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*.....133

Figura 3.11. Quantificação do peróxido utilizando o método do guaiacol (1% (v/v)). (A) Amostra de controlo (sem peróxido); amostras de leite contendo H_2O_2 : (B) $76,3 \mu\text{mol L}^{-1}$; (C) $152,5 \mu\text{mol L}^{-1}$; (D) $305,1 \mu\text{mol L}^{-1}$; (E) $762,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ e (F) $1,52 \text{ mmol L}^{-1}$134

Figura 3.12. Quantificação do peróxido utilizando o método do óxido de vanádio (1% (m/v)). (A) amostra controle (sem peróxido); amostras de leite contendo H_2O_2 B) $762,7 \mu\text{mol L}^{-1}$; (C) $1,91 \text{ mmol L}^{-1}$; (D) $3,81 \text{ mmol L}^{-1}$; (E) $7,62 \text{ mmol L}^{-1}$ e (F) $15,25 \text{ mmol L}^{-1}$135

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Propriedades físico-químicas do peróxido de hidrogênio.....	19
Tabela 1.2. Diferentes catalisadores usados para a síntese de peróxido de hidrogênio em processos de eletrocatalise e fotocatalise.....	25
Tabela 1.3. Uso do peróxido de hidrogênio como sanitizante para o controle de patógenos em alimentos e superfícies de contato.....	30
Tabela 1.4. Diferentes catalisadores para ativação do H ₂ O ₂ para degradação de poluentes em água.....	37
Tabela 1.5. Métodos analíticos para determinação de peróxido de hidrogênio em amostras de água.....	36
Tabela 1.6. Métodos Analíticos para determinação de Peróxido de Hidrogênio em amostras de leite.....	56
Tabela 2.1. Condutância, potencial redox e pH para o extrato aquoso de <i>Eucalyptus grandis</i> , solução de sulfato de ferro e suspensão de FeNPs.....	90
Tabela 2.2. Constante de Michaelis aparente (K _m) e velocidade máxima (V _{max}) obtidas para diferentes nanomateriais semelhantes à peroxidase, utilizando a <i>o</i> -fenilenodiamina como substrato e considerando a peroxidase do rábano.....	100
Tabela 2.3. Parâmetros obtidos para a quantificação de H ₂ O ₂ a partir da oxidação de <i>o</i> -fenilenodiamina mediada pelo método das FeNPs (nanopartículas de ferro).....	102
Tabela 2.4. Comparação de diferentes nanomateriais miméticos da peroxidase para a detecção de H ₂ O ₂ com o método OPD mediado por FeNPs.....	103
Tabela 3.1. Parâmetros de validação para a quantificação de H ₂ O ₂ em soro de leite integral UHT obtido a partir da oxidação de <i>o</i> -fenilenodiamina mediada por FeNPs.....	131
Tabela 3.2. Recuperação (%), repetibilidade (%) e precisão intermediária (%) do método de quantificação de H ₂ O ₂ em soro de leite integral (UHT) obtido a partir da oxidação de <i>o</i> -fenilenodiamina mediada por FeNPs.....	132
Tabela 3.3. Parâmetros analíticos para diferentes tipos de leite pelo método de determinação de H ₂ O ₂ envolvendo oxidação de <i>o</i> -fenilenodiamina mediada por FeNPs.....	133
Tabela 3.4. Comparação de vários métodos para detecção e quantificação de peróxido em leite.....	138
Tabela 4.1. Comparação entre os principais resultados dos métodos para quantificação de peróxido de hidrogênio em água e leite usando o método OPD mediado por FeNPs.....	147

SUMÁRIO

<i>CAPÍTULO 1</i>	16
1.1. Introdução.....	17
1.2.1 Objetivo geral	188
1.2.2 Objetivos Específicos	188
1.3. Revisão da literatura	19
1.3.1. Características e aplicações do peróxido de hidrogênio.....	19
1.3.2. Processos de obtenção de peróxido de hidrogênio	22
1.3.3. O papel do peróxido no setor alimentício.....	28
1.3.4. Atuação do peróxido no tratamento de águas residuais	33
1.3.5. Métodos para determinação de peróxido de hidrogênio.....	39
1.3.5.1 Determinação de peróxido de hidrogênio em água	41
1.3.5.2 Determinação de peróxido de hidrogênio em leite.....	51
1.4. Conclusão.....	63
1.5. REFERÊNCIAS	64
<i>CAPÍTULO 2</i>	82
2.1 INTRODUÇÃO.....	83
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	84
2.2.1 Padrões e reagentes.....	84
2.2.2 Obtenção e preparação das folhas de <i>Eucalyptus grandis</i>	85
2.2.3 Obtenção do extrato redutor das folhas de <i>Eucalyptus grandis</i>	85
2.2.4 Síntese de nanopartículas de ferro (FeNPs).....	85
2.2.5 Caracterização das FeNPs e do extrato redutor	85
2.2.6 Procedimento geral para a oxidação da o-fenilenodiamina mediada por FeNPs ..	87
2.2.7 Otimização do método.....	87
2.2.8 Curva analítica do peróxido de hidrogênio.....	87
2.2.9 Modelo de Michaelis-Menten.....	88
2.2.10 Investigação do mecanismo de reação.....	88
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	89
2.3.1 Aplicação de FeNPs como catalisador do tipo peroxidase.....	98
2.3.1.1 Otimização das condições reacionais.....	99
2.3.1.2. Desenvolvimento do método de quantificação de H ₂ O ₂	102

2.4 Mecanismo reacional	104
2.5 Conclusão	106
2.6 REFERÊNCIAS	107
<i>CAPÍTULO 3</i>	113
3.1 INTRODUÇÃO.....	114
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	117
3.2.1 Padrões e reagentes.....	117
3.2.2 Síntese e caracterização das nanopartículas de ferro (FeNPs)	117
3.2.3 Obtenção das amostras de leite.....	117
3.2.4. Método geral de preparação da amostra.....	117
3.2.5 Avaliação do precipitante das proteínas do leite	118
3.2.6 Quantificação de H ₂ O ₂ no leite utilizando <i>o</i> -fenilenodiamina	119
3.2.7 Validação do método	119
3.2.8 Comparação do método proposto com outros tipos de leite.....	121
3.2.9 Comparação do método proposto com métodos convencionais.....	122
3.2.10 Cálculo da eco-escala analítica.....	122
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	123
3.3.1 Validação do método de determinação do H ₂ O ₂	129
3.3.2 Comparação do método proposto com os métodos convencionais	133
3.4. CONCLUSÃO.....	141
3.5 REFERÊNCIAS	142
<i>CAPÍTULO 4</i>	146

CAPÍTULO 1

Introdução, objetivos e Revisão da Literatura

1.1. Introdução

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é uma substância química versátil com uma variedade de aplicações, sendo utilizado em vários setores da economia. Portanto é uma das substâncias mais consumidas e produzidas no mundo. Essa importância está ligada às suas características, que incluem o seu alto poder oxidante comparado à outras espécies. Além disso, é ambientalmente amigável, pois a sua decomposição libera apenas oxigênio e água. Pode ser usado também como o precursor do radical hidroxil ($\cdot OH$), atuando nos Processos Oxidativos Avançados (POA) [1].

O H_2O_2 pode ser utilizado como agente desinfetante no tratamento de água, eliminando microrganismos patogênicos como bactérias, vírus e protozoários. Além disso, pode ser usado na degradação de poluentes recalcitrantes, como contaminantes emergentes, por meio de POA. Sendo assim, o seu monitoramento ao longo do processo é de extrema importância [2].

Na indústria alimentícia, o H_2O_2 se destaca como agente sanitizante na superfície dos alimentos, equipamentos e embalagens, combatendo microrganismos e prolongando a vida útil dos produtos. No entanto, a sua utilização em matrizes alimentícias muitas vezes é proibida, sendo considerado um adulterante [3]. O leite, por exemplo, se destaca como um alimento perecível e de fácil deterioração, sendo algumas vezes adulterado pelos produtores com altas doses de H_2O_2 . O intuito dessa prática é aumentar a vida útil e melhorar as características sensoriais do produto. Porém, o H_2O_2 é prejudicial à saúde, pois gera espécies citotóxicas e reativas de oxigênio, que podem provocar efeitos adversos ao consumidor, além de doenças.

Diante do exposto, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos que sejam capazes de detectar e quantificar o peróxido de hidrogênio em diferentes matrizes alimentícias e sistemas aquosos [3]. Portanto, neste trabalho, foram desenvolvidos métodos baseados na reação de oxidação da *o*-fenilenodiamina (OPD) na presença de H_2O_2 , que é incolor, resultando na formação da 2,3-diaminofenazina (DAP), de coloração amarela [4]. Porém a reação é lenta, necessitando o uso de catalisadores. Para isso, foram sintetizadas nanopartículas de ferro (FeNPs) a partir de extrato vegetal de *Eucalyptus grandis*, visando um método baseado nos princípios da química verde.

1.2.1 Objetivo geral

Desenvolver métodos espectrofotométricos para detecção e quantificação de peróxido de hidrogênio em água e leite, baseada na reação de oxidação da *o*-fenilenodiamina em 2,3-diaminofenassina, catalisada por nanopartículas de ferro (FeNPs).

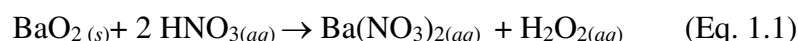
1.2.2 Objetivos Específicos

- Produzir a suspensão de nanopartículas de ferro a partir do extrato aquoso das folhas de *Eucalyptus grandis*;
- Caracterizar a suspensão de nanopartículas por diferentes técnicas analíticas como Condutimetria, Potenciometria, Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Difractometria de Raio X (DRX), Potencial Zeta, Análise Termogravimétrica (TG) e Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS);
- Avaliar o comportamento cinético da reação de oxidação de OPD na presença de FeNPs e determinar o tempo de equilíbrio;
- Otimizar as condições da reação de oxidação de OPD, como o pH do meio reacional, dose das FeNPs e concentração de OPD;
- Desenvolver o método espectrofotométrico para detecção e quantificação de peróxido de hidrogênio em água;
- Desenvolver e validar um método espectrofotométrico para detecção e quantificação de peróxido em leite.
- Comparar o método desenvolvido nesse trabalho com métodos que utilizam a peroxidase do rábano e outros nanomateriais miméticos da catalase.

1.3. Revisão da literatura

1.3.1. Características e aplicações do peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio é um líquido viscoso e incolor à temperatura ambiente, miscível em água em qualquer proporção, que apresenta odor pungente [1]. Esse composto foi sintetizado pela primeira vez por Louis Jacques Thénard em 1818, por meio da reação entre ácido nítrico e peróxido de bário (BaO_2), como mostrado na Equação 1.1 [1,5]. Thénard designou o produto resultante como “água oxigenada”. Em 1984, foi obtido em sua forma pura pela primeira vez por meio da destilação a vácuo.

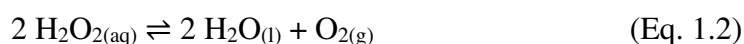


O peróxido de hidrogênio possui uma ampla variedade de aplicações, sendo utilizado em diversos setores da indústria, incluindo os setores farmacêutico, químico, alimentício, eletrônico, de semicondutores, têxtil e no tratamento de água. Entre as suas várias aplicações destaca-se o uso como agente desinfetante em equipamentos hospitalares [6,7] e na desinfecção de embalagens e alimentos [7,8]. Além disso, pode ser utilizado como aditivo alimentar e conservante [8,9], como agente branqueador nas indústrias de alimentos, têxtil, de papel e celulose [9,10], e como propelente em sistemas de propulsão de espaçonaves [11]. Algumas características físico-químicas do H_2O_2 são descritas na Tabela 1.1.

Tabela 1.1. Propriedades físico-químicas do peróxido de hidrogênio.

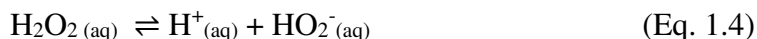
Massa Molar (g mol^{-1})	34,015
Descrição física	Líquido transparente
Ponto de fusão ($^{\circ}\text{C}$)	-0,43
Ponto de Ebulição ($^{\circ}\text{C}$)	152,0
Pressão de Vapor (mmHg)	5,22 a 21,1 $^{\circ}\text{C}$
Miscibilidade em água (mg mL^{-1})	> 100 a 25 $^{\circ}\text{C}$
Densidade (g cm^{-3})	1,44
Viscosidade (cP)	1,249 a 20 $^{\circ}\text{C}$

A reatividade do H_2O_2 , isto é, o seu alto poder oxidante, pode ser atribuída à instabilidade da ligação O-O. Essa ligação pode se romper heteroliticamente, gerando H_2O e O_2 (Equação 1.2), ou homoliticamente, gerando radicais hidroxil (Equação 1.3). Fatores como aquecimento, incidência de radiação ultravioleta e a presença de metais favorecem a cisão homolítica [6,12].





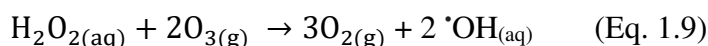
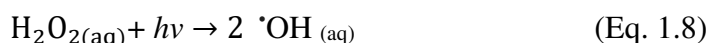
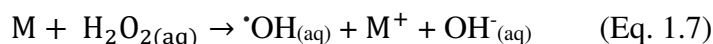
Além disso, o H_2O_2 sofre hidrólise em água, formando soluções aquosas levemente ácidas, (Eq. 1.4), apresentando pK_a de 11,75 a 20 °C. A dissociação do segundo próton não é significativa.



As semirreações de redução do peróxido de hidrogênio e do radical hidroxil ($\cdot\text{OH}$), assim como os potenciais padrão de redução, são mostrados nas Equações 1.5 e 1.6, respectivamente. O poder oxidante de ambas as espécies é maior que o do cloro (1,36 V), por exemplo [6].



Devido às suas propriedades oxidantes, o peróxido de hidrogênio pode ser utilizado também na degradação de compostos recalcitrantes presentes na água, como contaminantes emergentes, que incluem medicamentos, hormônios, produtos farmacêuticos, desinfetantes, entre outros, podendo levar à mineralização dessas espécies [13,14]. A sua associação com catalisadores metálicos (Eq. 1.7), radiação ultravioleta e visível (Eq. 1.8), e/ou ozônio (Eq. 1.9) pode aumentar a capacidade oxidativa do processo e melhorar o desempenho das reações devido a formação de radical hidroxil [7].



Em várias aplicações, pode-se substituir o cloro com o objetivo de tornar os processos ambientalmente amigáveis, uma vez que os produtos da decomposição do H_2O_2 são o gás oxigênio e a água [15]. Além disso, pode ser utilizado em processos de química fina, como a participação em diversas reações orgânicas, como na oxidação de álcoois [16], aldeídos, sulfetos [17], aminas, grupos carbonila, na epoxidação de oleofinas [18], hidroxilação de alquenos [19], na clivagem de ligações duplas ou triplas [20], síntese de benzimidazol e derivados de benzotiazol [21], entre outras [21,22]. As principais aplicações do peróxido de hidrogênio são destacadas na Figura 1.1.

Figura 1.1. Principais aplicações do peróxido de hidrogênio.



Fonte: Próprio autor.

Em 2022, a demanda global de peróxido de hidrogênio foi de quase 4 milhões e meio de toneladas, tendo as regiões da Ásia, Europa e América do Norte como principais consumidoras [23]. Pode-se perceber que o H_2O_2 é um dos reagentes mais utilizados e comercializados do mundo, apresentando previsão de expansão da sua produção para cerca de 7800 toneladas até 2032 [24].

Historicamente, a partir da década de 1990, o H_2O_2 passou a ser usado para fins comerciais, substituindo o uso do cloro no branqueamento do papel [25]. Atualmente, o setor de papel e celulose se destaca pelo alto consumo desse composto [25]. Em 2020 34% das vendas de H_2O_2 foram destinadas às indústrias de celulose e papel, sendo outros 22% destinados à síntese química. O terceiro maior mercado para o H_2O_2 é o de tratamento de água, representando aproximadamente 9% de suas vendas [26].

O peróxido de hidrogênio também desempenha um papel significativo em diversos processos naturais, como no meio ambiente, organismo humano e plantas, sendo uma molécula de defesa contra patógenos e sinalizador celular, regulando diversos processos. Por exemplo, o H_2O_2 participa do ciclo do nitrogênio, convertendo amônia em nitrato e nitrito, e da fotossíntese a partir do ciclo do glioxilato [27]. No organismo humano e nas plantas é produzido naturalmente em pequenas concentrações pelos peroxissomos. Porém, altas concentrações de H_2O_2 no organismo causam o aumento do estresse oxidativo, pois é um precursor de radical hidroxil [28,29]. Assim é considerada uma molécula capaz de sinalizar o estresse oxidativo em organismos vivos.

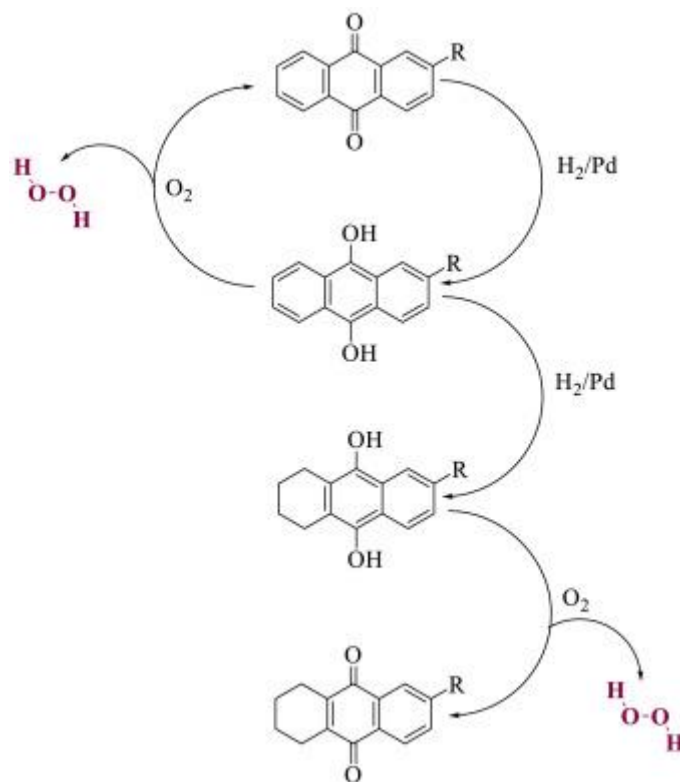
Devido à variedade de aplicações e presença em diversas matrizes, torna-se necessário desenvolver métodos analíticos que sejam capazes de determinar e quantificar o peróxido de hidrogênio em diferentes faixas de concentração. Por isso, ao longo dos

anos, pesquisadores têm investido no desenvolvimento de diferentes métodos analíticos, utilizando diferentes técnicas para detecção desse composto. Diante do exposto, esta revisão aborda as principais características do peróxido de hidrogênio, a sua produção e comercialização, dando ênfase em sua aplicação no setor alimentício e no tratamento de águas residuais, assim como os principais métodos de análise em amostras de água e comida.

1.3.2 Processos de obtenção de peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio é uma substância encontrada em diferentes matrizes, podendo ser produzido de forma natural como na reação que ocorre entre substâncias húmicas e a radiação solar [30]. Comercialmente, cerca de 95% de H_2O_2 é produzido a partir do processo Riedl-Pfleiderer (Figura 1.2), o qual foi patenteado na década de 1930 pelos inventores Georg Pfeleiderer e Hans-Joachim Riedl.

Figure 1.2. Processo Riedl-Pfleiderer.



Fonte: [31]

O processo Riedl-Pfleiderer é marcado pela hidrogenação da antraquinona acompanhada de catalisadores metálicos como Pd ou Ni e de etapas de oxidação, liberação e purificação do peróxido [32,33]. Após um tempo de residência típico de 40 minutos no reator de oxidação, uma solução diluída de H_2O_2 a 0,9–1,8 % (m/m) é obtida,

juntamente com antraquinona regenerada. A perda de quinona no ciclo de reação é compensada pela adição periódica de antraquinona fresca à solução de trabalho [23]. A extração do H₂O₂ presente na fase orgânica é feita com água desmineralizada adicionada ao topo de uma coluna de extração líquido-líquido alta (>30 m) para garantir o máximo contato da água com a solução de trabalho. A água flui pela coluna sobre bandejas perfuradas enquanto a solução de trabalho é bombeada para cima da coluna. O produto bruto aquoso que chega ao fundo do extrator contém 25–35 % (m/m) de H₂O₂, enquanto a solução de trabalho livre de H₂O₂ que sai do topo do extrator é bombeada de volta para o hidrogenador [31,34].

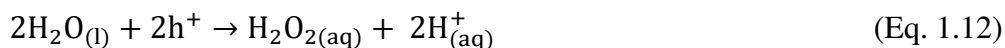
A síntese de peróxido a partir do método da antraquinona é bem estabelecida e eficiente para produção em larga escala. Porém esse processo apresenta como desvantagens alto consumo de energia, elevado custo de produção como a utilização de catalisadores formados por metais nobres, múltiplas etapas de operação, solventes orgânicos tóxicos, além de gerar quantidades significativas de águas residuais e gases de exaustão prejudiciais [35,36]. Um ponto importante a ser destacado é que a hidrogenação da antraquinona é considerada a etapa fundamental do processo, afetando diretamente o rendimento do produto e a eficiência da produção [31,34]. Sendo assim, a taxa de transferência de massa que ocorre nesse processo e a atividade e seletividade do catalisador usado nessa etapa são de extrema importância para a alta produção de peróxido. A alta atividade do catalisador impede a ocorrência de reações secundárias e formação de subprodutos indesejados [37].

Dentre os catalisadores usados na etapa de hidrogenação da antraquinona, o Pd/Al₂O₃ tem sido amplamente utilizado. Porém apresenta certas limitações como má dispersão e desativação do metal devido à aglomeração e lixiviação de espécies de Pd. Qinqinyuan *et al.* (2023) sintetizaram o catalisador Pd/Al₂O₃ modificado com AlCl₃. Diferentes teores de AlCl₃ foram avaliados em combinação com uma massa fixa de Al₂O₃ para formação do suporte. Os autores observaram que 1% de AlCl₃ presente no suporte permitiu uma eficiência de hidrogenação da antraquinona de 8,3 g·L⁻¹, 99,5% de seletividade e boa estabilidade do material [38].

O processo que envolve a combinação dos gases H₂ e O₂ para geração de H₂O₂ é ambientalmente amigável e não utiliza solventes orgânicos tóxicos [39]. Contudo, não é aplicado em escala industrial devido à natureza explosiva da mistura H₂/O₂ na faixa de 4 a 94 mol %, o que leva a riscos potenciais de segurança. Tais características exigem um

controle preciso das condições reacionais, como temperatura de 0 °C, por exemplo, o que limita o rendimento máximo da reação. Além disso, o processo necessita de catalisadores a base de metais nobres como Pd e Au que apresentam um custo elevado [40].

Ao longo dos anos, outros processos de produção de H₂O₂ foram propostos. Processos fotocatalíticos podem utilizar energia solar para converter água e oxigênio em peróxido de hidrogênio, sendo considerado sustentável e direto [39]. Além disso, a água não é considerada somente como fonte de hidrogênio, mas como solvente verde. O processo se baseia em três etapas principais: (1) a absorção de luz para geração de cargas fotogeradas (e⁻/h⁺) no fotocatalisador, que é um semicondutor; (2) reações redox na superfície do fotocatalisador e (3) produção de peróxido de hidrogênio, que pode ocorrer a partir da reação de redução do oxigênio (Eq. 1.10-1.11), ou da reação de oxidação da água (Eq. 1.12) [41].



A síntese eletroquímica é uma outra abordagem para produção de H₂O₂. Essa técnica se baseia na redução do oxigênio no cátodo em condições brandas de temperatura e pressão. O processo se destaca pela produção de H₂O₂ *in-situ* e por não formar subprodutos nocivos ou resíduos [23]. Além disso, pode ser integrado a sistemas envolvendo energias renováveis, como a energia solar, tornando o processo ambientalmente amigável e baseado na química verde [42]. A redução do oxigênio pode ocorrer por duas vias principais, sendo uma via de 4 e⁻ (Eq. 1.13), formando água, ou por uma via de 2 e⁻ (Eq. 1.14), formando o peróxido de hidrogênio.



As pesquisas nas áreas de fotocatalise e eletrocatalise para produção de peróxido de hidrogênio são voltadas principalmente para a síntese e o desenvolvimento de novos catalisadores. Na Tabela 1.2 são mostrados alguns trabalhos encontrados na literatura para produção de peróxido de hidrogênio, assim como os resultados mais relevantes.

Tabela 1.2. Diferentes catalisadores usados para a síntese de peróxido de hidrogênio em processos de eletrocatalise e fotocatalise.

Material	Abreviação do Material	Processo de obtenção de H ₂ O ₂	Resultados relevantes	Taxa de produção de Peróxido de Hidrogênio ou eficiência (%)	Ref
Nitreto de carbono grafítico enriquecido com oxigênio e Na ₃ PO ₄ .	gC ₃ N ₄	Fotocatalise	O material enriquecido somente com oxigênio apresenta abundantes vacâncias de nitrogênio. Ao adicionar fosfato no meio, forma-se ¹ O ₂ , promovendo maior produção de H ₂ O ₂ . Além disso, o fosfato impede a decomposição de H ₂ O ₂ .	5781 μmol L ⁻¹ h ⁻¹	[43]
Superestrutura 3D semelhante a uma flor consistindo de nanofolhas de estrutura metálica orgânica contendo boro 2D.	FS-BCNNSs	Fotocatalise	Fotocatalisador sem a presença de metais em sua constituição. A regulação do número de átomos de C, modula a estrutura da banda eletrônica.	1415,9 μmol g ⁻¹ h ⁻¹	[44]
Pontos quânticos de carbono puro funcionalizados com NH.	CQDs-NH	Fotocatalise	O desempenho aprimorado do material é atribuído ao grupamento CN-NH- que atua como um condutor de prótons.	2974 μmol g ⁻¹ h ⁻¹	[45]
Fotocatalisador multifásico BiFeO ₃ /MoSe com sítios de selênio.	BFO/MSe	Fotocatalise	O campo elétrico interno em BFO/MSe facilitou o transporte de carga. Os sítios de Se aumentou a adsorção do O ₂ .	1640 μmol g ⁻¹ h ⁻¹	[46]
Catalisador anfifílico Bi ₂ WO ₆ .	Bi ₂ WO ₆ (BWO-H)	Fotocatalise	Um sistema de fotocatalise interfacial de emulsão Pickering foram construídos com o auxílio de nanoestruturas anfifílicas de Bi ₂ WO ₆ , facilitando a produção síncrona e a separação espontânea de H ₂ O ₂ e de produtos químicos orgânicos valiosos.	121,53 μmol g ⁻¹ h ⁻¹	[47]
Heteroestruturas semicondutoras baseadas em estruturas metal-orgânicas de sulfeto de zinco.	NH ₂ -MIL-125@ZnS	Fotocatalise	Uma arquitetura espacialmente separada com nanogaiolas de ZnS aderidas ao NH ₂ -MIL-125 semelhante a um bolo, formando a heterojunção. Uma cobertura de heterojunção de ≈45,1% conduziu ao melhor desempenho do catalisador.	120 mmol g ⁻¹ h ⁻¹	[48]
Nanobastões de Bi ₄ O ₅ Br ₂ em nanofolhas de gC ₃ N ₄ .	Bi ₄ O ₅ Br ₂ /gC ₃ N ₄	Fotocatalise	Exibiram alinhamento de bandas bem combinadas e sua heteroestrutura mostrou melhor desempenho catalítico, com maiores portadores de carga do material para reduzir o oxigênio e oxidar a água.	124 μmol h ⁻¹	[49]

Heterojunção de nanofolha CN modificada com pontos de carbono 0D / 2D (CDsMCN).	CDsMCN	Fotocatálise	Melhora a transição eletrônica $n \rightarrow \pi^*$ em CDsMCN, acelerando a eficiência de separação de pares elétron-buraco, aumentando a adsorção de oxigênio.	1,48 mmol L ⁻¹	[50]
Estruturas orgânicas covalentes livres de metal.	COFs	Fotocatálise	Material COFs doadores-aceitadores de elétrons, com quantidades adequadas de grupos fenil como doadores de elétrons.	605 μmol g ⁻¹ h ⁻¹	[51]
Estruturas orgânicas covalentes de triazina cristalinas, livres de metal, ligadas a imina, com unidades de extremidade substituídas por grupos ciano (CN-COF) ou não substituídas (H-COF).	H-COF e CN-COF	Fotocatálise	A incorporação do grupo ciano dotou o CN-COF de uma forte estrutura D- π -A, que provocou uma ampla absorção de luz visível e aumentou drasticamente a separação de cargas.	2623 μmol g ⁻¹ h ⁻¹	[52]
Material a base de vanadato de bismuto.	BiVO ₄	Fotocatálise	Material eficaz para produção de peróxido sem a presença de heterojunções ou cocatalisadores de metais nobres. Presença de vacância de oxigênio.	290 μmol g ⁻¹ h ⁻¹	[53]
COF 3D de 8 conectividades.	3D COF	Fotocatálise	O esqueleto 3D e a estrutura de poros bem conectados têm efeitos positivos na transferência de massa e na exposição do sítio ativo.	1081 μmol g ⁻¹ h ⁻¹	[54]
Nano-ramos de solução sólida de sulfeto.	nano-ramos de Cd _x Zn _{1-x} S	Fotocatálise	Vários catalisadores com estrutura Cd _x Zn _{1-x} S foram sintetizados. A estrutura Cd _{0,5} Zn _{0,5} S apresentou o maior rendimento.	151,6 μmol g ⁻¹ h ⁻¹	[55]
Vacância de selênio induzida por dopagem de Fe em seleneto de cobalto.	Fe-CoSe-HT	Eletrocatalise	A dopagem de vestígios de Fe ajudou no crescimento do cristal e induzir a geração de vacância de Se durante a síntese do material em altas temperaturas.	9,185 mmol h ⁻¹	[56]
Catalisador de átomo único de Co coordenado com penta nitrogênio e rico em grupos epóxi.	Co-N ₅ -OC	Eletrocatalise	A combinação de Co-N com porções altamente coordenados e epóxidos de elétron-retração próximos são para atingir a energia de ligação ideal do intermediário da reação.	11,3 mol g ⁻¹ h ⁻¹	[57]
MoO ₃ como catalisador não tóxico, com estrutura hierárquica, que é composta pela sobreposição de folhas octaédricas de dupla camada de MoO ₆ .	α -MoO _{3-x}	Eletrocatalise	O material apresenta vacâncias de oxigênio controláveis, sendo que α -MoO _{3-x} -400 apresenta o maior rendimento para produção de H ₂ O ₂ .	310 mmol g ⁻¹ h ⁻¹	[58]

Nanopartículas de óxido de cério de diversas morfologias (nanofolhas, nanocubos e nanopartículas) suportadas em carbono Vulcan XC-72.	CeO ₂ /C	Eletrocatalise	Aplicação de um campo magnético contínuo. Os melhores resultados foram para 5% (m/m) de CeO ₂ para todas as três morfologias diferentes, mais que duplicando a corrente do anel, aumentando a seletividade do peróxido de hidrogênio de 51% (Vulcan XC-72) para 84-89%.	84-89%	[59]
Átomos únicos de Ru introduzidos de forma controlável no dióxido de titânio.	Ru/TiO ₂	Eletrocatalise	A introdução dos átomos de Ru favoreceu a adsorção dos intermediários.	24.2 μmol min ⁻¹ cm ⁻²	[60]
Óxido de níquel (II) mesoporoso.	NiO	Eletrocatalise	O polímero condutor poli(3,4-etilenodioxitiofeno):poli (estireno sulfonato) (PEDOT:PSS) acionou a reação de redução de oxigênio (ORR), formando H ₂ O ₂ no cátodo.	88 %	[61]
Catalisadores a base de carbono dopados com oxigênio e proporções de grupos funcionais contendo oxigênio.	MFCCs	Eletrocatalise	O catalisador apresentou uma seletividade de 98.2%, com uma eficiência faradayca de 97.5 % e uma estabilidade de 200 horas de operação.	3.63 mmol cm ⁻² h ⁻¹	[62]
Nanofolhas 2D Al-MOF ultrafinas.	2D Al-MOF	Eletrocatalise	O material apresentou alta seletividade (94-98%). morfologia ultrafina do material e abundante formação mesoporosa levam à exposição suficiente de sítios eletroquimicamente ativos e alta capacidade de transferência de massa/elétrons.	2,56 mol g ⁻¹ h ⁻¹	[63]
Nanofolhas de estrutura metálica-orgânica 2D Ni (MOF NSs) com modo de coordenação controlado.	2D Ni MOF NSs	Eletrocatalise	O material apresentou alta seletividade (98%), ótima estabilidade.	80 mmol g ⁻¹ h ⁻¹	[64]

Pode-se perceber na Tabela 1.2 que existem vários tipos de materiais que podem ser usados para produção de peróxido de hidrogênio por meio da fotocatalise e eletrocatalise. Tais materiais incluem nitretos de carbono grafítico, redes metal-orgânicas, estruturas orgânicas covalentes, nanomateriais dispersos em diferentes suportes, entre outros. Essa versatilidade demonstra a importância da produção de peróxido de hidrogênio e a busca por sínteses mais eficientes.

Um ponto importante a ser destacado para avaliar o bom desempenho dos fotocatalisadores e eletrocatalisadores é o monitoramento da quantidade de peróxido formado ao longo do processo [65]. Dentre as técnicas encontradas na literatura, destaca-se o desenvolvimento de métodos eletroquímicos, que apresentam maior sensibilidade comparada a outras técnicas comumente utilizadas [65].

1.3.3 O papel do peróxido no setor alimentício

As doenças transmitidas por alimentos contaminados são um dos grandes problemas enfrentados pela indústria alimentícia, representando uma enorme ameaça à saúde pública e humana. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 10% da população global adoece após consumo de alimentos contaminados. Ainda segundo a OMS, cerca de 420 mil pessoas morrem anualmente com algum tipo de doença de origem alimentar [66]. A contaminação pode ocorrer em qualquer etapa do processamento de alimentos, podendo estar ligada ao cozimento insuficiente durante o preparo, armazenamento inadequado, manuseio anti-higiênico, contaminação cruzada ou refrigeração inadequada [67].

As doenças alimentares podem ser causadas por agentes patogênicos fúngicos, bacterianos, parasitários e virais [68]. Porém aproximadamente 70% dessas doenças são causadas por bactérias, das quais destacam-se a *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Campylobacter*. Tais doenças podem provocar sintomas como dores de cabeça, febre, vômito, doenças gastrointestinais e renais [66]. Diante disso, tornam-se imprescindíveis medidas rigorosas de controle, prevenção e segurança na indústria alimentícia. Ainda, é muito importante promover ações que impeçam ou diminuam o risco de contaminação. Tais esforços incluem a produção de agentes antimicrobianos para alimentos, também conhecidos como sanitizantes [66]

Entre os antimicrobianos mais utilizados na indústria alimentícia destacam-se o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), N-acetil-l-cisteína [69], dióxido de cloro [70], ácido

peroxiacético (PAA) [71] e hipoclorito de sódio (cloro livre) [72], que podem ser usados de forma isolada ou combinada [8].

O principal papel dos sanitizantes é prevenir ou inibir patógenos existentes na superfície dos alimentos, dos materiais de embalagem e esterilizar equipamentos de processamento asséptico [73]. Essa atuação pode ocorrer a partir de quatro mecanismos importantes, como (1) inibição das funções metabólicas; (2) desnaturação de proteínas de organismos que são importantes para as funções vitais; (3) danos aos ácidos nucleicos e (4) alteração da permeabilidade da membrana plasmática [8].

Dentre os sanitizantes anteriormente citados, destaca-se o peróxido de hidrogênio, devido às suas características descritas anteriormente. Pode ser aplicado de forma direta na superfície de alimentos ou aplicado nos equipamentos e embalagens. A aerossolização e volatilização oferecem vantagens significativas em comparação com a imersão. O H_2O_2 pode ser usado de forma isolada ou combinada com outras técnicas, como tratamento térmico, utilização de luz ultravioleta, plasma frio, uso do ozônio, entre outras [74]. É importante destacar que fatores como temperatura, umidade, pH e tempo de contato influenciam diretamente a atuação do peróxido [74].

Muitos trabalhos da literatura abordam a aplicação de sanitizantes para o controle de patógenos em alimentos, superfícies de materiais e embalagens. Nestes trabalhos, é feita a contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC/g) de um determinado patógeno antes e após a aplicação dos agentes antimicrobianos, colocando-se o resultado em termos de redução logarítmica. Na Tabela 1.3 é mostrado um compilado de alguns trabalhos que utilizam o peróxido de hidrogênio e sua combinação com outros sanitizantes.

Tabela 1.3. Uso do peróxido de hidrogênio como sanitizante para o controle de patógenos em alimentos e superfícies de contato.

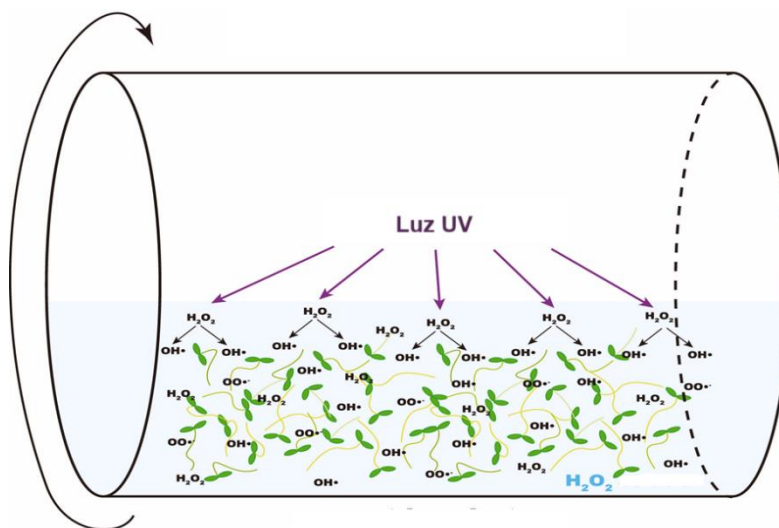
Sanitizante	Técnica de aplicação	Local de atuação	Patógeno avaliado	Principais resultados	Ref.
H ₂ O ₂	Aerossolização	Superfície de aço inoxidável	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> e <i>Listeria monocytogenes</i>	Após 60 minutos, todos os níveis dos três patógenos estavam abaixo limite de detecção (1,1 log UFC*/mL) usando uma concentração de 0,25 % (v/v) de peróxido.	[75]
H ₂ O ₂	Água nanoaerosolizada e lavagem por imersão ou pulverização	Espinafres	<i>Salmonella typhimurium</i>	o método combinado com água nanoaerosolizada por 5 min e imersão sequencial com 2-3% de H ₂ O ₂ por 2 min, diminuiu o número de <i>S. Typhimurium</i> para 1,1 ± 1,1 log UFC/ g	[76]
H ₂ O ₂	Aerossolização ativada por plasma frio	Cicatriz do caule e na superfície de tomates cereja	<i>Salmonella typhimurium</i> e <i>Listeria innocua</i>	As concentrações acima de 4,2% e 5,7% de peróxido foram capazes de reduzir 5 log da <i>Listeria innocua</i> e <i>Salmonella typhimurium</i>	[77]
Combinação de H ₂ O ₂ + ácido peroxiacético	Lavagem por imersão	Mirtilos frescos	Norovírus murino (MNV-1), bacteriófago MS2, rotavírus bovino (boRV) ou vírus da hepatite A (HAV).	boRV (> 6 log UFC após 1 min), MNV-1 (> 4 log 10 após 10 min) and MS2 (>3 log and após 3 min).	[78]
Hipoclorito de sódio ou H ₂ O ₂	Lavagem por imersão	Pimentões vermelhos, morango e agrião	<i>Listeria innocua</i> /PV mesófilos totais/Morangos coliformes totais/Agrião	H ₂ O ₂ (5% (m/m)) proporcionou as maiores reduções de cargas microbianas. Porém alterou aspectos sensoriais como a cor dos morangos. H ₂ O ₂ (1% (m/m)) reduziu as cargas microbianas e não alterou os aspectos sensoriais. O hipoclorito teve efeito menor que o peróxido.	[79]
ácido peroxiacético ou H ₂ O ₂ ou dicloroisocianurato de sódio ou dióxido de cloro	Ultrassom+ solução sanitizante	Tomate cereja	<i>Salmonella typhimurium</i>	Dentre os sanitizantes estudados, o ácido peroxiacético teve melhor atuação junto com o ultrassom com uma diminuição de 3,9 log ₁₀ UFC/g. O peróxido foi o segundo sanitizante com melhor atuação sobre os patógenos com uma diminuição de 2,1–2,6 log ₁₀ UFC/g	[80]
H ₂ O ₂	Vaporização	Alface	<i>Salmonella Typhimurium</i> , <i>Escherichia coli</i> O157:H7 e <i>Listeria monocytogenes</i>	Avaliou-se diferentes concentração de peróxido e o tempo de tratamento. O tempo 10 min e 10% (v/v), foram capazes de reduzir <i>S. Typhimurium</i> , <i>E. coli</i> O157:H7 e <i>L. monocytogenes</i> na alface em cerca de 3,12, 3,15 e 2,95 log ₁₀ UFC/g, respetivamente.	[81]

H ₂ O ₂	Plasma frio + solução sanitizante de H ₂ O ₂ .	Repolho e embalagens plásticas para envolvê-lo	<i>Salmonella typhimurium</i>	O tratamento de plasma frio com peróxido foi eficaz para combater <i>Salmonella</i> . O tempo de 3 min e 20% (v/v) de peróxido dentro da embalagem foram suficientes para diminuir a população de <i>Salmonella</i> para 0,9 log UFC/g.	[82]
H ₂ O ₂	Luz UV + solução sanitizante de H ₂ O ₂ .	Carcaças de frango	<i>Salmonella typhimurium</i>	O tratamento com 7% de H ₂ O ₂ mais luz UV foi capaz de reduzir as populações de <i>Salmonella</i> em 1.1 log UFC/g	[83]
H ₂ O ₂ e compostos de amônia quaternário	Espuma ou solução líquida.	Biofilmes em superfícies de contato em instalações de processamento de carne	<i>Escherichia coli O157:H7</i> e <i>Salmonella enterica</i>	Os tratamentos com concentrações elevadas (5 ou 10%) do desinfetante, vários tratamentos consecutivos (2 ou 3 tratamentos) e um tempo de exposição suficiente (60 min por tratamento) controlaram eficazmente a sobrevivência dos agentes patogénicos após a sanitização.	[84]

*Unidades Formadoras de Colônias

Outra aplicação interessante do H_2O_2 consiste na sua utilização como sanitizante para o controle de patógenos em brotos (germinados), que são ambientes favoráveis à propagação de microrganismos. Nesse processo os brotos são colocados em uma incubadora em forma de tambor contendo solução de peróxido e é irradiada por luz UV. A radiação UV favorece a quebra da ligação do H_2O_2 para geração de radicais livres, como o radical hidroxil ($\cdot OH$) e o superóxido ($O_2\cdot^-$), que causam a morte dos patógenos. O esquema de uma incubadora é mostrado na Figura 1.3 [85].

Figura 1.3. Incubadora giratória para o controle de patógenos em brotos pela técnica de Luz UV e uso de solução de H_2O_2 .



Fonte: [85].

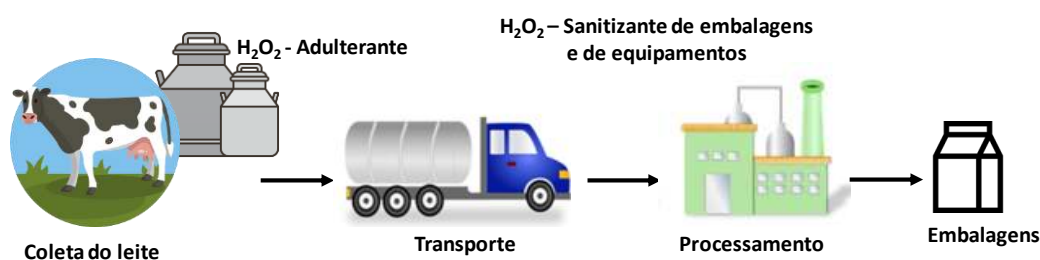
O peróxido também pode ser adicionado aos alimentos como conservante visando aumentar o prazo de validade. Um dos exemplos mais comuns consiste na sua aplicação ao leite, pois ativa o sistema lactoperoxidase, aumentando a sua validade [86]. Essa aplicação ocorre principalmente em áreas onde o resfriamento não é feito de forma correta.

A utilização do peróxido de hidrogênio em alimentos é proibida em diversos países, sendo que seu uso é permitido nos Estados Unidos apenas para produção de queijos [87,88]. Nos países em que seu uso é proibido, é considerado como principal adulterante adicionado ao leite [86]. Para eliminar os patógenos de forma efetiva, deve-se adicionar altas doses de H_2O_2 . Contudo isso afeta a composição do alimento, como a degradação do ácido fólico e das vitaminas E e A, por exemplo [3,89]. Uma outra preocupação diz respeito à capacidade de produção de espécies citotóxicas e reativas de

oxigênio a partir do peróxido de hidrogênio [3]. A oxidação desencadeada por radicais hidroxil pode resultar na degradação de ácidos nucleicos, lipídios e proteínas. Como resultado, a ingestão de H_2O_2 pode provocar efeitos adversos à saúde, causando danos ao DNA da célula e podendo acarretar diversas doenças como câncer, diabetes, Alzheimer, distúrbios neurodegenerativos, envelhecimento precoce, hipotensão, afetando principalmente pessoas imunocomprometidas [87]. De acordo com o Instituto de Segurança e Saúde Ocupacional dos EUA, o limite máximo permitido de peróxido para seres humanos é de $29 \mu\text{mol L}^{-1}$, sendo que a concentração de $2,2 \text{ mmol L}^{-1}$ provoca efeitos nocivos à saúde como irritação gastrointestinal, embolia gasosa, desidratação, e acarretar diversas doenças a longo prazo [90].

Na Figura 1.4. é mostrado um esquema da cadeia produtiva do leite e as formas de aplicação de H_2O_2 .

Figura 1.4. Etapas da cadeia produtiva de leite e formas de aplicação peróxido de hidrogênio ao longo do processo.



Fonte: Próprio autor.

1.3.4 Atuação do peróxido no tratamento de águas residuais

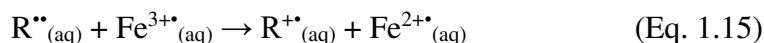
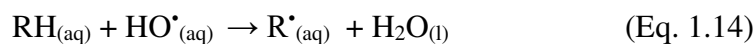
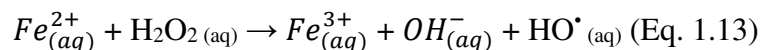
A crescente industrialização e o uso indiscriminado de produtos químicos acarretam a contaminação dos mananciais de água por compostos orgânicos, como corantes, pesticidas, inseticidas, surfactantes, subprodutos de desinfecção, produtos farmacêuticos e de higiene pessoal [91]. Essa contaminação não apenas compromete a qualidade da água potável, mas também ameaça a biodiversidade aquática e gera diversos riscos à saúde humana, sendo uma questão crítica para as pesquisas ambientais. Sendo assim, o progresso no tratamento de águas residuais é de suma importância para a saúde pública, o meio ambiente e os recursos hídricos [92].

O peróxido de hidrogênio é uma das substâncias mais aplicadas no tratamento de água residuais por ser um oxidante forte, apresentar alto teor de oxigênio ativo em sua

composição, ser baseado nos princípios da química verde e por ser mais barato que outros oxidantes, como ozônio e persulfato. Porém, apresenta desvantagem de ser um oxidante bastante lento na ausência de ativadores [2]. Sendo assim, a sua ativação é importante para a formação de espécies reativas de oxigênio, como o radical hidroxil com grande poder oxidante E^0 (OH/H₂O) = 2,8 V. Essa e outras espécies formadas ao longo do processo são responsáveis por degradar rapidamente a maioria dos contaminantes orgânicos tóxicos presentes na água, provocando a mineralização dos poluentes durante o processo [2].

A ativação de peróxido consiste em uma variante dos Processos Oxidativos Avançados (POA), que tem sido amplamente utilizado na oxidação de poluentes orgânicos não biodegradáveis, recalcitrantes e tóxicos [93]. As reações de Fenton envolvem a ativação de H₂O₂ por Fe²⁺ (Eq. 1.13), que pode ser assistida por radiação UV, sendo o processo denominado foto-Fenton. A substituição do Fe²⁺ por outras espécies, como Fe³⁺ ou Fe⁰, por exemplo, são classificadas como Fenton-like. Esses processos são bastante eficazes no tratamento de água e oferecem uma combinação vantajosa de alta eficiência de remoção, biocompatibilidade, viabilidade econômica e viabilidade de aplicação em condições amenas de pressão e temperatura [93]. Outras vantagens incluem baixo custo, rápida taxa de oxidação e alta eficiência [94].

O processo Fenton pode ocorrer de forma homogênea ou heterogênea. No processo homogêneo ocorre a oxidação do Fe²⁺ a Fe³⁺ pela ação do peróxido de hidrogênio em valores de pH ácidos (pH < 4), gerando o radical hidroxil, como demonstrado na Eq. 1.13 [95]. O radical hidroxil abstrai um hidrogênio da molécula de interesse (RH), formando espécies radicalares, originando reações em cadeia (Eq. 1.14). Pode-se observar que a regeneração do catalisador pode ocorrer de acordo com a Eq. 1.15.



As reações de Fenton homogêneas têm como desvantagem a aplicação em uma estreita faixa de pH 2-4 [2], devido à precipitação de ferro [95]. Outra desvantagem é que ao final do processo é formado um lodo devido à precipitação de Fe (III) durante o processo de neutralização [96]. Ademais, por ser um processo homogêneo, os reagentes

são difíceis de serem reutilizados [2]. Nos processos Fenton heterogêneos podem ser utilizados materiais a base de ferro [94], além de óxidos de manganês, cério, cobre, níquel, entre outros. Uma das vantagens dos processos heterogêneos consiste na possibilidade de reutilizar os catalisadores.

As reações foto-Fenton combinam as vantagens das técnicas de fotocatalise heterogênea e das reações tipo Fenton. Outra vantagem em relação à reação Fenton clássica é que a injeção contínua de elétrons fotogerados excitados estimula o ciclo $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, ampliando a ativação do H_2O_2 , reduzindo a recombinação de portadores fotogerados, e aprimorando ainda mais a eficiência catalítica [97]. Wang e colaboradores (2024) sintetizaram um catalisador ($\text{Fe-In}_2\text{S}_3$) baseado em uma rede metal-orgânica de índio. Esse material foi usado como catalisador na ativação do H_2O_2 induzido por luz para degradação de tetraciclina em água, obtendo-se 100% de degradação do antibiótico em amostras de água [97]. Rozmyslak e colaboradores (2024) aplicaram o fosfato de cobre (II) como um catalisador heterogêneo para degradação de ciprofloxacina em amostras de água via processo Fenton-like e foto Fenton-like [98].

Além dos processos oxidativos mencionados, têm-se os processos eletroquímicos avançados, que geram peróxido seguido de radical hidroxil. O peróxido apresenta dificuldades de transporte, armazenamento e manuseio, sendo que sua formação *in situ* é uma alternativa interessante. A técnica eletroquímica se baseia na eletrólise da água, que tem como um dos produtos finais o oxigênio anódico. A transformação do O_2 continua por meio de uma reação de redução de oxigênio de dois elétrons (Eq. 1.14), formando H_2O_2 seguido da sua decomposição, geração do radical hidroxil ($\cdot\text{OH}$) e de outras espécies reativas, dependendo do catalisador utilizado e do processo escolhido [99].

Uma das limitações da técnica é que o peróxido pode sofrer decomposição em água antes da formação dos radicais hidroxil. Ou então pode ocorrer a formação de água a partir do oxigênio anódico por uma via de quatro elétrons, segundo Eq. 1.13 [99]. Outra desvantagem está na constituição do material catódico, que é muitas vezes formado por metais ou ligas de alto custo. Porém existem trabalhos que utilizam materiais alternativos à base de carbono, como grafite, carbono mesoporoso e biocarvão.

Kim *et al.* (2023) sintetizaram um biocarvão de casca de banana para ser usado como eletrocatalisador para remoção de ibuprofeno em águas residuais. Houve a formação de H_2O_2 no cátodo, formado pelo biocarvão, iniciando a sua decomposição para

formação do radical hidroxil (Eq. 1.16). O material foi capaz de adsorver o ibuprofeno, resultando em uma degradação de 40%. Por fim, foi adicionado o persulfato ao sistema para avaliar o sinergismo entre o radical sulfato ($\text{SO}_4^{\bullet-}$) e hidroxil. Os autores observaram uma degradação de quase 100% para esta última configuração do sistema [100]. O esquema do eletrocatalisador é mostrado na Figura 1.5.

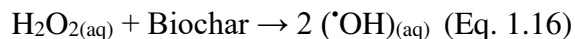
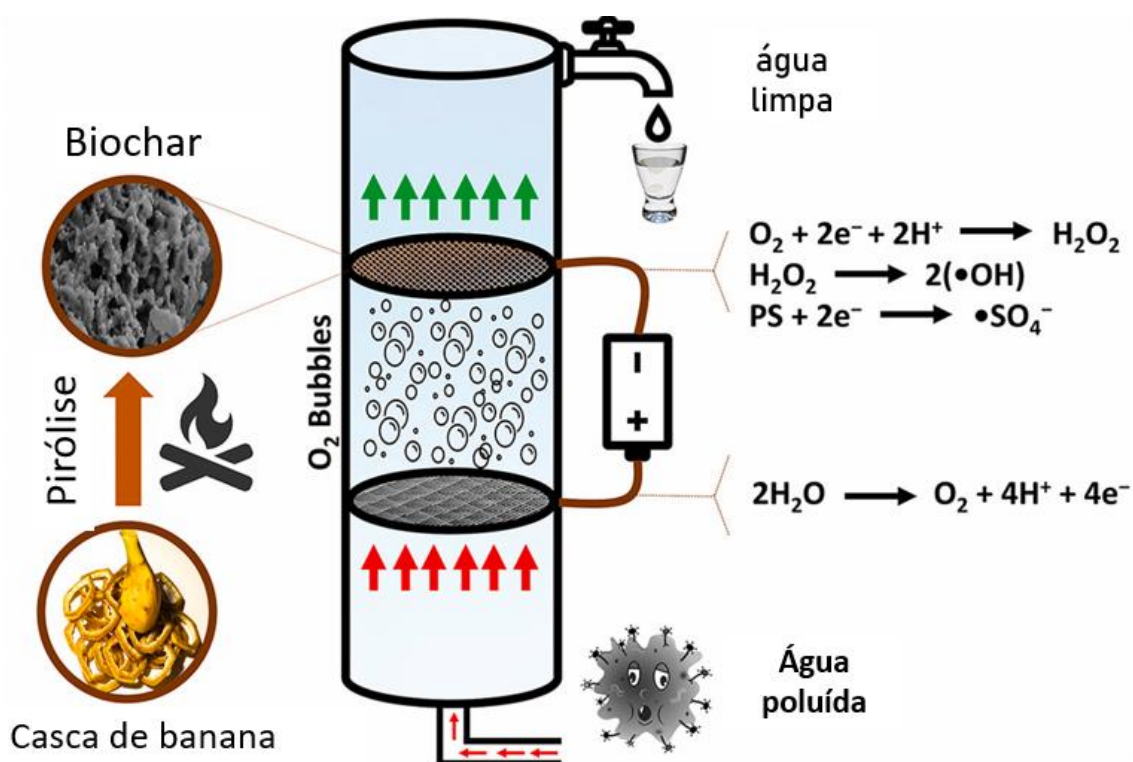


Figura 1.5. Esquema de um eletrocatalisador para remoção de ibuprofeno em águas residuais.



Fonte: [100].

Existem muitos trabalhos relatados na literatura que utilizam a combinação de processos para aumentar a degradação dos poluentes em sistemas aquosos, visando superar as limitações de cada processo isoladamente. Alguns trabalhos são mencionados na Tabela 1.4. Dada a importância da aplicação de H_2O_2 em processos de tratamento de água, é fundamental monitorar a sua concentração durante a reação. Assim torna-se necessário desenvolver métodos que sejam capazes de quantificar esse composto em água. Na sessão 1.3.5.1 são discutidos diferentes métodos encontrados na literatura que foram desenvolvidos para detectar e quantificar H_2O_2 em água.

Tabela 1.4. Diferentes catalisadores para ativação do H₂O₂ para degradação de poluentes em água.

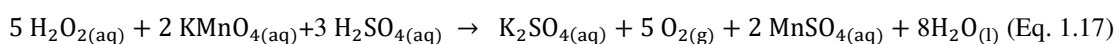
Material (Catalisador)	Ativação do H ₂ O ₂	Poluente	Principais Resultados	Ref
Estruturas tridimensionais formadas por um metal (M), um ametal (A) e carbono ou nitrogênio (X) - MAX: Cr ₂ AlC MAX	Sonocatálise	Ftalato de dimetila (FD) Rifampicina (RP) Hidroxicloroquina (HC), azul ácido (AzA)	Degradação de 69,1% de FD, 94,8% de RP; 100% de HC e 91,5% de AzA em 120 min de tratamento.	[101]
Nanocompósito magnético à base de nitreto de carbono semelhante ao grafeno: gC ₃ N ₄ /CoFe ₂ O ₄	Sonocatálise	Corantes: azul de metileno, rodamina B e alaranjado de metila	Degradação de ~100 % dos corantes em 30-35 min de tratamento.	[102]
Zeólita de titânio: Zeólita-TiO ₂	Fotocatálise + sonocatálise	Ibuprofeno	Remoção ~100 % em 100 min de tratamento. Aplicado em águas residuais urbanas e hospitalares, apresentando remoção de 77,82% e 66,24%, respectivamente.	[92]
Nanotubos ocos In ₂ S ₃ dopados com Fe: Fe-In ₂ S ₃	Foto-Fenton	Tetraciclina	Degradação de ~100 %	[97]
Fosfato de cobre: Cu ₃ (PO ₄) ₂	Fenton-like e Foto-Fenton	Ciprofloxacina (CIP)	O fosfato de cobre (II) é 7 vezes mais ativo na degradação do CIP através de uma reação do tipo Fenton e 3,5 vezes mais ativo em um processo tipo foto-Fenton do que o CuO comercial.	[98]
Átomos únicos/aglomerados de molibdênio dopados em nanotubos de carbono: Nanotubos com Mo ₅	Eletrocatalise + Fenton	Ibuprofeno	Remoção de 98% em 30 min de tratamento.	[99]
Nitreto de carbono grafítico dopado com MgO: gC ₃ N ₄ /MgO	Fenton-like	Sulfametoxazol (SMX)	Degradação de ~100 % em 3 horas de tratamento.	[103]
Nitrito de carbono semelhante a grafite: GCN	Foto-Fenton	Resorcinol (RC), fenol (PH), ácido gálico (GA), ácido benzóico (BA).	Degradação de 85,4% dos poluentes em 2 horas de tratamento. Ao adicionar peróxido ao meio, aumento da degradação para 88,8%.	[104]
Partículas magnéticas (MPs) revestidas com ácido húmico: AH-MPs	Foto-Fenton	Bisfenol A (BFA)	Degradação de ~100% em duas horas de tratamento na presença de H ₂ O ₂ . Com o persulfato, a remoção foi de ~80% em duas horas de atuação. O material foi reutilizado em 3 ciclos.	[105]

Compósito de nanopartículas de TiO ₂ decorado em grafeno reduzido (rGO): (TiO ₂ /rGO)	Eletro-Fenton	Alaranjado de metila (MO)	Remoção de MO no cátodo (TiO ₂ /rGO) de 98,40% em 120 min de eletrólise. A presença de FeSO ₄ garante a participação do processo Fenton, contribuindo para a degradação.	[106]
Zirconatos de terras raras (Ln ₂ Zr ₂ O ₇ , em que Ln = La–Gd)	Foto-Fenton	Cristal Violeta (CV)	Degradação de 90% em 1 hora de tratamento.	[107]
Nanopartículas magnéticas de Fe ₃ O ₄ : MNPs	Sonocatálise + Fenton	Rodamina B (RhB)	Remoção de 95% de RhB em 15 min.	[108]
Carbono poroso codopado com cobalto e nitrogênio: Co/Zn-NPC	Eletro-Fenton	Tetraciclina (TC)	Degradação de 100% em 120 min de reação.	[109]
Biocarvão magnético derivado de <i>Eichhornia crassipes</i> : MBC.	Fento-like	Metronidazol	Degradação de 97,4%.	[110]
TiO ₂ dopado com Fe: Fe-TiO ₀	Fotocatálise + ultrassom	Ácido escarlate 3R	Degradação de 91,15%.	[111]
Nanopartícula magnética de ZnFe ₂ O ₄ acoplada a resina resorcinol-formaldeído: ZFO	Fotocatálise + Fenton	Tetraciclina (TC)	Degradação de 67,3%. O material apresentou estabilidade de 4 ciclos.	[112]

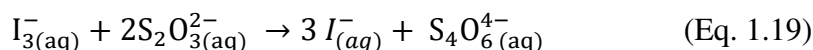
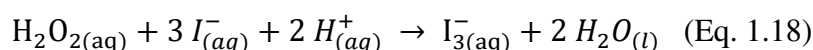
1.3.5 Métodos para determinação de peróxido de hidrogênio

Na literatura são encontradas diferentes técnicas que podem ser utilizadas para determinação do peróxido de hidrogênio em diferentes matrizes, incluindo a colorimetria [113,114,115,116], espectrofotometria [117,118,119], volumetria [120], amperometria [121,122,123,124,125], fluorimetria [126,127], quimiluminescência [128,129], cromatografia [87] e voltametria [130,131]. Em geral, esses métodos utilizam a forte atividade redox do H₂O₂ para formação ou degradação de um corante (colorimétrico) ou oxidação de uma molécula mediadora (eletroquímica) [132].

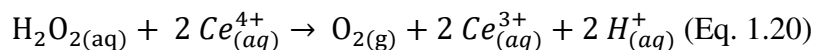
Os métodos volumétricos são métodos clássicos de análise, nos quais se destacam a iodometria, a permanganometria, e a cerimetria. A permanganometria é um dos métodos mais antigos, no qual se faz o uso de solução de permanganato de potássio como titulante. Em meio ácido, o peróxido de hidrogênio é oxidado a oxigênio enquanto ocorre a redução do íon MnO₄⁻ em Mn²⁺, de acordo com a Eq. 1.17. O permanganato não é um padrão primário, sendo necessária à sua padronização com o oxalato de sódio [120]. Uma vantagem do método é que o permanganato serve como solução auto indicadora, sendo que a solução passa de incolor para a cor púrpura intensa quando todo o H₂O₂ é consumido.



O método iodométrico se baseia na oxidação dos íons iodeto (I⁻) em meio ácido pela ação do peróxido de hidrogênio, formando o íon triiodeto (I₃⁻) (Eq. 1.18). O triiodeto é então titulado com uma solução padrão de tiosulfato de sódio, utilizando amido como indicador. (Eq. 1.19) [120]. O amido forma um complexo azul intenso com o triiodeto. À medida que o tiosulfato reage com o triiodeto, a cor azul desaparece gradualmente. O ponto final da titulação é atingido quando a última traço de cor azul desaparecer, indicando que todo o triiodeto foi consumido.

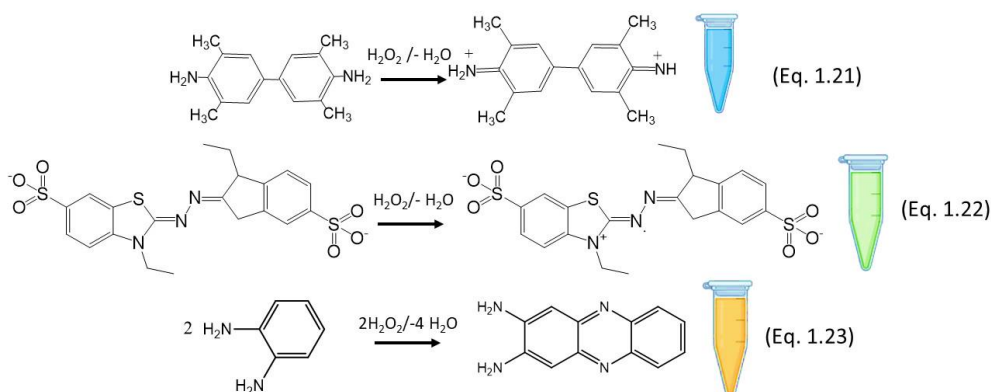


A cerimetria é outro método volumétrico no qual o peróxido de hidrogênio é oxidado por íons Ce⁴⁺ em meio ácido, formando oxigênio ao final do processo (Eq. 1.20). A ferroína é usada como indicador. Após o ponto de viragem, o excesso de cério (IV) oxida o indicador, tornando a solução azul pálido [120].



Os métodos de detecção colorimétrica se baseiam na facilidade de operação, podendo realizar análises em batelada e com pouco volume de amostra [133]. Esses métodos utilizam dispositivos de baixo custo como, por exemplo, papel, dispositivos portáteis como smartphones, entre outros [133,134]. Porém apresentam como desvantagens menor precisão e sensibilidade comparado a outros métodos. Mimetizadores enzimáticos baseadas em nanomateriais têm sido amplamente empregados nesses casos. Isso se deve às atividades catalíticas ajustáveis dos nanomateriais, além de apresentar maior estabilidade comparada a enzimas naturais [135].

As peroxidases são enzimas que catalisam a oxidação de diversos substratos doadores de elétrons na presença de peróxido de hidrogênio. Substratos cromogênicos, como a 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) (Eq. 1.21), o 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) (Eq. 1.22) e a o-fenilenodiamina (OPD) (Eq. 1.23), são comumente utilizados em ensaios enzimáticos devido à formação de produtos coloridos após a oxidação. A escolha do substrato cromogênico depende da especificidade da peroxidase e das condições do ensaio [136]. Esses catalisadores podem ser usados como sensores ou biosensores colorimétricos para detecção de peróxido de hidrogênio em diversas matrizes [136]. Graças as suas características únicas existem diversas pesquisas voltadas para o desenvolvimento de nanomateriais com comportamento mimético, como nanomateriais constituídos de metais nobres [135,137], óxidos metálicos [138], sulfetos metálicos [139] e materiais à base de carbono [133] fosfato de cobre [117].



Os métodos eletroquímicos têm se destacado como ferramentas versáteis para detecção de peróxido de hidrogênio, com aplicações em diversas áreas, como diagnóstico de doenças [53], monitoramento ambiental [54], controle de qualidade de alimentos [55], entre outras. As vantagens da técnica incluem operação simplificada, rapidez, baixo custo, alta sensibilidade, capacidade de miniaturização e análise *in situ* [55,56]. Sensores eletroquímicos podem ser formados por diferentes materiais como enzimas naturais e diferentes tipos de nanomateriais. Yu e colaboradores (2022) descrevem os avanços recentes em sensores eletroquímicos para detecção de H₂O₂, destacando diversos materiais formados por metais nobres, óxidos metálicos, sensores poliméricos, sensores baseados em carbono, redes metal-orgânicas (MOFs), entre outros [140].

Os sensores de quimioluminescência também são empregados na detecção de peróxido de hidrogênio, cujos dispositivos apresentam muitas vantagens em relação a outros métodos, como alta sensibilidade, alta faixa de aplicação, baixo custo e instrumentação simples [141]. Sensores químicos, com reagentes imobilizados ou no estado sólido, baseados na quimioluminescência com luminol ou ésteres oxálicos, têm sido amplamente usados [142].

Outra técnica utilizada para detecção de peróxido é a cromatografia, que se destaca pela alta sensibilidade, análise de amostras complexas e de diversos analitos ao mesmo tempo, além de possibilitar análises qualitativas e quantitativas [87]. Essa técnica, porém, apresenta como principais limitações preparo de amostra complexo e demorado, tempos de análise prolongados, instrumentação e insumos caros e necessidade de analistas treinados.

Pode-se observar que cada técnica analítica apresenta um conjunto de vantagens e desvantagens que a torna mais ou menos adequada para os diferentes tipos de amostra. Nas próximas seções são mostrados os principais métodos encontrados para detecção de peróxido de hidrogênio em amostras de água e leite, demonstrando os principais resultados de cada trabalho e trazendo esquemas para aqueles considerados mais relevantes.

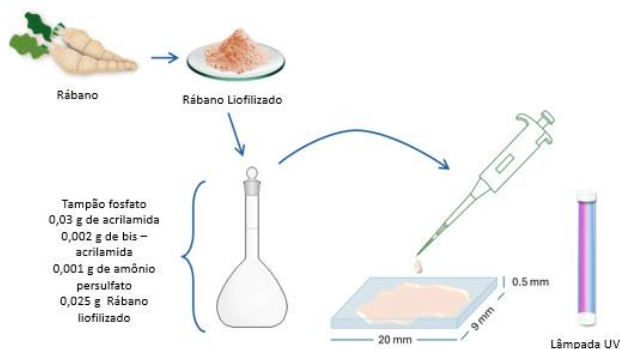
1.3.5.1 Determinação de peróxido de hidrogênio em água

As amostras de água são matrizes relativamente mais simples quando comparadas a outras matrizes, como alimentos, por exemplo. No entanto, dependendo do tipo de amostra de água, a análise pode ser bastante complexa, como por exemplo a água de um rio poluído. Na Tabela 1.5 são mostrados diferentes técnicas analíticas para determinação

para determinação de peróxido de hidrogênio em amostras de água. Dentre elas, destaca-se a técnica de Espectrofotometria de Absorção Molecular UV/Vis. Esta é uma técnica simples, porém, geralmente trata-se de um método indireto, pois o H_2O_2 deverá reagir com outra espécie formando um composto colorido ou ocorrendo a perda de cor ao longo da reação.

Sanz, Marcos e Galbán desenvolveram um método de determinação de H_2O_2 e ácido peracético (PAA) em amostras de água tratada com peróxido. Para isso, utilizaram a peroxidase do rábano (HRP), que foi incorporada em gel de poli(acrilamida), para fabricação de um biossensor óptico [143]. O processo de preparo do sensor é esquematizado na Figura 1.6, o qual apresentou boa estabilidade, podendo ser usado por pelo menos 3 meses e/ou mais de 200 medições. O método também foi acoplado a um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) de modo contínuo, demonstrado ser bastante eficaz [143].

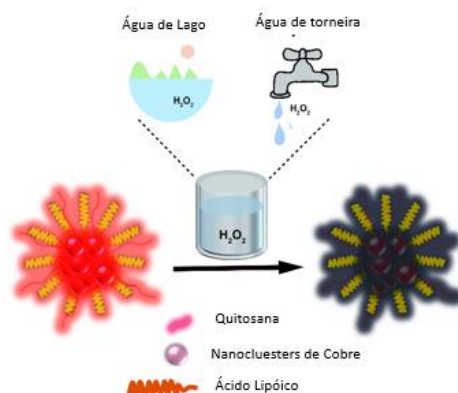
Figura 1.6. Esquema de preparação do biossensor da peroxidase do rábano incorporada em gel de poli(acrilamida).



Fonte: [143].

Lu *et al.* sintetizaram uma sonda fluorescente formada por nanoclusters de cobre, ácido lipóico, como ligante protetor, e um invólucro de quitosana (Figura 1.7).

Figura 1.7. Esquema de uma sonda fluorescente formada por nanoclusters de cobre, ácido lipóico, como ligante protetor, e um invólucro de quitosana para determinação de H_2O_2 em água.

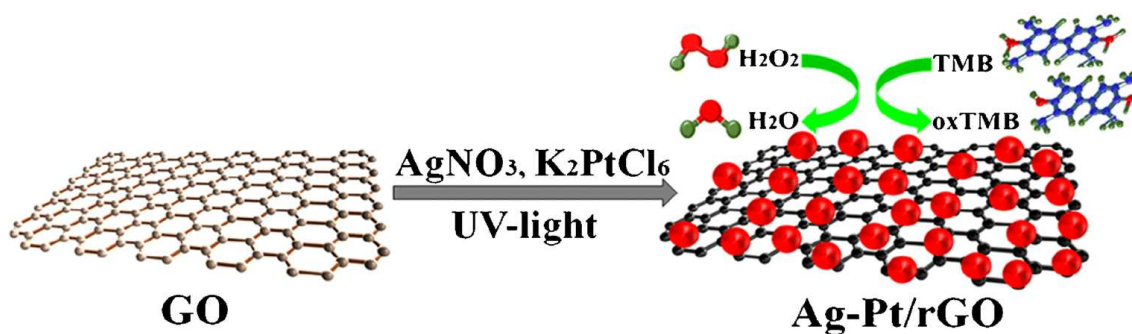


Fonte: [144].

A sonda foi construída para detecção de peróxido de hidrogênio em água, apresentando baixo limite de detecção (47 nmol L^{-1}). Essa sonda foi usada para determinação de H_2O_2 em amostras de água de torneira e água do lago Sanyuan, China [144].

Yao e colaboradores (2020) sintetizaram nanopartículas bimetálicas de Ag-Pt decoradas em óxidos de grafeno (Figura 1.8). Esse material atuou como nanoenzimas, do tipo peroxidase, na reação de oxidação de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina na presença de peróxido de hidrogênio, obtendo um produto de coloração azul. O método se mostrou sensível e eficaz para detecção de peróxido em amostras de água, apresentando limite de detecção de $0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ [145].

Figura 1.8. Nanopartículas bimetálicas de Ag-Pt decoradas em óxidos de grafeno para determinação de H_2O_2

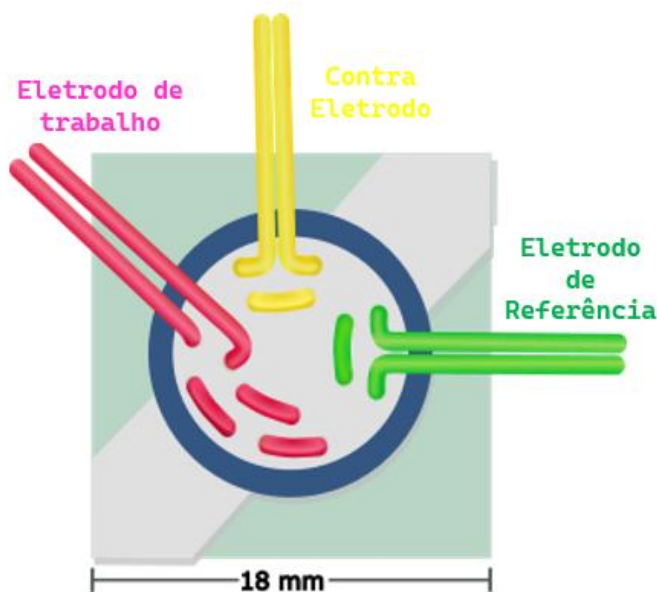


Fonte:[145]

As vantagens das técnicas cromatográficas incluem alta sensibilidade, análise multiresíduo e mecanização. Zhang e Huang utilizaram a cromatografia líquida de alta eficiência com detector espectrofotométrico na região do ultravioleta (HPLC-UV) [146]. O método foi desenvolvido para determinação de ácido peracético e H_2O_2 , por meio de reações de oxidação de *p*-tolil sulfeto de metila (MTS) e trifenilfosfina (TPP), formando os produtos sulfóxido e óxido de fosfina, respectivamente. Uma reação em paralelo usando $\text{Ti}(\text{SO}_4)_2$, que reage com o peróxido para formação de um produto de cor amarela foi usada para comparar com o método proposto. Huang e colaboradores compararam um método baseado em cromatografia de íons com um método espectrofotométrico, envolvendo a oxidação do iodeto de potássio [147]. O método cromatográfico apresentou uma maior faixa linear de trabalho, além de menor limite de detecção. Segundo os autores, o método cromatográfico apresentou pouca interferência em análises de matrizes aquosas mais complexas.

Wang e colaboradores desenvolveram um dispositivo analítico eletroquímico baseado em papel (ePADs) para determinação eletroquímica de H_2O_2 em amostras de água [148]. Foram produzidos eletrodos de trabalho e de referência por meio da deposição de azul da Prússia e Ag/AgCl em fibras de carbono, utilizando como contra eletrodo, fibra de carbono hidrofílico. Todos os eletrodos foram costurados no papel. Segundo os autores, o método apresentou alta seletividade e boa reprodutibilidade, com limite de detecção de $0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$. Um esquema do dispositivo é mostrado na Figura 1.9.

Figura 1.9. Esquema do dispositivo analítico eletroquímico baseado em papel (ePADs). Adaptado de Wang et al. (2024).



Fonte: [148]

Ali *et al.* (2020) desenvolveram uma nanossonda fluorescente para detecção rápida, seletiva e sensível de H_2O_2 em efluente [149]. A sonda produzida é composta pelo corante fluoresceína e por nanofolhas de MnO_2 . O peróxido reduz as nanofolhas de MnO_2 , liberando a fluoresceína, que apresenta um forte sinal de fluorescência. O método apresentou baixo limite de detecção com valor de $7,5 \text{ nmol L}^{-1}$ e tempo de análise de apenas 12 minutos. O esquema de funcionamento do método é mostrado na Figura 1.10.

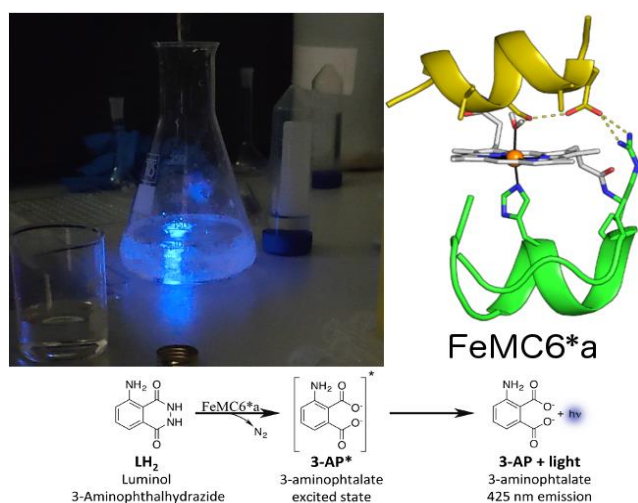
Figure 1.10. Nanossonda fluorescente para detecção H_2O_2 em efluente.



Fonte: [149].

Zambrano *et al.* (2020) sintetizaram uma heme-enzima sintética miniaturizada de Mimocromo VI*. A bioenzima sintética (FeMC6) apresentou atividade catalítica superior a peroxidase do rábano na reação de oxidação do luminol ativada por peróxido de hidrogênio. A partir dessa oxidação foi possível detectar e quantificar peróxido utilizando um medidor de quimiluminescência. O sensor obteve limites de detecção de $4.6 \mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de quantificação de $186 \mu\text{mol L}^{-1}$. O esquema do método é mostrado na Figura 1.11 [128].

Figura 1.11. Esquema de bioenzima sintética usada na reação de oxidação do luminol ativada por peróxido de hidrogênio.



Fonte: [128]

Tabela 1.5. Métodos analíticos para determinação de peróxido de hidrogênio em amostras de água.

Técnica analítica	Método	Observações	FLT ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LoD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Ref.
Espectrofotometria	Biossensor óptico, com peroxidase do rábano (HRP) aprisionada numa matriz de gel de poliacrilamida	Biossensor óptico reutilizável sem reagentes (estabilidade de 3 meses e/ou mais de 200 medições), com opção de sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) e modo contínuo, para análise de amostras de águas residuais. ($\lambda = 420 \text{ nm}$).	0,6 – 100	-	101 – 106	[143]
	Método Iodométrico catalisado pela peroxidase	Reação catalisada pela peroxidase em que o KI é oxidado em I_3^- de cor amarela em 15 s. ($\lambda = 350 \text{ nm}$ e $\lambda = 400 \text{ nm}$).	0 – 70	0,09 (350 nm) 0,33 (400 nm)	~ 100	[150]
	Método Iodométrico catalisado por molibdato de amónio Mo(VI)	Método baseado na oxidação de KI por H_2O_2 em I_3^- , catalisada por Mo (VI), tempo de reação de 6 min. ($\lambda = 530 \text{ nm}$).	8,8 – 97	2,93	96,6-97,8	[151]
	Oxidação do 2,20-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) ABTS	Oxidação do ABTS, catalisada por peroxidase, criando um radical de cor verde ($\text{ABTS}^\bullet = \text{ABTS}$ catiônico), ($\lambda = 415 \text{ nm}$).	0,04-40	0,02	102.38	[152]
	Oxidação da 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) catalisada por óxido de grafeno decorado com nanopartículas de Ag-Pt com atividade de nanoenzima	Material com atividade semelhante à da peroxidase para oxidação catalítica da 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina, formando um produto azul ($\lambda = 652 \text{ nm}$).	10-100	0,9 μ	96,7-101.2	[144]
Fluorimetria	Construção de uma sonda fluorescente baseada em LA-Cu NCs@CS (nanoaglomerados de Cu, com a presença de ácido lipóico e borohidreto, adicionado em quitosana	Sonda fluorescente com alta sensibilidade e seletividade, usada para análise de água da torneira e água do lago Sanyuan, China ($\lambda = 400 \text{ nm}$).	0.2 – 128	0,047	95,88–98,44 (água de torneira) 94,38–102,5 (água de lago)	[153]

	Sonda fluorescente PAT (2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina funcionalizada com um fenoxianilina).	Detecção de vapores de peróxido. As vibrações intramoleculares limitadas são importantes para melhorar a resposta de emissão de fluorescência do sensor. ($\lambda = 365$ nm).	0 – 0,25	0,01	97,1-97,3	[154]
	Nanossonda fluorescente composta por corante fluoresceína (FLS) como sonda fluorescente e nanofolhas de MnO ₂ (MnO ₂ NS) como supressor.	O H ₂ O ₂ reduz o MnO ₂ NS no compósito sintetizado e libera FLS, causando uma recuperação suficiente do sinal fluorescente relacionada com a concentração de H ₂ O ₂ .	0,04 – 30	0,0075	-	[149]
HPLC- UV	Método para detecção simultânea de ácido peracético e H ₂ O ₂ usando as reações de oxidação de p-tolila sulfeto de metila (MTS) e trifetilfosfina (TEP) formando os produtos sulfóxido e óxido de fosfina, respectivamente. Reação paralela de Ti(SO ₄) ₂ como indicador que pode complexar com H ₂ O ₂ para gerar um aduto amarelado facilmente detectado em 407 nm.	Aplicabilidade em matrizes aquosas complicadas devido à seletividade das reações e à separação cromatográfica da HPLC Sensibilidade a baixas concentrações de H ₂ O ₂ .	1,7–262	6,00	-	[155]
Cromatografia iónica (CI)- Detector UV	Utilização direta da CI baseada na teoria de que o H ₂ O ₂ pode ser desprotonado em íons hidroperoxila acima de pH 11,72.	Elimina a necessidade de uma reação, como o método KI, e tem um limite de detecção muito mais baixo do que técnicas como a Titulação, a colorimetria KI e a HPLC.	2,93-293,9	0,062		[156]
Voltametria cíclica	Azul da Prússia como eletrodo de trabalho.	Criação do chamado "ePad", que consiste em um eletrodo azul da Prússia e Ag/AgCl depositados em fibras de carbono que foram depois costurados.	100-1000	0,9	95,7–99,7%	[148]

		no papel de substrato. Apresentou uma boa reprodutibilidade (3,65 %)				
Polarografia de pulso diferencial	Utilização de um eletrodo de mercúrio gotejante para a medição de H ₂ O ₂ no processo Fenton e electro-Fenton em soluções ácidas.	O eletrodo de mercúrio gotejante foi avaliado nas condições reacionais do processo Fenton e eletro-Fenton em soluções ácidas. Não houve alteração na quantificação pela presença de Fe ²⁺ . A técnica foi comparada com o método iodométrico e método espectrofotométrico usando 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina (DMP).	20-1000	13	103-109%	[155]
Ressonância Magnética (RM)	Espectroscopia Z ultra-rápida (UFZ) Método baseado em soluções aquosas com base na transferência de saturação de troca (CEST)	Método simples, não invasivo, rápido e exato para quantificar H ₂ O ₂ em soluções aquosas.	-	180	-	[156]
Titulação iodométrica	Determinação de peróxidos, dentre eles, o peróxido de hidrogênio por iodometria.	Método iodométrico em várias etapas com base no método estabelecido de molibdato-NaHCO ₃ tamponado, utilizando uma combinação com catalase e iodometria tamponada com acetato	13 – 500	10,6	95-105	[157]
Quimiluminescência	Síntese de uma nanoenzima sintética usada na reação de oxidação do luminol ativado por peróxido.	A heme-enzima sintética, denominada FeMC6*, é utilizada como sensor biológico ativo, apresentando maior atividade catalítica em relação a peroxidase do rábano.	10-120	4,6	-	[128]
Voltametria cíclica	Pd/Al (CMC @Pd/Al-LDH) - Eletrodo de carbono vítreo modificado com um nanocompósito preparado a partir de hidróxido duplo em	Corrente voltamétrica: -380 mV Taxa de varredura de 50 mV s ⁻¹	1 – 120	0,30	96,6 – 102,3	[158]

camadas de Pd/Al e carboximetilcelulose.						
Eletroquimiluminescência	Híbrido de nanocompósito de polipirrol-dodesilbenzeno-óxido de cério (PPy-DBS-CeO ₂) em um eletrodo de Pt	O sensor mostrou uma boa estabilidade após 8 ciclos, com uma alteração na intensidade de ECL inferior a 3,6%.	$5,0 \times 10^{-10}$ 50	1,2	-	[159]
Luminescência	Complexo luminescente de Eu ³⁺ -tetraciclina peróxido de hidrogênio (EuTc-HP)	O complexo é monitorado em 616 nm, sendo o peróxido detectado em amostras de água do rio.	2 a 160	1,1	99,5	[160]

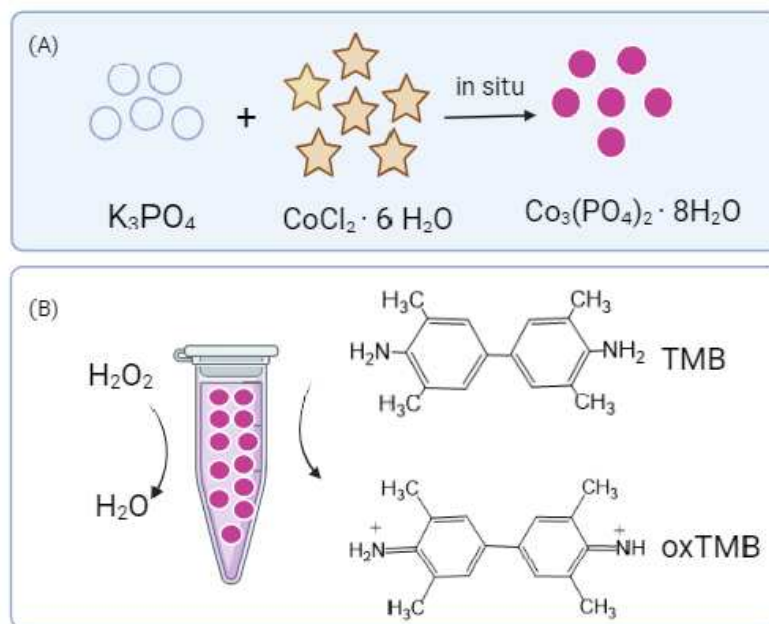
1.3.5.2 Determinação de peróxido de hidrogênio em leite

O leite é constituído de 87% de água e 13% de sólidos totais formados por proteínas, gorduras, carboidrato como a lactose e minerais. Portanto, é considerada uma matriz complexa devido à composição química variada, interações entre componentes, presença de compostos minoritários e sensibilidade à degradação [161].

Como mencionado anteriormente, essa matriz pode estar contaminada com H_2O_2 e, portanto, métodos de determinação de peróxido de hidrogênio em leite são muito importantes. Na Tabela 1.6 são mostrados trabalhos que abordam a determinação de H_2O_2 em amostras de leite, dentre eles, destaca-se as técnicas de colorimetria e espectrofotometria.

Peng e colaboradores (2022) sintetizaram uma nanoenzima de fosfato de cobalto ($Co_3(PO_4)_2 \cdot 8 H_2O$) pelo método da coprecipitação (Fig. 1.12 (A)). O material foi usado na detecção colorimétrica de H_2O_2 em amostras de leite, baseado na oxidação do 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) (Fig. 1.12 (B)). Os resultados apresentaram uma recuperação entre 90,2 - 106,2%. Segundo os autores, o ensaio cinético demonstrou que a nanoenzima apresentou um comportamento mimético da peroxidase, evidenciando maior afinidade pelo H_2O_2 em comparação com a peroxidase do rábano (HRP) e outras nanoenzimas [162].

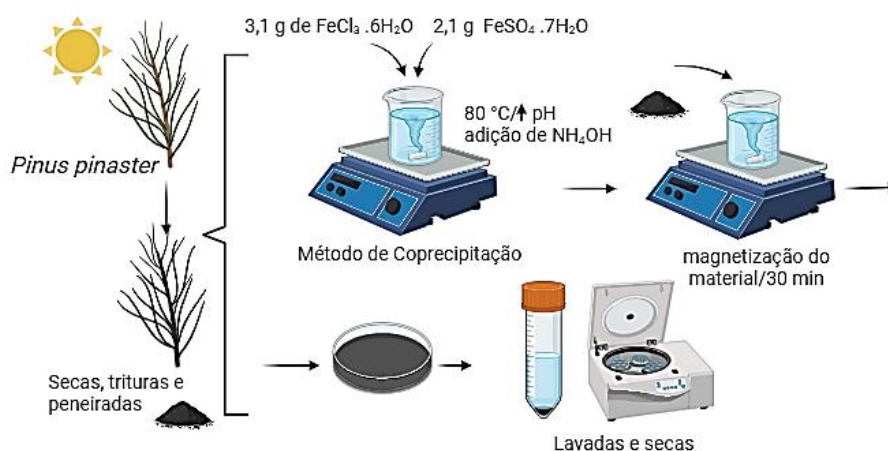
Figura 1.12. Esquema da síntese *in situ* de $\text{Co}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (A) e sua aplicação como mimetizador da peroxidase na oxidação de TMB na análise de H_2O_2 em leite (B).



Fonte: [162]

Buzdar e colaboradores (2023) desenvolveram um sensor de H_2O_2 portátil e sustentável baseado em papel de filtro, utilizando nanopartículas magnéticas de *Pinus Pinaster*. O material foi usado como nanoenzima mimética da peroxidase através da reação de oxidação do TMB na presença de peróxido. O método se mostrou sensível, com limite de detecção de $0,007 \mu\text{mol L}^{-1}$, sendo aplicado com sucesso em amostras de leite [134]. Um esquema da produção da nanoenzima é mostrado na Figura 1.13.

Figura 1.13. Esquema de síntese do nanocompósito de Fe_2O_3 a partir da planta agulha de pinus usado como mimetizador da peroxidase

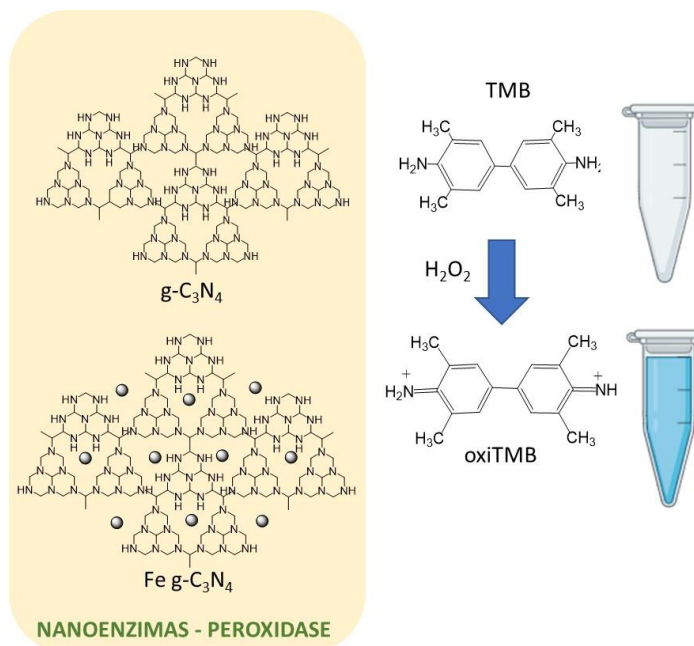


Fonte: [134]

As folhas grafíticas de nitreto de carbono ($\text{g-C}_3\text{N}_4$) são um tipo de nanomaterial polimérico que atuam como fotocatalisador heterogêneo. Este material se destaca por sua alta estabilidade físico-química e facilidade de síntese [163]. Adicionalmente, o $\text{g-C}_3\text{N}_4$ possui atividade peroxidase, sendo capaz de mimetizar a enzima peroxidase, catalisando a oxidação da 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) na presença de H_2O_2 , o que resulta em uma solução de coloração azul clara [164].

Para melhorar a atividade catalítica, Peng e colaboradores (2020) realizaram a dopagem do $\text{g-C}_3\text{N}_4$ com ferro ($\text{Fe-g-C}_3\text{N}_4$). Os resultados mostraram que o $\text{Fe-g-C}_3\text{N}_4$ apresentaram maior número de sítios ativos e maior atividade peroxidase, resultando em uma mudança de cor mais intensa. A cor da mistura de TMB e $\text{Fe-g-C}_3\text{N}_4$ tornou-se mais intensa conforme se aumentava a concentração de H_2O_2 . O método colorimétrico desenvolvido apresentou uma ampla faixa linear ($0,005$ a $400 \mu\text{mol L}^{-1}$) e baixo limite de detecção ($0,005 \mu\text{mol L}^{-1}$). O esquema de funcionamento do método é mostrado na Figura 1.14 [133].

Figura 1.14. Esquema adaptado do método desenvolvido no trabalho de Peng et al. (2020).



Fonte: [133]

Técnicas como a voltametria cíclica (CV) e a voltametria de pulso diferencial (DPV) também podem ser empregadas para determinação de H₂O₂ [165]. A utilização de nanomateriais tem sido adotada para amplificar a sensibilidade da técnica e otimizar o desempenho eletroquímico na interface do eletrodo [166]. Althomali e colaboradores (2022) desenvolveram um sensor voltamétrico utilizando um eletrodo de carbono vítreo (GCE) modificado contendo nanopartículas de ZnO. Os autores utilizaram o sensor na determinação de H₂O₂ em amostras reais de leite (Fig. 1.15). O eletrodo apresentou uma ampla faixa linear de 0,5 a 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e de 10 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, além de baixo limite de detecção (0,45 $\mu\text{mol L}^{-1}$), evidenciando a sua alta sensibilidade e seletividade para H₂O₂ [165].

Figura 1.15. Esquema adaptado do método desenvolvido por Althomali e colaboradores baseado em um sensor voltamétrico com eletrodo de carbono vítreo.



Fonte: [165]

Sangkaew *et al.* (2022) desenvolveram um sensor eletroquímico não enzimático altamente sensível para detectar H_2O_2 em leite adulterado. Utilizando nanopartículas bimetalicas de ouro-platina (AuPt NPs) como eletrocatalisadores, o sensor foi capaz de aumentar seletivamente o sinal eletroquímico de H_2O_2 . O eletrodo de carbono serigrafado (SPCE) modificado com AuPt NPs demonstrou boa atividade eletrocatalítica para a eletro-redução de H_2O_2 em amostras de leite, tanto submetidas ao processamento de ultra-alta temperatura (UTH) quanto leite cru [167].

Mihailova e colaboradores (2022) descreveram um revestimento nanoestruturado de óxido de cobre (CuO) e sua aplicação como eletrodo de trabalho para a determinação eletroquímica de H_2O_2 . Esse revestimento nanoestruturado de CuO exibe uma atividade eletrocatalítica comparável à da peroxidase, possibilitando a detecção altamente sensível de H_2O_2 . O sensor demonstrou uma relação linear satisfatória entre a corrente de pico e a concentração de H_2O_2 na faixa de 10 a $1800 \mu\text{mol L}^{-1}$. Ao analisar amostras reais de leite, o sensor alcançou uma alta taxa de recuperação (superior a 95%), confirmando sua eficácia para a detecção qualitativa e quantitativa de H_2O_2 [130].

Tabela 1.6. Métodos Analíticos para determinação de Peróxido de Hidrogênio em amostras de leite.

Técnica	Método	FLT ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LoD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Observações	Referência
Espectrofotometria UV-Vis	Oxidação de 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina mediada por nanopartículas metálicas ternárias de FePt-Au.	20 – 700	12,33	-	atividade mimética da peroxidase pelo material/ máximo absorção em 652 nm. tempo de análise: 40 min	[135]
Espectrofotometria UV-Vis	Oxidação de 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina mediada por nanopartículas de $\text{Co}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$.	15 – 100	4,38	90,2 -106,2	atividade mimética da peroxidase pelo material/ máximo absorção em 652 nm. tempo de análise: 40 min	[162]
Espectrofotometria UV-Vis	Oxidação de 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina mediada por $\text{PA/Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.	100 – 5000	79,0	92,4%-101,7	atividade mimética da peroxidase pelo material/máximo absorção em 652 nm. tempo de análise: 30 min	[168]
Espectrofotometria UV-Vis	Oxidação de 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina mediada por $\text{Au@MIL-53(Fe)}^{\text{d}}$ e $\text{Ag@MIL-53(Fe)}^{\text{e}}$	0,1 – 10 10 – 100	0,062	95,37 -98,64	atividade mimética da peroxidase do material/máximo de absorção em 652 nm.	[169]
Espectrofotometria UV-Vis	Oxidação de 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina mediada por nitreto de carbono grafítico dopado com Fe	0,005 – 400	0,005	97,0 – 103,0	atividade mimética do material para peroxidase /absorção máxima em 652 nm.	[133]
Sensor colorimétrico	Síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) na presença de um polissacárido nanoestruturado (nanowhiskers de celulose) para produzir um material híbrido	0,01–30 60–600	0,014 112	98	A utilização de suspensões coloidais exclui as etapas adicionais necessárias para produzir géis ou películas - diretamente utilizado como sensor de H_2O_2	[116]
Biosensor cololimétrico	Estrutura de imidazolato zeolítico-67/óxido de grafeno reduzido (ZIF-67/rGO)	75 - 500 7,5 – 750	29,93 3,81	102 – 104	Biossensores colorimétricos baseados em nanomateriais enzimáticos	[170]

Sensor colorimétrico	Nanocompósito de dissulfureto de molibdênio e titanato de cobalto (MoS ₂ @CoTiO ₃)	0,1 – 5	0,01	93,3 – 98,3	A ação combinada dos componentes MoS ₂ e CoTiO ₃ revelou uma atividade intrínseca do tipo peroxidase, permitindo a oxidação visível da 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB)	[171]
Sensor colorimétrico	Sensor de papel de filtro baseado numa enzima verde que imita nanopartículas magnéticas de agulhas de Pinus (MNP)	0,01 – 0,09	0,007	93,3 – 99,5	Atividade do tipo peroxidase com reação perceptível a olho nu	[134]
Ensaio colorimétrico Espectroscopia UV-Vis	Óxido de grafeno reduzido (rGO) decorado com peroxidase do rábano (HRP)	0,3 - 20 20 – 8000	~0,015	94 – 102	Deteção de H ₂ O ₂ com base na oxidação do ácido 2,2'-azino bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) O substrato ABTS absorve oxigénio para formar um produto de cor verde	[172]
Amperometria	Sensor amperométrico não enzimático baseado num eléctrodo de carbono serigrafado modificado com nanocompósitos AgNp@GNRb	50 – 5000	20	96 - 104	Eléctrodo descartável com um prazo de validade de 5 semanas	[123]
Potenciometria	Sensor eletroquímico emergente baseado em nanopartículas bimetálicas de AuPt monitorizado por potenciostato.	0,5-500	4,8	82 - 116	Sensor eletroquímica não enzimática/com estabilidade a longo prazo após 4 meses.	[167]

Amperometria	Eléctrodo de compósito de grafite modificado com azul, fio de platina e Ag/AgCl/KCl saturado	100 – 4000	10	85 - 107	Análise de injeção por lotes. Compósito com 30% (peso) de grafite modificada e 70% (peso) de grafite pura	[122]
Amperometria	Um eléctrodo de plástico de grafite fundido/PVC, decorado com nanoestruturas de NiO	até 4.000	50	95 - 111	sensor eletroquímico não enzimático	[173]
Amperometria	Sensor eletroquímico formado por nanocompósito de Pd-Cu/Cu ₂ O num substrato de óxido de estanho dopado com flúor (FTO)	5,0 – 4000	1,80	97,2 – 103,6	O nanocompósito Pd-Cu/Cu ₂ O foi sintetizado por voltametria cíclica (CV) com uma taxa de varredura de 20 mV s ⁻¹ na faixa de potencial de -0,2 a -1,0 V.	[174]
Amperometria	Sensor Amperométrico Não Enzimático Baseado em Eléctrodo Poroso de Ouro Modificado por Serigrafia em Sistema de Diálise Online	10 – 1000	0,37	90 – 96	estabilidade do eléctrodo demonstrada por 100 injeções repetidas de amostras de leite	[125]
Voltametria de pulso diferencial (DPV)	Material híbrido à base de polianilina, dialdeído carboximetilcelulose e presença de nanopartículas de ZnO	0,5–50	0,45	102 - 107	velocidade de varredura de 100 mV.s ⁻¹	[165]
Voltametria cíclica (CV)	Sensor eletroquímico formado com eléctrodos compósitos MnO ₂ -TNTA obtidos através da deposição de MnO ₂ em matrizes de nanotubos de TiO ₂ por reação de adsorção sucessiva de camadas iónicas (SILAR)	5 -13000	0,60	96,0 -102,67	Foram medidos na gama de potencial de - 1,2 ~ 0,4 V e a velocidade de varrimento de 50 mV s ⁻¹	[175]

Voltametria cíclica (CV)	sensor baseado na simples fundição de um compósito Nb ₂ CTx MXeneNb ₂ CTx em tecido de carbono, seguida da deposição eletroquímica de azul da Prússia	1 -100	0,20	-	Boa estabilidade de armazenamento com 97% de atividade retida mesmo após 1 semana de armazenamento a 4 °C.	[176]
Voltametria cíclica (CV) Amperometria Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS)	Híbrido tridimensional de nanoestruturas de MnO ₂ /grafeno/nanotubos de carbono como material de detecção	1 -1030	0,10	96,5 – 101,5	Sensor eletroquímico não enzimático	[177]
A voltametria cíclica (CV) e Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS)	CoCr ₂ O ₄ nanopartículas/compósito de grafeno	0,04 – 24600	0,018	98,50 – 99,33	A capacidade de detecção eletroquímica resulta da grande área ativa do elétrodo, da boa condutividade e do sinergismo entre o grafeno e as nanopartículas de CoCr ₂ O ₄	[178]
Voltametria cíclica/voltametria de pulso diferencial	sensor eletroquímico não enzimático baseado em óxido de cobre nanoestruturado sobre fios de cobre	10 – 1800	1,34	95,06 – 97,73	Estabilidade do elétrodo durante 1 mês	[130]
Voltametria de pulso diferencial	Um elétrodo modificado com um nanocompósito NiCoMnS/rGO foi utilizado para a determinação de H ₂ O ₂ no leite.	10–7500	1,12	91,4 a 101,3	A tensão de 0,6 V foi selecionada como a tensão ótima para a detecção eletroquímica das espécies de interesse, assegurando uma resposta eficiente e sensível do elétrodo NiCoMnS/rGo modificado.	[179]
Voltametria cíclica (CV)	Pd / Al (CMC @Pd / Al-LDH) - Elétrodo de carbono vítreo modificado com um nanocompósito preparado a	1 - 120	0,30	96,6 - 102,3	Corrente voltamétrica: -380 V/velocidade de varrimento de 50 mV.s ⁻¹	[158]

	partir de hidróxido duplo em camadas de Pd/Al e carboximetilcelulose					
Voltametria cíclica e amperometria	Nanopartículas de óxido de ferro e nanotubos de carbono	1,2 – 21,6	0,037	-	Limite de quantificação de 12,2 nmol L ⁻¹ Tempo de resposta inferior a 1s	[180]
Voltametria cíclica e amperometria	Eléctrodo de carbono impresso à mão	1,0 -1200	0,35	97,8	Tinta de impressão de grafite modificada com o líquido iónico à temperatura ambiente (RTIL), tetrafluoroborato de 1-etil-3-metilimidazólio ([EMIM][BF ₄]), ácido ferroceno carboxílico (Fca) e acetato de celulose (CA)	[181]
Voltametria cíclica	Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs), hidroxiapatite (HAp) e peroxidase de rábano (HRP)	10 -234	1,91	98,5 – 102,4	-	[182]
CV, DPV e Cronoamperometria	Nanopartículas esféricas de boreto de níquel (Ni ₃ B NPs) ancoradas em nanofibras de carbono (<i>f</i> -CNFs)	0,083 - 12600 14200- 39500	0,021	-	As pequenas NPs Ni ₃ B poderiam aumentar a atividade electrocatalítica para a redução de H ₂ O ₂ através das <i>f</i> -CNFs devido aos efeitos sinérgicos das <i>f</i> -CNFs e das NPs Ni ₃ B	[183]
Amperometria	Sensor baseado na redução electroquímica em que o (II) 1-(3-bromobenzil) -5-metil-1H-1,2,3-triazole-4-carboxilato. [Cu(bmtc) ₂ (H ₂ O)] atua como mediador ligado a um eléctrodo impresso.	10 – 524	0,57	98,3 -108	Não se registou qualquer alteração significativa do sinal amperométrico durante o período de 1 hora	[89]

Amperometria	Eléctrodo flexível de carbono serigrafado (SPE) de politereftalato de etileno modificado (PET)	1 – 50	0,046	-	Diferentes actividades electrocatalíticas utilizando nanoestruturas intrínsecas de MoS ₂ e rGO-MoS ₂ para a redução de H ₂ O ₂	[121]
Quimiresistividade e Amperometria	Sensor electroquímico apresenta detecção de modo duplo, à base de hidrogel	0,613 – 6130			Hidrogel à base de poli(3,4-etilenodioxitiofeno):sulfonato de poliestireno (PEDOT:PSS) como transdutor Poliuretano hidrofílico (HPU) como matriz do hidrogel Peróxido de rábano (HRP) como enzima redox. Apresenta 93% de eficiência após 50 dias	[184]
CV, EIS e Amperometria	Sensor amperométrico não enzimático baseado em nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizados com ferroceno (MWCNT-FeC)	1 – 1000	0,49	94,33 – 97,62	Eléctrodos de carbono serigrafados fáceis (SPCEs) Os eléctrodos electrocatalíticos modificados MWCNT-FeC apresentam uma transferência de elétrons de elevada eficiência	[185]
Eletroquimioluminescência (ECL)	Híbrido de nanocompósito de polipirrol-dodesilbenzeno-óxido de cério (PPy-DBS-CeO ₂) em eléctrodo de Pt	5,0 × 10 ⁻¹⁰ 50 × 10 ⁻⁶	1,2 × 10 ⁻¹⁰		O sensor mostrou uma boa estabilidade após 8 ciclos, com uma alteração na intensidade de ECL inferior a 3,6%.	[159]
Fotoelectroquímica (PEC)	Heteroestrutura de nanoflorescência de oxibrometo de bismuto (BiOBr)	4 - 1800	0,65	98 – 102	A heterojunção p-n formada entre BiOBr e TiO ₂ melhora a	[186]

	modificadas com matrizes de nanobastões de n-TiO ₂				utilização da luz visível e promove eficazmente a separação de elétrons e buracos foto gerados	
Dispersão Raman reforçada pela superfície (SERS)	Nanocompósitos de fuso Mn ₃ O ₄ - Au estabilizados por L-cisteína	0,005 – 10	0,6	-	A atividade da peroxidase foi investigada na presença de um substrato cromogênico, 3,30,5,50-tetrametilbenzidina, que catalisou a redução de H ₂ O ₂ dando origem a uma cor azul	[90]
Espectroscopia de fluorescência	A 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina foi funcionalizada com um substituinte fenoxianilina que provocou um aumento da emissão induzida por agregação na sonda PAT	100-200	0,01	97,1-97,3%	As vibrações intramoleculares limitadas são importantes para melhorar a resposta de emissão de fluorescência do sensor	[154]

1.4. CONCLUSÃO

O peróxido de hidrogênio se destaca como um composto químico versátil e essencial para diversos setores. Sendo assim, a sua produção sustentável deve ser estimulada. Os métodos de fotocatalise e eletrocatalise são consideradas alternativas viáveis para a produção de peróxido em comparação com o método da antraquinona. Entre as suas aplicações, destacam-se a sua atuação no tratamento de água e no setor de alimentos. Por isso, faz-se necessário desenvolver métodos de análise que sejam capazes de detectar e quantificar esse analito. Entre os métodos encontrados, destacam-se os colorimétricos, que utilizam do processo de oxidação de um substrato, doador de elétrons, na presença do peróxido, para formação de um produto colorido, sendo catalisadas por materiais miméticos da peroxidase. Sendo assim, a busca por materiais mais baratos, de síntese simples e baseados na química verde devem ser encorajados, assim como a sua atuação como catalisador da peroxidase para quantificação de peróxido em matrizes como a água e o leite.

1.5. REFERÊNCIAS

- [1] ABDOLLAHI, M., HOSSEINI, A. Hydrogen Peroxide. In: Encyclopedia of Toxicology: Third Edition. Vol. 2. 2014. p. 967-970. doi: 10.1016/B978-0-12-386454-3.00736-3.
- [2] PAN, H., GAO, Y., LI, N., ZHOU, Y., LIN, Q., JIANG, J. Recent advances in bicarbonate-activated hydrogen peroxide system for water treatment. **Chemical Engineering Journal**, v. 408, p. 127332, 2021. doi: 10.1016/j.cej.2020.127332
- [3] VASCONCELOS, H., MATIAS, A., MENDES, J., ARAÚJO, J., DIAS, B., AS JORGE, P., SARAIVA, C., M. M. M DE ALMEIDA, J., C. C. COELHO, L. Compact biosensor system for the quantification of hydrogen peroxide in milk. **Talanta**, v. 253, p. 12402, 2023. doi: 10.1016/j.talanta.2022.124062.
- [4] LOPES, R. P., GUIMARÃES, T., MORO, M. M., GUIASOLA, E., MOYA, S., ASTRUC, D. Magnetic Biochar-Supported Pd Nanoparticles as a Peroxidase-Like Catalyst. **Waste Biomass Valorization**, v. 13, p. 3629-3637, 2022. doi: 10.1007/s12649-022-01740-x.
- [5] HOU, H., ZENG, X., ZHANG, X. Production of Hydrogen Peroxide by Photocatalytic Processes. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 59, p. 17356-17376, 2020. doi: 10.1002/anie.201911609.
- [6] YAN, Z. C., WANG, W. L., JING, Z. B., JIANG, Y. Q., ZHANG, H. Q., LEE, M. Y., PENG, L., WU, Q. Y. Ozone, hydrogen peroxide, and peroxymonosulfate disinfection of MS2 coliphage in water. **Environ Sci Process Impacts**, v. 5, p. 824-83, 2024. doi: 10.1039/d3em00527e.
- [7] MCDONNELL, G. The Use of Hydrogen Peroxide for Disinfection and Sterilization Applications. In: PATAI'S CHEMISTRY OF FUNCTIONAL GROUPS. **Wiley**, 2014. p. 1–34. doi: 10.1002/9780470682531.pat0885.
- [8] STEARNS, R., FRESHOUR, A., SHEN, C. Literature review for applying peroxyacetic acid and/or hydrogen peroxide to control foodborne pathogens on food products. **J Agric Food Res**, v. 10, p. 100442, 2022. doi: 10.1016/j.jafr.2022.100442.
- [9] MUSSATTO, S. I., ROCHA, G. J. M., ROBERTO, I. C. Hydrogen peroxide bleaching of cellulose pulps obtained from brewer's spent grain. **Cellulose**, v. 15, p. 641–649, 2008. doi: 10.1007/s10570-008-9198-4.
- [10] BROOKS, R. E., MOORE, S. B. Alkaline hydrogen peroxide bleaching of cellulose. **Cellulose**, p. 23-28, 2000. doi.org/10.1023/A:1009273701191
- [11] SCHOLL, R., FREUDENMANN, D., SCHLECHTRIEM, S. Microencapsulation of hydrocarbon fuels for monopropellant creation with hydrogen peroxide. **Fuel**, v. 356, p. 129520, 2024. doi: 10.1016/j.fuel.2023.129520.
- [12] WINTERBOURN, C. C. The biological chemistry of hydrogen peroxide. In: **Methods in Enzymology**. Vol. 528. p. 3–25, 2013. doi: 10.1016/B978-0-12-405881-1.00001-X

- [13] PREETHI, S. P., SHANMUGAVEL, G., KUMAR, G., Y. K. N., G. M., R. B. J. Recent progress in mineralization of emerging contaminants by advanced oxidation process: A review. **Environmental Pollution**, v. 34, p. 122842, 2024. doi: 10.1016/j.envpol.2023.122842.
- [14] JAMIL, T. Role of advance oxidation processes (AOPs) in textile wastewater treatment: A critical review. **Desalination and Water Treatment**, v. 318, p. 10038, 2024. doi: 10.1016/j.dwt.2024.100387.
- [15] HESS, W. T. Hydrogen Peroxide. In: KIRK-OTHMER ENCYCLOPEDIA OF CHEMICAL TECHNOLOGY. Copyright John Wiley & Sons, V.13, p. 1-58, 2000. doi: 10.1002/0471238961.0825041808051919.a01
- [16] LEVITSKY, M. M., BILYACHENKO, A. N., SHUL'PIN, G. B. Oxidation of C-H compounds with peroxides catalyzed by polynuclear transition metal complexes in Si- or Ge-sesquioxane frameworks: A review. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 849–850, p. 201–218, 2017. doi: 10.1016/j.jorganchem.2017.05.007.
- [17] YAMAURA, T., KAMATA, K., YAMAGUCHI, K., MIZUNO, N. Efficient sulfoxidation with hydrogen peroxide catalyzed by a divandium-substituted phosphotungstate. **Catalysis Today**, p. 76–80, 2013. doi: 10.1016/j.cattod.2012.01.026.4.
- [18] PAI, Z. P. CHESALOV, Y. A., BERDNIKOVA, P. V., USLAMIN, E. A., YUSHCHENKO, D. Y., UCHENOVA, Y. V., KHLEBNIKOVA, T. B., BALTAKHINOV, V. P., KOZHUBEY, D. I., BUKHTIYAROV, V. I. Tungsten Peroxopolyoxo Complexes as Advanced Catalysts for the Oxidation of Organic Compounds with Hydrogen Peroxide. **Appl Catal A Gen**, v. 604, p. 117786, 2020. doi: 10.1016/j.apcata.2020.117786.
- [19] SHTEINMAN, A. A., MITRA, M. Nonheme mono- and dinuclear iron complexes in bio-inspired C-H and C=C bond hydroxylation reactions: Mechanistic insight. **Inorganica Chimica Acta**, v. 523, p. 120388, 2021. doi: 10.1016/j.ica.2021.120388.
- [20] HORVAT, M., ISKRA, J. Oxidative cleavage of C-C double bond in cinnamic acids with hydrogen peroxide catalyzed by vanadium(v) oxide. **Green Chemistry**, v. 24, p. 2073–2081, 2022. doi: 10.1039/d1gc04416h.
- [21] TARGHAN, H., EVANS, P., BAHRAMI, K. A review of the role of hydrogen peroxide in organic transformations. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 104, p. 295–332, 2021. doi: 10.1016/j.jiec.2021.08.024.
- [22] JONES, C. W. Heterogeneous activation and application of hydrogen peroxide. In: Applications of Hydrogen Peroxide and Derivatives. **The Royal Society of Chemistry**, p. 179–206, 2007. doi: 10.1039/9781847550132-00179.
- [23] WANG, Y., WATERHOUSE, G. I. N., SHANG, L., ZHANG, T. Electrocatalytic Oxygen Reduction to Hydrogen Peroxide: From Homogeneous to Heterogeneous Electrocatalysis. **Advanced Energy Materials**, v. 11, 2021. doi: 10.1002/aenm.202003323.
- [24] CHEMANALYST. Análise de mercado de peróxido de hidrogênio: tamanho do mercado da indústria, capacidade da planta, produção, eficiência operacional, demanda e oferta, indústrias de usuários finais, canal de vendas, demanda regional, participação da empresa, comércio exterior, processo de fabricação, cenário político e regulatório, 2015-2032.

- Disponível em: <https://www.chemanalyst.com/Pricing-data/hydrogen-peroxide-1169>. Acesso em: 22 mar. 2024.
- [25] CIRIMINNA, R., ALBANESE, L., MENEGUZZO, F., PAGLIARO, M. Hydrogen Peroxide: A Key Chemical for Today's Sustainable Development. **ChemSusChem**, v. 9, p. 3374–3381, 2016. doi: 10.1002/cssc.201600895.
- [26] GRAND VIEW RESEARCH. Tamanho do mercado de peróxido de hidrogênio, relatório de análise de participação e tendências por função (oxidante, desinfetante, branqueamento), por aplicação (saúde, tratamento de águas residuais), por região e previsões de segmento, 2021 – 2028. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/hydrogen-peroxide-market>. Acesso em: 22 mar. 2024.
- [27] MARTIKAINEN, P. J. Heterotrophic nitrification – An eternal mystery in the nitrogen cycle. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 168, p. 10811, 2022. doi: 10.1016/j.soilbio.2022.108611.
- [28] SCHRADER, M., FAHIMI, H. D. Peroxisomes and oxidative stress. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1763, p. 1755–1766, 2006. doi: 10.1016/j.bbamcr.2006.09.006.
- [29] NORDGREN, M., FRANSEN, M. Peroxisomal metabolism and oxidative stress. **Biochimie**, v. 98, p. 56–62, 2014. doi: 10.1016/j.biochi.2013.07.026.
- [30] POLEWSKI, K., SŁAWIŃSKA, D., SŁAWIŃSKI, J., PAWLAK, A. The effect of UV and visible light radiation on natural humic acid EPR spectral and kinetic studies. **Geoderma**, v. 126, p. 291–299, 2005. doi: 10.1016/j.geoderma.2004.10.001.
- [31] GAO, G., TIAN, Y., GONG, X., PAN, Z., YANG, K., ZONG, B. Advances in the production technology of hydrogen peroxide. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 41, p. 1039–1047, 2020. doi: 10.1016/S1872-2067(20)63562-8.
- [32] GAO, G., TIAN, Y., LI, X., HU, Y., YANG, K., ZONG, B. Development and application of slurry-bed production technology of hydrogen peroxide by anthraquinone auto-oxidation process. **Results in Engineering**, v. 19, p. 10128, 2023. doi: 10.1016/j.rineng.2023.101268.
- [33] DHANDA, N., PANDAY, Y. K., KUMAR, S. Recent advances in the electrochemical production of hydrogen peroxide. **Electrochim Acta**, v. 481, p. 143872, 2024. doi: 10.1016/j.electacta.2024.143872.
- [34] FUKUZUMI, S., LEE, Y. M., NAM, W. Recent progress in production and usage of hydrogen peroxide. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 42, p. 1241–1252, 2021. doi: 10.1016/S1872-2067(20)63767-6.
- [35] GU, M., GU, M., LEE, D. Y., MUN, J., KIM, D., CHO, H., KIM, B., KIM, W., LEE, G., KIM, B. S., KIM, H. Solar-to-hydrogen peroxide conversion of photocatalytic carbon dots with anthraquinone: Unveiling the dual role of surface functionalities. **Appl Catal B**, v. 312, p. 121379, 2022. doi: 10.1016/j.apcatb.2022.121379.

- [36] LUO, Y., LIU, C. C., LIU, J., LIU, X., ZHOU, Y., OU, X., WENG, B., JIANG, J., HAN, B. Anthraquinone centers modified covalent organic frameworks for boosted photocatalytic O₂-to-H₂O₂ synthesis: Inhibiting the in-situ decomposition of H₂O₂. **Chemical Engineering Journal**, v. 481, p. 148494, 2024. doi: 10.1016/j.cej.2023.148494.
- [37] SHANG, H., ZHOU, H., ZHU, Z., ZHANG, W. Study on the new hydrogenation catalyst and processes for hydrogen peroxide through anthraquinone route. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 18, p. 1851–1857, 2012. doi: 10.1016/j.jiec.2012.04.017.
- [38] YUAN, Q., LIANG, J., LI, W., ZHANG, J., GUO, C. AlCl₃ modified Pd/Al₂O₃ catalyst for enhanced anthraquinone hydrogenation. **Chin J Chem Eng**, v. 64, p. 271–280, 2023. doi: 10.1016/j.cjche.2023.06.021.
- [39] ZHAO, Y., KONDO, Y., KUWAHARA, Y., MORI, K., YAMASHITA, H. Two-phase reaction system for efficient photocatalytic production of hydrogen peroxide. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 351, p. 123945, 2024. doi: 10.1016/j.apcatb.2024.123945.
- [40] QU, S., WU, H., NG, Y. H. Clean Production of Hydrogen Peroxide: A Heterogeneous Solar-Driven Redox Process. **Advanced Energy Materials**, v. 13, 2023. doi: 10.1002/aenm.202301047.
- [41] ADNAN, R. H., JALIL, A. A. Gold photocatalysis in sustainable hydrogen peroxide generation. **Materials Today Chemistry**, v. 27, p. 101322, 2023. doi: 10.1016/j.mtchem.2022.101322.
- [42] ZHANG, Q., CHEN, Y., PAN, J., DAIYAN, R., LOVELL, E. C., YUN, J., AMAL, R., LU, X. Electrosynthesis of Hydrogen Peroxide through Selective Oxygen Reduction: A Carbon Innovation from Active Site Engineering to Device Design. **Small**, v. 19, 2023. doi: 10.1002/sml.202302338.
- [43] ZHANG, Y., ZHANG, L., ZENG, D., WANG, W., WANG, J., WANG, W., WANG, W. An efficient strategy for photocatalytic hydrogen peroxide production over oxygen-enriched graphitic carbon nitride with sodium phosphate, **Chinese Journal of Catalysis**, vol. 43, no. 10, p. 2690–2698, Jan. 2022, doi: 10.1016/S1872-2067(22)64114-7.
- [44] YANG, D., LIA, Y., CHEN, R., WANG, X., LI, Z., XINGB, T., WEI, L.; XUC, S., DAI, P., WU, M. Flower-like superstructure of boron carbon nitride nanosheets with adjustable band gaps for photocatalytic hydrogen peroxide production. **J Mater Sci Technol**, v. 183, p. 23–31, jun. 2024. doi: 10.1016/j.jmst.2023.09.049.
- [45] HAN, W., ZHANG, H., LI, D., QIN, W. W., ZHANG, X., WANGC, S., DUANC, X. Surface engineered carbon quantum dots for efficient photocatalytic hydrogen peroxide production. **Appl Catal B**, v. 350, p. 123918, 2024. doi: 10.1016/j.apcatb.2024.123918.
- [46] XU, K., ZHU, Y., QIAN, J., HE, Y., LIU, Y., LU, B., TANG, S., SHEN, J. Trigger selenium sites and stable multiphase-engineered modulated BiFeO₃/MoSe₂-1T/2H photocatalyst for hydrogen peroxide production. **Appl Catal B**, v. 343, p. 123571, 2024. doi: 10.1016/j.apcatb.2023.123571.
- [47] HAN, X., CHEN, W., XU, M., BAI, T., LI, B. Two-phase interfacial photocatalysis via amphiphilic Bi₂WO₆ to facilitate synchronous production and spontaneous separation of

- H₂O₂ and value-added organics. **Sep Purif Technol**, v. 345, p. 127397, 2024. doi: 10.1016/j.seppur.2024.127397.
- [48] LIU, C., BAO, T., YUAN, L., ZHANG, C. Q., WANG, J., WAN, J. J., YU, C. Semiconducting MOF@ZnS Heterostructures for Photocatalytic Hydrogen Peroxide Production: Heterojunction Coverage Matters. **Adv Funct Mater**, v. 32, 2022. doi: 10.1002/adfm.202111404.
- [49] ZHAO, X., ZHAO, Y., YOU, Y., HUANG, S., WU, Y., MA, Y., ZHANG, G.; ZHANG, Z. Z-scheme photocatalytic production of hydrogen peroxide over Bi₄O₅Br₂/g-C₃N₄ heterostructure under visible light. **Appl Catal B**, v. 278, p. 119251. 2020. doi: 10.1016/j.apcatb.2020.119251
- [50] GUO, H., ZHOU, L., HUANG, K., LI, Y., HOU, W., LIAO, H., LIAN, C., YANG, S., WU, D., LEI, Z., LIU, Z., Wang, L. Nitrogen-Rich Carbon Dot-Mediated n→π* Electronic Transition in Carbon Nitride for Superior Photocatalytic Hydrogen Peroxide Production. **Adv Funct Mater.**, 2024. doi: 10.1002/adfm.202402650. [51] HUANG, S., LU, S. L., HU, Y., CAO, Y., LI, Y., DUAN, F., ZHU, H., JIN, Y., DU, M.; ZHANG, W. Covalent Organic Frameworks with Molecular Electronic Modulation as Metal-Free Electrocatalysts for Efficient Hydrogen Peroxide Production. **Small Struct.**, v. 4, n. 8, p. 2200387, Aug. 2023. doi: 10.1002/ssstr.202200387.
- [52] DI, X., LV, X., WANG, H., CHEN, F. S., WANG, S., ZHENG, G., HAN, Q. Enhanced pre-sensitization in metal-free covalent organic frameworks promoting hydrogen peroxide photosynthesis. **Chemical Engineering Journal**, v. 455, p. 140124, 2023. doi: 10.1016/j.cej.2022.140124.
- [53] SUN, M., WANG, X., PAN, H., PANG, Z., ZHANG, Y. Defect engineering modified bismuth vanadate toward efficient solar hydrogen peroxide production. **J Colloid Interface Sci**, v. 629, p. 215–224, 2023. doi: 10.1016/j.jcis.2022.08.142.
- [54] WU, M., SHAN, Z., WANG, J., LIU, T., ZHANG, G. Three-dimensional covalent organic framework with tty topology for enhanced photocatalytic hydrogen peroxide production. **Chemical Engineering Journal**, v. 454, p. 140121, 2023. doi: 10.1016/j.cej.2022.140121.
- [55] LIN, S., WANG, Q., HUANG, H., ZHANG, Y. Piezocatalytic and Photocatalytic Hydrogen Peroxide Evolution of Sulfide Solid Solution Nano-Branched from Pure Water and Air. **Small**, v. 18, p. 2200914, 2022. doi: 10.1002/sml.202200914
- [56] WANG, J., LIU, X. M., LIAO, T., MA, C., CHEN, B., LIA, Y., FAN, X., PENG, W. Fe doping induced selenium vacancy on cobalt selenide for enhanced hydrogen peroxide production. **Appl Catal B**, v. 341, p. 123344, 2024. doi: 10.1016/j.apcatb.2023.123344.
- [57] ZHANG, W., CHOI, J., KIM, S., LE, T. T., NANDY, S., HWANG, C. K., PAEK, Y., BYEON, A., CHAE, K. H., LEE, S. Y., KIM, S. H., HAKHYEON, S., KIM, J., OH, J., HAN, S. S., KIM, J. M. Penta nitrogen coordinated cobalt single atom catalysts with oxygenated carbon black for electrochemical H₂O₂ production. **Appl Catal B**, v. 331, p. 122712, 2023. doi: 10.1016/j.apcatb.2023.122712.
- [58] JIANG, H., ZHANG, C., WANG, Z., ZHANG, Y., LE, T., MEI, Y., FENG, Y., HU, J. Enhanced two-electron oxygen reduction for hydrogen peroxide production via fine-

- tuning the concentration of oxygen vacancies in MoO_{3-x}. **Appl Catal A Gen**, v. 661, p. 119242, 2023. doi: 10.1016/j.apcata.2023.119242.
- [59] FERNANDES, C. M., SANTOS, A. O., ANTONIN, C. S., MOURA, J. P. C., TRINCHEIRA, A. B., ALVES, O. C., XINGE, Y., SILVA, Y. C. M., SANTOS, M. C. Magnetic field-enhanced oxygen reduction reaction for electrochemical hydrogen peroxide production with different cerium oxide nanostructures. **Chemical Engineering Journal**, v. 488, p. 150947, 2024. doi: 10.1016/j.cej.2024.150947.
- [60] WANG, Z., XU, W., TAN, G., DUAN, X., YUAN, B., SENDEKU, M. G., LIU, H., LI, T., WANG, F., KUANG, Y., SUN, X. Single atomic Ru in TiO₂ boost efficient electrocatalytic water oxidation to hydrogen peroxide. **Sci Bull (Beijing)**, v. 68, p. 613–621, 2023. doi: 10.1016/j.scib.2023.03.003.
- [61] WU, Z., DING, P., GUESKINE, V., BOYD, R., GŁOWACKI, E. D., ODEN, M., CRISPIM, X., BERGGREN, E. M., BJORK, M., VAGIN, M. Conducting Polymer-Based e-Refinery for Sustainable Hydrogen Peroxide Production. **Energy and Environmental Materials**, v. 7, p. 12551, 2024. doi: 10.1002/eem2.12551.
- [62] JIA, S., YU, H. M., NA, J., LIU, Z., LV, K., REN, Z., SUN, S., SHAO, Z. Efficient Electrosynthesis of Hydrogen Peroxide Using Oxygen-Doped Porous Carbon Catalysts at Industrial Current Densities. **ACS Appl Mater Interfaces**, v. 16, p. 23099–23108, 2024. doi: 10.1021/acsami.4c00042.
- [63] ZHANG, Z., GUO, J., FANG, Z., ZHENG, Y., ZHANG, L., LIANG, X., LIU, R. ZHAO, J., HE, W., LU, L., CHEN, W. 2D Al-MOF with ultrathin nanoflake-assembled hollow microstructures for electrochemical hydrogen peroxide production. **Electrochim Acta**, v. 482, p. 143989, 2024. doi: 10.1016/j.electacta.2024.143989.
- [64] WANG, M., DONG, X., MENG, Z. D., PENG, C. K., WANG, H. S., DING, S., LI, Y., SHAO, Q., HUANG, X. An Efficient Interfacial Synthesis of Two-Dimensional Metal–Organic Framework Nanosheets for Electrochemical Hydrogen Peroxide Production. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 60, p. 11190–11195, 2021. doi: 10.1002/anie.202100897.
- [65] LI, Z., LI, Y., CHEN, S., ZHA, Q., ZHU, M. In-situ monitoring of hydrogen peroxide production at nickel single-atom electrocatalyst. **Chemical Engineering Journal**, v. 460, p. 14157, 2023. doi: 10.1016/j.cej.2023.141657.
- [66] QIU, M., ZHENG, M., ZHANG, J., YANG, X., ZHANG, Y., WANG, W., MAN, C., ZHAO, Q., JIAN, J. Recent advances on emerging biosensing technologies and on-site analytical devices for detection of drug-resistant foodborne pathogens. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 167, p. 117258, 2023. doi: 10.1016/j.trac.2023.117258.
- [67] CHLUMSKY, O., SMITH, H. J., PARKER, A. E., BRILEYA, K., WILKING, J. N., PURKRTVA, S., MICHOVA, H., ULBRICH, P., VIKTOROVA, J., DEMNEROVA, K. Evaluation of the antimicrobial efficacy of n-acetyl-l-cysteine, rhamnolipids, and usnic acid—novel approaches to fight food-borne pathogens. **Int J Mol Sci**, v. 22, 2021. doi: 10.3390/ijms222111307.

- [68] HAN, J. Y., PARK, S. H., KANG, D. H. Effects of plasma bubble-activated water on the inactivation against foodborne pathogens on tomatoes and its wash water. **Food Control**, v. 144, p. 109381, 2023. doi: 10.1016/j.foodcont.2022.109381.
- [69] FAN, X., SOKORAI, K., PHILLIPS, J. Development of antibrowning and antimicrobial formulations to minimize *Listeria monocytogenes* contamination and inhibit browning of fresh-cut “Granny Smith” apples. **Postharvest Biol Technol**, v. 143, p. 43–49, 2018. doi: 10.1016/j.postharvbio.2018.04.009.
- [70] CHAVES, R. D., KUMAZAWA, S. H., KHANEGHAH, A. M., ALVARENGA, V. O., HUNGARO, H. M., SANT’ANA, A. S. Comparing the susceptibility to sanitizers, biofilm-forming ability, and biofilm resistance to quaternary ammonium and chlorine dioxide of 43 *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* strains. **Food Microbiology**, v. 117, p. 104380, 2024. doi: 10.1016/j.fm.2023.104380.
- [71] KIM, J. M., ZHANG, B. Z., PARK, J. M. Comparison of sanitization efficacy of sodium hypochlorite and peroxyacetic acid used as disinfectants in poultry food processing plants. **Food Control**, v. 152, p. 10985, 2023. doi: 10.1016/j.foodcont.2023.109865.
- [72] LEE, W. N., HUANG, C. H. Formation of disinfection byproducts in wash water and lettuce by washing with sodium hypochlorite and peracetic acid sanitizers. **Food Chem X**, v. 1, p. 100003, 2019. doi: 10.1016/j.fochx.2018.100003.
- [73] SAWALE, M., CHENG, X., DROLIA, R., BENYATHIAR, F., OZADALI, A., BHUNIA, D., MISHRA, D. Inactivation kinetics of *Bacillus atrophaeus* in liquid hydrogen peroxide for aseptic package sterilization. **LWT**, v. 170, p. 114074, 2022. doi: 10.1016/j.lwt.2022.114074.
- [74] ABDELSHAFY, A. M., HU, Q., LUO, Z., BAN, Z., LI, L. Hydrogen Peroxide from Traditional Sanitizer to Promising Disinfection Agent in Food Industry. **Food Reviews International**, v. 40, p. 658–690, 2024. doi: 10.1080/87559129.2023.2191690.
- [75] CHOI, N. Y., BAEK, S. Y., YOON, J. H., CHOI, M. R., KANG, D. H., LEE, S. Y. Efficacy of aerosolized hydrogen peroxide-based sanitizer on the reduction of pathogenic bacteria on a stainless steel surface. **Food Control**, v. 27, p. 57–63, 2012. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.02.027.
- [76] ZHANG, M., OH, J. K., HUANG, S. Y., LINA, Y., LIU, Y., MANNAN, M. S., ZEVALLOS, L. C., AKBULUT, M. Priming with nano-aerosolized water and sequential dip-washing with hydrogen peroxide: An efficient sanitization method to inactivate *Salmonella Typhimurium* LT2 on spinach. **J Food Eng**, v. 161, p. 8–15, 2015. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2015.03.026.
- [77] FAN, X., VINYARD, B. T., SONG, Y. Cold plasma-activated hydrogen peroxide aerosols inactivate *Salmonella Typhimurium* and *Listeria innocua* on smooth surfaces and stem scars of tomatoes: Modeling effects of hydrogen peroxide concentration, treatment time and dwell time. **Food Control**, v. 141, p. 109153, 2022. doi: 10.1016/j.foodcont.2022.109153.
- [78] LEBLANC, D., GAGNÉ, M. J., BRASSARD, J. Effectiveness of water and sanitizer washing solutions for removing enteric viruses from blueberries. **Food Control**, v. 126, p. 108043, 2021. doi: 10.1016/j.foodcont.2021.1080

- [79] ALEXANDRE, E. M. C., BRANDÃO, T. R. S., SILVA, C. L. M. Assessment of the impact of hydrogen peroxide solutions on microbial loads and quality factors of red bell peppers, strawberries and watercress. **Food Control**, v. 27, p. 362–368, 2012. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.04.012.
- [80] JOSÉ, J. F. B. S., VANETTI, M. C. D. Effect of ultrasound and commercial sanitizers in removing natural contaminants and Salmonella enterica Typhimurium on cherry tomatoes. **Food Control**, v. 24, p. 95–99, 2012. doi: 10.1016/j.foodcont.2011.09.008.
- [81] BACK, K. H., HA, J. W., KANG, D. H. Effect of hydrogen peroxide vapor treatment for inactivating Salmonella Typhimurium, Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytogenes on organic fresh lettuce. **Food Control**, v. 44, p. 78–85, 2014. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.03.046.
- [82] KIM, Y. E., MIN, S. C. Inactivation of Salmonella in ready-to-eat cabbage slices packaged in a plastic container using an integrated in-package treatment of hydrogen peroxide and cold plasma. **Food Control**, v. 130, p. 108392, 2021. doi: 10.1016/j.foodcont.2021.108392.
- [83] JONES-IBARRA, A. M., ALVARADO, C. Z., COUFAL, C. D., TAYLOR, T. M. Sanitization of chicken frames by a combination of hydrogen peroxide and UV light to reduce contamination of derived edible products. **J Food Prot**, v. 82, p. 1896–1900, 2019. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-19-175
- [84] WANG, R., ZHOU, Y., KALCHAYANAND, N., HARHAY, D. M., WHEELER, T. L. Consecutive treatments with a multicomponent sanitizer inactivate biofilms formed by escherichia coli o157:h7 and salmonella enterica and remove biofilm matrix. **J Food Prot**, v. 84, p. 408–417, 2021. doi: 10.4315/JFP-20-321.
- [85] SHEN, M. H., & SINGH, R. K. Elicitation and disinfection during sprout production using ultraviolet radiation and hydrogen peroxide: A review, **Trends in Food Science and Technology**, vol. 147, p. 104447, 2024. doi: 10.1016/j.tifs.2024.104447.
- [86] FIROOZBAKHTIAN, S. A. A., SHEIKHOLESAMI, M. N., GILNEZHAD, J., GANJALI, M. R., HOSSEIN, M. Ti₃C₂/Ni/Sm-Based Screen-Printed-Electrode for the ECL Detection of Hydrogen Peroxide as a Milk Preservative. **ChemistrySelect**, v. 9, p. 2024, 2023. doi: 10.1002/slct.202304462.
- [87] IVANOVA, A. S., MERKULEVA, A. D., ANDREEV, S. V., SAKHAROV, K. A. Method for determination of hydrogen peroxide in adulterated milk using high performance liquid chromatography. **Food Chem.**, v. 283, p. 431-436, 2019. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.051
- [88] “21CFR184.1366. Code of Federal Regulations Title 21 - Food And Drugs Chapter I-- Food And Drug Administration Department Of Health And Human Services Subchapter B - Food For Human Consumption (Continued),” 2023.
- [89] QUEZADA T., V., MARTINEZ, R., NELSON, M. P., FEHRMANN, G., ZARAGOZA, A., VIZCARRA, A., KESTERNICH, V., SARAIVIA, L. P. H. A novel platform of using copper (II) complex with triazole-carboxylated modified as bidentated ligand SPCE for the detection of hydrogen peroxide in milk. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 879, p. 114763, 2020. doi: 10.1016/j.jelechem.2020.114763.

- [90] SIDDIQUI, S., NIAZI, J. H., QURESHI, A. Mn₃O₄-Au nanozymes as peroxidase mimic and the surface-enhanced Raman scattering nanosensor for the detection of hydrogen peroxide. **Mater Today Chem**, v. 22, p. 100560, 2021. doi: 10.1016/j.mtchem.2021.100560.
- [91] ZHENG, Z., HE, J., ZHANG, Z., KUMAR, A., KHAN, M., LUNG, C. W., LO, I. M. C. Magnetically recyclable nanophotocatalysts in photocatalysis-involving processes for organic pollutant removal from wastewater: current status and perspectives. **Environ Sci Nano**, v. 11, p. 1784–1816, 2024. doi: 10.1039/d3en00906h.
- [92] FARHADI, N., TABATABAIE, T., RAMAVANDI, B., AMIRI, F. Ibuprofen elimination from water and wastewater using sonication/ultraviolet/hydrogen peroxide/zeolite-titanate photocatalyst system. **Environ Res**, v. 198, p. 11120, 2021. doi: 10.1016/j.envres.2021.111260.
- [93] HODGES, B. C., CATES, E. L., KIM, J. H. Challenges and prospects of advanced oxidation water treatment processes using catalytic nanomaterials. **Nat Nanotechnol**, v. 13, p. 642–650, 2018. doi: 10.1038/s41565-018-0216-x.
- [94] LIU, Z., ZHANG, Y., LEE, J., XING, L. A review of application mechanism and research progress of Fe/montmorillonite-based catalysts in heterogeneous Fenton reactions. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 12, p. 112152, 2024. doi: 10.1016/j.jece.2024.112152.
- [95] BHUYAN, P. M., BORAH, S., BHUYANC, B. K., HAZARIKA, S., GOGOI, N., GOGOI A., GOGOI, P. Fe₃S₄/biochar catalysed heterogeneous Fenton oxidation of organic contaminants: Hydrogen peroxide activation and biochar enhanced reduction of Fe (III) to Fe (II), **Sep Purif Technol**, v. 312, p. 123387, 2023, doi: 10.1016/j.seppur.2023.123387.
- [96] SAVIA, F., ADESINA, A. O., CARENA, L., VIONE, D. Assessment of Fenton systems based on metabisulphite as a low-cost alternative to hydrogen peroxide. **J Environ Chem Eng**, v. 11, p. 110707, 2023. doi: 10.1016/j.jece.2023.110707..
- [97] WANG, C., LIUB, N., LIU, X., JIANGB, Q., TIANC, Y., XIE, H., CHEN, X. W., HOU, B. Dopagem de Fe em nanotubos ocos de In₂S₃ para degradação foto-Fenton eficiente de poluentes orgânicos emergentes. **Sep Purif Technol**, v. 345, p. 127405, 2024. doi: 10.1016/j.seppur.2024.127405.
- [98] ROZMYŚLAK, M., WALKOWIAK, A., FRANKOWSKI, M., WOLSKI, L. Copper(II) phosphate as a promising catalyst for the degradation of ciprofloxacin via photo-assisted Fenton-like process. **Sci Rep**, v. 14, p. 2024, 2024. doi: 10.1038/s41598-024-57542-9.
- [99] DONG, C., WANG, S. Q., YANG, C., HU, X., WANG, P., GONG, X. Q., LIN, L., LI, X. Y. Sequential electrocatalysis by single molybdenum atoms/clusters doped on carbon nanotubes for removing organic contaminants from wastewater. **Appl Catal B**, v. 338, p. 123060, 2023. doi: 10.1016/j.apcatb.2023.123060.
- [100] KIM, J. G., SARROUF, S., EHSAN, M. F., BAEK, K., ALSHAWABKEH, A. N. In-situ hydrogen peroxide formation and persulfate activation over banana peel-derived biochar cathode for electrochemical water treatment in a flow reactor. **Chemosphere**, v. 331, p. 138849, 2023. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.138849.

- [101] ALIMOHAMADI, M., KHATAEE, A., AREFI-OSKOU, S., VAHID, B., OROOJI, Y., YOON, Y. Catalytic activation of hydrogen peroxide by Cr₂AlC MAX phase under ultrasound waves for a treatment of water contaminated with organic pollutants. **Ultrason Sonochem**, v. 93, p. 106294, 2023. doi: 10.1016/j.ultsonch.2023.106294.
- [102] HASSANZADEH, S., FARHADI, S., MORADIFARD, F. Synthesis of magnetic graphene-like carbon nitride-cobalt ferrite (g-C₃N₄/CoFe₂O₄) nanocomposite for sonocatalytic remediation of toxic organic dyes. **RSC Adv**, v. 13, p. 10940-10955, 2023. doi: 10.1039/d3ra00057e.
- [103] LI, T., GE, L., PENG, X., WANG, W., & ZHANG, W. Enhanced degradation of sulfamethoxazole by a novel Fenton-like system with significantly reduced consumption of H₂O₂ activated by g-C₃N₄/MgO. **Water Res**, vol. 190, p. 116777, 2021, doi: 10.1016/j.watres.2020.116777.
- [104] TORRES-PINTO, A., SAMPAIO, M. J., TEIXO, J.; SILVA, C. G.; FARIA, J. L., SILVA, A. M. T. Photo-Fenton degradation assisted by in situ generation of hydrogen peroxide using a carbon nitride photocatalyst. **Journal of Water Process Engineering**, v. 37, p. 101467, 2020. doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101467.
- [105] GONÇALVES, N. P. F., MINELLA, M., MAILHOT, G., BRIGANTE, M., BIANCO PREVOT, A. Photo-activation of persulfate and hydrogen peroxide by humic acid coated magnetic particles for Bisphenol A degradation. **Catal Today**, v. 361, p. 43-49, 2021. doi: 10.1016/j.cattod.2019.12.028.
- [106] TU, S., NING, Z., DUAN, X., ZHAO, X., CHANG, L. Efficient electrochemical hydrogen peroxide generation using TiO₂/rGO catalyst and its application in electro-Fenton degradation of methyl orange. **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp**, v. 651, p. 12957, 2022. doi: 10.1016/j.colsurfa.2022.129657.
- [107] ABDELBAKY, M., ABDELGHANY, A. M., ORABY, A. H., ABDELRAZEK, E. M., RASHAD, M. M. Efficacious elimination of crystal violet pollutant via photo-Fenton process based on Gd(2-x) La(x)Zr₂O₇ nanoparticles. **Sci Rep**, v. 13, p. 2023, 2023. doi: 10.1038/s41598-023-34838-w.
- [108] WANG, N., ZHU, L., WANG, M., WANG, D., TANG, H. Sono-enhanced degradation of dye pollutants with the use of H₂O₂ activated by Fe₃O₄ magnetic nanoparticles as peroxidase mimetic. **Ultrason Sonochem**, v. 17, p. 78-83, 2010. doi: 10.1016/j.ultsonch.2009.06.014.
- [109] LUO, X., ZHU, R., ZHAO, L., GONG, X. Dual-functional electrocatalyst of defective cobalt-nitrogen-doped porous carbon for enhanced in-situ hydrogen peroxide generation and electro-Fenton tetracycline degradation. **Sep Purif Technol**, v. 346, p. 127451, 2024. doi: 10.1016/j.seppur.2024.127451.
- [110] YI, Y., LUO, J., FANG, Z. Magnetic biochar derived from Eichhornia crassipes for highly efficient Fenton-like degradation of antibiotics: Mechanism and contributions. **J Environ Chem Eng**, v. 9, p. 106258, 2021. doi: 10.1016/j.jece.2021.106258.
- [111] MAHENDRAN, V., GOGATE, P. R. Degradation of Acid Scarlet 3R dye using oxidation strategies involving photocatalysis based on Fe doped TiO₂ photocatalyst, ultrasound and

- hydrogen peroxide. **Sep Purif Technol**, v. 274, p. 119011, 2021. doi: 10.1016/j.seppur.2021.119011.
- [112] SUN, K., WANG, X. W., YUAN, H., HOU, J., SHI, W.; LI, C., GUO, F. Magnetically separable and recyclable ZnFe₂O₄ nanoparticles as an effective activator in resorcinol-formaldehyde resins-based photocatalysis-self-Fenton system. **Sep Purif Technol**, v. 351, p. 128044, 2024. doi: 10.1016/j.seppur.2024.128044.
- [113] LIMA, M. J. A., SASAKI, M. A., MARINHO, O. R., FREITAS, T. A., FARIA, R. C., REIS, B. F., ROCHA, F. R. P. Spot test for fast determination of hydrogen peroxide as a milk adulterant by smartphone-based digital image colorimetry. **Microchemical Journal**, v. 157, p. 105042, 2020. doi: 10.1016/j.microc.2020.105042.
- [114] COSTA, R. A., MORAIS, C. L. M., ROSA, T. R., FILGUEIRAS, P. R., MEDONÇA, M. S., PEREIRA, I. E. S., VITTORAZZI, B. V., LYRA, M. B., LIMA, K. M. G., ROMÃO, W. Quantification of milk adulterants (starch, H₂O₂, and NaClO) using colorimetric assays coupled to smartphone image analysis. **Microchemical Journal**, v. 156, p. 104468, 2020. doi: 10.1016/j.microc.2020.104968.
- [115] LIMA, L. S., ROSSINI, E. L., PEZZA, L., PEZZA, H. R. Bioactive paper platform for detection of hydrogen peroxide in milk. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v. 227, p. 117774, 2020. doi: 10.1016/j.saa.2019.117774.
- [116] TEODORO, K. B. R., MIGLIORINI, F. L., CHRISTINELLI, W. A., CORREA, D. S. Detection of hydrogen peroxide (H₂O₂) using a colorimetric sensor based on cellulose nanowhiskers and silver nanoparticles. **Carbohydr Polym**, v. 212, p. 235-241, 2019. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.02.053.
- [117] PENG, L. J., ZHOU, H. Y., ZHANG, C. Y., YANG, F. Q. Study on the peroxidase-like activity of cobalt phosphate and its application in colorimetric detection of hydrogen peroxide. **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp**, v. 647, p. 129031, 2022. doi: 10.1016/j.colsurfa.2022.129031.
- [118] Guan, J., Peng, J., Jin, X. Synthesis of copper sulfide nanorods as peroxidase mimics for the colorimetric detection of hydrogen peroxide. **Analytical Methods**, v. 7, p. 5454-5461, 2015. doi: 10.1039/C5AY00895F.
- [119] UZUNBOY, S., AVAN, A. N., DEMIRCI-ÇEKİÇ, S., APAK, R. Indirect colorimetric determination of trace hydrogen peroxide by its oxidizing power on chromium(III) oxide nanoparticles. **Microchemical Journal**, v. 178, p. 107335, 2022. doi: 10.1016/j.microc.2022.107335.
- [120] SANDRI, F., DANIELI, M., ZECCA, M., CENTOMO, P. Comparing Catalysts of the Direct Synthesis of Hydrogen Peroxide in Organic Solvent: is the Measure of the Product an Issue? **ChemCatChem**, v. 13, p. 2653-2663, 2021. doi: 10.1002/cctc.202100306.
- [121] PALSANIYA, S., JAT, B. L., MUKHERJI, S. Amperometry sensor for real time detection of hydrogen peroxide adulteration in food samples. **Electrochim Acta**, v. 462, p. 142724, 2023. doi: 10.1016/j.electacta.2023.142724.
- [122] SILVA, R. A. B., MONTES, R. H. O., RICHTER, E. M., MUNOZ, R. A. A. Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis

- with amperometric detection. **Food Chem**, v. 133, p. 200-204, 2012. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.01.003.
- [123] STANKOVIĆ, V., ĐURĐIĆ, S., OGNJANOVIĆ, M.; MUTIĆ, J., KALCHER, K., STANKOVIĆ, D. M. A novel nonenzymatic hydrogen peroxide amperometric sensor based on AgNp@GNR nanocomposites modified screen-printed carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 876, p. 114487, 2020. doi: 10.1016/j.jelechem.2020.11448
- [124] SILVA, R. A. B., MONTES, R. H. O., RICHTER, E. M., MUNOZ, R. A. A. Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis with amperometric detection. **Food Chem**, v. 133, p. 200-204, 2012. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.01.003.
- [125] Maksuk, C., Tinala, C., Somboot, W., Jakmune, J., Marken, F., Kanyanee, T. Rapid Determination of Hydrogen Peroxide in Milk with Non-enzymatic Amperometric Sensor Based on Porous Gold Modified Screen-printed Electrode in Online Dialysis System. **Electroanalysis**, v. 35, p. 2023, 2023. doi: 10.1002/elan.202100691.
- [126] JIE, N., YANG, J., HUANG, X., ZHANG, R., SONG, Z. Fluorimetric determination of hydrogen peroxide in water using acetaminophen. **Talanta**, v. 42, p. 1575-1579, 1995. doi: 10.1016/0039-9140(95)01603-1.
- [127] ALI, H. R. H., HASSAN, A. I., HASSAN, Y. F., EL-WEKIL, M. M. One pot fabrication of fluorescein functionalized manganese dioxide for fluorescence 'turn OFF-ON' sensing of hydrogen peroxide in water and cosmetic samples. **RSC Adv**, v. 10, p. 17506-17514, 2020. doi: 10.1039/d0ra01980a.
- [128] Zambrano, G., Natri, F., Pavone, V., Lombardi, A., Chino, M. Use of an artificial miniaturized enzyme in hydrogen peroxide detection by chemiluminescence. **Sensors (Switzerland)**, v. 20, p. 1-14, 2020. doi: 10.3390/s20133793.
- [129] BRANDÃO, E. G., PERDIGÃO, S. R. W., REIS, B. F. A new flow cell design for chemiluminescence detection using an improved signal transduction network. Determination of hydrogen peroxide in pharmaceuticals. **Microchemical Journal**, v. 171, p. 10678, 2021. doi: 10.1016/j.microc.2021.106789.
- [130] MIHAILOVA, I., GERBREDERS, V., KRASOVSKA, M., SLEDEVSKIS, E., MIZERS, V., BULANOV, A., OGURCOVS, A. A non-enzymatic electrochemical hydrogen peroxide sensor based on copper oxide nanostructures. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 13, p. 424-436, 2022. doi: 10.3762/bjnano.13.35.
- [131] ARJUN, A. M., SHABANA, N., ANKITHA, M., RASHEED, P. A. Electrochemical deposition of Prussian blue on Nb₂CT_x MXene modified carbon cloth for the non-enzymatic electrochemical detection of hydrogen peroxide. **Microchemical Journal**, v. 185, p. 108301, 2023. doi: 10.1016/j.microc.2022.108301.
- [132] GIARETTA, J. E., DUAN, H., OVEISSI, F., FARAJIKHAH, S., DEGHANI, F., NAFICY, S. Flexible Sensors for Hydrogen Peroxide Detection: A Critical Review. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 14, p. 20491-20505, 2022. doi: 10.1021/acsami.1c24727..

- [133] PENG, Y., YU, X., YIN, W., DONG, W., PENG, J., WANG, T. Colorimetric Assay Using Mesoporous Fe-Doped Graphitic Carbon Nitride as a Peroxidase Mimetic for the Determination of Hydrogen Peroxide and Glucose. **ACS Appl Bio Mater**, v. 3, p. 59-67, 2020. doi: 10.1021/acsabm.9b00883.
- [134] BUZDAR, M., YAQUB, A., HAYAT, A., UL HAQ, M. Z., KHAN, A., AJAB, H. Paper based colorimetric sensor using novel green magnetized nanocomposite of pinus for hydrogen peroxide detection in water and milk. **Food Biosci**, v. 55, p. 103014, 2023. doi: 10.1016/j.fbio.2023.103014.
- [135] DING, Y., YANG, B., LIU, H., ZHANG, X., ZHENG, X., LIU, Q. FePt-Au ternary metallic nanoparticles with the enhanced peroxidase-like activity for ultrafast colorimetric detection of H₂O₂. **Sens Actuators B Chem**, v. 259, p. 775-783, 2018. doi: 10.1016/j.snb.2017.12.115.
- [136] VETR, F., MORADI-SHOEILI, Z., ÖZKAR, S. Mesoporous MnCo₂O₄ with efficient peroxidase mimetic activity for detection of H₂O₂. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 98, p. 184-191, 2018. doi: 10.1016/j.inoche.2018.10.024
- [137] BAGHERI, N., KHATAEE, A., HASSANZADEH, J., HABIBI, B. Visual detection of peroxide-based explosives using novel mimetic Ag nanoparticle/ZnMOF nanocomposite. **J Hazard Mater.**, v. 360, p. 233-242, 2018. doi: 10.1016/j.jhazmat.2018.08.013.
- [138] CHAKRABORTY, A., ACHARYA, H. Magnetically separable Fe₃O₄ NPs/MIL-53(Al) nanocomposite catalyst for intrinsic OPD oxidation and colorimetric hydrogen peroxide detection. **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp**, v. 624, p. 126830, 2021. doi: 10.1016/j.colsurfa.2021.126830.
- [139] MAJI, S. K., DUTTA, A. K., SRIVASTAVA, D. N., PAUL, P., MONDAL, A., ADHIKARY, B. Peroxidase-like behavior, amperometric biosensing of hydrogen peroxide and photocatalytic activity by cadmium sulfide nanoparticles. **J Mol Catal A Chem**, v. 358, p. 1-9, 2012. doi: 10.1016/j.molcata.2012.03.007.
- [140] YU, Y., PAN, M., PENG, J., HU, D., HAO, Y., QIAN, Z. A review on recent advances in hydrogen peroxide electrochemical sensors for applications in cell detection. **Chinese Chemical Letters**, v. 33, p. 4133-4145, 2022. doi: 10.1016/j.ccllet.2022.02.045.
- [141] TAHIROVIĆ, A., ČOPRA, A., OMANOVIĆ-MIKLIČANIN, E., KALCHER, K. A chemiluminescence sensor for the determination of hydrogen peroxide. **Talanta**, v. 72, p. 1378-1385, 2007. doi: 10.1016/j.talanta.2007.01.072.
- [142] BRANDÃO, E. G., PERDIGÃO, S. R. W., REIS, B. F. A new flow cell design for chemiluminescence detection using an improved signal transduction network. Determination of hydrogen peroxide in pharmaceuticals. **Microchemical Journal**, v. 171, p. 106789, 2021. doi: 10.1016/j.microc.2021.106789.
- [143] SANZ, V., DE MARCOS, S., GALBÁN, J. Hydrogen peroxide and peracetic acid determination in waste water using a reversible reagentless biosensor. **Anal Chim Acta**, v. 583, p. 332-339, 2007. doi: 10.1016/j.aca.2006.10.054.
- [144] LU, J.; WANG, D. W.; LI, X.; GUO, W.; TIAN, C. Y.; LUAN, F.; ZHUANG, X. Preparation of a Red-Emitting, Chitosan-Stabilized Copper Nanocluster Composite and

- Its Application as a Hydrogen Peroxide Detection Probe in the Analysis of Water Samples. *Biosensors (Basel)*, v. 13, p. 361, 2023. doi: 10.3390/bios13030361.
- [145] YAO, L., KONG, F. Y., WANG, Z. X., LI, H. Y., ZHANG, R., FANG, H. L., WANG, W. UV-assisted one-pot synthesis of bimetallic Ag-Pt decorated reduced graphene oxide for colorimetric determination of hydrogen peroxide. *Microchimica Acta*, v. 187, 2020. doi: 10.1007/s00604-020-04350-3
- [146] ZHANG, T., HUANG, C. H. Simultaneous quantification of peracetic acid and hydrogen peroxide in different water matrices using HPLC-UV. *Chemosphere*, v. 257, 2020. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127229
- [147] HUANG, Y., WANG, L., CHEN, B., ZHANG, Q., ZHU, R. Detecting hydrogen peroxide reliably in water: Via ion chromatography: A method evaluation update and comparison in the presence of interfering components. *Environ Sci (Camb)*, v. 6, p. 2396-2404, 2020. doi: 10.1039/d0ew00234h.
- [148] WANG, Y., YE, D., XU, Y., ZHUA, X., YANG, Y., CHEN, R., LIAO, Q. An electrochemical paper-based analytical device with facile carbon fiber-sewed electrodes for highly sensitive detection of hydrogen peroxide in real water. *Electrochim Acta*, v. 484, p. 144091, 2024. doi: 10.1016/j.electacta.2024.144091.
- [149] ALI, H. R. H., HASSAN, A. I., HASSAN, Y. F., EL-WEKIL, M. M. One pot fabrication of fluorescein functionalized manganese dioxide for fluorescence ‘turn OFF-ON’ sensing of hydrogen peroxide in water and cosmetic samples. *RSC Adv*, v. 10, p. 17506-17514, 2020. doi: 10.1039/d0ra01980a.
- [150] WANG, M., QIU, S., YANG, H. Y., HUANG, Y., DAI, L., ZHANG, B., ZOU, J. Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide in water with peroxidase-catalyzed oxidation of potassium iodide and its applications to hydroxylamine-involved Fenton and Fenton-like systems. *Chemosphere*, v. 270, p. 129448, 2021. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.129448.
- [151] DOMÍNGUEZ-HENAO, L., TUROLLA, A., MONTICELLI, D., ANTONELLI, M. Assessment of a colorimetric method for the measurement of low concentrations of peracetic acid and hydrogen peroxide in water. *Talanta*, v. 183, p. 209-215, 2018. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.02.078.
- [152] CAI, H., LIU, X., ZOU, J., XIAO, J., YUAN, B., LI, F., CHENG, Q. Multi-wavelength spectrophotometric determination of hydrogen peroxide in water with peroxidase-catalyzed oxidation of ABTS. *Chemosphere*, v. 193, p. 833-839, 2018. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.11.091.
- [153] YAO, L., KONG, F. Y., WANG, Z. X., LI, H. Y., ZHANG, R., FANG, H. L., WANG, W. UV-assisted one-pot synthesis of bimetallic Ag-Pt decorated reduced graphene oxide for colorimetric determination of hydrogen peroxide. *Microchimica Acta*, v. 187, p. 1-8, 2020. DOI: 10.1007/s00604-020-04350-3.
- [154] ASSIRI, M. A., MUNIR, F., WASEEM, M. T., IRSHAD, H., RAUF, W., SHAHZAD, S. A. Restricted intramolecular vibrations assisted enhanced fluorescence emission response of probe: A new experimental and theoretical approach for the detection of hydrogen

- peroxide. **Microchemical Journal**, v. 193, p. 109220, 2023. DOI: 10.1016/j.microc.2023.109220.
- [155] DOMERGUE, L., CIMETIÈRE, N., GIRAUDET, S., HAUCHAR, D. Determination of hydrogen peroxide by differential pulse polarography in advanced oxidation processes for water treatment. **Journal of Water Process Engineering**, v. 53, p. 103707, 2023. DOI: 10.1016/j.jwpe.2023.103707.
- [156] RYOO, D., XU, X., LI, Y., TANG, J. A., ZHANG, J., ZILJ, P. C. M. V., LIU, G. Detection and quantification of hydrogen peroxide in aqueous solutions using chemical exchange saturation transfer (CEST). **Analytical Chemistry**, v. 89, p. 7758-7764, 2017. doi: 10.1021/acs.analchem.7b01763.
- [157] WANG, M., ZHOU, Y., YANG, S. Y., JIANG, X., XING, Z. X., GUAN, Y. Simultaneous Determination of PMS, PDS, and H₂O₂ Concentrations with Multi-Step Iodometry. **Water** (Switzerland), v. 15, p. 1-14, 2023. DOI: 10.3390/w15122190.
- [158] FAZLI, G., ESMAEILZADEH BAHABADI, S., ADLNASAB, L., AHMAR, H. A glassy carbon electrode modified with a nanocomposite prepared from Pd/Al layered double hydroxide and carboxymethyl cellulose for voltammetric sensing of hydrogen peroxide. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 12, p. 1-10, Dec. 2019. DOI: 10.1007/s00604-019-3967-7.
- [159] KARIMI, A., HUSAIN, S.W., HOSSEINI, M., AZAR, P.A., GANJALI, M.R. Rapid and sensitive detection of hydrogen peroxide in milk by Enzyme-free electrochemiluminescence sensor based on a polypyrrole-cerium oxide nanocomposite. **Sens Actuators B Chem**, v. 271, p. 90-96, 2018. DOI: 10.1016/j.snb.2018.05.066.
- [160] LEI, W., DÜRKOP, A., LIN, Z., WU, M., WOLFBEIS, O.S. Detection of Hydrogen Peroxide in River Water via a Microplate Luminescence Assay with Time-Resolved ('Gated') Detection. **Microchimica Acta**, v. 143, p. 269-274, 2003. DOI: 10.1007/s00604-003-0087-0.
- [161] KAILASAPATHY, K. 4 Chemical Composition, Physical, and Functional Properties of Milk and Milk Ingredients DEFINITION OF MILK AND SAFE PROCESSING OF MILK AT THE FARM MILK AS A FOOD. 2016.
- [162] PENG, L. J., ZHOU, H. Y., ZHANG, C. Y., & YANG, F. Q. Study on the peroxidase-like activity of cobalt phosphate and its application in colorimetric detection of hydrogen peroxide. **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp**, v. 647, p. 129031, 2022. doi: 10.1016/j.colsurfa.2022.129031.
- [163] GOETTMANN, F., FISCHER, A., ANTONIETTI, M., & THOMAS, A. Metal-free catalysis of sustainable Friedel–Crafts reactions: direct activation of benzene by carbon nitrides to avoid the use of metal chlorides and halogenated compounds. **Chem. Commun.**, v. 43, p. 4530–4532, 2006. doi: 10.1039/B608532F
- [164] TIAN, J., LIU, Q., ASIRI, A. M., QUSTI, A. H., AL-YOUBI, A. O., SUN, X. Ultrathin graphitic carbon nitride nanosheets: A novel peroxidase mimetic, Fe doping-mediated catalytic performance enhancement and application to rapid, highly sensitive optical detection of glucose. **Nanoscale**, v. 5, p. 11604-11609, 2013. doi: 10.1039/c3nr03693f.

- [165] ALTHOMALI, R. H., ALAMRY, K. A., HUSSEIN, M. A., GUEDES, R. M. Hybrid PANI@dialdehyde carboxymethyl cellulose/ZnO nanocomposite modified glassy carbon electrode as a highly sensitive electrochemical sensor. **Diamond and Related Materials**, v. 122, p. 108803, 2022. doi: 10.1016/j.diamond.2021.108803.
- [166] QUESADA-GONZÁLEZ, D., MERKOÇI, A. Nanomaterial-based devices for point-of-care diagnostic applications. **Chemical Society Reviews**, v. 47, p. 4697-4709, 2018. doi: 10.1039/C7CS00837F.
- [167] SANGKAEW, A., NGAMAROONCHOTE, Y., SANGUANSAP, K., and KARN-ORACHAI, K. Emerging Electrochemical Sensor Based on Bimetallic AuPt NPs for On-Site Detection of Hydrogen Peroxide Adulteration in Raw Cow Milk. **Electrocatalysis**, v. 13, p. 794–806, 2022, doi: 10.1007/s12678-022-00763-1.
- [168] ZHANG, C. Y., ZHANG, H., and YANG, F.Q. Enhanced peroxidase-like activity of copper phosphate modified by hydrophilic phytic-acid and its application in colorimetric detection of hydrogen peroxide, **Microchemical Journal**, vol. 168, p. 106489, 2021, doi: 10.1016/j.microc.2021.106489.
- [169] GEORGE, P., CHOWDHURY, P. Au, Ag nanoparticles-doped MIL-53(Fe) in rapid and selective detection of hydrogen peroxide in milk samples, **Chemical Papers**, v. 77, p. 1361–1375, 2023, doi: 10.1007/s11696-022-02558-6.
- [170] LU, D., LIA, J., WU, Z., YUAN, L., FANG, W., ZOU, P., MA, L., WANG, X., High-activity daisy-like zeolitic imidazolate framework-67/reduced graphene oxide-based colorimetric biosensor for sensitive detection of hydrogen peroxide, **J Colloid Interface Sci**, v. 608, p. 3069–3078, 2022, doi: 10.1016/j.jcis.2021.11.034.
- [171] ULLAH, I., YAQUB, A., HAQ, M. Z. U., AJAB, H., JAFRY, A. T., KHAN, M. K. Sensitive and cost-effective colorimetric sensor based on enzyme mimic MoS₂@CoTiO₃ nanocomposite for detection of hydrogen peroxide in milk and tap water, **Journal of Food Composition and Analysis**, vol. 124, p. 105689, 2023, doi: 10.1016/j.jfca.2023.105689.
- [172] BEHROUZIFAR, F., SHAHIDI, S.-A., CHEKIN, F., HOSSEINI, S., GHORBANI-HASANSARAEI, A. Colorimetric assay based on horseradish peroxidase/reduced graphene oxide hybrid for sensitive detection of hydrogen peroxide in beverages, **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v. 257, p. 119761, 2021, doi: 10.1016/j.saa.2021.119761.
- [173] CARBONE, M., ANEGGI, E., FIGUEREDO, F., SUSMEL, S. NiO-nanoflowers decorating a plastic electrode for the non-enzymatic amperometric detection of H₂O₂ in milk: Old issue, new challenge, **Food Control**, v. 132, p. 108549, 2022, doi: 10.1016/j.foodcont.2021.108549.
- [174] HUAN, K., LI, T., DONGMEI, D., HUAN, W., XIAOXIA, S., LIQIANG, L. A Two-step Electrodeposition of Pd-Cu/Cu₂O Nanocomposite on FTO Substrate for Non-enzymatic Hydrogen Peroxide Sensor, **Curr Anal Chem**, v. 17, p. 1373–1381 2021, doi: 10.2174/1573411017666210520153409.
- [175] YANG, M., WU, Z., WANG, X., YIN, Z., TAN, X., ZHAO, J. Facile preparation of MnO₂-TiO₂ nanotube arrays composite electrode for electrochemical detection of hydrogen peroxide, **Talanta**, v. 244, p. 123407, 2022, doi: 10.1016/j.talanta.2022.123407.

- [176] MOHAN ARJUN, A., SHABANA, N., ANKITHA, M., ABDUL RASHEED, P. Abdul Rasheed, “Electrochemical deposition of Prussian blue on Nb₂CT MXene modified carbon cloth for the non-enzymatic electrochemical detection of hydrogen peroxide,” **Microchemical Journal**, v. 185, p. 108301, 2023, doi: 10.1016/j.microc.2022.108301.
- [177] YE, D., LI, H. X., LIANG, G. H., LUO, J.; ZHANG, X., ZHANG, S., CHEM, H., KONG, J. A three-dimensional hybrid of MnO₂/graphene/carbon nanotubes based sensor for determination of hydrogen-peroxide in milk, **Electrochim Acta**, v. 109, p. 195–200, 2013, doi: 10.1016/j.electacta.2013.06.119.
- [178] KONG, D. R., XIN, Y.-Y., ZHANG, X.-F., DENG, Z.-P., HUO, L.-H., GAO, S. CoCr₂O₄/Graphene modified glass carbon electrode for highly dual-sensing detection of hydrogen peroxide and glucose, **Appl Surf Sci**, v. 644, p. 158769, 2024, doi: 10.1016/j.apsusc.2023.158769.
- [179] LI, B., WANG, R., LI, G., SHEN, Q., ZOU, L. NiCoMnS/rGO nanocomposite for enzyme-free and ultrasensitive electrochemical catalysis of hydrogen peroxide and glucose, **Microchemical Journal**, v. 199, p. 109947, 2024, doi: 10.1016/j.microc.2024.109947.
- [180] THANDAVAN, K., GANDHI, S., NESAKUMAR, N., SETHURAMAN, S., RAYAPPAN, J. B. B., KRISHNAN, U. M. Hydrogen peroxide biosensor utilizing a hybrid nano-interface of iron oxide nanoparticles and carbon nanotubes to assess the quality of milk,” **Sens Actuators B Chem**, v. 215, p. 166–173, 2015, doi: 10.1016/j.snb.2015.03.041.
- [181] KANYONG, P., RAWLINSON, S., DAVIS, J. A non-enzymatic sensor based on the redox of ferrocene carboxylic acid on ionic liquid film-modified screen-printed graphite electrode for the analysis of hydrogen peroxide residues in milk,” **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 766, p. 147–151, 2016, doi: 10.1016/j.jelechem.2016.02.006.
- [182] ALVAREZ-PAGUAY, J., FERNÁNDEZ, L., BOLAÑOS-MÉNDEZ, D., GONZÁLEZ, G., ESPINOZA-MONTERO, P. J. Evaluation of an electrochemical biosensor based on carbon nanotubes, hydroxyapatite and horseradish peroxidase for the detection of hydrogen peroxide, **Sens Biosensing Res**, v. 37, p. 100514, 2022, doi: 10.1016/j.sbsr.2022.100514.
- [183] KARTHIK, R., SUKANYA, R., CHAVAN, P. R., KUMAR, D. R., LEE, J., SHIM, J.-J. Spherical nickel boride nanoparticles anchored on a carbon nanofiber composite for efficient sensing of non-enzymatic hydrogen peroxide in biological samples, **Appl Mater Today**, v. 37, p. 102146, 2024, doi: 10.1016/j.apmt.2024.102146.
- [184] GIARETTA, J. E., DUAN, H., FARAJIKHAH, S., OVEISSI, F., DEGHANI, F., NAFICY, S. A highly flexible, physically stable, and selective hydrogel-based hydrogen peroxide sensor, **Sens Actuators B Chem**, v. 371, p. 132483, 2022, doi: 10.1016/j.snb.2022.132483.
- [185] WU, B., YEASMIN, S., LIU, Y., CHENG, L.-J. Ferrocene-grafted carbon nanotubes for sensitive non-enzymatic electrochemical detection of hydrogen peroxide, **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 908, p. 116101, 2022, doi: 10.1016/j.jelechem.2022.116101.

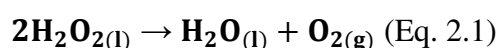
- [186] LI, Q., WANG, X., CUI, X., LIU, X., WANG, W. 3D/1D heterostructure of p-BiOBr nanoflowers modified n-TiO₂ nanorod arrays for highly sensitive photoelectrochemical determination of hydrogen peroxide, **J Alloys Compd**, v. 970, p. 172605, 2024, doi: 10.1016/j.jallcom.2023.172605.

CAPÍTULO 2

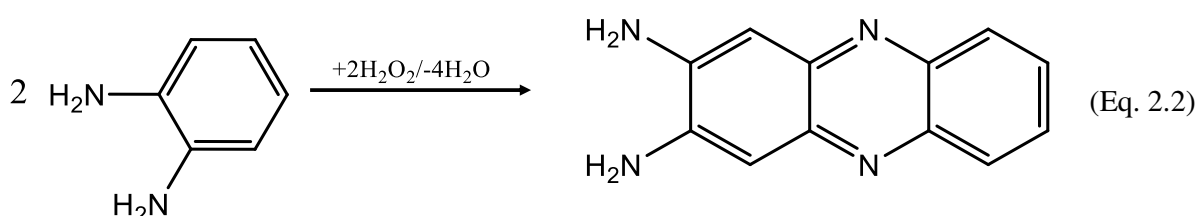
Síntese verde de FeNPs para uso como peroxidase-like para quantificação de H₂O₂

2.1. INTRODUÇÃO

O peróxido de hidrogênio é um produto químico versátil apresentando diversas aplicações na indústria alimentar, farmacêutica e química [1,2]. No entanto, nos organismos vivos, é um metabólito tóxico que pode causar danos às células. O processo biológico de desintoxicação do peróxido de hidrogênio pela enzima catalase, uma enzima do grupo das peroxidases, envolve a conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular, como mostrado na Eq. 2.1 [3].



As enzimas do grupo das peroxidases são amplamente utilizadas como biossensores em métodos colorimétricos, devido à sua elevada seletividade e eficiência catalítica, sendo sensíveis à detecção de H₂O₂ [4]. Apesar dos muitos benefícios da utilização de enzimas naturais, a sua aplicação generalizada é limitada devido à sua instabilidade em condições ambientais adversas, tais como temperaturas elevadas, alterações de pH e outros fatores que podem levar à sua desnaturação [5]. Além disso, as peroxidases têm um custo elevado de produção, purificação e aquisição [1,6-8]. Dessa forma, a síntese de nanomateriais que imitam enzimas, também designados por nanoenzimas, tem sido uma alternativa atrativa devido à sua maior estabilidade e baixo custo [6,7,9].



A utilização da *o*-fenilenodiamina (OPD) é uma ferramenta interessante para detectar o peróxido de hidrogênio. Este composto incolor é oxidado na presença de oxigênio ou H₂O₂, formando 2,3-diaminofenazina (DAP) (Eq. 2.2), de coloração amarelada [10]. No entanto, a reação é lenta, exigindo a utilização de catalisadores [10].

Entre os catalisadores, destacam-se as nanopartículas formadas por metais de transição, como o ferro, por exemplo, devido à sua ampla aplicabilidade e versatilidade. A síntese de nanopartículas de ferro pode ser efetuada de forma rápida e fácil. Além disso, possuem propriedades químicas muito favoráveis, sendo altamente reativas e capazes de doar elétrons [11]. Apesar dessas vantagens, as nanopartículas tendem a se agregar facilmente, reduzindo os seus sítios

reativos [12]. Para superar este desafio, o uso de extratos de plantas foi proposto como uma alternativa para sintetizar nanopartículas à base de ferro [13]. Devido ao uso de recursos biológicos, a utilização de extratos de plantas na síntese de nanopartículas metálicas pode ser considerada bioinspirada [14]. Além disso, a utilização de agentes redutores não tóxicos e não perigosos também segue os princípios da química verde [13].

A síntese verde a partir do uso do extrato de plantas tem ganhado notoriedade devido ao seu baixo custo, à reduzida utilização de produtos químicos tóxicos e ao baixo consumo de energia [15,16]. Nestes processos, a extração dos fitoquímicos das plantas é normalmente realizada com solventes, entre os quais a água é o mais utilizado [12]. Tais fitoquímicos incluem flavonoides e terpenóides, os quais podem produzir e estabilizar as nanopartículas reduzindo a agregação, devido à presença de grupos funcionais como os ácidos carboxílicos, fenóis e aldeídos [12]. Existem vários estudos que utilizaram nanopartículas de ferro sintetizadas por extrato de plantas. Tipicamente, essa síntese envolve a mistura de um extrato de planta com precursores de ferro, que são depois reduzidos, causando uma mudança na coloração do sistema [12].

Com base nos estudos anteriormente mencionados, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver um método espectrofotométrico para a detecção e quantificação de peróxido de hidrogênio baseado na reação de oxidação da *o*-fenilenodiamina (OPD), utilizando nanopartículas de ferro sintetizadas por um processo verde e bioinspirado como catalisador do tipo peroxidase.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Padrões e reagentes

Neste trabalho, foram utilizados reagentes de grau analítico. O ácido cítrico (99,5%), o hidróxido de sódio (99,67%) e o etanol (96,24%) foram adquiridos da Neon (Suzano, Brasil). A *o*-fenilenodiamina (OPD) (98%) foi adquirida da Merck (São Paulo, Brasil). O ácido clorídrico (37% v/v), o peróxido de hidrogênio (30% v/v), o metanol (95%) e o clorofórmio (99,8%) foram adquiridos da Alfatec (São Bernardo do Campo, Brasil). O sulfato de ferro (II) heptahidratado (99-101%) foi obtido da Química Moderna (Barueri, Brasil). O álcool *t*-butílico (99%) foi obtido da Êxodo Científica (Sumaré, Brasil). O álcool isopropílico (99,5%) foi adquirido da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). A azida de sódio (99%) foi adquirida da Anidrol (Pindamonhangaba, Brasil).

Todas as soluções aquosas foram preparadas com água do tipo 1 obtida pelo sistema Milli-Q (Millipore Corporation) e armazenadas sob refrigeração (4 °C).

2.2.2. Obtenção e preparação das folhas de *Eucalyptus grandis*

As folhas de *Eucalyptus grandis* foram coletadas de árvores localizadas em uma propriedade rural na cidade de Viçosa, Minas Gerais, Brasil (42,94° W 20,82° S). As folhas foram lavadas com água destilada, secas em estufa a 60 °C por três dias consecutivos, moídas em moinho de facas Wiley (Tecnal TE680) (Piracicaba, Brasil) e peneiradas (peneira de 30 mesh). As amostras processadas foram armazenadas em um dessecador protegido da luz, à temperatura ambiente.

2.2.3. Obtenção do extrato redutor das folhas de *Eucalyptus grandis*

O extrato redutor foi obtido a partir das folhas de *Eucalyptus grandis* segundo o método descrito por Puiatti *et al.* (2022) [17]. 6,00 g de folhas processadas foram adicionadas a 100 mL de água tipo 1 e agitadas a 80 °C durante 1 hora em sistema fechado. A mistura obtida foi filtrada sob vácuo, dando origem a um extrato de cor castanha. O extrato foi diluído com água do tipo 1 até um volume final de 100 mL devido a perda de água durante o aquecimento.

2.2.4. Síntese de nanopartículas de ferro (FeNPs)

As nanopartículas foram sintetizadas usando o protocolo descrito por Puiatti *et al.* (2022) [17]. Assim, o extrato redutor recém-preparado (100 mL) foi adicionado gota a gota à solução de FeSO₄ (50 mL, 0,100 mol L⁻¹). Durante a adição do extrato, o sistema foi submetido a agitação magnética à temperatura ambiente. A suspensão resultante (concentração teórica de ferro de 33,3 mmol L⁻¹) foi armazenada sob refrigeração (~4 °C) até nova utilização.

2.2.5. Caracterização das FeNPs e do extrato redutor

A condutância do extrato da planta e da suspensão de FeNPs foi medida utilizando um condutivímetro AZ®, modelo 86503 (Taichung, Taiwan). O pH foi determinado com um pHmetro equipado com um eletrodo de vidro combinado, Mettler Toledo, modelo Five Easy Plus, (Barueri, Brasil). Finalmente, o potencial redox foi determinado utilizando um eletrodo de platina e um potenciômetro, HANNA, modelo pH 21-02, (Barueri, Brasil).

A análise de difração de raios X (XRD) para as nanopartículas foi realizada num equipamento D8-Discover - Bruker (Billerica, EUA), equipado com um tubo de cobre (1,5418 Å), variando de $2\theta = 10$ a 50° com um passo de $0,05^\circ$. A suspensão de nanopartículas foi colocada numa lâmina de vidro e deixada secar à temperatura ambiente.

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi também utilizada para analisar o extrato vegetal obtido a partir de folhas de eucalipto e a suspensão de FeNPs, usando um equipamento Varian 660-IR e cristal de diamante GladiATR, gama de 400 a 4000 cm⁻¹ (Palo Alto, EUA). Para preparar as amostras, o extrato da planta e a suspensão de FeNPs foi gotejado em placas de Petri. Em seguida, as placas foram deixadas para secar à temperatura ambiente.

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada utilizando o equipamento Simultaneous Thermal Analyzer 6000 da Perkin Elmer (Waltham, EUA). Antes da análise, a suspensão de FeNPs foi submetida à secagem em estufa a 40 °C por 8 horas. Em seguida, o material foi submetido a aquecimento, variando a temperatura de 30 a 900 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

As análises de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) acoplada à Espectroscopia Dispersiva de Energia (EDS) foram realizadas utilizando o equipamento JEM-2100 - JEOL (Tóquio, Japão). Este equipamento apresenta uma fonte de emissão de elétrons LaB6 e funciona com uma tensão de aceleração de 200 kV. A suspensão de FeNPs foi depositada na grade de cobre revestida com Formvar/carbono. Os tamanhos das nanopartículas foram determinados através da utilização do software ImageJ, medindo 25 partículas selecionadas aleatoriamente a partir da imagem [18].

As análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram realizadas utilizando um equipamento JSM-6010LA - JEOL operado a 15 kV (Akishima, Japão). As suspensões de FeNPs foram previamente diluídas com água tipo 1 (diluição 1:100 v/v). A suspensão resultante foi gotejada no suporte de amostra (stub). Após secagem à temperatura ambiente, a amostra foi revestida com uma película de ouro utilizando o equipamento Quorum Q150R S.

As análises de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) foram efetuadas utilizando o equipamento Litesizer 500, Anton Paar (Graz, Áustria), operando em ângulos de 15°, 90° e 175° numa gama de 0,3 nm a 10 µm. Antes da análise, a suspensão de FeNPs foi diluída com água do tipo 1 e submetida a sonicação durante 2 minutos.

Por fim, o potencial zeta das FeNPs, em diferentes valores de pH, foi determinado utilizando o equipamento Malvern Zetasizer Nano ZS90 (Malvern, Reino Unido). As amostras (25 µL de suspensão de FeNPs) foram adicionadas a uma solução de cloreto de sódio (diluição 1:400 v/v) a 1,00 mmol L⁻¹ [19]. Finalmente, o pH foi ajustado para diferentes valores (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11) utilizando soluções de HCl ou NaOH, ambas a 0,100 mol L⁻¹ [20].

2.2.6. Procedimento geral para a oxidação da *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs

A reação foi conduzida em uma cubeta de quartzo de 1,00 cm de percurso ótico. Em seguida, foram adicionados 2,85 mL de solução tampão de citrato (0,100 mol L⁻¹) a pH 3,00 na cubeta, seguidos de 200 µL de solução de OPD (10,0 mmol L⁻¹), 100 µL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v) e 250 µL de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹). O volume final total foi de 3,40 mL. A suspensão de FeNPs foi previamente sonicada durante 5 min. A reação foi monitorada durante 35 minutos à temperatura ambiente por espectrofotometria de absorção molecular na região UV/Vis utilizando o espectrofotômetro Evolution Array UV-Visible da Thermo Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts, EUA) [21]

2.2.7. Otimização do método

As condições ótimas foram determinadas utilizando o procedimento descrito acima, variando um parâmetro de cada vez. Para a avaliação do pH, foram preparadas soluções tampão citrato (0,100 mol L⁻¹) em três valores de pH diferentes (3,00, 5,00 e 7,00).

Para a avaliação da dose de FeNPs, foram preparadas diferentes doses da suspensão, tais como 0,0610; 0,122; 0,184; 0,245; 0,306 e 0,368 mmol L⁻¹, partindo da concentração teórica inicial de 33,3 mmol L⁻¹ de ferro.

Para a avaliação das concentrações de OPD, foram preparadas diferentes concentrações desse composto, tais como 73,5; 147,1; 294,1; 441,2; 588,2 e 735,3 µmol L⁻¹.

2.2.8. Curva analítica do peróxido de hidrogênio

A curva analítica de H₂O₂ foi preparada na faixa de concentração de 16,8 a 112,6 µmol L⁻¹, utilizando as condições ótimas obtidas da subseção 2.6.1, otimização do método. Assim, 100 µL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v) nas concentrações de 16,80; 28,04; 39,25; 56,08; 84,1; 112,6 µmol L⁻¹, seguido de 200 µL de solução de OPD (10,0 mmol L⁻¹) foram adicionados com 2,85 mL de solução tampão citrato (0,100 mol L⁻¹) em pH 3,00 e 250 µL de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹). A qualidade do modelo de regressão linear foi avaliada pelo coeficiente de determinação (R²) e pelo gráfico de resíduos. As medições foram realizadas em triplicata. Os limites de quantificação (LoQ), detecção (LoD) e resolução analítica (AnR) foram determinados de acordo com a Eq. 2.3-2.5.

$$\text{LoD} = 3 \cdot \frac{SD}{S} \text{ (Eq. 2.3)}$$

$$\text{LoQ} = 10 \cdot \frac{\text{SD}}{s} \quad (\text{Eq. 2.4})$$

$$\text{AnR} = 3 \cdot \frac{\text{SDr}}{s} \quad (\text{Eq. 2.5})$$

Em que **SD** é o desvio-padrão do branco, **SDr** é o desvio-padrão dos resíduos e **s** é a sensibilidade analítica.

2.2.9. Modelo de Michaelis-Menten

A cinética da reação foi avaliada de acordo com o procedimento descrito nas seções anteriores, utilizando as concentrações ótimas encontradas (17,6 μmol L⁻¹ de FeNPs e 292,2 mmol L⁻¹ de H₂O₂) e monitorando o sinal em 451 nm durante 35 min. A variação da absorbância ao longo do tempo representa a velocidade aparente da reação. Os ensaios foram efetuados em triplicata. Os parâmetros cinéticos foram determinados a partir do modelo de Michaelis-Menten (Eq. 2.6).

$$V_0 = \frac{V_{\text{Max}} \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad (\text{Eq. 2.6})$$

Em que V_0 é a velocidade inicial da reação inicial, V_{max} é a velocidade máxima atingida, K_m é a constante de Michaelis-Menten e $[S]$ é concentração de substrato.

2.2.10 Investigação do mecanismo de reação

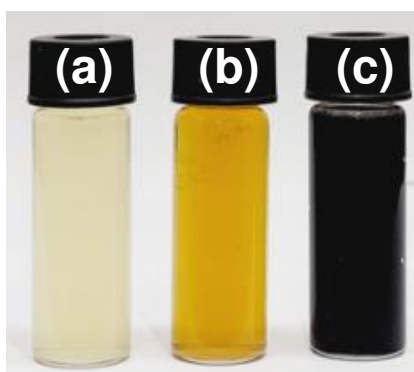
Para propor um possível mecanismo para a reação de oxidação do OPD por H₂O₂ mediada por FeNPs, foi realizado um estudo utilizando inibidores de radicais. Foram preparadas diferentes soluções de inibidores na concentração de 80,3 mmol L⁻¹. Os inibidores avaliados foram o metanol (inibidor de [•]OH), etanol (inibidor de [•]OH), álcool isopropílico (inibidor de [•]OH), álcool *t*-butílico (inibidor de [•]OH) e azida de sódio (inibidor de ¹O₂). As soluções-estoque dos inibidores foram preparadas em tampão citrato (0,100 mol L⁻¹) em pH 3,00.

A reação envolveu a adição de 2,85 mL da solução contendo o inibidor (80,3 mmol L⁻¹), 200 μL de solução de OPD (10,0 mmol L⁻¹), 100 μL de peróxido de hidrogênio (381,4 mmol L⁻¹) e 250 μL de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹) em uma cubeta. O ensaio foi realizado individualmente para cada inibidor. A reação foi monitorada durante 35 min. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A solução aquosa de FeSO₄ (0,100 mol L⁻¹), o extrato aquoso das folhas de *Eucalyptus grandis* e a suspensão de FeNPs são mostrados na Figura 2.1. O extrato orgânico apresenta uma coloração castanha, enquanto a suspensão de FeNPs apresenta uma cor preta. Esta mudança de coloração pode ser atribuída à redução de Fe²⁺ a Fe⁰ [22.23].

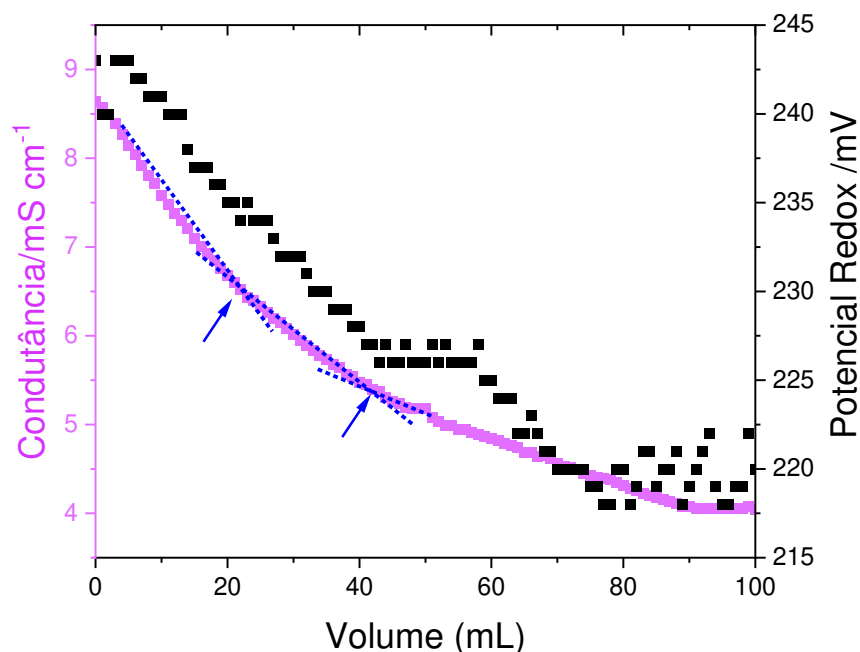
Figura 2.1. Imagem de (a) solução de sulfato de ferro (0,100 mol L⁻¹), (b) extrato da planta de *E. grandis* e (c) FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas por processo verde utilizando o extrato da folha de *Eucalyptus grandis*.



Fonte: Próprio autor.

A formação das FeNPs foi monitorada por meio do acompanhamento da condutância e do potencial redox ao longo da reação, como observado na Figura 2.2. A diminuição da condutividade da solução pode ser atribuída à formação das FeNPs através da redução de Fe²⁺ a Fe⁰ (Tabela 1). Além disso, também foram observadas alterações no potencial redox, indicando uma diminuição do estado de oxidação dos íons ferro (II) durante a reação (Tabela 2.1).

Figura 2.2. Monitoramento da condutância (mS cm⁻¹) e do potencial (mV) durante a síntese de FeNPs (nanopartículas de ferro) a partir de uma solução de sulfato de ferro e do extrato vegetal de *E. grandis*.



Fonte: Próprio autor.

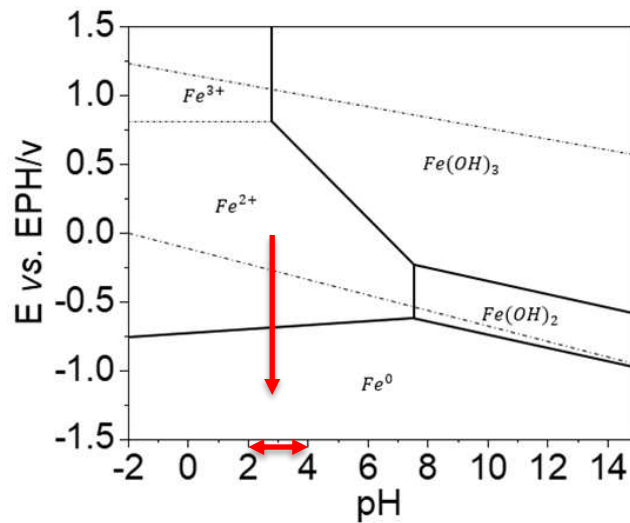
Tabela 2.1. Condutância, potencial redox e pH para o extrato aquoso de *Eucalyptus grandis*, solução de sulfato de ferro e suspensão de FeNPs.

Amostra	Condutância ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Potencial Redox (mV)	pH
Extrato vegetal de <i>E. grandis</i>	766	118	4,95
FeSO ₄ (0,100 mol L ⁻¹)	8640	245	2,37
Suspensão FeNPs*	4040	220	2,49

*Nanopartículas de ferro

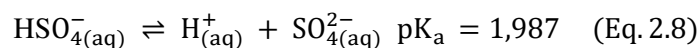
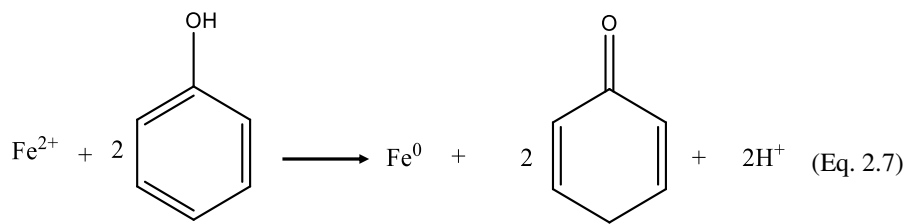
Tais resultados também estão de acordo com o diagrama de Pourbaix para o sistema ferro-água (Figura 2.3), que mostra que quando há uma diminuição no potencial redox em valores de pH próximos a 2-3, o ferro é reduzido de Fe²⁺ a Fe⁰ [24, 25]. A descrição geral da redução dos íons Fe²⁺ pelo fenol é mostrada na Eq. 7 [17,26].

Figura 2.3. Diagrama de Pourbaix simplificado para o sistema Fe-H₂O a 25 °C, [Fe²⁺] = 10⁻⁴ mol L⁻¹, [Fe³⁺] = 10⁻⁶ mol L⁻¹.



Fonte: Próprio autor.

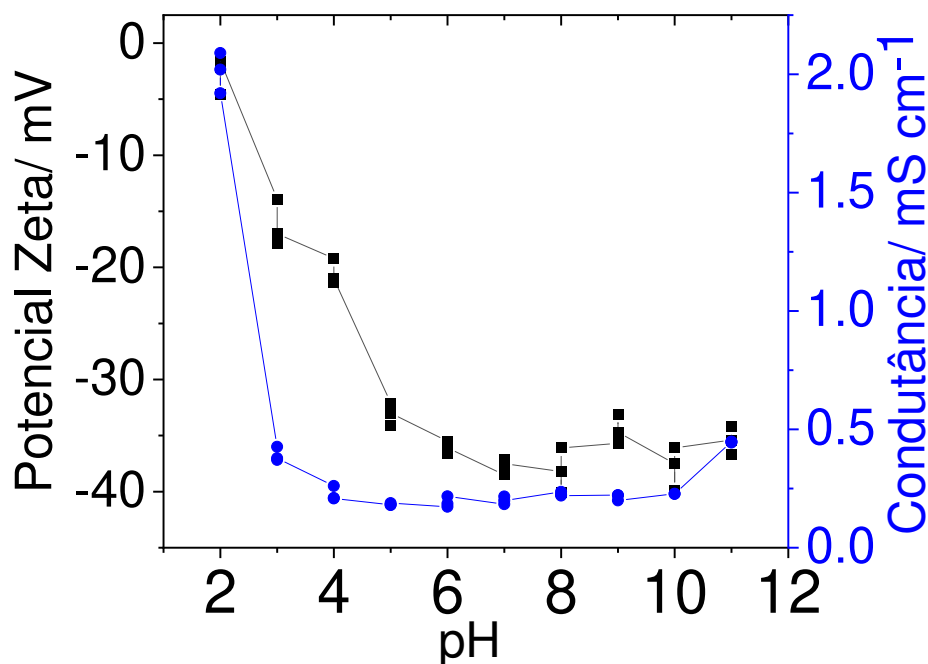
Além disso, na Equação 2.7 é mostrado que íons H⁺ são liberados no sistema como resultado da reação. No entanto, o pH permanece relativamente constante (2,37-2,49, Tabela 2.1), embora o extrato vegetal apresente pH de 4,95. Esse fato pode estar ligado ao caráter ácido-base do íon bissulfato, formado a partir da solução aquosa de FeSO₄ (Eq. 2.8), que tem um valor de pK_a de 1,987. Isso cria uma região tampão entre pH 0,98 e 2,98, onde os valores de pH são relativamente estáveis.



Os resultados do potencial zeta (ζ) são mostrados na Figura 2.4. A carga da superfície é um indicador importante da estabilidade e da reatividade das nanopartículas [27,28]. As FeNPs apresentaram carga negativa ($\zeta = -2,15$ a $-35,2$) para todos os valores de pH examinados. Para manter a estabilidade, as nanopartículas necessitam de $|\zeta| \geq 30$ mV. Nessa condição, as forças repulsivas são suficientemente grandes para impedir a sua agregação [17]. A suspensão de FeNPs apresentou um potencial zeta de aproximadamente -35 mV na faixa de pH entre 5 e 10, indicando

que é provável que permaneçam estáveis nessas condições em relação à agregação. A relação entre o potencial zeta e o pH pode ser explicada pela protonação/desprotonação de grupos funcionais presentes na superfície do material, tais como hidroxila (-OH) e ácidos carboxílicos (-COOH).

Figura 2.4. Potencial zeta, ζ , (mV) e condutância (mS cm⁻¹) de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas por processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis* em diferentes valores de pH.

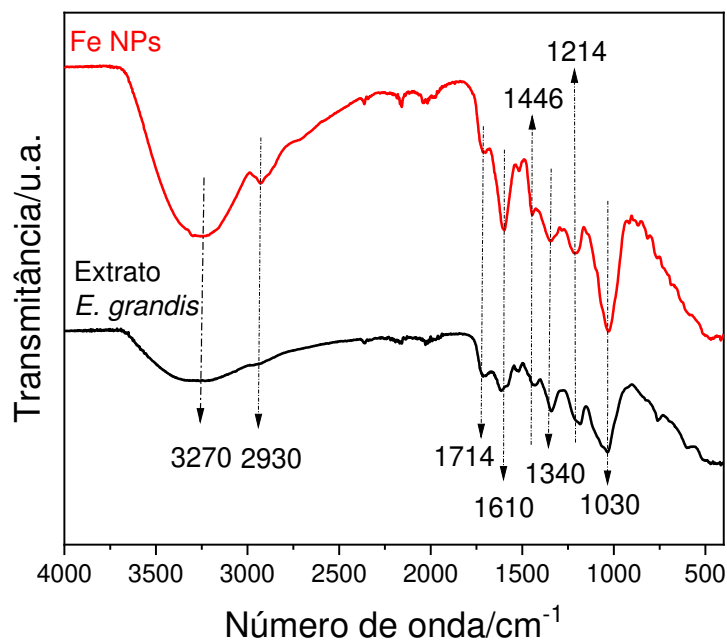


Fonte: Próprio autor.

Os espectros de FTIR obtidos para o extrato vegetal de *E. grandis* e para as FeNPs são apresentados na Figura 2.5. Ambos os espectros apresentam bandas em comum. A banda em 3270 cm⁻¹ pode ser atribuída ao estiramento da ligação O-H [26]. A banda em 2930 cm⁻¹ pode ser atribuída ao estiramento simétrico e assimétrico de ligações C-H de grupos metila e alquila [26,29]. A banda em 1714 cm⁻¹ pode ser atribuída ao estiramento C=O de grupos carbonila derivados de ácidos carboxílicos [17]. A banda em torno de 1610 cm⁻¹ pode ser atribuída ao alongamento C=C e a vibrações de tração em anéis aromáticos de compostos polifenólicos [26]. A banda em 1446 cm⁻¹ está associada à ligação C-H alifática e à vibração de alongamento do anel aromático, atribuída a compostos fenólicos [26].

Pela análise FTIR é possível observar a presença de ácidos carboxílicos e fenóis tanto no extrato de folhas de *E. grandis* como nas FeNPs. Resultados semelhantes foram observados por Oliveira *et al.* (2022) [30]. Os autores sintetizaram nanopartículas de prata utilizando o extrato de folhas de *E. grandis*. O extrato foi caracterizado por FTIR e Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM), sendo identificado vários compostos orgânicos, incluindo ácidos carboxílicos, metabólitos de terpenos e carboidratos. Portanto, pode-se concluir que o método de extração utilizado neste trabalho foi eficiente na extração de compostos orgânicos, especialmente polifenólicos, que se acredita serem os responsáveis pela redução de Fe²⁺ a Fe⁰.

Figura 2.5. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde e do extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*.

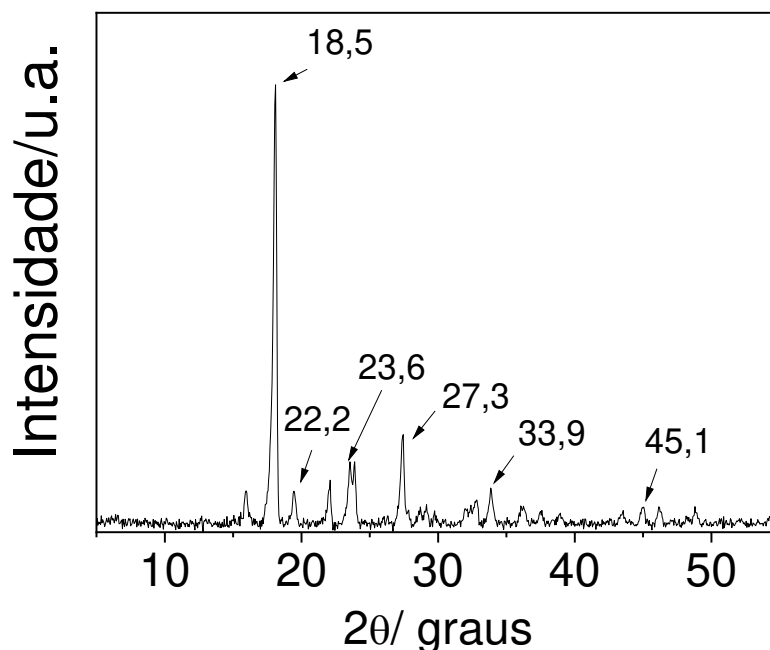


Fonte: Próprio autor

O difractograma de raios X das FeNPs é apresentado na Figura 2.6. Pode-se observar a presença de diferentes estruturas a base de ferro na suspensão, tais como hematita, goetita, magnetita e ferro de valência zero. O pico em $2\theta = 45,1^\circ$ pode ser atribuído ao ferro de valência zero (α -Fe), enquanto os picos em $2\theta = 18,5^\circ$ e $2\theta = 22,2^\circ$ podem ser atribuídos à goetita (α -FeO). Os picos em $2\theta = 23,6^\circ$ e $2\theta = 27,3^\circ$ podem ser atribuídos à hematita (α -Fe₃O₄), enquanto o pico

em $2\theta = 33,9^\circ$ pode ser atribuído à magnetita (Fe₃O₄). Estes resultados também foram observados por Puiatti e colaboradores (2022) [17].

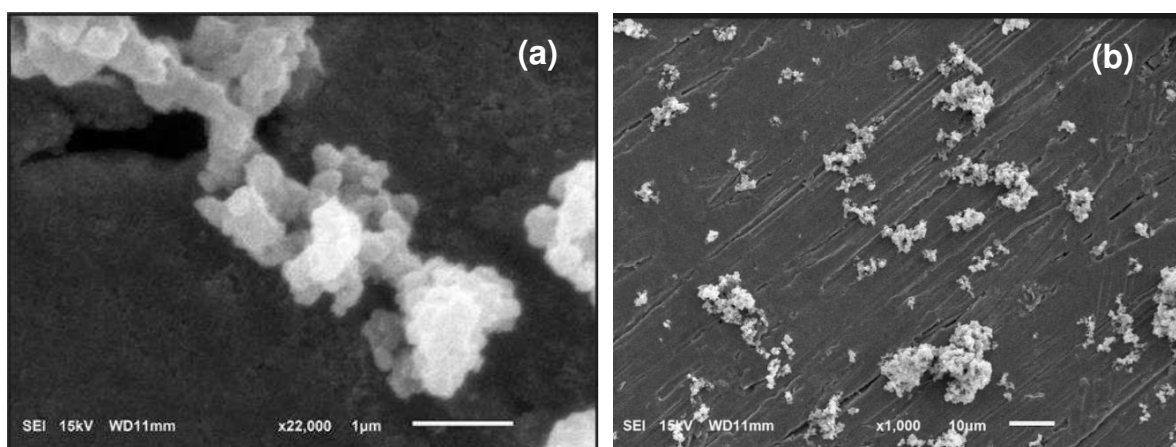
Figura 2.6. Difratoograma de raios X de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*.



Fonte: Próprio autor

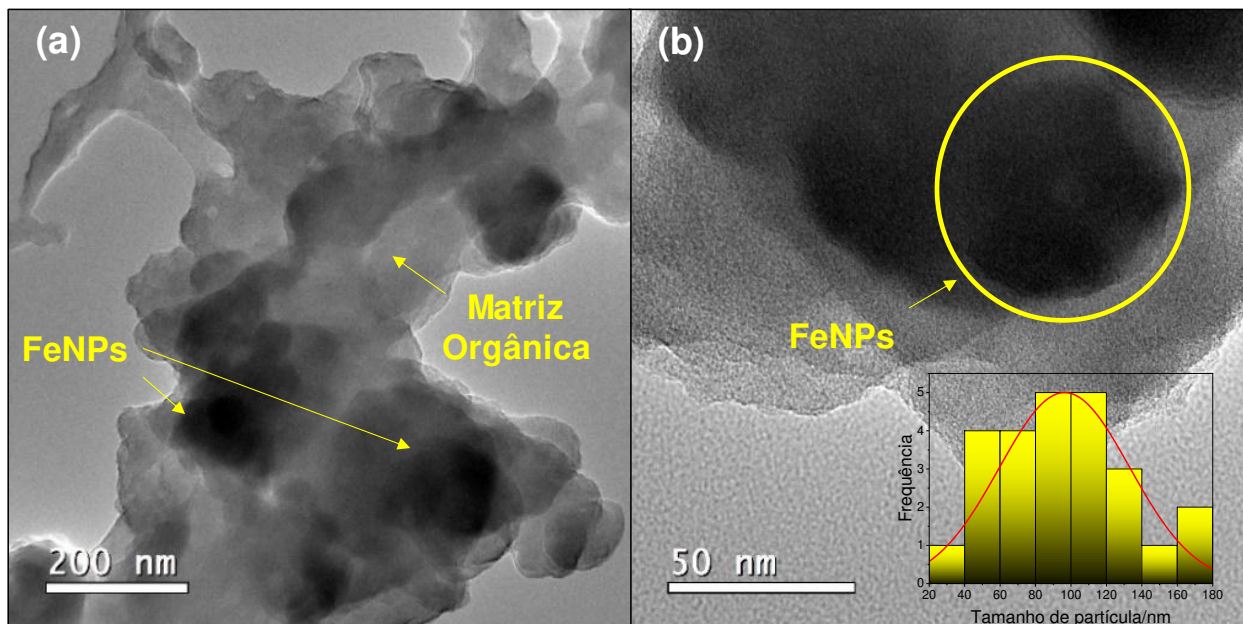
Pela análise de MEV foi possível observar a morfologia esférica das FeNPs (Figura 2.7). As imagens de MET do nanomaterial mostraram que os compostos orgânicos presentes no material permitiram a dispersão efetiva das FeNPs (cor mais escura) numa matriz carbonácea (cor cinzenta), impedindo a sua aglomeração (Figura 2.8 (a)). A presença da matriz carbonácea também confirma a incorporação dos compostos do extrato na estrutura das FeNPs. A imagem de MET também confirmou a forma esférica das FeNPs, que apresentaram um tamanho médio de (96.4 ± 36.8) nm (Figura 2.8 (b)). A distribuição do tamanho também é mostrada na Figura 2.8(b). Resultados semelhantes foram relatados em outros trabalhos [31,32,33]. A atividade catalítica de um material é influenciada pelo seu tamanho. Nanomateriais apresentam uma maior área de superfície de contato entre o catalisador e o substrato, resultando em um aumento da atividade catalítica [34,35].

Figura 2.7. Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de *E. grandis*



Fonte: Próprio autor.

Figura 2.8. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis* (a) FeNPs estabilizadas pela matriz orgânica. (b) Tamanho das FeNPs.

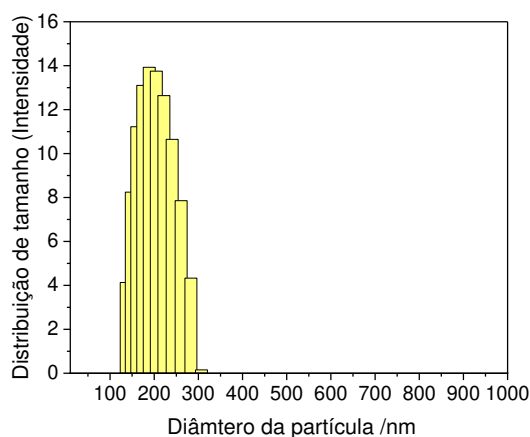


Fonte: Próprio autor.

O tamanho hidrodinâmico do material medido por DLS foi de aproximadamente 200 nm (Figura 2.9). É importante notar que o tamanho hidrodinâmico difere do tamanho real do material. Isso ocorre porque o DLS está relacionado à distribuição do tamanho hidrodinâmico de pequenas

partículas, que engloba tanto o tamanho do núcleo (FeNPs), assim como as moléculas envolvidas na sua estabilização. Resultados semelhantes foram obtidos por Al-Karagoly *et al.* (2022), que sintetizaram nanopartículas de óxido de ferro utilizando o extrato de sementes de *Nigella sativa* [36].

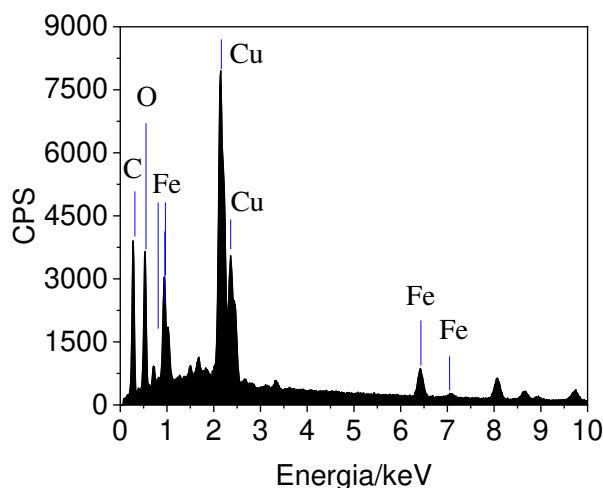
Figura 2.9. Espalhamento de luz dinâmico de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde usando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*.



Fonte: Próprio autor.

O resultado de EDS para as FeNPs (Figura 2.10) mostra que o material é composto principalmente por carbono (59,6%), devido aos estabilizadores fitoquímicos, seguido de oxigênio (34,2%) e ferro (6,2%). Observa-se a presença de cobre, que pode ser atribuída ao suporte da amostra.

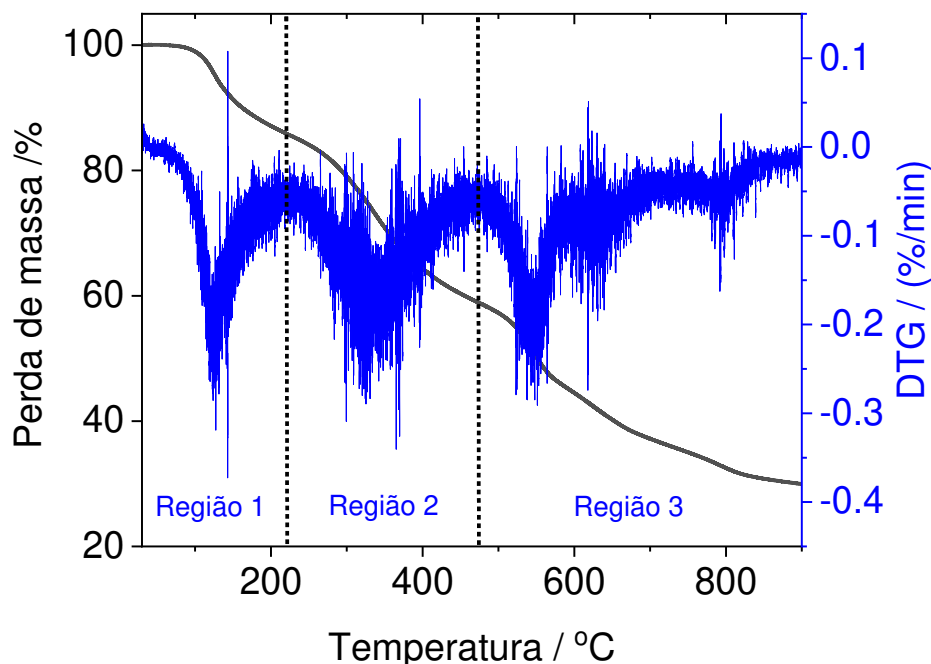
Figura 2.10. Espectro de raios X por dispersão de energia de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*.



Fonte: Próprio autor.

Os resultados de análise termogravimétrica são apresentados na Figura 2.11. Podem ser observados três eventos térmicos distintos. Região I (30 - 220 °C), que pode ser atribuída à presença de água; Região II (220 - 473 °C) e Região III (473 - 900 °C), ambas atribuídas à decomposição de compostos orgânicos. Estes resultados assemelham-se muito aos obtidos por Carvalho e Carvalho (2017), que sintetizaram nanopartículas de ferro utilizando extrato de chá de *Camellia sinensis* [37]. Pode-se observar que a massa residual foi de aproximadamente 30%, atribuída a FeNPs, o que está de acordo com os resultados obtidos por EDS.

Figura 2.11. Curvas TGA (análise termogravimétrica) - DTA (análise térmica diferencial) de FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*.



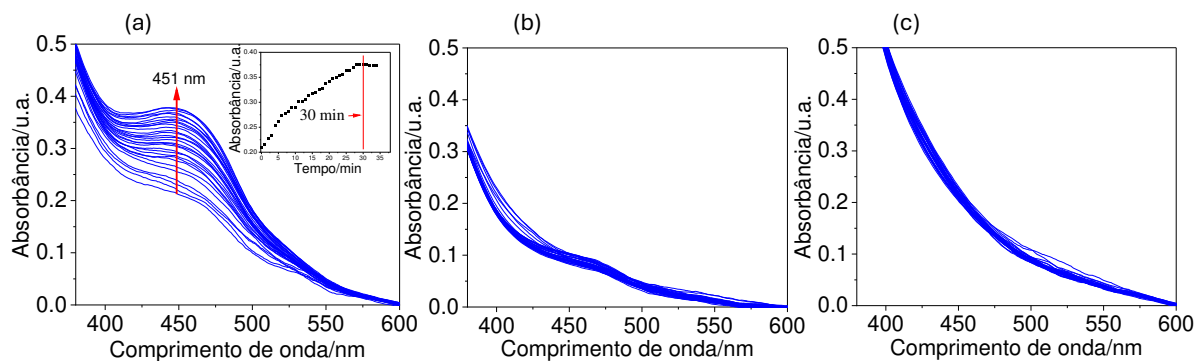
Fonte: Próprio autor.

2.3.1 Aplicação de FeNPs como catalisador do tipo peroxidase

2.3.1.1 Otimização das condições reacionais

O efeito do pH na oxidação do OPD foi avaliado, sendo investigado os valores de pH 3,00, 5,00 e 7,00 (Figuras 2.12). Pode-se observar um aumento da absorvância em $\lambda = 451$ nm, devido à formação de DAP. A reação ocorreu de forma mais eficiente em pH 3,00, como pode ser observado. A peroxidase de rábano é comumente utilizada em ensaios analíticos, mas é sensível em pH inferior a 3,5. Sendo assim, o uso do sistema OPD mediado por FeNPs é promissor, pois amplia a faixa de pH do sistema quando comparado à enzima [38]. O sistema atingiu o equilíbrio em ~30 min (inserto da Figura 2.12(a)). Ao longo do trabalho foram sintetizados diferentes lotes de nanopartículas de ferro (FeNPs), obtendo-se o mesmo comportamento.

Figura 2.12. Espectros UV/Vis da oxidação da *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs (nanopartículas de ferro). Condições experimentais: 200 μL de solução de OPD 200 μL de solução de OPD (10,0 mmol L⁻¹), 100 μL de H₂O₂ 30% (v/v), 2,85 mL de tampão citrato, 250 μL de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹). Inserção: Absorbância em função do tempo em λ= 451 nm. (a) pH 3,00, (b) pH 5,00 e (c) pH 7,00.

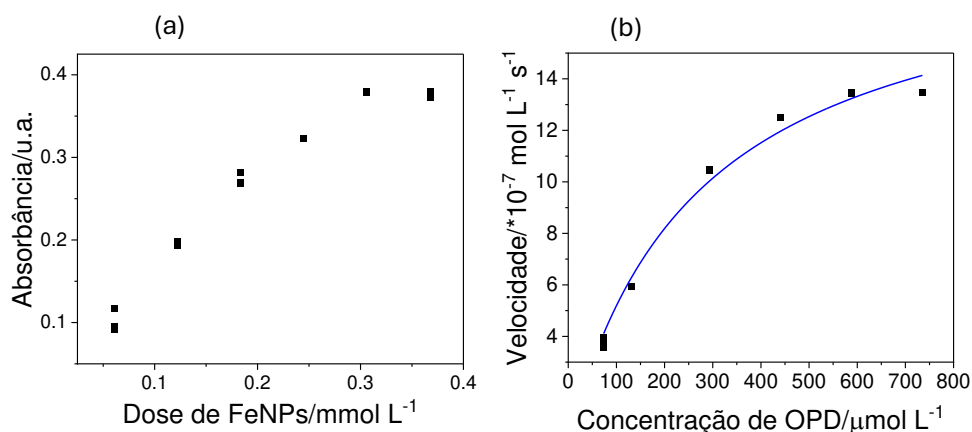


Fonte: Próprio autor.

A dose de FeNPs também foi avaliada (Fig. 2.13(a)), sendo observado melhores resultados com o aumento da dose do catalisador. Isto ocorre devido ao aumento dos sítios ativos disponíveis para reagir com a OPD. A dose de catalisador escolhida foi de 0,306 mmolL⁻¹ devido aos maiores valores de absorbância obtidos a 451 nm. Não foram observadas alterações significativas de absorbância acima deste valor, o que pode ser atribuído à aglomeração das nanopartículas, podendo estar associado a um contato reduzido com o substrato.

A concentração de OPD também foi avaliada (Fig. 2.13(b)). O modelo de Michaelis-Menten foi ajustado aos dados experimentais. A qualidade do modelo foi avaliada pelo coeficiente de correlação (R^2), que foi superior a 0,9. A velocidade máxima (V_{max}) e a constante de Michaelis (K_m) foram determinadas como sendo $2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ e $307 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Quanto mais elevado for o valor de V_{max} , maior será a atividade do catalisador. Por outro lado, quanto mais baixo for o K_m , maior será a afinidade de ligação do substrato ao catalisador [39,40]. As constantes encontradas neste trabalho foram comparadas a outros nanomateriais e à peroxidase de rábano, como mostra na Tabela 2.2.

Figura 2.13. (a) Influência da dose de FeNPs (nanopartículas de ferro) na oxidação da *o*-fenilenodiamina para formar 2,3-diaminofenazina (cor amarela) com monitorização no comprimento de onda de 451 nm. (b) Modelo de Michaelis-Menten. Condições: 100 μL de H₂O₂ 30% (v/v), 2,85 mL de tampão citrato; 250 μL de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹); Tempo de reação: 35 min, V_{max} = 2·10⁻⁶ mol L⁻¹ s⁻¹, K_m = 307 μmol L⁻¹.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 2.2. Constante de Michaelis aparente (K_m) e velocidade máxima (V_{max}) obtidas para diferentes nanomateriais semelhantes à peroxidase, utilizando a *o*-fenilenodiamina como substrato e considerando a peroxidase de rábano.

	Catalisador	K _m * (μmol L ⁻¹)	V _{max} (mol L ⁻¹ s ⁻¹)	Ref.
Peroxidase	Peroxidase do Rábano (pH 6,0)	600 ± 200	6,5 ± 1,5 × 10 ⁻⁶	[41]
Nanomateriais Peroxidase-like	FeNPs (pH 3,0)	307	2,00 × 10 ⁻⁶	Este Trabalho
	CS-nFs	143	1,01 × 10 ⁻⁶	[42]
	Fe ₃ O ₄ NPs/MIL-53(Al) (pH 6,5)	181	8,10 × 10 ⁻⁷	[43]
	Cu-CDs + Fe ²⁺ (pH 7,0)	644	4,96 × 10 ⁻⁸	[44]
	gNPs@ Fe ₃ O ₄ (pH 7,4)	2910	-	[45]
	MnFe ₂ O ₄ (pH 7,0)	27500	1,04 × 10 ⁻⁷	[46]
	MnCo ₂ O ₄ mesoporoso (pH 7,0)	272000	1,00 × 10 ⁻⁷	[47]

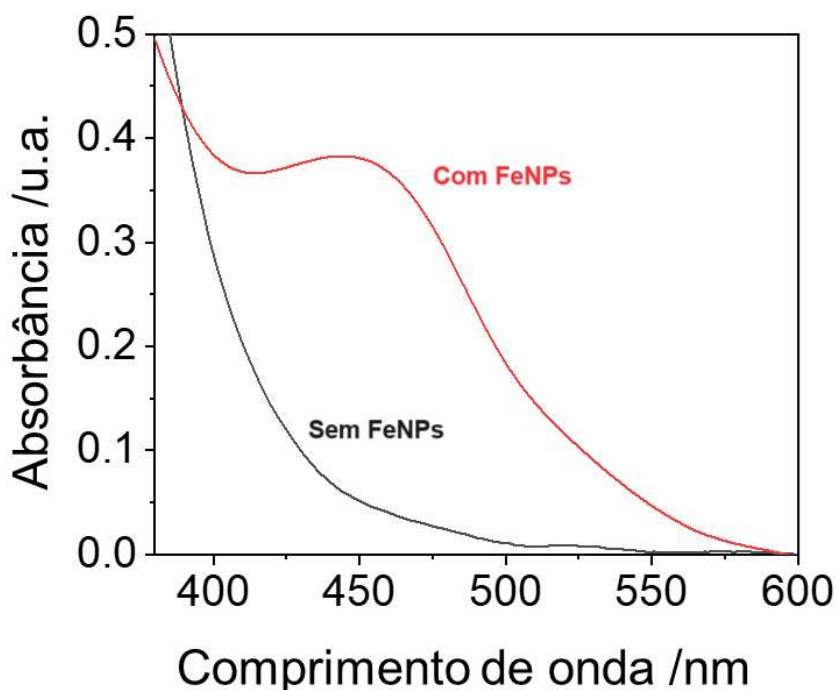
*Todas as reações foram realizadas à temperatura ambiente. FeNPs: nanopartículas de ferro; CS-nFs: nanoflocos de CoSe₂; Fe₃O₄ NPs/MIL-53(Al): nanopartículas de Fe₃O₄ magnéticas baseadas em centro metálico de alumínio contendo estrutura orgânica metálica; Cu-CDs + Fe²⁺: pontos quânticos de carbono com Cu⁺ + Fe²⁺; gNPs@Fe₃O₄: nanoestruturas core-shell de magnetita-prata; MnFe₂O₄: nanopartículas de MnFe₂O₄; MnCo₂O₄ mesoporoso: óxido metálico misto de manganês e cobalto mesoporosa.

Como mostrado na Tabela 2.2, o valor de K_m aparente obtido pelas FeNPs foi comparável a outros trabalhos. É importante ressaltar que o resultado obtido é praticamente a metade do valor de K_m da peroxidase do rábano, que é disponível comercialmente. Este resultado indica uma alta afinidade do catalisador com o substrato OPD. Além disso, as FeNPs também apresentaram um elevado valor de V_{max} aparente quando comparado a outros trabalhos, apenas inferior ao da peroxidase do rábano, indicando um excelente desempenho catalítico.

Foram realizados ensaios controle, sendo a reação conduzida com e sem a suspensão de FeNPs. Os resultados são mostrados na Figura 2.14. Pode-se observar que sem as FeNPs, após 30 min, a banda de absorção em 451 nm, devido à coloração amarela característica do DAP, não se formou. Portanto, pode-se concluir que o catalisador é importante no processo.

Figura 2.14. Espectros UV/Vis da oxidação da *o*-fenilenodiamina sem e com FeNPs (4,165 mmol L⁻¹). Condições: 200 μL de solução de OPD (10,0 mmol L⁻¹), 100 μL de H₂O₂ 30% (v/v), 2,85 mL de tampão citrato, 250 μL de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹).

Figura 2.14. Espectros UV/Vis da oxidação da *o*-fenilenodiamina sem e com FeNPs (4,165 mmol L⁻¹). Condições: 200 μL de solução de OPD (10,0 mmol L⁻¹), 100 μL de H₂O₂ 30% (v/v), 2,85 mL de tampão citrato, 250 μL de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹).

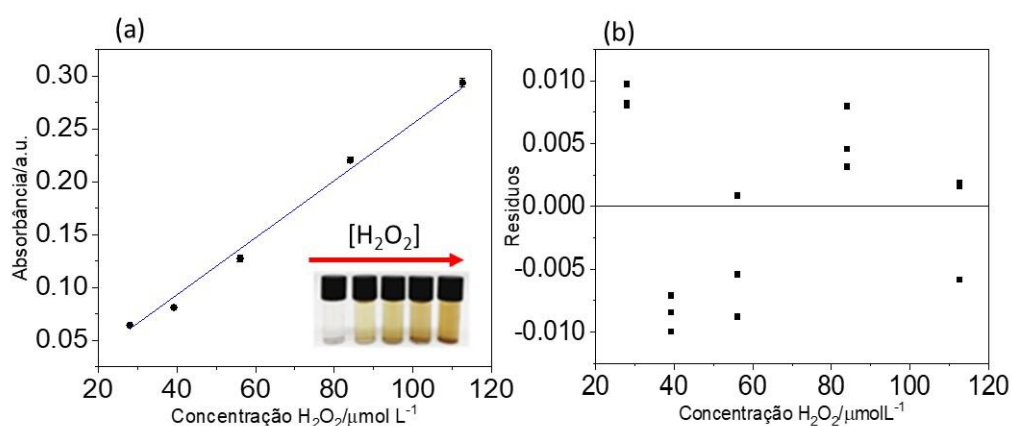


Fonte: Próprio autor.

2.3.1.2. Desenvolvimento do método de quantificação de H₂O₂

Com base nos parâmetros otimizados, o sistema foi utilizado para a detecção e quantificação de H₂O₂ em sistema aquoso. Para isso, foi construída uma curva analítica variando a concentração de H₂O₂, e os resultados são mostrados na Figura 2.15(a).

Figura 2.15. (a) Curva analítica para determinação de H₂O₂ obtida a partir da oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*; (b) Gráfico de resíduos da curva analítica para a determinação de H₂O₂ (18,3 a 112,6 μmol L⁻¹).



Fonte: Próprio autor.

O modelo de regressão linear se ajustou satisfatoriamente aos dados experimentais, com um valor R² de 0,9914. Além disso, a partir do gráfico dos resíduos (Fig. 2.15(b)), é possível observar que os resíduos estão aleatoriamente distribuídos ao redor de zero. O limite de detecção (LoD), o limite de quantificação (LoQ) e a resolução analítica (AnR) são também apresentados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3. Parâmetros obtidos para a quantificação de H₂O₂ a partir da oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada pelo método das FeNPs (nanopartículas de ferro).

Curva Analítica	LoD ^a / μmol L ⁻¹	LoQ ^b / μmol L ⁻¹	AnR ^c / μmol L ⁻¹
$A = -0.02754 \pm 0.529 + (0.0029 \pm 0.00103) \times [\text{H}_2\text{O}_2]$	5,48	18,3	0,0300

^aLoD: limite de detecção; ^bLoQ: limite de quantificação; ^cAnR: resolução analítica.

Os parâmetros determinados foram comparados com outros trabalhos da literatura, incluindo nanomateriais sintetizados via processo verde para a detecção de peróxidos, como

mostrado na Tabela 2.4. Pelo que temos conhecimento, esta é a primeira vez que as FeNPs produzidas por um extrato de planta são utilizadas em uma reação do tipo peroxidase. Pode-se observar que os resultados obtidos neste trabalho são comparáveis aos da literatura existente. Trata-se, portanto, de um material promissor, uma vez que o ferro é barato, facilmente disponível, sendo considerado não tóxico. Estas descobertas abrem caminho para o desenvolvimento de novas estratégias para a síntese de FeNPs verdes mais sensíveis.

Tabela 2.4. Comparação de diferentes nanomateriais miméticos da peroxidase para a detecção de H₂O₂ com o método OPD mediado por FeNPs

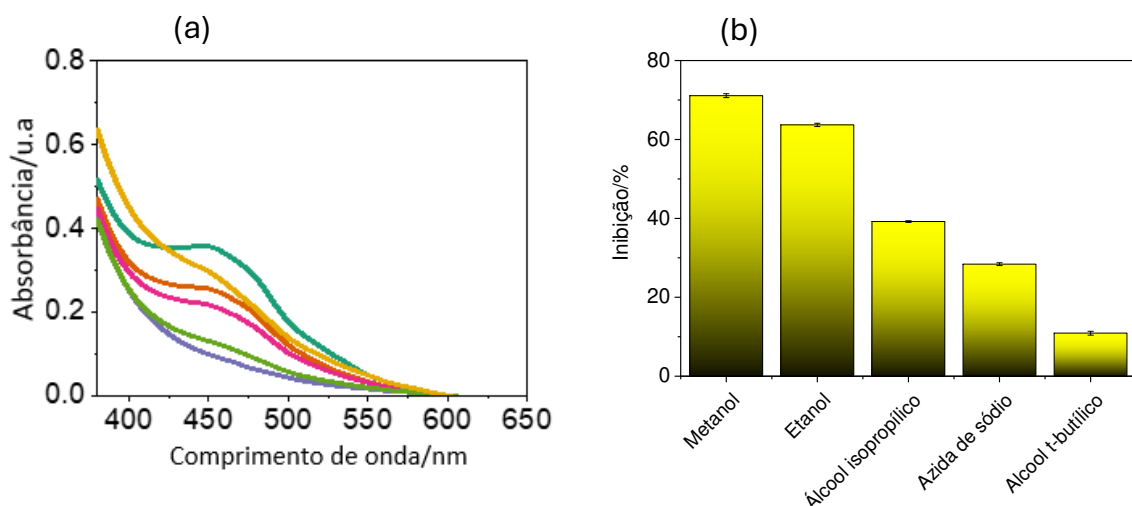
Material	Faixa Linear de trabalho ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LoD* ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
Fe-NPs	18,3 -112,6	5,48	Este trabalho
Co ₄ N@NC	1 – 100	0,032	[46]
SiO ₂ @TiO ₂ /PDI-OH	0,2 – 40	0,0760	[47]
h-Fe ₃ O ₄ @ppy	0,2 – 100	0,18	[48]
Cu. Cl-CDs	1 – 600	0,35	[40]
Fe/FeS ₂ @C	2 – 1000	0,42	[49]
SDBS-Cu-CuFe ₂ O ₄ NPs	1,5 – 60	0,49	[50]
Ir NPs	1 – 100	0,53	[51]
FeS@CNs	5 – 250	0,78	[52]
FeS ₂ NPs	2 – 200	0,91	[53]
MoS ₂ @MgFe ₂ O	2,5 -300	1,00	[54]
N-GQDs	20-1170	5,3	[55]
FePt-Au HNPs	20 – 700	12,3	[56]
M-CQDs	20 – 200	15	[57]
Fe ₇ S ₈	0,5 – 150	24,7	[58]
Pt/NiCo-LDH NCs	10.000 – 90.000	760	[59]

*LoD: limite de detecção; FeNPs: nanopartículas de ferro; Co₄N@NC: Co₄N à base de carbono oco poroso dopado com N; SiO₂@TiO₂/PDI-OH: nanoesferas SiO₂@TiO₂ em forma de gema; h-Fe₃O₄@ppy: nanocompósito ternário magnético hemina-Fe₃O₄@polipirrol; Cu. Cl-CDs: pontos de carbono dopados com Cu e Cl; Fe/FeS₂@C: nanopartículas de Fe/FeS₂@C com núcleo de casca; SDBS-Cu-CuFe₂O₄NPs: superfície de Cu-CuFe₂O₄ modificada por dodecil benzeno sulfonato de sódio (SDBS); Ir NPs: nanopartículas de irídio; FeS@CNs: Nanopartículas de FeS incorporadas em nanofolhas de carbono 2D; FeS₂ NPs: nanopartículas de FeS₂; MoS₂@MgFe₂O: nanocompósito de MgFe₂O₄ decorado com MoS₂ em forma de flor; N-GQDs: pontos quânticos de grafeno dopados com azoto; FePt-Au HNPs: Nanopartículas metálicas ternárias FePt-Au; M-CQDs: Pontos quânticos de carbono fluorescente derivados de sementes de mostarda; Fe₇S₈: Nanofios de Fe₇S₈ modelados a partir de nanofios híbridos de [Fe₁₆S₂₀]/Dietilenotriamina; NCs de Pt/NiCo-LDH: Pt depositada sobre hidróxido duplo em camadas de NiCo.

2.4. Mecanismo reacional

As peroxidases são proteínas heme, que normalmente apresentam a protoporfirina IX como grupo prostético. No caso da peroxidase do rábano, por exemplo, o mecanismo catalítico envolve a interação do H₂O₂ com o núcleo de Fe³⁺, a formação de estados de ferro altamente oxidados (Fe⁴⁺) e a produção de um núcleo de Fe²⁺ ligado ao oxigênio [60]. Para compreender o mecanismo de oxidação da OPD catalisada pelas FeNPs sintetizadas, foram realizados ensaios na presença e ausência de inibidores de radicais. O metanol, o etanol, o álcool *t*-butílico e o álcool isopropílico foram utilizados para inibir os radicais [•]OH, enquanto a azida de sódio foi utilizada para avaliar a inibição do oxigênio singlete (¹O₂) [61-63]. Os resultados são apresentados na Figura 2.16. Pode-se observar um menor valor de absorbância a 451 nm na presença de metanol, quando comparado aos demais inibidores. A ordem de inibição foi a seguinte: metanol (71,1%) ~ etanol (63,7%) > álcool isopropílico (39,2%) > azida de sódio (28,4%) > álcool *t*-butílico (10,9%). Portanto, pode-se concluir que os radicais [•]OH são as principais espécies responsáveis pela reação.

Figura 2.16. (a) Espectros UV/Vis e (b) Porcentagem de inibição da oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas através de um processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*. (■) sem inibidor; na presença de inibidor a 80,3 mmol L⁻¹ (■) metanol; (■) etanol; (■) álcool isopropílico; (■) álcool *t*-butílico; (■) azida de sódio. Condições: 200 μL de solução de OPD (10,0 mmol L⁻¹), 100 μL de H₂O₂ (11,22 mmol L⁻¹), 2,85 mL de tampão citrato contendo o inibidor, 250 μL de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹)

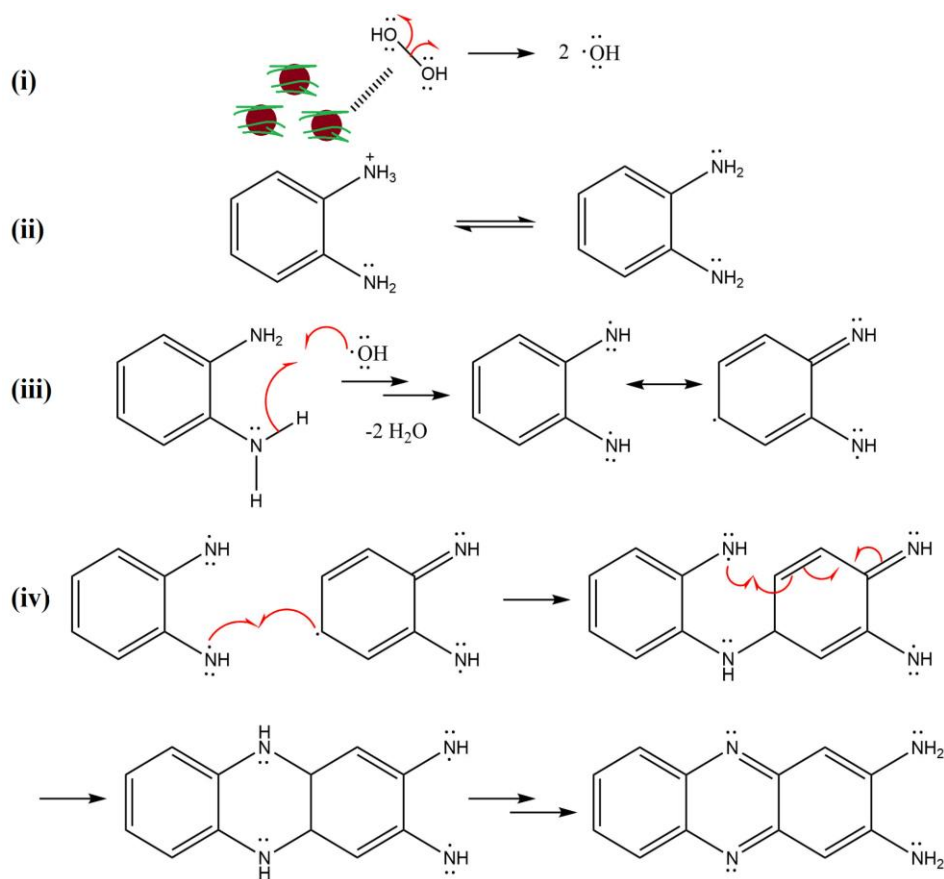


Fonte: Próprio autor.

Como mencionado anteriormente, a composição das FeNPs apresenta fases de hematita, goetita, magnetita e ferro de valência zero. Com base nestes resultados, na Figura 2.17 é

apresentada uma proposta de mecanismo para a reação, baseada no trabalho de Guan *et al.* [64]. De acordo com este mecanismo, as moléculas de H₂O₂ adsorvem-se à superfície das FeNPs, seguindo-se da ativação e clivagem homolítica da ligação de peróxido, gerando radicais [•]OH. As etapas subsequentes traçam um caminho geral para as reações radiculares em cadeia. Estas etapas podem envolver a abstração de hidrogênio por radicais [•]OH, o acoplamento oxidativo das moléculas e reações de eliminação.

Figura 2.17. Mecanismo proposto para a oxidação catalítica de OPD na presença de H₂O₂ mediada por FeNPs sintetizadas a partir de extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*. (i) adsorção de H₂O₂ no catalisador; (ii) equilíbrio ácido-base de OPD em solução aquosa; (iii) abstração de hidrogênio; (iv) acoplamento oxidativo, seguido de prototropismo e eliminação para formar DAP.



Fonte: Próprio autor.

2.5. Conclusão

O extrato de *Eucalyptus grandis* foi utilizado como agente redutor para a síntese de FeNPs, além de estabilizá-las, de uma forma simples, bio-inspirada e amiga do ambiente. As análises FTIR, MEV, MET e EDS confirmaram a formação das nanopartículas, bem como a incorporação dos compostos presentes no extrato na sua estrutura. As FeNPs foram então aplicadas como catalisadores na oxidação de *o*-fenilenodiamina por H₂O₂. Foi possível desenvolver um método espectralométrico fácil e eficaz para a determinação de H₂O₂ que apresentou limites de detecção e quantificação comparáveis aos da literatura. As FeNPs sintetizadas apresentaram atividade semelhante à peroxidase, sendo mais baratas e fáceis de produzir em comparação com as enzimas naturais.

2.6. RERÊNCIAS

- [1] PENG, L. J., ZHOU, H. Y., ZHANG, C. Y., YANG, F. Q. Study on the peroxidase-like activity of cobalt phosphate and its application in colorimetric detection of hydrogen peroxide, **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp**, v. 647, p. 129031, 2022, doi: 10.1016/j.colsurfa.2022.129031.
- [2] YAN, Y., PAN, M., PENG, J., HU, D., HAO, Y., QIAN, Z. A review on recent advances in hydrogen peroxide electrochemical sensors for applications in cell detection, **Chinese Chemical Letters**, v. 33, p. 4133–4145, 2022, doi: 10.1016/j.ccllet.2022.02.045.
- [3] ZHU, L., LUO, M., ZHANG, Y., FANG, F., LI, M., AN, F., ZHAO, D. Free radical as a double-edged sword in disease: Deriving strategic opportunities for nanotherapeutics, **Coord Chem Rev**, v. 475, p. 214875, 2023, doi: 10.1016/j.ccr.2022.214875.
- [4] JANGI, S. R. H., DAVOUDLI, H. K., DELSHAD, Y., JANGI, M. R. H., JANGI, A. R. H. A novel and reusable multinanozyme system for sensitive and selective quantification of hydrogen peroxide and highly efficient degradation of organic dye, **Surfaces and Interfaces**, v. 21, p. 100771, 2020, doi: 10.1016/j.surfin.2020.100771.
- [5] ITEL, F., SCHATTLING, P. S., ZHANG, Y., STÄDLER, B. Enzymes as key features in therapeutic cell mimicry, **Adv Drug Deliv Rev**, v. 118, p. 94–108, 2017, doi: 10.1016/j.addr.2017.09.006.
- [6] CHAKRABORTY, A., ACHARYA, H. Magnetically separable Fe₃O₄ NPs/MIL-53(Al) nanocomposite catalyst for intrinsic OPD oxidation and colorimetric hydrogen peroxide detection, **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp**, v. 624, p. 126830, 2021, doi: 10.1016/j.colsurfa.2021.126830.
- [7] XU, C., ZHOU, J., YE, Y., TANG, B. Insights into enzymatic mimicking activity of silver nanoprisms: spectral monitoring and analysis, **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v. 262, p. 120083, 2021, doi: 10.1016/j.saa.2021.120083.
- [8] UZUNBOY, S., AVAN, A. N., DEMİRCİ-ÇEKİÇ, S., APAK, R. Indirect colorimetric determination of trace hydrogen peroxide by its oxidizing power on chromium (III) oxide nanoparticles, **Microchemical Journal**, v. 178, p. 107335, 2022, doi: 10.1016/j.microc.2022.107335.
- [9] LIANG, M., YAN, X. Nanozymes: From New Concepts, Mechanisms, and Standards to Applications, **Acc Chem Res**, v. 52, n° 8, p. 2190–2200, 2019, doi: 10.1021/acs.accounts.9b00140.
- [10] VETR, F., MORADI-SHOEILI, Z., ÖZKAR, S. Oxidation of o-phenylenediamine to 2,3-diaminophenazine in the presence of cubic ferrites MFe₂O₄ (M = Mn, Co, Ni, Zn) and the application in colorimetric detection of H₂O₂, **Appl Organomet Chem**, v. 32, p. 4465, set. 2018, doi: 10.1002/aoc.4465.
- [11] MONGA, Y., SHARMA, R. K., FILIP, J., VARMA, R. S., ZBOŘIL, R., GAWANDE, M. B.; Sustainable Synthesis of Nanoscale Zerovalent Iron Particles for Environmental Remediation, **ChemSusChem**, v. 13, p. 3288–3305, 2020. doi: 10.1002/cssc.202000290.
- [12] SELVARAJ, R., PAI, S., VYNAYAGAM, R., VARADAVENKATESAN, T. KUMAR, P. S., DUC, P. A., RANGASAMY, G. A recent update on green synthesized iron and iron oxide

- nanoparticles for environmental applications, **Chemosphere**, v. 308, p. 136331, 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.136331.
- [13] XU, W., YANG, T., LIUC, S., DU, L., CHEN, Q., LI, X., DONG, J., ZHANG, Z., LU, S., GONG, Y., ZHOU, L., FAN, X. Insights into the Synthesis, types and application of iron Nanoparticles: The overlooked significance of environmental effects, **Environment International**, v. 158, p. 10980, 2022. doi: 10.1016/j.envint.2021.106980.
- [14] HUANG, J., LIN, L., SUN, D., CHEN, H., YANG, D., LI, Q. Bio-inspired synthesis of metal nanomaterials and applications, **Chem Soc Rev**, v. 44, p. 6330–6374, 2015, doi: 10.1039/c5cs00133a.
- [15] MONDAL, P., ANWESHAN, A., PURKAIT, M. K. Green synthesis and environmental application of iron-based nanomaterials and nanocomposite: A review, **Chemosphere**, v. 259, p. 127509, 2020, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127509.
- [16] MUZAFAR, W., KANWAL, T., REHMAN, K., PERVEEN, S., JABRI, T., QAMAR, F., FAIZI, S., XA, M. R. Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Melia azedarach* flowers extract and evaluation of their antimicrobial and antioxidant activities, **J Mol Struct**, v. 1269, p. 133824, 2022, doi: 10.1016/j.molstruc.2022.133824.
- [17] PUIATTI, G. A. DE CARVALHO, J. P., DE MATOS, A. T., LOPES, R. P. Green synthesis of Fe⁰ nanoparticles using *Eucalyptus grandis* leaf extract: Characterization and application for dye degradation by a (Photo)Fenton-like process, **J Environ Manage**, v. 311, n^o March, p. 114828, 2022, doi: 10.1016/j.jenvman.2022.114828.
- [18] RASBAND, W. S. Imagej. Bethesda, Maryland, USA, 2017.
- [19] ZAKARIYA, N. A., MAJEED, S., JUSOF, W. H. W. Investigation of antioxidant and antibacterial activity of iron oxide nanoparticles (IONPS) synthesized from the aqueous extract of *Penicillium* spp., **Sensors International**, v. 3, p. 100164, 2022. doi: 10.1016/j.sintl.2022.100164.
- [20] WANG, N., HSU, C., ZHU, L., TSENG, S., HSU, J. P. Influence of metal oxide nanoparticles concentration on their zeta potential, **J Colloid Interface Sci**, vol. 407, p. 22–28, 2013, doi: 10.1016/j.jcis.2013.05.058.
- [21] LOPES, R. P., GUIMARÃES, T., MORO, M. M., GUIASOLA, E., MOYA, S., ASTRUC, D. Magnetic Biochar-Supported Pd Nanoparticles as a Peroxidase-Like Catalyst”, **Waste Biomass Valorization**, v. 13, p. 3629–3637, 2022, doi: 10.1007/s12649-022-01740-x.
- [22] GODDETI, S. M. R., BHAUMIK, M., MAITY, A., RAY, S. S. Removal of Congo red from aqueous solution by adsorption using gum ghatti and acrylamide graft copolymer coated with zero valent iron, **Int J Biol Macromol**, v. 149, p. 21–30, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.099.
- [23] SHI, B., GAO, S., YU, H., ZHANG, L., SONG, C., HUANG, K. Fe⁰ nanoparticles encapsulated in hollow porous nanosphere frameworks for efficient degradation of methyl orange, **React Funct Polym**, v. 153, 2020, doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2020.104614.
- [24] AZOULAY, I., RÉMAZEILLES, C., REFAIT, P. Determination of standard Gibbs free energy of formation of chukanovite and Pourbaix diagrams of iron in carbonated media, **Corros Sci**, v. 58, p. 229–236, 2012, doi: 10.1016/j.corsci.2012.01.033.

- [25] COOK, W. G., OLIVE, R. P. Pourbaix diagrams for the iron-water system extended to high-subcritical and low-supercritical conditions. **Corros Sci**, v. 55, p. 326-331, 2012. doi: 10.1016/j.corsci.2011.10.034.
- [26] WANG, T., JIN, X., CHEN, Z., MEGHARAJ, M., NAIDU, R. Green synthesis of Fe nanoparticles using eucalyptus leaf extracts for treatment of eutrophic wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 466-467, p. 210-213, 2014. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.07.022.
- [27] JI, Y. Ions removal by iron nanoparticles: a study on solid–water interface with zeta potential. **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp**, v. 444, p. 1-8, 2014. doi: 10.1016/j.colsurfa.2013.12.031.
- [28] MORENO-CASTILLA, C., NARANJO, Á., LÓPEZ-RAMÓN, M. V., SILES, E., LÓPEZ-PEÑALVER, J. J., ALMODÓVAR, J. M. R. de. Influence of the hydrodynamic size and ζ potential of manganese ferrite nanozymes as peroxidase-mimicking catalysts at pH 4 in different buffers. **J Catal**, v. 414, p. 179-185, 2022. doi: 10.1016/j.jcat.2022.09.010.
- [29] PABÓN, S. E., BENÍTEZ, R. B., VILLA, R. A. S., CORREDOR, J. A. G. Mercury (II) removal from aqueous solutions by iron nanoparticles synthesized from extract of *Eucalyptus grandis*. **Heliyon**, v. 11, p. 11429, 2022. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e11429.
- [30] OLIVEIRA, L. M. F., SILVA, U. P. da BRAGA, J. P. V., TEIXEIRA, A. V. N. C., RIBON, A. O. B., VAREJÃO, E. V. V., COELHO, E. A. F., FREITAS, C. S. de, TEIXEIRA, R. R., MOREIRA, R. P. L. Green Synthesis, Characterization and Antibacterial and Leishmanicidal Activities of Silver Nanoparticles Obtained from Aqueous Extract of *Eucalyptus grandis*. **J Braz Chem Soc**, v. 34, p. 527-536, 2023. doi: 10.21577/0103-5053.20220126.
- [31] QIANG, C., ZHANG, L., ELE, H., LIU, Y., ZHAO, Y., SHENG, T., LIUC, S., WU, X., FANG, Z. Efficient electrocatalytic water splitting by bimetallic cobalt iron boride nanoparticles with controlled electronic structure. **J Colloid Interface Sci**, v. 604, p. 650-659, 2021. doi: 10.1016/j.jcis.2021.07.024.
- [32] TRUSKEWYCZ, A., SHUKLA, R., BALL, A. S. Iron nanoparticles synthesized using green tea extracts for the fenton-like degradation of concentrated dye mixtures at elevated temperatures. **J Environ Chem Eng**, v. 4, n. 4, p. 4409-4417, 2016. doi: 10.1016/j.jece.2016.10.008.
- [33] WU, Y., CHEN, J. Y., HE, W. M. Surface-enhanced Raman spectroscopy biosensor based on silver nanoparticles@metal-organic frameworks with peroxidase-mimicking activities for ultrasensitive monitoring of blood cholesterol. **Sens Actuators B Chem**, v. 365, 2022. doi: 10.1016/j.snb.2022.131939.
- [34] YOU, S. M., PARK, J. S., LUO, K., JEONG, K. B., ADRA, H. J., KIM, Y. R. Modulation of the peroxidase-like activity of iron oxide nanoparticles by surface functionalization with polysaccharides and its application for the detection of glutathione. **Carbohydr Polym**, v. 267, p. 118164, 2021. doi: 10.1016/j.carbpol.2021.118164.
- [35] UZUNOGLU, D., ÖZER, A. Colorimetric detection of H₂O₂ by peroxidase-like catalyst iron-based nanoparticles synthesized by using hyperaccumulator plant-derived metal solution. **J Environ Chem Eng**, v. 11, p. 109159, 2023. doi: 10.1016/j.jece.2022.109159.

- [36] AL-KARAGOLY, H., RHYAF, A., NAJI, H., ALBUKHATY, S., ALMALKI, F. A., ALYAMANI, A. A., ALBAQAMI, J., ALOUF, S. Green synthesis, characterization, cytotoxicity, and antimicrobial activity of iron oxide nanoparticles using *Nigella sativa* seed extract. **Green Processing and Synthesis**, v. 11, p. 254-265, 2022. doi: 10.1515/gps-2022-0026.
- [37] CARVALHO, S. S. F., CARVALHO, N. M. F. Dye degradation by green heterogeneous Fenton catalysts prepared in presence of *Camellia sinensis*. **J Environ Manage**, v. 187, p. 82-88, 2017. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.11.032.
- [38] DROZD, M., PIETRZYK, M., PARZUCHOWSKI, P. G., MALINOWSKA, E. Pitfalls and capabilities of various hydrogen donors in evaluation of peroxidase-like activity of gold nanoparticles. **Anal Bioanal Chem**, v. 408, p. 8505-8513, 2016. doi: 10.1007/s00216-016-9976-z.
- [39] ZHANG, L., WANG, J., ZHAO, C., ZHOU, F., YAO, C., SONG, C. Ultra-fast colorimetric detection of glutathione by magnetic Fe NPs with peroxidase-like activity. **Sens Actuators B Chem**, v. 361, p. 131750, 2022. doi: 10.1016/j.snb.2022.131750.
- [40] ZHAO, N., SONG, J., ZHAO, L. Metallic deep eutectic solvents-assisted synthesis of Cu, Cl-doped carbon dots as oxidase-like and peroxidase-like nanozyme for colorimetric assay of hydroquinone and H₂O₂. **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp**, v. 648, p. 129390, 2022. doi: 10.1016/j.colsurfa.2022.129390.
- [41] HAMILTON, T. M., DOBIE-GALUSKA, A. A., WIETSTOCK, S. M. The o-Phenylenediamine-Horseradish Peroxidase System: Enzyme Kinetics in the General Chemistry Laboratory. **J Chem Educ**, v. 76, p. 642, 1999. doi: 10.1021/ed076p642.
- [42] WARKHADE, S. K., SINGH, R. P., DAS, R. S., GAIKWAD, G. S., ZODAP, S. P., PRATAP, U. R., MALDHURE, A., WANKHADE, A. V. CoSe₂ nanoflakes: An artificial nanoenzyme with excellent peroxidase like activity. **Inorg Chem Commun**, v. 126, p. 108461, 2021. doi: 10.1016/j.inoche.2021.108461.
- [43] YANG, D., LI, Q., TAMMINA, S. K. GAO, Z., YANG, Y. Cu-CDs/H₂O₂ system with peroxidase-like activities at neutral pH for the co-catalytic oxidation of o-phenylenediamine and inhibition of catalytic activity by Cr(III). **Sens Actuators B Chem**, v. 319, p. 12823, 2020. doi: 10.1016/j.snb.2020.128273.
- [44] MAZHAN, M., ALULA, M. T., MURAPE, D. Development of a cysteine sensor based on the peroxidase-like activity of AgNPs@ Fe₃O₄ core-shell nanostructures. **Anal Chim Acta**, v. 1107, p. 193-202, 2020. doi: 10.1016/j.aca.2020.02.021.
- [45] VETR, F., MORADI-SHOEILI, Z., ÖZKAR, S. Mesoporous MnCo₂O₄ with efficient peroxidase mimetic activity for detection of H₂O₂. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 98, p. 184-191, 2018. doi: 10.1016/j.inoche.2018.10.024.
- [46] TAO, N., XU, Y., WANG, L., YANG, W., LIU, Y.-N. Hollow porous N-doped carbon-based Co₄N with peroxidase-like activity for detection of H₂O₂ under non-physiologic conditions. **Microchemical Journal**, v. 166, p. 106206, 2021. doi: 10.1016/j.microc.2021.106206.
- [47] LIU, Q., CAO, S. QIQI, S. XING, C. W., GAO, W., LU, X. Q., LI, X., YANG, G., YU, S., CHEN, Y. A perylenediimide modified SiO₂@TiO₂ yolk-shell light-responsive nanozyme:

Improved peroxidase-like activity for H₂O₂ and sarcosine sensing. **J Hazard Mater**, v. 436, p. 129321, 2022. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.129321.

[48] YANG, W., WENG, C. Y., LI, X., ELE, H., FEI, J. XU, W., YAN, X., MINGUANTE, Z., ZHANG, H., ZHOU, X. A sensitive colorimetric sensor based on one-pot preparation of h-Fe₃O₄@ppy with high peroxidase-like activity for determination of glutathione and H₂O₂. **Sens Actuators B Chem**, v. 338, p. 129844, 2021. doi: 10.1016/j.snb.2021.129844.

[49] ZHAO, C., SHI, G. M., SHI, F. N., WANG, X. L., LI, S. T. The synthesis and excellent peroxidase-like activity for the colorimetric detection of H₂O₂ of core-shell Fe/FeS₂@C nanoparticles. **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp**, v. 642, 2022. doi: 10.1016/j.colsurfa.2022.128612

[50] XIA, F. SHI, Q., NAN, Z. Improvement of peroxidase-like activity and application for detection of H₂O₂ and dopamine for SDBS-Cu-CuFe₂O₄. **Surfaces and Interfaces**, v. 24, p. 101109, 2021. doi: 10.1016/j.surfin.2021.101109.

[51] CUI, M., ZHOU, J., ZHAO, Y., SONG, Q., Facile synthesis of iridium nanoparticles with superior peroxidase-like activity for colorimetric determination of H₂O₂ and xanthine, **Sens Actuators B Chem**, v. 243, p. 203–210, 2017, doi: 10.1016/j.snb.2016.11.145.

[52] SONG, C., LIU, H., ZHANG, L. WANG, J., ZHAO, C., XU, Q., YAO, C. FeS nanoparticles embedded in 2D carbon nanosheets as novel nanozymes with peroxidase-like activity for colorimetric and fluorescence assay of H₂O₂ and antioxidant capacity, **Sens Actuators B Chem**, v. 353, p. 131131, 2022, doi: 10.1016/j.snb.2021.131131.

[53] SONG, C., DING, W., ZHAO, W., LIU, H., WANG, J., YAO, Y., YAO, C. High peroxidase-like activity realized by facile synthesis of FeS₂ nanoparticles for sensitive colorimetric detection of H₂O₂ and glutathione, **Biosens Bioelectron**, v. 151, p. 111983, 2020, doi: 10.1016/j.bios.2019.111983.

[54] ZHANG, Y., ZHOU, Z., WEN, F., TAN, J., PENG, T., LUO, B., WANG, H., YIN, S. A flower-like MoS₂-decorated MgFe₂O₄ nanocomposite: Mimicking peroxidase and colorimetric detection of H₂O₂ and glucose, **Sens Actuators B Chem**, v. 275, p. 155–162, 2018, doi: 10.1016/j.snb.2018.08.051.

[55] LIN, L., SONG, X. CHEN, Y., RONG, M., ZHAO, T., WANG, Y., JIANG, Y., CHEN, X. Intrinsic peroxidase-like catalytic activity of nitrogen-doped graphene quantum dots and their application in the colorimetric detection of H₂O₂ and glucose, **Anal Chim Acta**, v. 869, p. 89–95, 2015, doi: 10.1016/j.aca.2015.02.024.

[56] DING, Y., YANG, B., LIU, H., LIU, Z., ZHANG, X., ZHENG, X. FePt-Au ternary metallic nanoparticles with the enhanced peroxidase-like activity for ultrafast colorimetric detection of H₂O₂, **Sens Actuators B Chem**, v. 259, p. 775–783, 2018, doi: 10.1016/j.snb.2017.12.115.

[57] S. Chandra *et al.*, Mustard seeds derived fluorescent carbon quantum dots and their peroxidase-like activity for colorimetric detection of H₂O₂ and ascorbic acid in a real sample, **Anal Chim Acta**, vol. 1054, p. 145–156, 2019, doi: 10.1016/j.aca.2018.12.024.

[58] Yao, W. T., Zhu, H. Z., Li, W. G., Yao, H. B., Wu, Y. C., Yu, S. H. Intrinsic Peroxidase Catalytic Activity of Fe₇S₈ Nanowires Templated from [Fe₁₆S₂₀]/Diethylenetriamine Hybrid Nanowires. **Chempluschem**, v. 78, p. 723-727, 2013. doi: 10.1002/cplu.201300075.

- [59] Cao, X., Yang, H., Wei, Q., Yang, Y., Liu, M., Liu, Q., Zhang, X. Fast colorimetric sensing of H₂O₂ and glutathione based on Pt deposited on NiCo layered double hydroxide with double peroxidase-/oxidase-like activity, **Inorg Chem Commun**, v. 123, p. 108331, 2021, doi: 10.1016/j.inoche.2020.108331.
- [60] OLIVEIRA, F. K. DE, SANTOS, L. O., BUFFON, J. G. Mechanism of action, sources, and application of peroxidases, **Food Research International**, v. 143, p. 110266, 2021, doi: 10.1016/j.foodres.2021.110266.
- [61] CHEN, X., DA OH, W., LIM, T. T., Graphene- and CNTs-based carbocatalysts in persulfates activation: Material design and catalytic mechanisms, **Chemical Engineering Journal**, v. 354, p. 941–976, 2018, doi: 10.1016/j.cej.2018.08.049.
- [62] GUO, R., XI, B., GUO, C., LIU, W., LV, N., XU, J. Comprehensive insight into heterogeneous persulfate activation for environmental pollutants degradation: Approaches and mechanism. **Environmental Functional Materials**, v. 1, p. 239-252, set. 2022. doi: 10.1016/j.efmat.2022.12.001.
- [63] JI, Y. FERRONATO, C., SALVADOR, A., YANG, X., CHOVELON, J. M. Degradation of ciprofloxacin and sulfamethoxazole by ferrous-activated persulfate: Implications for remediation of groundwater contaminated by antibiotics. **Science of the Total Environment**, v. 472, p. 800-808, fev. 2014. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.11.008.
- [64] GUAN, J., PENG, J., JIN, X. Synthesis of copper sulfide nanorods as peroxidase mimics for the colorimetric detection of hydrogen peroxide. **Analytical Methods**, v. 7, p. 5454-5461, 2015. DOI: 10.1039/C5AY00895F.

CAPÍTULO 3

Método para determinação de H₂O₂ em leite baseado na reação OPD mediado por FeNPs

3.1. INTRODUÇÃO

A utilização de H₂O₂ na indústria de laticínios está associada a processos de esterilização durante a mistura, transporte e embalagem, e como agente antimicrobiano, sendo a sua utilização proibida em vários países devido aos seus efeitos tóxicos [1]. Além de alterar a composição química e de diminuir os níveis das vitaminas E e A, apresenta riscos para a saúde, particularmente para os consumidores imunocomprometidos [2,3]. Altas concentrações de peróxido de hidrogênio são utilizadas para eliminar os agentes patogênicos do leite [2,4]. No Brasil, esse tipo de adulterante é proibido, e a determinação de H₂O₂ na indústria de laticínios é geralmente feita por métodos qualitativos, como o uso de guaiacol ou óxido de vanádio. Esses métodos são empregados apenas para confirmar a presença ou ausência de peróxido de hidrogênio no leite [5]. Os altos limites de quantificação desses métodos podem conduzir a resultados falso-positivos. Diante do exposto, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos sensíveis para a detecção e quantificação de H₂O₂ no leite.

Vários métodos para a detecção de H₂O₂ no leite são descritos na literatura, incluindo técnicas como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) [4], fluorimetria [6], colorimetria [7,8], amperometria [9,10], Espectroscopia Raman amplificada por superfície [11], quimiluminescência [2], entre outras. Tipicamente, estes métodos são dispendiosos e demorados, exigindo pessoal especializado e técnicas complexas de preparação de amostras [4]. Por outro lado, existem métodos que empregam solventes e reagentes tóxicos.

Métodos alternativos envolvem sensores ópticos e biossensores baseados em técnicas como a fluorimetria e a colorimetria [12,13]. Estes métodos destacam a utilização de nanopartículas com propriedades físicas e químicas interessantes, como as nanopartículas formadas por metais de transição. O ferro tem características interessantes, como a elevada reatividade e a capacidade de doar elétrons. Métodos para a determinação de peróxido envolvem sensores colorimétricos que utilizam miméticos de enzimas, tais como os nanomateriais MoS₂@CoTiO₃, FePt-Au metálicos ternários e nanozimas Mn₃O₄-Au [7,8,11]. Vasconcelos e colaboradores (2023) desenvolveram uma sonda portátil que se baseia na interação entre o H₂O₂ e o luminol [2]. Embora os autores afirmem que esta técnica é mais econômica do que os métodos convencionais, apresenta algumas limitações, tais como a possibilidade de saturação do sistema durante uma utilização prolongada, o que a torna dispendiosa a longo prazo.

Um método interessante para quantificar o H₂O₂ envolve a sua redução através da oxidação de um substrato utilizando um catalisador para produzir uma substância colorida facilmente detectável [14]. Estes catalisadores podem ser enzimas naturais, como as peroxidases, ou nanomateriais sintetizados como miméticos de enzimas [15]. As enzimas naturais revelam-se instáveis a temperaturas elevadas e a mudanças bruscas de pH, além de serem dispendiosas em sua produção, aquisição e purificação [14]. Como resultado, os materiais miméticos de enzimas tornaram-se uma alternativa viável porque são menos dispendiosos e mais estáveis [14]. Estas nanoenzimas podem ser sintetizadas empregando extratos de plantas como agentes redutores e estabilizadores, seguindo os princípios da química verde [16].

A química verde baseia-se no princípio de que a invenção, o desenvolvimento e a aplicação de produtos e processos químicos devem reduzir ou eliminar a utilização e a produção de substâncias perigosas. Uma forma de avaliar se um método analítico se baseia nos princípios da química verde é avaliar os protocolos analíticos numa escala ecológica. A base para o conceito de uma escala analítica ecológica ideal é 100. Para cada um dos parâmetros do procedimento analítico (quantidade de reagentes, perigos, energia e resíduos), são atribuídos pontos de penalização (PP) se este se desviar da análise ecológica ideal. Para valores superiores a 75%, o método apresenta uma análise ecológica excelente, entre 50% e 75% tem uma análise ecológica aceitável e menos de 50% é considerado um método ecológico inadequado [17].

A utilização de extratos de plantas para a produção de nanomateriais tem merecido uma atenção crescente devido à sua segurança, facilidade de manuseio, relação custo-benefício, utilização de solventes não tóxicos, como a água, e por serem ambientalmente amigáveis [18]. Os fitoquímicos presentes nestes extratos, como os flavonóides e os terpenóides, possuem grupos carboxílicos e hidroxílicos que podem reduzir os íons metálicos, criando nanopartículas [16]. Existem muitos estudos que utilizam nanopartículas de ferro sintetizadas a partir de extratos de plantas. A síntese envolve o uso desses extratos na presença de sais precursores de ferro, que são reduzidos, causando uma mudança de cor [16].

As nanoenzimas sintetizadas a partir de extratos de plantas podem ser utilizadas como catalisadores do tipo peroxidase em reações de detecção do peróxido de hidrogénio. A *o*-fenilenodiamina (OPD) é uma opção interessante para a detecção de peróxido de hidrogénio. A oxidação da OPD ocorre na presença de H₂O₂ para formar a 2,3-diaminofenazinano (DAP) (Eq. 2.2 do capítulo 2), de coloração amarela [19,20]. No entanto, esta reação tende a ser lenta e necessita de um catalisador [19], como os nanomateriais miméticos da peroxidase [21]. Até onde

sabemos, são escassas pesquisas que explorem a utilização de nanopartículas de ferro derivadas de um extrato de planta, especificamente folhas de *Eucalyptus grandis*, como um material mimético da peroxidase na oxidação da OPD para detecção de peróxido de hidrogênio no leite. É importante destacar o emprego do extrato vegetal proveniente das folhas de *Eucalyptus grandis* devido à sua abundância e substancial valor comercial no Brasil.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho consistiu no desenvolvimento e validação de um método espectrofotométrico para a detecção e quantificação do peróxido de hidrogênio em leite, baseado na reação de oxidação da *o*-fenilenodiamina, utilizando uma suspensão de nanopartículas de ferro (FeNPs) sintetizadas por um processo verde e aplicadas como catalisador do tipo peroxidase. Além disso, este trabalho visa propor novas vias sintéticas para produzir FeNPs, que podem imitar peroxidases para detectar o peróxido de hidrogênio em matrizes complexas, como o leite, e potencialmente em outros contextos semelhantes. A intenção é utilizar ferramentas analíticas simples como a espectroscopia UV-Vis, que pode ser adaptada para utilização com colorímetros. O objetivo é desenvolver uma metodologia simples com uma preparação de amostras fácil que garanta resultados quantitativos precisos.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Padrões e reagentes

Neste trabalho foram utilizados reagentes grau analítico. O ácido cítrico (99,5%), o hidróxido de sódio (99,67%) e o etanol (96,24%) foram adquiridos da Neon. *o*-Fenilenodiamina (OPD) (98%) foi adquirido da Merck. O ácido clorídrico (37% v/v), o peróxido de hidrogênio (30% v/v) e o ácido acético glacial (99,7%) foram adquiridos da Alfhatec. O sulfato de ferro (II) heptahidratado (99-101%) foi adquirido da Química Moderna. O ácido nítrico (65%) foi adquirido da Synth. O óxido de vanádio V (99,8%) foi adquirido da Vetec. O ácido sulfúrico (96%) foi adquirido da Impex. O guaiacol 1% (v/v) foi adquirido da Cap-Lap.

Todas as soluções aquosas foram preparadas com água do tipo 1 obtida do sistema Milli-Q (Millipore Corporation) e armazenadas sob refrigeração (4 °C).

3.2.2 Síntese e caracterização das nanopartículas de ferro FeNPs

A síntese e grande parte das caracterizações das FeNPs foram descritas e discutidas nos itens 2.2.2 a 2.2.5 e item 2.3. do capítulo 2 [22,23].

As isotérmicas de adsorção/dessorção de nitrogênio foram obtidas da Anton Paar NOVA 600 BET, utilizando um desgaseificador a vácuo a uma temperatura de 80°C durante 5 horas. A área de superfície BET foi determinada utilizando o MultiPoint BET. A distribuição do tamanho e do volume dos poros foi obtida a partir do modelo matemático BJH. A suspensão de nanopartículas foi seca em estufa a 60 °C durante 12 horas.

3.2.3 Obtenção das amostras de leite

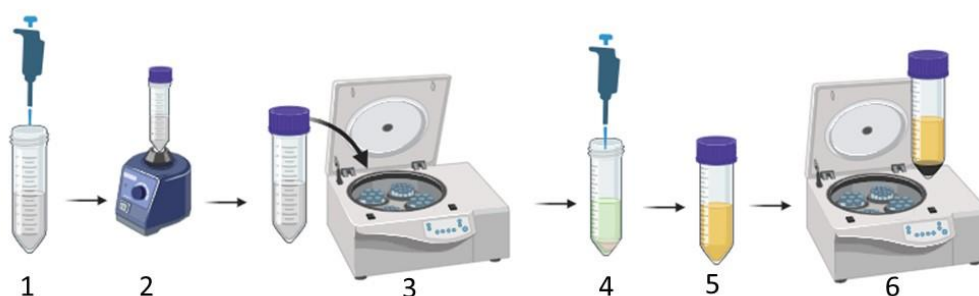
As amostras de leite, incluindo leite UHT (Ultra High Temperature) integral, desnatado e semidesnatado, bem como leite integral pasteurizado tipo A, foram adquiridas em mercados locais do município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Essas amostras foram armazenadas sob refrigeração (~4 °C) e utilizadas em até dois dias após a abertura do frasco.

3.2.4 Método geral de preparação da amostra

Em tubo Falcon de 15 mL, foram adicionados 100 µL de ácido nítrico concentrado a uma amostra de leite UHT integral com peróxido de hidrogênio, resultando em um volume final de 1000 µL. O sistema foi agitado em vórtex durante 30 segundos e depois centrifugado a 4000 rpm durante 5 minutos. Após a centrifugação, foram recolhidos 100 µL do sobrenadante (soro) e

introduzidos na reação de oxidação da *o*-fenilenodiamina. Após 45 minutos, foi centrifugado a 4000 rpm durante 2 minutos para sedimentar as FeNPs. O esquema geral da preparação da amostra é apresentado na Figura 3.1.

Figura 3.1. 1: Adição de ácido nítrico concentrado sob uma solução de leite contendo H_2O_2 , volume final = 1000 μ L; 2: Adição em vórtex durante 2 min; 3: centrifugação a 4000 rpm em 5 min; 4: coleta de 100 μ L do sobrenadante (soro); 5: Aplicação na reação de oxidação da OPD; 6: centrifugação a 4000 rpm em 2 min para sedimentação das FeNPs.



Fonte: Próprio autor.

3.2.5 Avaliação do precipitante das proteínas do leite

Foram avaliados diferentes agentes precipitantes para as proteínas do leite, incluindo (1) ácido clorídrico, (2) ácido nítrico, (3) ácido sulfúrico, (4) ácido acético e (5) ácido tricloroacético. Para cada agente precipitante, foram avaliadas três concentrações diferentes, tais como concentrado (sem diluição), 30% (v/v) e 50% (v/v). As soluções foram preparadas diluindo-se cada uma delas em frascos de 5,00 mL com água tipo 1.

Em um tubo Falcon de 15 mL, uma amostra de leite integral UHT (850 μ L) foi fortificada com 50 μ L de peróxido de hidrogênio (76,27 mmol L^{-1}). Subsequentemente, 100 μ L do agente precipitante foram introduzidos ao sistema, resultando em um volume final de 1000 μ L. A concentração de H_2O_2 resultante foi de 3,81 mmol L^{-1} . O sistema foi agitado em vórtex durante 30 segundos e depois centrifugado a 4000 rpm durante 5 minutos. Após a centrifugação, os tubos foram examinados visualmente para avaliar o melhor desempenho dos agentes precipitantes, avaliando-se o aspecto do sobrenadante. No caso dos ácidos que deram origem a um soro límpido, foram recolhidos 100 μ L do sobrenadante (soro) e introduzidos na reação de oxidação da *o*-fenilenodiamina, com uma concentração final de H_2O_2 de 112,16 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

3.2.6 Quantificação de H_2O_2 no leite utilizando *o*-fenilenodiamina

A reação foi realizada em tubos Falcon de 15 mL, utilizando os parâmetros otimizados no trabalho descrito no Capítulo 2 desta tese, com algumas modificações [22]. Primeiramente, 100 μ L do soro de leite fortificado com H_2O_2 na concentração desejada foram introduzidos em um tubo Falcon de 15 mL. Após isso, foram adicionados 200 μ L de solução de OPD (10,0 mmol L⁻¹), 2,85 mL de solução tampão de citrato em pH 3 (0,100 mol L⁻¹) e 250 μ L de suspensão de FeNPs (4,162 mmol L⁻¹). O volume final atingiu um total de 3,40 mL. A suspensão de FeNPs foi pré-sonicada durante 5 minutos. O sistema foi deixado em repouso durante 45 minutos à temperatura ambiente para o desenvolvimento da cor. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm durante 2 minutos e analisadas por espectrofotometria de absorção molecular na região UV/Vis utilizando um espectrofotômetro Evolution Array UV-Vis da Thermo Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts, EUA).

Um ensaio controle foi realizado para verificar se os componentes do soro poderiam gerar uma cor amarela, levando potencialmente a um resultado falso-positivo. Assim, foram realizados dois ensaios separados: (1) 100 μ L de soro de leite, sem H_2O_2 ; 250 μ L de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹); 200 μ L de OPD (10,0 mmol L⁻¹) e 2,85 mL de tampão citrato (pH 3); (2) contendo todos os componentes mencionados no ensaio (1), com a adição de H_2O_2 a uma concentração de 112 μ mol L⁻¹.

3.2.7 Validação do método

O método foi validado de acordo com o protocolo de validação ICH (*International Council for Harmonisation*) [24]. Os parâmetros avaliados foram a linearidade, a seletividade, a sensibilidade, faixa linear de trabalho, o limite de detecção, o limite de quantificação, a exatidão, a repetibilidade e a precisão intermediária.

A seletividade foi avaliada utilizando o efeito de matriz. Foram construídas duas curvas analíticas, uma em soro de leite proveniente de uma amostra de leite integral UHT e a outra em água de tipo 1. O soro de leite foi obtido utilizando ácido nítrico concentrado como agente precipitante para as proteínas do leite, seguindo o procedimento descrito acima (seção 2.5). Foram preparadas soluções padrão de peróxido de hidrogênio nas concentrações de 8,97 e 112,16 μ mol L⁻¹. Em seguida, 100 μ L de cada uma destas soluções padrão foram adicionados à reação de oxidação da *o*-fenilenodiamina, como descrito anteriormente (seção 2.6). O efeito de matriz foi avaliado comparando as inclinações das duas curvas analíticas mencionadas anteriormente.

Inicialmente, foi utilizado o teste F (Eq. 3.1) para avaliar a homocedasticidade da variância dos dados a um nível de confiança de 95%. A hipótese nula ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$) postula que os dados apresentam homocedasticidade, enquanto ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$) sugere heterocedasticidade nos dados.

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}, \text{ sendo } F \geq 1 \quad (\text{Eq. 3.1})$$

Se as variâncias forem iguais, o teste *t*- Student pode ser aplicado (Eq. 3.2).

$$t = \frac{|S_{\text{pure}} - S_{\text{spike}}|}{\sqrt{(S_{\text{med}}^2)}} \quad (\text{Eq. 3.2})$$

Entende-se que *S* é a raiz quadrada da variância conjunta, calculada de acordo com a Eq. 3.3.

$$S_{\text{med}}^2 = \frac{|S_{\text{pure}} - S_{\text{spike}}|}{(n_1 + n_2 - 2)} \quad (\text{Eq. 3.3})$$

Em que n_1 e n_2 é o número de réplicas utilizando o solvente puro e com a matriz (soro), respectivamente.

A qualidade do modelo de regressão linear foi avaliada pelo coeficiente de determinação (R^2) e pelo gráfico dos resíduos. A curva foi efetuada em triplicata. O limite de detecção (LOD), o limite de quantificação (LOQ) e a resolução analítica (AnR) [25] foram determinados de acordo com as Eqs. 3.4-3.6.

$$\text{LOD} = 3 \cdot \frac{\text{SD}}{s} \quad (\text{Eq. 3.4})$$

$$\text{LOQ} = 10 \cdot \frac{\text{SD}}{s} \quad (\text{Eq. 3.5})$$

$$\text{AnR} = 3 \cdot \frac{\text{SDr}}{s} \quad (\text{Eq. 3.6})$$

Em que SD é o desvio-padrão do branco, s é a sensibilidade analítica e SDr é o desvio-padrão dos resíduos.

Nos ensaios de recuperação, as amostras de leite integral foram fortificadas com peróxido em três concentrações: 44,86, 78,51 e 112,16 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Para tal, 20, 35 e 50 μL , respectivamente, de uma solução estoque (76,27 mmol L^{-1}) foram adicionados ao leite integral em tubos Falcon de 15 mL e agitadas em vórtex durante 30 segundos. Na sequência, 100 μL de ácido nítrico concentrado foram adicionados ao sistema. Foram utilizados diferentes volumes de leite (880, 865 e 850 μL) para obter as concentrações de 44,86, 78,51 e 112,16 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, ajustando-se o volume final em 1000 μL . O sistema foi novamente agitado em vórtex durante 30 segundos e centrifugado a 4000 rpm durante 5 minutos. Finalmente, foram recolhidos 100 μL do sobrenadante (soro) de cada uma destas soluções e aplicados na reação de oxidação da *o*-fenilenodiamina. A recuperação foi determinada de acordo com a Eq. 3.7.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{Concentração Obtida}}{\text{Concentração Teórica}} \times 100 \% \text{ (Eq.3.7)}$$

A precisão do método foi avaliada utilizando os parâmetros de repetibilidade e precisão intermédia. A repetibilidade foi avaliada nos níveis de 44,86, 78,51 e 112,16 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com seis réplicas ($n = 6$) para cada concentração, todas realizadas no mesmo dia. A precisão intermediária foi avaliada aos mesmos níveis em três dias não consecutivos, resultando em 18 réplicas por nível ($n=18$). A precisão pode ser expressa pelo coeficiente de variação de acordo com a Eq. 3.8.

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{(Eq.3.8)}$$

3.2.8 Comparação do método proposto com outros tipos de leite

O método proposto para o leite integral UHT foi aplicado a outros tipos de leite. Foram construídas curvas no soro para leite semidesnatado UHT, leite desnatado UHT e leite integral pasteurizado tipo A, utilizando os mesmos níveis de concentração aplicados na curva do leite integral UHT, variando de 8,97 a 112,16 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Em seguida, foram recolhidos 100 μL de cada uma dessas soluções e utilizados na reação de oxidação da *o*-fenilenodiamina. A partir das curvas resultantes, foram comparados vários parâmetros, incluindo a sensibilidade analítica, o LOD, o LOQ e a AnR.

3.2.9 Comparação do método proposto com métodos convencionais

O método proposto foi comparado com métodos qualitativos que utilizam guaiacol e óxido de vanádio, os mais utilizados na indústria de laticínios brasileira [5]. Para o ensaio com guaiacol, as amostras de leite integral pasteurizado tipo A foram fortificadas com peróxido de hidrogênio no intervalo de $76,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $1,52 \text{ mmol L}^{-1}$. Foi realizada um experimento controle sem a presença de peróxido. Estas amostras foram transferidas para tubos de ensaio e aquecidas a $45 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 5 minutos para ativar as enzimas óxido redutases presentes no leite. Em seguida, foram adicionados 2 mL de uma solução de guaiacol a 1% (v/v) às paredes dos tubos de ensaio. O tubo foi deixado em repouso durante 2 minutos para o desenvolvimento da cor. O aparecimento de um anel laranja indica um resultado positivo para a presença de peróxido no leite, caso contrário, o resultado é considerado negativo.

Para o teste de óxido de vanádio, uma solução de 1% (m/v) de óxido de vanádio (V) foi primeiramente preparada numa solução de 6% (v/v) de ácido sulfúrico. As amostras de leite integral UHT foram fortificadas com peróxido em concentrações de 762,7; 1,91; 3,81; 7,62 e 15,25 mmol L^{-1} com um volume final de 10 mL. Além de um experimento controle sem a presença de peróxido. As amostras foram transferidas para tubos de ensaio, adicionando-se 6 gotas de solução de óxido de vanádio e aguardando a resposta visual. O aparecimento de uma cor avermelhada indica que o resultado é positivo para a presença de peróxido, caso contrário, é considerado um resultado negativo.

3.2.10 Cálculo da eco-escala analítica

Para avaliar se o método analítico desenvolvido se baseia nos princípios da química verde, são considerados os parâmetros estabelecidos nos protocolos AGREE e Analytical Eco-scale. Este protocolo baseia-se no conceito de uma escala analítica ecológica ideal igual a 100%. Para cada um dos parâmetros do procedimento analítico (quantidade de reagentes, riscos, energia e resíduos), são atribuídos pontos de penalização (PP) se estes se desviarem da análise ecológica ideal. A soma dos pontos de penalização para todo o procedimento é incluída no cálculo da escala ecológica, de acordo com a seguinte equação (Eq. 3.9).

$$\text{Eco escala analítica} = 100 - PP \text{ (Eq. 3.9)}$$

Em que **PP** são os pontos de penalização do método.

Para valores superiores a 75%, o método tem uma análise ecológica excelente, entre 50% e 75% tem uma análise ecológica aceitável e menos de 50% é considerado um método ecológico inadequado.

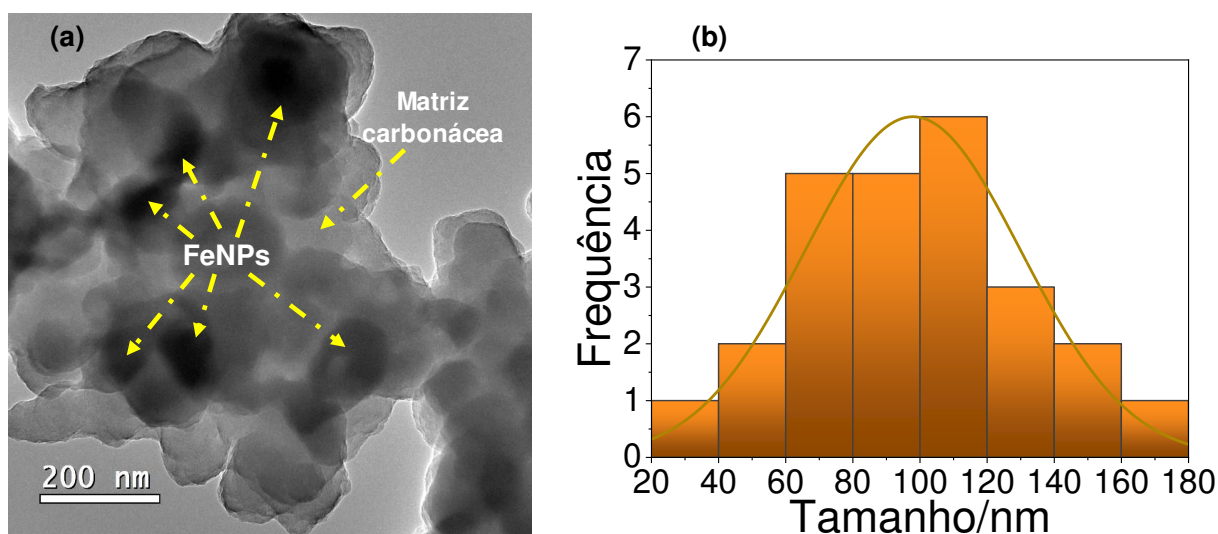
A atribuição dos pontos de penalização está dividida em categorias. A categoria de perigo é avaliada pelo número de pictogramas no rótulo do produto e pelas palavras de sinalização. A palavra “perigo” vale 2 pontos de penalização e a palavra “aviso” vale 1 ponto de penalização, multiplicado pelo valor do número de pictogramas. A categoria de energia baseia-se na técnica analítica aplicada. As técnicas de imunoenaios, titulação, evaporação de solvente em placa quente (<10 min), evaporador de agulha, sonicador e espectrofotômetro UV-Vis por utilizarem menos energia, recebem uma penalização de 0. RMN, GC-MS, LC-MS, difração de raios X e evaporação de solvente em placa quente recebem uma penalização de 1. Também avalia-se o risco ocupacional e os resíduos, sendo estes últimos medidos pelo volume de solventes e amostras utilizados [17].

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As FeNPs foram sintetizadas com sucesso por um processo verde usando o extrato de folhas de *Eucalyptus grandis* como agente redutor e estabilizador. A formação de nanopartículas foi sinalizada por uma mudança de cor de castanho para preto no extrato da planta. Esta alteração serve como um indicador da formação de nanopartículas de ferro de valência zero. O material apresentou uma carga superficial negativa ($\zeta = -35$ mV) para a faixa de pH entre 5 e 11, indicando boa estabilidade. O material também foi caracterizado por Microscopia Eletrônica de Transmissão (Figura 3.2). As FeNPs exibiram um tamanho de $97,8 \pm 33,1$ nm, e estavam uniformemente dispersas sem aglomeração, devido à presença de uma matriz carbonácea. Isto confirma a incorporação de compostos orgânicos do extrato nas nanopartículas.

O tamanho hidrodinâmico do material foi determinado utilizando a técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), obtendo-se um valor aproximado de 200 nm. É importante notar que o tamanho hidrodinâmico difere do tamanho real do material. Essa diferenciação ocorre devido ao fato de que a técnica DLS fornece dados sobre a distribuição do tamanho das partículas em uma solução, abrangendo tanto o tamanho do núcleo quanto de qualquer espécie circundante. A análise de espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS), mostrou que o material é predominantemente composto por carbono (59,6%), seguido de oxigênio (34,2%) e ferro (6,2%). Estes resultados alinham-se com as observações relatadas por Puiatti *et al.* (2022) [20].

Figura 3.2. (a) Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão das FeNPs sintetizadas a partir do extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*; (b) Tamanho das FeNPs obtido pelo software ImageJ.

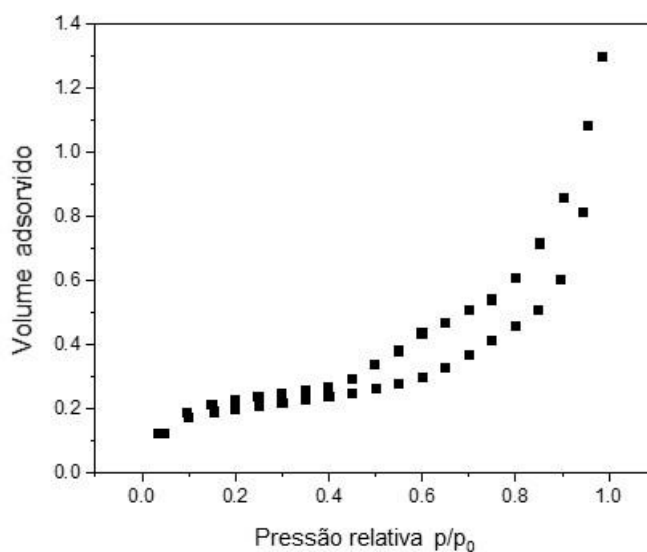


Fonte: Próprio autor.

Em estudo anterior as FeNPs foram submetidas a várias caracterizações. A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) confirmou a presença de grupos funcionais relacionados com compostos polifenólicos, indicando a sua integração às nanopartículas [19]. Além disso, em trabalho anterior do nosso grupo de pesquisa, os constituintes específicos do extrato de *Eucalyptus grandis* foram identificados por Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) [26]. Estes grupos podem contribuir para a redução de Fe^{2+} a Fe^0 . Além disso, foi identificado picos que foram atribuídos a Fe^0 , hematita, goetita e magnetita através da análise de difração de raios X, sugerindo a presença de diferentes estruturas de ferro no material sintetizado [23].

As curvas de adsorção-dessorção de N_2 para as FeNPs são apresentadas na Figura 3.3. A área de superfície específica apresentou um valor de $0,693 \text{ m}^3 \text{ g}^{-1}$. A curva de adsorção-dessorção de N_2 para a biomassa exibe um comportamento semelhante a uma mistura de isotermas do tipo 2 e do tipo 4, característica de materiais mesoporosos [27]. O volume e o diâmetro dos poros medidos foram $0,019 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ e 3,83 nm, respectivamente.

Figura 3.3. Análise BET de nanopartículas de ferro sintetizadas a partir de extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*.

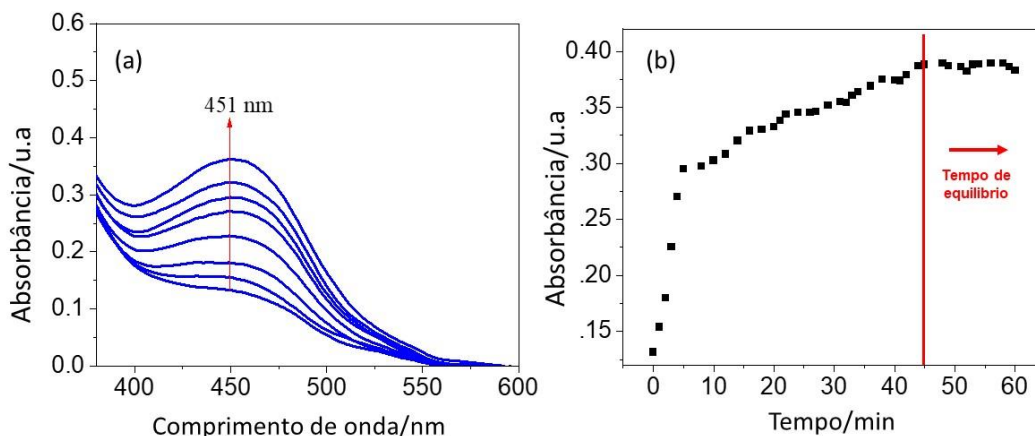


Fonte: Próprio autor.

Além disso, é importante destacar as vantagens do uso de um extrato vegetal em relação à redução química convencional, que utiliza sais málicos, hidrazinas ou para reduzir os íons metálicos que são os precursores das nanopartículas. A redução com extratos de plantas tem a vantagem de utilizar recursos naturais renováveis e de reduzir a utilização de produtos químicos sintéticos nocivos para o ambiente, bem como de evitar a exposição a substâncias tóxicas e perigosas.

O efeito da presença do soro do leite integral UHT na reação de oxidação da OPD foi avaliado utilizando um estudo cinético da reação (Figura 3.4(a)). Pode-se observar um aumento da absorvância em $\lambda = 451$ nm, indicando a formação do produto DAP, de cor amarela [19,20,28]. No entanto, o tempo de equilíbrio da reação foi de ~45 min, como mostra a Figura 3.4(b). No trabalho descrito no Capítulo 2 desta tese, o tempo de equilíbrio da reação em água em condições idênticas foi de apenas ~30 minutos, indicando um efeito de matriz [22]. É importante ressaltar que mesmo com a cinética mais lenta e a complexidade da matriz, o produto é formado com o aparecimento de uma cor amarelada e a banda característica em $\lambda = 451$ nm.

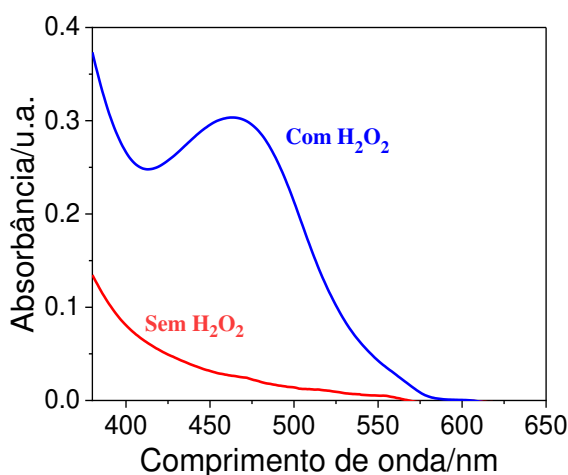
Figura 3.4. (a) Espectros UV/Vis da oxidação da *o*-fenilenodiamina (OPD) mediada por FeNPs em soro de leite integral UHT. (b) Cinética da reação (monitorada a $\lambda = 451$ nm). Condições experimentais: 100 μ L de H_2O_2 (112,16 μ mol L⁻¹), 200 μ L de OPD (10,0 mmol L⁻¹), 2,85 mL de tampão citrato (pH 3), 250 μ L de suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹).



Fonte: Próprio autor.

Um experimento controle também foi realizado para avaliar o desempenho catalítico das FeNPs na ausência de H_2O_2 , e os resultados são apresentados na Fig. 3.5.

Figura 3.5. Espectros UV/Vis da oxidação de *o*-fenilenodiamina (OPD) mediada por FeNPs em soro de leite integral UHT com (112,16 μ mol L⁻¹) e sem H_2O_2 . Condições experimentais: 200 μ L de OPD 10,0 mmol L⁻¹), 2,85 mL de tampão citrato (pH 3), 250 μ L de sus suspensão de FeNPs (4,165 mmol L⁻¹).

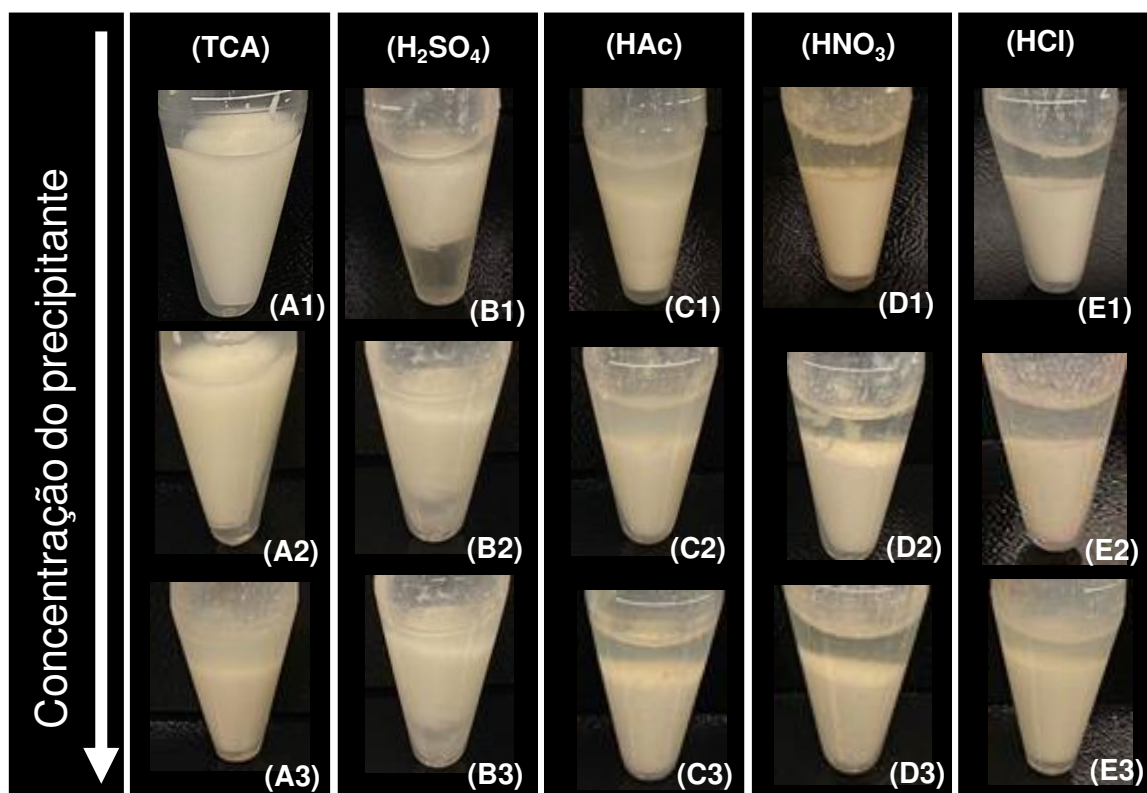


Fonte: Próprio autor.

Pode-se observar que na ausência de H_2O_2 não ocorre formação de DAP, como indicado pela ausência da banda característica em $\lambda = 451$ nm. Essa constatação corrobora com os resultados de Chakraborty *et al.* (2021) [29]. Para entender o mecanismo de oxidação do OPD catalisado pelas FeNPs sintetizadas, foram realizados ensaios envolvendo inibidores de radicais, sendo comprovado que os radicais hidroxila são as espécies mais importantes no processo [22].

O agente precipitante foi avaliado através da inspeção visual do sobrenadante. O ácido clorídrico, o ácido nítrico, o ácido sulfúrico, o ácido acético (HAc) e o ácido tricloroacético (TCA) foram avaliados em diferentes concentrações e os resultados são mostrados na Figura 3.6.

Figura 3.6. Imagens do sobrenadante (soro de leite) resultante da precipitação das proteínas do leite com diferentes ácidos: (A) ácido tricloroacético; (B) ácido sulfúrico; (C) ácido acético; (D) ácido nítrico; (E) ácido clorídrico. Legenda da concentra: (1) 30% (v/v); (2) 50% (v/v); (3) concentrado.



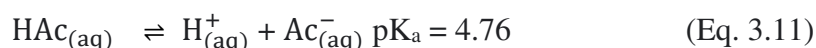
Fonte: Próprio autor.

As soluções de TCA nas concentrações de 30% e 50% (v/v) não foram capazes de precipitar eficazmente as proteínas do leite e, portanto, não foram utilizadas nos ensaios subsequentes (Fig.

3.6 (A1) e (A2). O TCA concentrado precipitou as proteínas, embora não de forma eficaz, resultando em um sobrenadante turvo (Fig. 3.6(A3)), portanto, também não foi selecionado para seguimento do trabalho. Foram efetuadas observações semelhantes para todas as concentrações de ácido sulfúrico (Fig. 3.6 (B1-B3)) e para a solução de HAc a 30% (v/v) (Fig. 3.6 (C1)). Para os ácidos HNO_3 e HCl , observou-se um sobrenadante ligeiramente mais límpido em todas as concentrações avaliadas, sendo que o soro obtido foi utilizado na reação de oxidação da OPD. O aspeto do soro de leite foi considerado porque uma solução turva pode dispersar a luz e interferir na análise UV/Vis.

A diferença dos resultados entre os diferentes ácidos utilizados pode ser atribuída ao pH do sistema. A caseína constitui 80% da fração proteica do leite e sofre uma desintegração das suas micelas, coagulando à medida que o pH diminui [30]. Assim, quanto mais ácido for o meio, mais eficaz ocorre o processo de coagulação. Neste cenário, os ácidos que precipitaram mais eficazmente a caseína foram o ácido clorídrico concentrado e o ácido nítrico. Este fato pode ser atribuído à rápida diminuição do pH do meio.

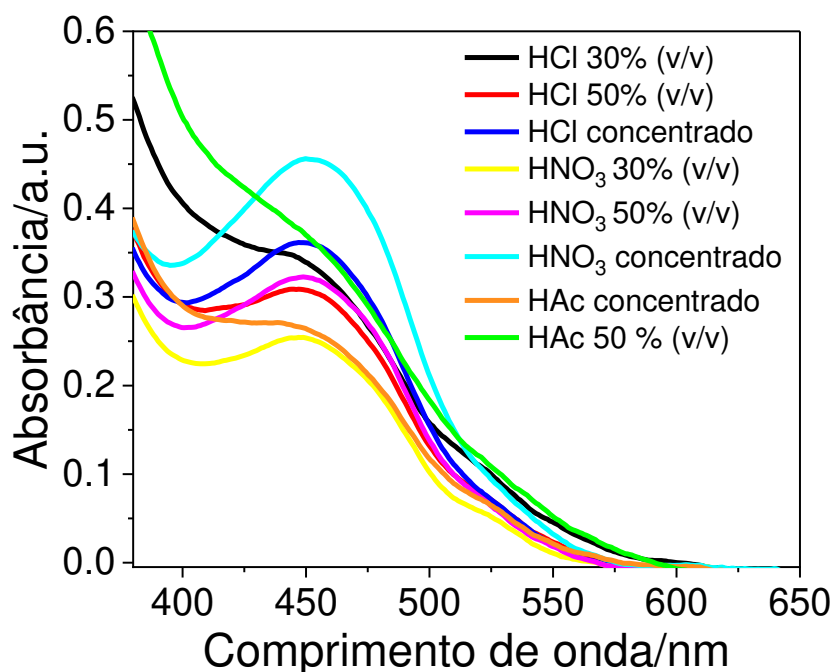
O pH do leite UHT integral era de 6,21, e foi reduzido para 0,36-0,94 e 0,21-0,85 com a adição de HCl e HNO_3 concentrados, mesmo quando se utilizou as concentrações de 50 e 30% (v/v). O ácido nítrico e o ácido clorídrico são classificados como ácidos muito fortes. O TCA, apesar de ser um ácido forte, não foi capaz de precipitar as proteínas do leite ou precipitou muito pouco. Neste sistema, o pH após a adição de TCA variou de 5,29-6,43. Os ácidos sulfúrico e acético diminuíram o pH do leite para 1,95-2,93 e 3,07-3,63, respetivamente. O ácido sulfúrico, na presença do íon bissulfato em equilíbrio ($pK_{a2} = 1,98$), e o ácido acético ($pK_a = 4,76$) foram capazes de precipitar muito pouca a caseína. Este fato pode estar relacionado com a sua força, uma vez que o ácido sulfúrico, embora seja um ácido forte, tem um equilíbrio dos íons bissulfato em solução (Eq. 3.10). O ácido acético é classificado como um ácido fraco, sofrendo ionização parcial como representado na reação do processo de equilíbrio na Eq. 3.11.



Os agentes precipitantes HAc, HNO_3 e HCl foram utilizados na etapa seguinte. O soro do leite foi recolhido e submetido à reação de oxidação de OPD, monitorando o comprimento de onda em 451 nm devido à coloração amarela do DAP. Os resultados são apresentados na Figura 3.7. Observam-se bandas bem definidas para os ácidos clorídrico e nítrico (Fig. 3.7) em comparação

com o ácido acético. Pode-se observar também que o ácido nítrico concentrado apresentou uma banda de maior intensidade e mais definida comparada às soluções diluídas, 30% e 50% (v/v), e em relação aos ácidos clorídrico e acético em todas as concentrações. Portanto, o ácido nítrico concentrado foi então selecionado como agente precipitante para os demais ensaios.

Figura 3.7. Espectros UV/Vis de oxidação da *o*-fenilenodiamina (OPD) mediada por FeNPs em soro de leite integral UHT com diferentes agentes precipitantes. Condições experimentais: 100 μ L de soro contendo H_2O_2 , 200 μ L de OPD ($10,0 \text{ mmol L}^{-1}$), 2,85 mL de ta tampão citrato pH 3, 250 μ L de suspensão de FeNPs ($4,165 \text{ mmol L}^{-1}$).



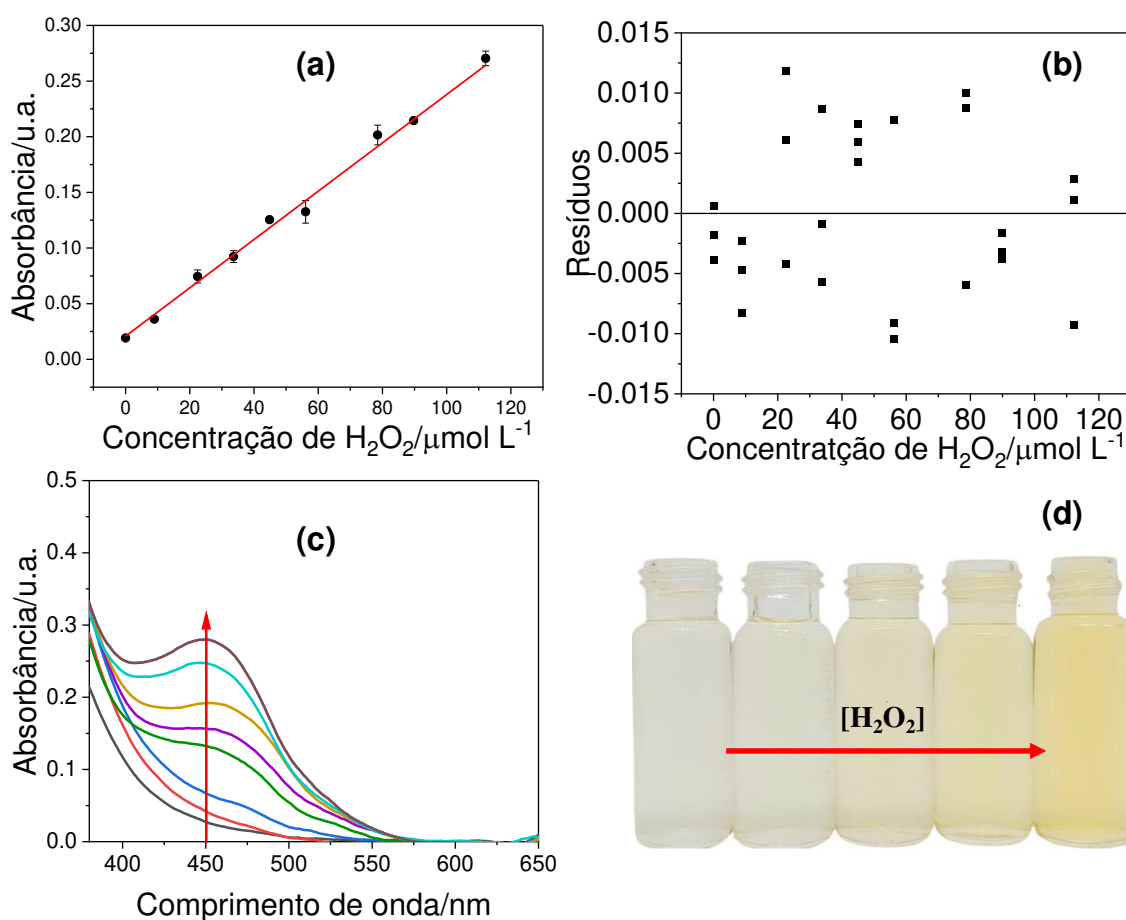
Fonte: Próprio autor.

3.3.1. Validação do método de determinação do H_2O_2

O método foi validado para o leite integral UHT (3,5% de gordura). O critério usado baseou-se no fato desta matriz apresentar um teor de gordura mais elevado comparado ao leite desnatado (0,5% de gordura) e o semidesnatado (1,5% - 1,8% de gordura). A linearidade do método foi avaliada variando-se a concentração de peróxido de $8,97$ a $112,16 \mu\text{mol L}^{-1}$ no soro de leite. A curva analítica é mostrada na Figura 3.8(A). Pode-se observar um bom ajuste do modelo de regressão linear aos dados experimentais, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9969. Os resíduos foram aleatoriamente distribuídos no gráfico dos resíduos em torno de zero (Figura

3.8(B)). Na Figura 3.8(C) é mostrado o aumento da absorbância com o aumento da concentração de peróxido de hidrogênio, sendo o aumento da cor das soluções mostrado na Figura 3.8(D). Foram calculados o limite de detecção (LoD), o limite de quantificação (LoQ) e a resolução analítica (Tabela 3.1).

Figura 3.8. (a) Curva analítica (de 8,97 a 112,16 $\mu\text{mol L}^{-1}$); (b) Gráfico de resíduos da curva analítica; (c) Espectros UV/Vis e (d) realce do aumento de cor com a concentração de H_2O_2 no soro de leite integral UHT obtido a partir da oxidação da *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs.

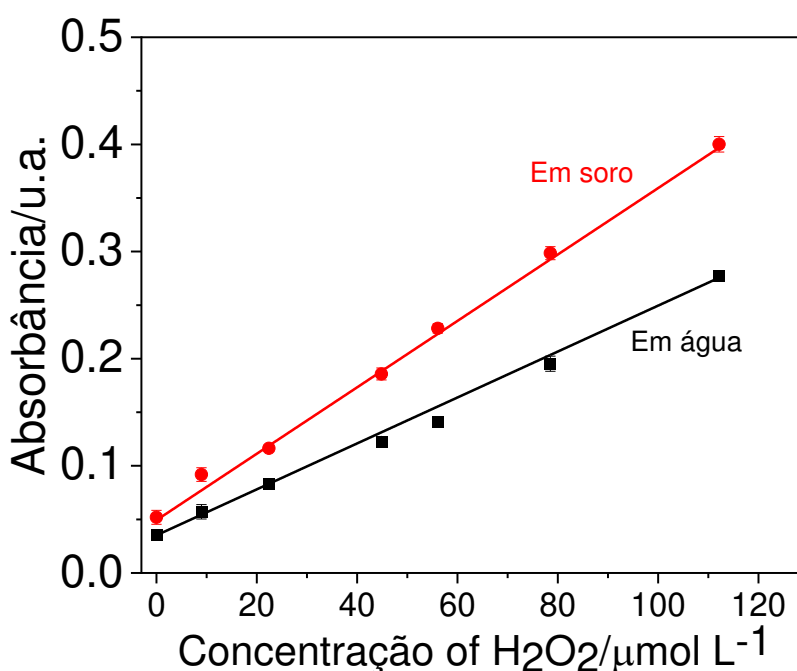


Fonte: Próprio autor.

O efeito de matriz (seletividade) foi avaliado a partir das inclinações das curvas analíticas em água tipo 1 e no soro de leite (Fig. 3.9). Em primeiro lugar, foi efetuado o teste F de Snedecor com um nível de confiança de 95% (Eq. 3.1) para analisar a variância das inclinações das curvas analíticas. O valor F calculado ($F = 0,645$) foi inferior ao valor F tabelado ($F = 2,12$), indicando que não existe diferença estatística entre as variâncias das curvas do soro de leite e da água. O teste t (nível de confiança de 95%) foi utilizado para comparar as inclinações das duas curvas (Eq. 3.2 e

Eq. 3.3). O valor t calculado ($t = 18,45$) excedeu o valor t tabelado ($t = 1,72$), indicando um efeito de matriz para $n_1 = n_2 = 19$ (graus de liberdade). Foram calculados os limites de detecção (LoD) quantificação (LoQ) e a resolução analítica, cujos resultados são mostrados na Tabela 3.1.

Figura 3.9. Avaliação do efeito de matriz para a determinação de H_2O_2 pelo método de oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas por um processo verde utilizando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 3.1. Parâmetros de validação para a quantificação de H_2O_2 em soro de leite integral UHT obtido a partir da oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs.

Curva Analítica	LoD ^a / $\mu\text{mol L}^{-1}$	LoQ ^b / $\mu\text{mol L}^{-1}$	AnR ^c / $\mu\text{mol L}^{-1}$
$A = (0,02252 \pm 0,00317 + (0,0022 \pm 0,000045) \times c(H_2O_2))$	2,96	9,89	0,06

^aLoD: limite de detecção; ^bLoQ: limite de quantificação; ^cAnR: resolução analítica.

Os parâmetros obtidos neste trabalho foram comparáveis aos da literatura. Ding *et al.* desenvolveram um sensor colorimétrico de H_2O_2 baseado na reação de oxidação da 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina (TMB), utilizando nanopartículas trimetálicas de FePt-Au como catalisadores da reação. O limite de detecção obtido por estes autores foi de $12,33 \mu\text{mol L}^{-1}$ [8]. Stanković *et al.*

desenvolveram um sensor eletroquímico baseado em nanofitas de grafeno revestidas com nanopartículas de prata para a detecção de H₂O₂ no leite, obtendo um limite de detecção de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ [10]. Outro ponto a salientar é que, até onde temos conhecimento, esta é a primeira vez que uma suspensão de FeNPs produzida por um extrato de planta foi utilizada em uma reação com comportamento mimético da peroxidase para detectar e quantificar H₂O₂ em amostras de leite.

A exatidão do método foi determinada por meio de ensaios de recuperação e os resultados são mostrados na Tabela 3.2. Foram obtidos resultados satisfatórios com valores entre 80,1 e 106,9% para todos os níveis de concentração avaliados. Estes resultados estão em conformidade com os protocolos de validação da ICH [24]. A precisão do método foi avaliada por meio de ensaios de repetibilidade e de precisão intermediária. Os valores do coeficiente de variação (CV) também são apresentados na Tabela 3.2. Todos os resultados foram inferiores a 11%, que é o valor recomendado segundo a ICH [24]. Com base nos resultados obtidos, pode concluir-se que o método é eficaz para a determinação quantitativa de H₂O₂ em amostras de leite integral UHT.

Tabela 3.2. Recuperação (%), repetibilidade (%) e precisão intermediária (%) do método de quantificação de H₂O₂ em soro de leite integral (UHT) obtido a partir da oxidação de o-fenilenodiamina mediada por FeNPs.

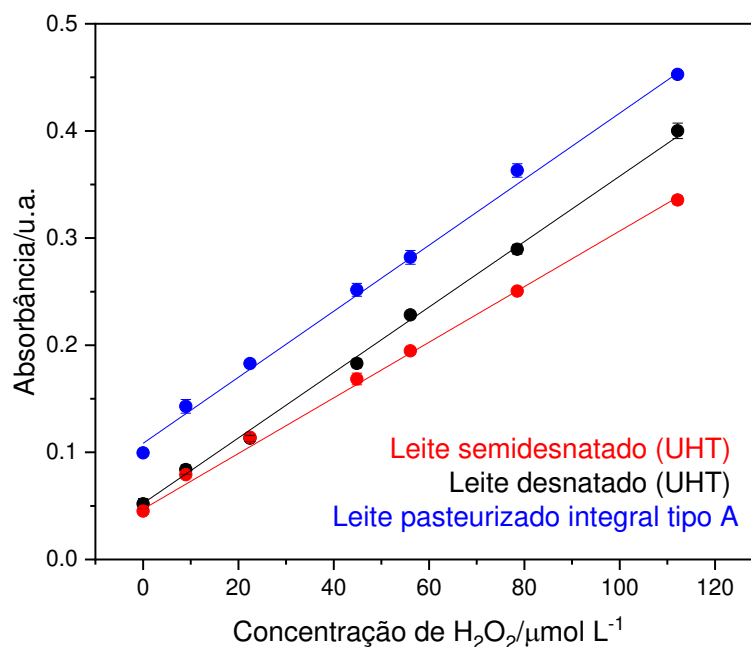
Níveis de concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Rec*. Intradia (%), n = 6 (CV**%)	Rec*. Interdia(%), n = 18 (CV**%)
44,86	87,8 (3.8)	85,1 (4.2)
78,51	94,0 (3.9)	86,5 (7.5)
112,1	102,8 (2.8)	96,0 (6.1)

*Rec: Recuperação; **CV= Coeficiente de variação. Protocolo de validação ICH [24].

Uma vez que foi observado um efeito de matriz, foram avaliados diferentes tipos de leite com o método proposto. Assim, foram construídas curvas em soro de leite UHT smidesnatado, leite UHT desnatado e leite pasteurizado integral tipo A, sendo este último o mais próximo do leite fresco (Figura 3.10). Pode-se observar que os ajustes do modelo linear foram satisfatórios, com R² superior a 0,99, independentemente do tipo de leite utilizado (Tabela 3.3).

Além disso, os parâmetros LD, LOQ e AnR foram muito próximos dos resultados obtidos para leite integral UHT. É importante notar que, apesar da complexidade da composição da matriz e da diferença no teor de gordura, o método provou ser eficaz para a análise de peróxido em todos os tipos de leite comercializados, podendo também ser aplicado ao leite fresco.

Figura 3.10. Curvas analíticas em diferentes tipos de leite para determinação de H_2O_2 obtido pelo método de oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs (nanopartículas de ferro) sintetizadas por um processo verde usando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 3.3. Parâmetros analíticos para diferentes tipos de leite pelo método de determinação de H_2O_2 envolvendo oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs.

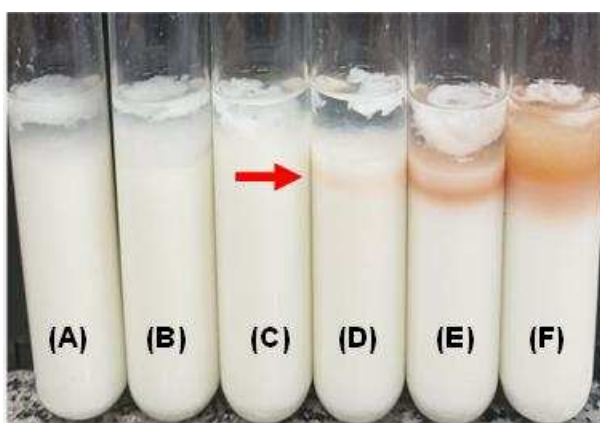
Matriz	R^2	LoD	LoQ	AnR
		($\mu\text{mol L}^{-1}$)	($\mu\text{mol L}^{-1}$)	($\mu\text{mol L}^{-1}$)
Leite UHT desnatado	0,9934	3,30	11,0	0,055
Leite UHT semidestornado	0,9950	2,87	9,59	0,048
Leite pasteurizado tipo A	0,9947	2,94	9,81	0,049

3.3.2. Comparação do método proposto com os métodos convencionais

O método de determinação de H_2O_2 envolvendo oxidação de *o*-fenilenodiamina mediada por FeNPs foi comparado com o método do guaiacol, cujos resultados são mostrados na Figura 3.11. Um resultado positivo de peróxido é indicado pelo aparecimento de um anel laranja. Várias concentrações de H_2O_2 foram avaliadas, podendo-se observar que o anel laranja se torna visível a partir da concentração de $305,1 \mu\text{mol L}^{-1}$. O método quantitativo que utiliza OPD demonstrou um

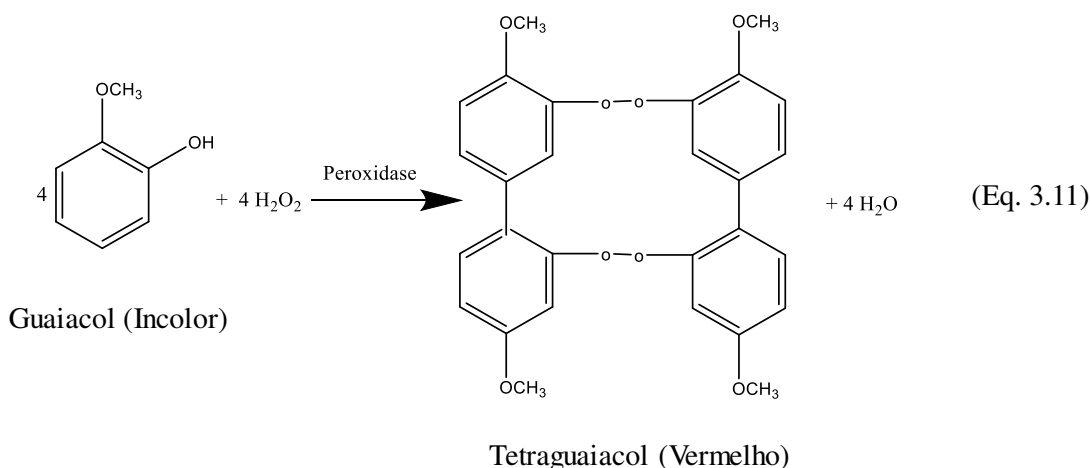
limite de quantificação significativamente mais baixo ($LoQ = 9,89 \mu\text{mol L}^{-1}$), evidenciando a sua elevada sensibilidade. Além disso, o método OPD é aplicável a vários tipos de leite, como o leite cru, leite tipo A e leite UHT, enquanto o método guaiacol é aplicável ao leite integral cru ou pasteurizado tipo A. Outra desvantagem do método do guaiacol é a sua utilização qualitativa típica.

Figura 3.11. Quantificação do peróxido utilizando o método do guaiacol (1% (v/v)). (A) Amostra de controlo (sem peróxido); amostras de leite contendo H_2O_2 : (B) $76,3 \mu\text{mol L}^{-1}$; (C) $152,5 \mu\text{mol L}^{-1}$; (D) $305,1 \mu\text{mol L}^{-1}$; (E) $762,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ e (F) $1,52 \text{ mmol L}^{-1}$.



Fonte: Próprio autor.

É evidente que o método do guaiacol, comumente utilizado na indústria de laticínios, apresenta limitação em detectar baixas concentrações de H_2O_2 . O método pode ser aplicado para análise do leite integral pasteurizado tipo A devido à presença da enzima peroxidase em sua composição. Essa enzima é fundamental para a oxidação do guaiacol (composto incolor) pelo peróxido de hidrogênio, resultando na formação do tetraguaiacol, um composto avermelhado (Eq. 3.11) [31,32].



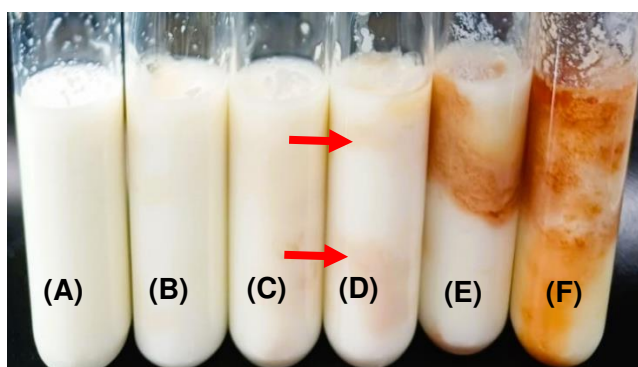
A peroxidase é um componente vital do sistema antimicrobiano do leite e está presente tanto no leite fresco quanto no pasteurizado, permanecendo ativa a menos que seja exposta a temperaturas superiores a $80\text{ }^\circ\text{C}$ por mais de 5 segundos. O leite UHT é submetido a estas condições de temperatura, levando à inativação desta enzima.

O método do óxido de vanádio (V) também foi comparado com o método OPD. Este método é aplicável tanto ao leite UHT como ao leite pasteurizado tipo A. Em meio ácido, a reação entre o óxido de vanádio (V) e o peróxido de hidrogênio produz o ácido ortoperoxivanádico, que apresenta uma cor rosada ou avermelhada, de acordo com a Eq. 3.12.



A eficácia do método foi avaliada utilizando amostras de leite integral UHT fortificadas com peróxido em várias concentrações, como mostra a Figura 3.12. Nota-se que os traços de cor avermelhada apareceram apenas na concentração de $3,81\text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 , sugerindo que o método do óxido de vanádio é menos sensível em comparação ao método proposto neste trabalho ($LOQ = 9,89\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$). Além disso, o método baseado no óxido de vanádio (V) é considerado um método pouco seguro devido à mutagênese do óxido de vanádio.

Figura 3.12. Quantificação do peróxido utilizando o método do óxido de vanádio (1% (m/v)). (A) amostra controle (sem peróxido); amostras de leite contendo H_2O_2 B) $762,7\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$; (C) $1,91\text{ mmol L}^{-1}$; (D) $3,81\text{ mmol L}^{-1}$; (E) $7,62\text{ mmol L}^{-1}$ e (F) $15,25\text{ mmol L}^{-1}$



Fonte: Próprio autor.

O método desenvolvido nesse trabalho foi comparado com resultados encontrados na literatura, conforme mostrado na Tabela 3.4. Ivanova e colaboradores (2019) utilizaram a cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação de H_2O_2 , alcançando um LoD de $8,23$

$\mu\text{mol L}^{-1}$ [4]. No entanto, esta técnica caracteriza-se pelo seu elevado custo, exigindo equipamento dispendioso e analistas bem treinados. Além disso, a preparação da amostra implica em um maior número de etapas e um tempo de processamento mais longo em comparação ao método proposto neste trabalho. Ding *et al.* (2018), Peng *et al.* (2022) e Zhang *et al.* (2024) também utilizaram nanomateriais que imitam a peroxidase para a determinação de peróxido de hidrogênio no leite (Tabela 3.4) [8,33,34]. Nesses trabalhos, as nanoenzimas foram sintetizadas por meio de processos convencionais de coprecipitação e síntese hidrotérmica. Ding e colaboradores (2018) empregaram solventes como hexano e tolueno, que são considerados tóxicos e, conseqüentemente, não estão de acordo com as práticas sustentáveis [8]. Em contrapartida o método de síntese das FeNPs proposto nesse trabalho, utiliza um extrato de planta, demonstrando o compromisso com os princípios da química verde. Outro aspecto notável é a elevada reatividade do ferro, que lhe permite doar prontamente pares de elétrons, e a sua relação custo-eficácia em comparação com metais como o ouro, a prata e a platina.

No trabalho realizado por Peng *et al.* (2022), as amostras de leite foram submetidas a um processo de preparo de amostra mais elaborado. Esse processo incluiu centrifugação por três vezes durante 15 minutos cada, filtração através de um filtro de $0,22 \mu\text{m}$, seguida de diluição de 10 vezes em tampão fosfato [33]. É importante destacar que existem trabalhos na literatura com limites de detecção mais baixos do que o encontrado neste trabalho ($\text{LOD} = 2,96 \mu\text{mol L}^{-1}$). Por exemplo, George *et al.* (2023) e Sidiqqui *et al.* (2021) reportaram limites de detecção de $0,062$ e $0,060 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. No entanto, os nanocatalisadores utilizados nestes estudos contêm prata e ouro, o que aumenta significativamente o seu custo em comparação com as nanopartículas de ferro sintetizadas através do extrato de plantas [11,35].

Karimi *et al.* (2018) desenvolveram um método que utiliza um sensor de electroquimioluminescência baseado num nanocompósito de polipirrol-óxido de cério, que atingiu um limite de detecção de $1,2 \times 10^{-10} \mu\text{mol L}^{-1}$ [3]. Entretanto, os sensores apresentaram uma rápida saturação do sistema e um curto período de vida. De acordo com os autores, o sensor teve uma vida útil de apenas 3 ciclos.

De acordo com o Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional dos EUA, o limite máximo permitido de H₂O₂ para humanos é de 1 ppm ($29 \mu\text{mol L}^{-1}$), enquanto a concentração de 75 ppm ($2,2 \text{mmol L}^{-1}$) pode causar efeitos adversos à saúde [11,33]. Além disso, a US Food and Drug Administration especifica que o limite máximo permitido de H₂O₂ no leite para a produção de queijos não pode exceder 16mmol L^{-1} . Portanto, o método proposto neste trabalho é adequado

para a detecção e quantificação de peróxido no leite, capaz de detectar valores abaixo dos limites máximos estabelecidos pelas diretrizes de saúde e da indústria de laticínios dos EUA. Esses parâmetros foram utilizados como referência, uma vez que não existe legislação vigente no Brasil ou em outros países.

Tabela 3.4 Comparação de vários métodos para detecção e quantificação de peróxido em leite.

Método	Técnica	Volume de amostra	Preparo de amostra	Faixa linear de trabalho ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	RSD (%)	Referências
reação de o-fenilenodiamina mediada por FeNPs ^a	Espectrofotometria UV-Vis	Um volume de 100 μL de soro de leite para ser utilizado na reação de oxidação OPD com um volume final de 3,4 mL	Adicionar 100 μL de ácido nítrico concentrado para obter o soro e centrifugar durante 5 minutos a 4000 rpm.	9.89 -112.6	2.96	9.89	85.1 -102.8%	\leq of 7.5%.	Este trabalho
Sensor de electroquimioluminescência com PPy-DBS-CeO ₂ ^g com sensor de platina	Electroquimiolumin escência da reação do luminol	Foi adicionado um volume de 2,5 ml a 47,5 ml de solução tampão fosfato	5 mL da amostra de leite foram adicionados a 5 mL de uma solução de H ₂ SO ₄ 3 mol ⁻¹ e centrifugados durante 10 min. A mistura foi então filtrada utilizando um filtro de membrana microporosa de 0,45 μm . As amostras de leite foram diluídas por um fator de 20	5×10^{-10} – 50×10^{-6}	1.2×10^{-10}	-	-8	< 4%)	[3]
Oxidação de trifenilfosfina e quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência .	Cromatografia líquida – DAD	20 μL de amostra injetada, utilizando uma fase móvel de água e acetonitrila	Foram adicionados à mistura 50 mg de trifenilfosfina a 10 mL de acetonitrila + 10 mL de leite contendo peróxido de hidrogénio e 10 mL de água deionizada. A solução resultante foi misturada durante 40 minutos com um agitador magnético, centrifugada durante 5 minutos a uma velocidade de 5000 rpm e foram retirados 2 mL e filtrados com um filtro de PTFE de 0,45 μm , sendo depois colocados num frasco para cromatografia.	27.6 - 1437.0	8.23	27.6	97.8%- 103.8%	< 1.6 %)	[4]
Sensor colorimétrico baseado na formação de um complexo azul entre flavonóides e albumina, que é monitorado por um dispositivo de teste em papel ou por um sistema de teste miniaturizado impresso em 3D.	Fluorescência	-	Sem preparo de amostra	0 – 50	3.50	--	99.7% a 111.3%	-	[6]
Oxidação de 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina mediada por nanopartículas metálicas ternárias de FePt-Au	Espectrofotometria UV-Vis.	Um volume de 200 μL de leite a ser utilizado na reação de oxidação do TMB com um volume final de 2 mL	As amostras foram pré-tratadas	20 – 700	12.33	41.13	99.8% - 103.5%	< 0.12 %	[8]
Análise por injeção com detecção amperométrica num elétrodo de	Amperometria	Foram adicionados 100 μL de leite diluído ao sensor	Diluição de 10 vezes	100 – 4000	10	-	85.0 – 107.0	1.6 %	[9]

Capítulo 3. Método para determinação de H_2O_2 em leite baseada na reação OPD mediada por FeNPs

compósito de grafite modificado com azul da Prússia									
Sensor amperométrico não enzimático baseado num eletrodo de carbono serigrafado modificado com nanocompósitos de AgNp@GNR ^b	Amperometria	-	Sem preparo de amostra	50 – 5000	20.0	-	96.0 a 104.0%	4.5 %	[10]
Oxidação de 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina mediada por nanozimas de Mn ₃ O ₄ -Au como uma dispersão Raman melhorada por superfície sensível	dispersão Raman com reforço de superfície	70 µL de H ₂ O ₂ no sistema	O leite fresco foi diluído a 5% em volume com água	1 - 6	0.60	-	-	1.23%	[11]
Sensor colorimétrico utilizando um dispositivo analítico microfluídico em papel monitorado por detecção de imagem digital.	Detecção de imagem digital	0.8 µL de H ₂ O ₂ no sistema	Sem preparo de amostra	1250.0 - 15000.0	354	118	99.3-108.8	< 4.8 %	[31]
Sensor eletroquímico emergente baseado em nanopartículas bimetalicas de AuPt monitorado por potenciostato.	Amperometria	-	Sem preparo de amostra	2.5 – 5000	2.5	-	96.0-104.0%	4.5%	[37]
Oxidação de 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina mediada por nanopartículas de Co ₃ (PO ₄) ₂ ·8H ₂ O	Espectrofotometria UV-Vis	Um volume de 100 µL de leite para ser utilizado na reação de oxidação do TMB com um volume final de 400 µL	A amostra de leite foi tratada por centrifugação durante 15 minutos e repetida três vezes para remover substâncias orgânicas. Em seguida, o sobrenadante da solução de leite foi filtrado três vezes através de um filtro de membrana de 0,22 µm e o filtrado foi diluído 10 vezes com 10,0 mM de tampão fosfato antes da análise	15 – 100	4.38	-	90.2%–106.2%	< 6.2 %	[36]
Sensor colorimétrico baseado na oxidação do ferro (II) em ferro (III), formando posteriormente um complexo vermelho ferro (III)-tiocianato, que é monitorado por imagem digital	Detecção por imagem digital	Um volume de 100 µL de leite para ser utilizado na reação de oxidação com um volume final de 350 µL	Além do leite contendo peróxido e da solução de tiocianato, foram adicionados 100 µL de HCl 2,0 mol L ⁻¹ , mantendo o pH do meio ácido e provocando a precipitação das proteínas	73.5 - 734.9	49.9	-	84.0 – 108.0 %	< 6.8 %	[38]
Eléctrodo de plástico de grafite/PVC decorado com nanoestruturas de NiO para detecção amperométrica não enzimática.	Voltametria cíclica	Foi adicionado 1 mL de leite fresco à célula eletroquímica	Sem preparo de amostra	0 – 4000	5.0	-	95.0 – 111.0 %	< 8.0 %	[39]
Oxidação de 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina mediada por PA/Cu ₃ (PO ₄) ₂ ·3H ₂ O ^c	Amperometria	Um volume de 100 µL de leite para ser utilizado na reação de oxidação do TMB com um volume final de 200 µL	3,0 mL de amostra de leite foram primeiramente tratadas por centrifugação durante 15 minutos para remover as substâncias orgânicas, tais como proteínas e gorduras, e foram repetidos três vezes. Finalmente, o sobrenadante foi diluído 10 vezes com tampão fosfato 10,0 mmol L ⁻¹ antes de ser utilizado	100 – 5000	79.0	-	92.4%-101.7%	< 14.7 %	[34]

Oxidação de 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina mediada por Au@MIL-53(Fe) ^d e Ag@MIL-53(Fe) ^e	Espectrometria UV-Vis	O volume de leite foi variado com um volume final de 2 mL de solução também contendo TMB	As amostras de leite foram devidamente diluídas (50 μ L em 50 mL) utilizando um tampão adequado (pH-4,0)	1 - 10	0.062	-	1.93–3.81%	[35]
---	-----------------------	--	--	--------	-------	---	------------	------

^a FeNPs: nanopartículas de ferro; ^b AgNp@GNR: nanoribras de grafeno reforçadas com nanopartículas de prata; ^c PA/Cu₃(PO₄)₂·3H₂O: Cu₃(PO₄)₂·3H₂O modificado com ácido fítico hidrofílico. ^d Au@MIL-53(Fe): Au dentro de MIL-53(Fe) e ^e Ag@MIL-53(Fe): nanopartículas de Ag dentro de MIL-53(Fe); ^f PPy-DBS-CeO₂: nanocompósito de polipirrol-dodesilbenzeno sulfato-óxido de cério.

3.4. Conclusão

As nanopartículas de ferro foram sintetizadas rapidamente utilizando o extrato de folhas de *Eucalyptus grandis* como agente redutor e estabilizador, e a sua produção foi confirmada por técnicas de caracterização. As FeNPs foram então utilizadas como catalisadores do tipo peroxidase para a reação de oxidação da *o*-fenilenodiamina para detectar e quantificar H₂O₂ em amostras de leite. Foi desenvolvido e validado um método espectrofotométrico acessível e eficaz para a quantificação de H₂O₂ no leite, uma matriz muito complexa, utilizando um baixo volume de amostra (990 μ L de leite) e um baixo volume de reagentes (100 μ L de ácido nítrico, 250 μ L de suspensão de FeNPs e 200 μ L de OPD). A preparação da amostra é bastante simples e os limites de detecção e quantificação obtidos foram baixos e comparáveis aos encontrados na literatura. Além disso, a utilização de ferro, em comparação com outros metais, é interessante porque é um metal mais barato e fácil de encontrar. O método desenvolvido foi validado, seguindo os parâmetros estabelecidos pelos padrões de exatidão entre 85,1 e 102,8%, uma repetibilidade \leq de 3,9% e uma precisão intermédia \leq de 7,5%. Assim, o método é capaz de detectar e quantificar o peróxido para todos os tipos de leite (integral, desnatado e semidesnatado), UHT e tipo A, demonstrando uma grande versatilidade e abrangência. Conclui-se, portanto, que foi desenvolvido e validado um método ecológico, rápido e eficaz. Além disso, trabalhos futuros devem procurar melhorar a cinética da reação, reduzindo o tempo de análise, bem como aumentar a taxa de recuperação e reduzir o limite de detecção.

3.5. REFERÊNCIAS

- [1] ABBAS, M. E., LUO, W., ZHU, L., ZOU, J., TANG, H. Fluorometric determination of hydrogen peroxide in milk by using a Fenton reaction system. **Food Chemistry**, v. 120, p. 327-331, 2010. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.10.024.
- [2] VASCONCELOS, H., MATIAS, A. MENDES, J., ARAÚJO, J., DIAS, B., JORGE, P. A. S., SARAIVA, C., ALMEIDA, J. M. M. DE, COELHO, L. C. C. Compact biosensor system for the quantification of hydrogen peroxide in milk. **Talanta**, v. 253, p. 124062, 2022. doi: 10.1016/j.talanta.2022.124062.
- [3] KARIMI, A., HUSAIN, S. W., HOSSEINI, M., AZAR, P. A., GANJALI, M. R. Rapid and sensitive detection of hydrogen peroxide in milk by Enzyme-free electrochemiluminescence sensor based on a polypyrrole-cerium oxide nanocomposite. **Sens Actuators B Chem**, v.271, p.90–96, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.05.066>.
- [4] IVANOVA, A. S., MERKULEVA, A. D., ANDREEV, S. V., SAKHAROV, K. A. Method for determination of hydrogen peroxide in adulterated milk using high performance liquid chromatography. **Food Chem**, v.283, p.431–436, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.051>.
- [5] BRASIL (2006). Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. Secretariat for Agricultural Defense. Normative Instruction No. 68.
- [6] XU, Z., ZENG, C. ZHAO, Y., ZHOU, M. L. V., SONG, C., QIN, T., WANG, L., LIU, B., PENG, X. Smartphone-based on-site detection of hydrogen peroxide in milk by using a portable ratiometric fluorescent probe. **Food Chem**, v.410, p.135381, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135381>.
- [7] ULLAH, I., YAQUB, A., HAQ, M. Z. U., AJAB, H., JAFRY, A. T., KHAN, M. K. Sensitive and cost-effective colorimetric sensor based on enzyme mimic $MoS_2@CoTiO_3$ nanocomposite for detection of hydrogen peroxide in milk and tap water. **J. Food Compos. Anal.**, v.124, p.105689, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105689>.
- [8] DING, Y., YANG, B., LIU, H., LIU, Z., ZHANG, X., ZHENG, X., LIU, Q. FePt-Au ternary metallic nanoparticles with the enhanced peroxidase-like activity for ultrafast colorimetric detection of H_2O_2 . **Sens Actuators B Chem**, v. 259, p.775–783, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.12.115>.
- [9] SILVA, R. A. B., MONTES, R. H. O., RICHTER, E. M., MUNOZ, R. A. A. Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis with amperometric detection. **Food Chem**, v. 133, p.200–204, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.003>.
- [10] STANKOVIĆ, V., ĐURĐIĆ, S., OGNJANOVIĆ, M., MUTIĆ, J., KALCHER, K., STANKOVIĆ, D. M. A novel nonenzymatic hydrogen peroxide amperometric sensor based on $AgNp@GNR$ nanocomposites modified screen-printed carbon electrode. **J. Electroanal. Chem**, v.876, p.114487, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114487>.

- [11] SIDDIQUI, S., NIAZI, J. H., QURESHI, A. Mn₃O₄-Au nanozymes as peroxidase mimic and the surface-enhanced Raman scattering nanosensor for the detection of hydrogen peroxide. **Mater. Today Chem.** v.22, p. 100560, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2021.100560>.
- [12] FARAHANI, S. M., DADMEHR, M., KARIMI, M. A., KOROUZHDEHI, B., KARIMI, M. A., RABABIAN, M. Fluorometric detection of phytase enzyme activity and phosphate ion based on gelatin supported silver nanoclusters. **Food Chemistry**, v. 396, p. 133711, 2022. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.133711.
- [13] MEHRABI, F., DADMEHR, M., RANJBAR, B., HOSSEINI, M. Aptamer-Based Colorimetric Detection of Oxytetracycline by a LSPR-Based Assay of Gold Nanorods in Honey Sample. **Chem. Selecta**, v. 9, p. 3-9, 2024. doi: 10.1002/slct.202305069.
- [14] UZUNOĞLU, D. ÖZER, A. Colorimetric detection of H₂O₂ by peroxidase-like catalyst iron-based nanoparticles synthesized by using hyperaccumulator plant-derived metal solution. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 11, p. 109159, 2023. doi: 10.1016/j.jece.2022.109159.
- [15] UZUNBOY, S., AVAN, A. N., DEMIRCI-ÇEKİÇ, S., APAK, R. Indirect colorimetric determination of trace hydrogen peroxide by its oxidizing power on chromium (III) oxide nanoparticles. **Microchimica Acta**, v. 178, p. 107335, 2023. doi: 10.1016/j.microc.2022.107335.
- [16] SELVARAJ, R. PAI, S., VINAYAGAM, R., VARADAVENKATESAN, T., KUMAR, P. S., DUC, P. A., RANGASAMY, G. A recent update on green synthesized iron and iron oxide nanoparticles for environmental applications. **Chemosphere**, v.308, p.136331, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136331>.
- [17] GAŁUSZKA, A., MIGASZEWSKI, Z. M., KONIECZKA, P., NAMIEŚNIK, J. Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures. **Trends Analytical Chem.**, V. 37, p. 61–72. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.013>.
- [18] MONDAL, P., ANWESHAN, A., PURKAIT, M. K. Green synthesis and environmental application of iron-based nanomaterials and nanocomposite: A review. **Chemosphere**, v. 259, p. 127509, 2020. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127509
- [19] F. VETR, Z. MORADI-SHOEILI, AND S. ÖZKAR. Oxidation of o-phenylenediamine to 2,3-diaminophenazine in the presence of cubic ferrites MFe₂O₄ (M = Mn, Co, Ni, Zn) and the application in colorimetric detection of H₂O₂. **Appl. Organomet. Chem**, v.32, p.4465, 2018. <https://doi.org/10.1002/aoc.4465>.
- [20] LOPES, R.P., GUIMARÃES, T., MORO, M.M., GUIASOLA, E., MOYA, S., ASTRUC, D. Magnetic Biochar-Supported Pd Nanoparticles as a Peroxidase-Like Catalyst. **Waste Biomass Valorization**, v.13, p.3629–3637, 2022. <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01740-x>.
- [21] BILAL, M., KHALIQ, N., ASHRAF, M., HUSSAIN, N., BAQAR, Z., ZDARTA, J., JESIONOWSKI, T., IQBAL, H. M. N. Enzyme mimic nanomaterials as nanozymes with catalytic attributes. **Colloids Surf. B Biointerfaces**, v. 221, p. 112950, 2023. doi: 10.1016/j.colsurfb.2022.112950.
- [22] MAZZINI, L. F. M., BOUSADA, G. M., PUIATTI, G. A., MOREIRA, R. P. L. Green Synthesis of Iron Nanozymes Using Eucalyptus grandis Extract and Their Application as

Peroxidase-Like Catalysts for H_2O_2 Quantification. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 35, p. 1-11, 2024. doi: 10.21577/0103-5053.20230171.

[23] PUIATTI, G. A. CARVALHO, J. P. De., MATOS, A. T. De, LOPES, R. P. Green synthesis of Fe^0 nanoparticles using Eucalyptus grandis leaf extract: Characterization and application for dye degradation by a (Photo)Fenton-like process. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 311, p. 114828, 2022. doi: 10.1016/j.jenvman.2022.114828.

[24] ICH. (2005). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, in Q2(R1). ICH Harmonised Tripartite Guideline: London.

[25] ZAMPIER, L. M., OLIVEIRA, A. F. DE, HELENO, F. F., QUEIROZ, M. E. L. R. DE, NEVES, A. A., OLIVO, S. L. Determination of Ozone or Hypochlorite in Waters Based on Digital Images Analysis Using Same Reagent. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 32, p. 2140–2151, 2021. doi: 10.21577/0103-5053.20210106.

[26] OLIVEIRA, L., SILVA, U. da, BRAGA, J. P., TEIXEIRA, A., RIBON, A., VARELJÃO, E., COELHO, E. FREITAS, C. de, TEIXEIRA, R., MOREIRA, R. Green Synthesis, Characterization and Antibacterial and Leishmanicidal Activities of Silver Nanoparticles Obtained from Aqueous Extract of Eucalyptus grandis. **J Braz Chem Soc.**, v. 1, p.527-536, 2021. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20220126>

[27] THOMMES, M. KANEKO, K. NEIMARK, A. V. OLIVIER, J. P. REINOSO, F. R. ROUQUEROL, J. SING, K. S. W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure Appl. Chem.**, v. 87, no. 9-10, p. 1051-1059, 2015. doi: 10.1515/pac-2014-1117.

[28] MAZHANI, M., ALULA, M. T., MURAPE, D. Development of a cysteine sensor based on the peroxidase-like activity of $AgNPs@Fe_3O_4$ core-shell nanostructures. **Anal. Chim. Acta**, v. 1107, p. 193–202, 2020. doi: 10.1016/j.aca.2020.02.021.

[29] CHAKRABORTY, A., ACHARYA, H. Magnetically separable Fe_3O_4 NPs/MIL-53(Al) nanocomposite catalyst for intrinsic OPD oxidation and colorimetric hydrogen peroxide detection. **Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.**, v. 624, p. 126830, 2021. doi: 10.1016/j.colsurfa.2021.126830.

[30] ZHANG, J., VINCENZETTI, S., POLIDORI, P., POLZONETTI, V., DI MICHELE, A., PERINELLI, D. R., LIU, G., LI, L., PUCCIARELLI, S.. The effects of pH, temperature, and buffer concentration on the self-assembling behavior, secondary structure, and surface hydrophobicity of donkey and bovine β -casein. **Food Chemistry**, v. 433, p. 137285, 2024. doi: 10.1016/j.foodchem.2023.137285.

[31] LIMA, L. S., ROSSINI, E. L., PEZZA, L., PEZZA, H. R.. Bioactive paper platform for detection of hydrogen peroxide in milk. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 227, p. 117774, 2020. doi: 10.1016/j.saa.2019.117774.

[32] ZERAIK, A. E., SANT', F., DE SOUZA, A., FATIBELLO-FILHO, O., LEITE, O. D. Development of a spot test to monitor peroxidase activity in purification procedures. *Química Nova*, v. 31, p. 731-734, 2008. doi.org/10.1590/S0100-40422008000400003

[33] PENG, L. J., ZHOU, H. Y., ZHANG, C. Y., YANG, F. Q. Study on the peroxidase-like activity of cobalt phosphate and its application in colorimetric detection of hydrogen peroxide.

Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. **648** (correcting from 647), p. 129031, 2022. doi: 10.1016/j.colsurfa.2022.129031.

[34] ZHANG, C. Y. ZHANG, H., YANG, F. Q.. Enhanced peroxidase-like activity of copper phosphate modified by hydrophilic phytic-acid and its application in colorimetric detection of hydrogen peroxide. **Microchemical Journal**, v. 168, p. 106489, 2021. doi: 10.1016/j.microc.2021.106489.

[35] GEORGE, P., CHOWDHURY, P. Au, Ag nanoparticles-doped MIL-53(Fe) in rapid and selective detection of hydrogen peroxide in milk samples. **Chemical Papers**, v. 77, n. 3, p. 1361-1375, 2023. doi: 10.1007/s11696-022-02558-6.

[36] PENG, M., ZHAO, Y., CHEN, D., TAN, Y. Free-Standing 3D Electrodes for Electrochemical Detection of Hydrogen Peroxide. **ChemCatChem**, v. 11, p. 4222-4237, 2019. doi: 10.1002/cctc.201900913.

[37] SANGKAEW, P., NGAMAROONCHOTE, A., SANGUANSAP, Y., & KARN-ORACHAI, K. (2022). Emerging Electrochemical Sensor Based on Bimetallic AuPt NPs for On-Site Detection of Hydrogen Peroxide Adulteration in Raw Cow Milk. **Electrocatalysis**, v.13, p. 794-806. <https://doi.org/10.1007/s12678-022-00763-1>

[38] LIMA, M. J. A., SASAKI, M. K., MARINHO, O. R., FREITAS, T. A., FARIA, R. C., REIS, B. F., ROCHA, F. R. P. Spot test for fast determination of hydrogen peroxide as a milk adulterant by smartphone-based digital image colorimetry. **Microchemical Journal**, v. 157, p. 105042, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105042>.

[39] CARBONE, M., ANEGGI, E., FIGUEREDO, F., SUSMEL, S. S. NiO-nanoflowers decorating a plastic electrode for the non-enzymatic amperometric detection of H₂O₂ in milk: Old issue, new challenge. **Food Control**, v. 132, p. 108549, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108549>.

CAPÍTULO 4

Considerações finais

Nesta tese foram desenvolvidos dois métodos de determinação de peróxido de hidrogênio usando nanopartículas de ferro obtidas por processo verde empregando extrato de folhas de *Eucalyptus grandis*, um em água e outro em leite. Os principais resultados são mostrados na Tabela 4.1. Pode-se observar que foram obtidos resultados muito promissores.

Tabela 4.1. Comparação entre os principais resultados dos métodos para quantificação de peróxido de hidrogênio em água e leite usando o método OPD mediado por FeNPs*

Parâmetros obtidos	Matriz	
	Água	Leite
Faixa Linear de Trabalho ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	18,3 -112,6	8,97 – 1126
Limite de Detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	5,48	2,36
Limite de Quantificação ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	18,3	9,89
Coefficiente de Determinação	0,9924	0,9969
Resolução Analítica	0,0266	0,0558
Tempo de equilíbrio da reação	30 minutos	45 minutos
Observações	Não ocorreu centrifugação ao final da reação.	Preparo de amostra simples para obtenção do soro; adição de HNO_3 para a precipitação das proteínas, seguido de centrifugação (5 min, 4000 rpm). Ao final da reação de oxidação da OPD, fez-se 4004 a centrifugação (2 min, 4000 rpm) para separação das FeNPs
Validação do método	Não foi feito	O método foi validado para leite integral UHT, sendo aplicado também em leite semidesnatado, desnatado e pasteurizado tipo A

*Condições reacionais: 100 μL de amostra contendo H_2O_2 , 200 μL de OPD ($10,0 \text{ mmol L}^{-1}$), 2,85 mL de tampão citrato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) pH 3, 250 μL de suspensão de FeNPs ($4,165 \text{ mmol L}^{-1}$). Volume final = 3,4 mL.

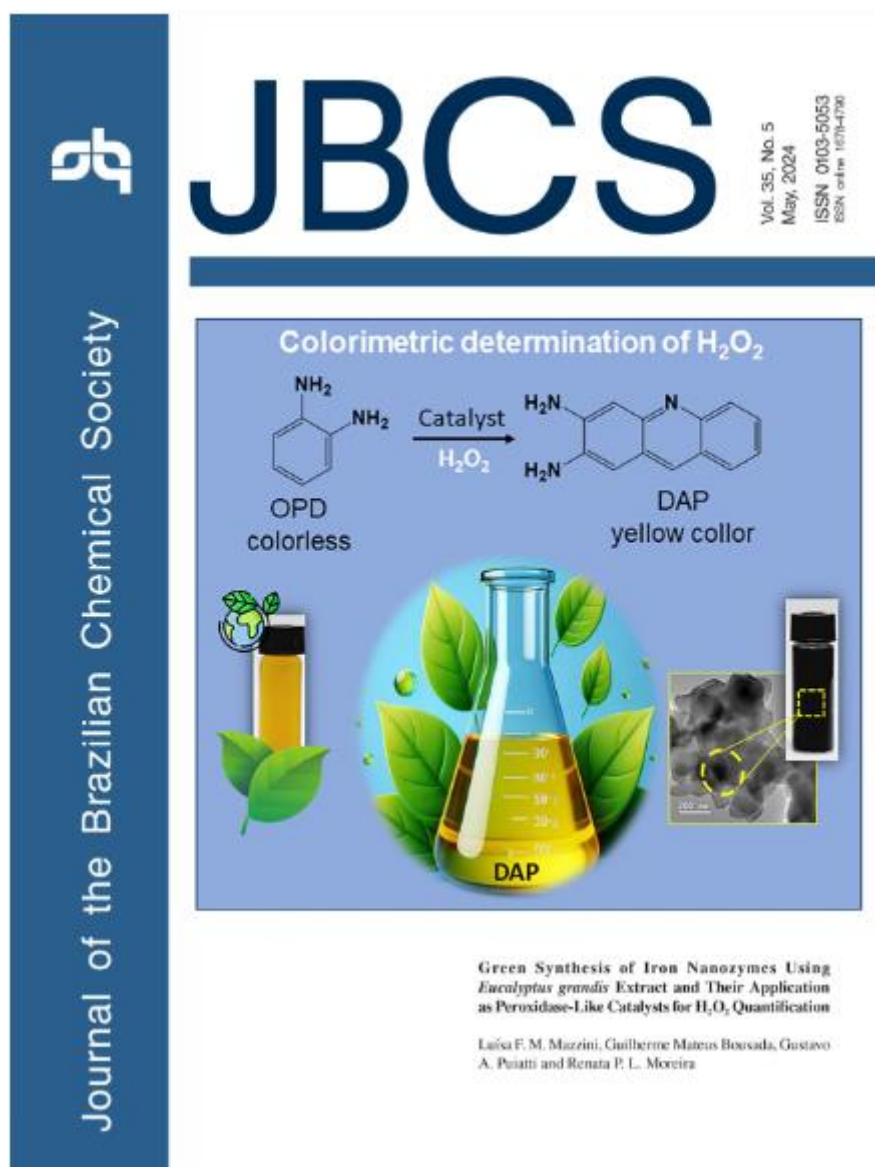
Sugestão de trabalhos futuros

- Desenvolver e validar um método colorimétrico (*spot-test*) usando smartphone para detecção de peróxido baseado na reação de oxidação da OPD catalisada pelas FeNPs.
- Otimizar o tempo reacional (Diminuição do tempo);
- Desenvolver um método com menos volume;
- Desenvolver um método sem um preparo de amostra;

Produtos obtidos da tese

Artigo publicado em 2024, volume 35, pela Journal of the Brazilian Chemical Society, intitulado “Green Synthesis of Iron Nanozymes Using *Eucalyptus grandis* Extract and Their Application as Peroxidase-Like Catalysts for H₂O₂ Quantification”


Esse trabalho foi selecionado para ser capa do volume 35 (2024)



<https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20230171>

Artigo publicado em 2024, volume 135, pela revista Journal of Food Composition and Analysis, sendo intitulado “Eco-friendly quantification of hydrogen peroxide in milk using green-synthesized iron nanoenzymes”.

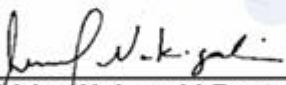
O terceiro capítulo da tese foi apresentado na 47^a Reunião Anual da SBQ, ocorrida entre os dias 22 e 25 de maio na forma de pôster.




47^a Reunião Anual da SBQ www.s bq.org.br
22 a 25 de maio de 2024 - AGUAS DE LINDÓIA

A CENTRALIDADE DA QUÍMICA NA EDUCAÇÃO DO CIDADÃO E NA INOVAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA

Atestamos que o trabalho "**Development and validation of a method for quantifying H₂O₂ in milk using iron nanoenzymes synthed through a green process**", autoria de **Luísa Faria Monteiro Mazzini, Ana Clara Martins, Kleryton Luiz Alves de Oliveira e Renata Pereira Lopes Moreira**, foi apresentado na forma de pôster durante a 47^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.


Shirley Nakagaki Bastos
Presidente da SBQ


Luiz Gonzaga de França Lopes
Secretário Geral da SBQ