



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Instituto de Química



RAYAN MARCEL CARVALHO

**DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE CONTAMINANTES AMBIENTAIS
UTILIZANDO DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO E TÉCNICAS DE DETECÇÃO
ELETROQUÍMICAS**

Campo Grande – MS
Agosto/2021



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

**Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Instituto de Química**



RAYAN MARCEL CARVALHO

**DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE CONTAMINANTES AMBIENTAIS
UTILIZANDO DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO E TÉCNICAS DE DETECÇÃO
ELETROQUÍMICAS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (INQUI/UFMS) para obtenção do título de Mestre em Química (Química Analítica).

Orientador: Prof. Dr. Bruno Gabriel Lucca.

Campo Grande – MS

Agosto/2021

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Ele que me presenteou com o dom da vida e me abençoa com o mais sincero, leal, comprometido e incondicional amor, Deus meu em quem confio.

À mulher mais incrível da minha vida, Andreia Henrique dos Reis, minha mãe.

Ao meu orientador Prof. Dr. Bruno Gabriel Lucca, pelo conhecimento, dedicação e paciência prestados em todo esse período de orientação.

A todos os colegas do GEEMs, incluindo mestrandos, doutorandos, graduandos, professores e técnicos pela amizade, parceria, auxílio, encorajamento e apoio.

Aos professores da banca, Rodrigo Amorim Bezerra da Silva (UFU) e Wendell Karlos Tomazelli Coltro (UFG), por aceitarem o convite de contribuir com esta dissertação.

À CAPES, pelo patrocínio com a bolsa de mestrado.

Ao INQUI/UFMS, por me permitir ser parte da história desta instituição tão maravilhosa.

A todos aqueles que fizeram parte e contribuíram direta ou indiretamente de alguma forma para a minha formação, o meu mais sincero obrigado.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS	6
LISTA DE FIGURAS	10
RESUMO	14
ABSTRACT	15
CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
1.1 ELETROQUÍMICA	16
1.1.1 Métodos eletroanalíticos	19
1.2 MICROFLUÍDICA	26
1.2.1 Impressão 3D de dispositivos microfluídicos	30
1.2.2 Dispositivo eletroquímico microfluídico baseado em fios (μTED)	33
1.3 SENSORES ELETROQUÍMICOS À BASE DE CARBONO	35
1.4 CONTAMINANTES AMBIENTAIS	37
1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS I	39
CAPÍTULO 2 – DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO À BASE DE FIO DE ALGODÃO COM UM DETECTOR ELETROQUÍMICO EMBUTIDO TOTALMENTE IMPRESSO EM 3D: PRIMEIRA APLICAÇÃO PARA ANÁLISE AMBIENTAL DE NITRITO	53
2.1 INTRODUÇÃO	53
2.2 OBJETIVOS	56
2.2.1 Objetivo geral	56
2.2.2 Objetivos específicos	56
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS	57
2.3.1 Reagentes e soluções	57
2.3.2 Fabricação do μTED impresso em 3D	57
2.3.3 Ativação dos eletrodos de CB/PLA e montagem do μTED	58
2.3.4 Instrumentação	59
2.3.5 Análise de microscopia eletrônica de varredura	60
2.3.6 Preparo da amostra	60

2.3.7	Análise de cromatografia de íons	60
2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
2.4.1	Comportamento eletroquímico do nitrito	61
2.4.2	Ativação e análises da superfície dos eletrodos.....	62
2.4.3	Otimização do Dispositivo	64
2.4.4	Aplicação analítica.....	70
2.4.5	Estudos de repetibilidade, reprodutibilidade, estabilidade e taxa de fluxo	74
2.5	CONCLUSÃO	78
2.6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS II.....	79
CAPÍTULO 3 – DETERMINAÇÃO ELETROQUÍMICA DO FUNGICIDA BENZOINDIFLUPIR UTILIZANDO ELETRODO DESCARTÁVEL DE GRAFITE DE LAPISEIRA		
3.1	INTRODUÇÃO.....	85
3.2	OBJETIVOS.....	89
3.2.1	Objetivo geral.....	89
3.2.2	Objetivos específicos.....	89
3.3	PARTE EXPERIMENTAL	90
3.3.1	Materiais e reagentes.....	90
3.3.2	Célula eletroquímica	90
3.3.3	Instrumentação e procedimento analítico	91
3.3.4	Preparo e análise das amostras reais	91
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	92
3.4.1	Comportamento eletroquímico de benzovindiflupir e estudo de pH.....	92
3.4.2	Otimização dos parâmetros instrumentais	96
3.4.3	Curva analítica.....	99
3.4.4	Análises de amostra real	100
3.4.5	Reprodutibilidade, repetibilidade e estabilidade.....	102

3.5	CONCLUSÃO.....	105
3.6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS III.....	106
	ANEXO I – DISCIPLINAS CURSADAS.....	110
	ANEXO II – PRODUÇÃO CIENTÍFICA	111

LISTA DE SIGLAS

MEMS – *Micro Electro Mechanical System*, traduzido do inglês “sistemas micro eletromecânicos”;

MOEMS – *Micro Optic Electro Mechanical System*, traduzido do inglês “micro-óptico-eletromecânico”;

DARPA – *Defense Advanced Research Projects Agency*, traduzido do inglês “Agência de projetos de pesquisa avançada de defesa”;

μTAS – *Micro Total Analysis Systems*, traduzido do inglês “microssistemas de análise total”;

μTED – *microfluidic thread-based electroanalytical device*, traduzido do inglês “dispositivo eletroanalítico microfluídico baseado em fios”;

μFIA – *microflow injection analysis*, traduzido do inglês “análise de injeção por microfluxo”;

BR – Britton-Robinson;

LOC – *lab-on-a-chip*;

CAGR – *Compound Annual Growth Rate*, traduzido do inglês “taxa de crescimento anual composta”;

PDMS – polidimetilsiloxano;

PMMA – polimetilmetacrilato;

3D – tridimensional;

FDM – *Fused Deposition Modeling*, traduzido do inglês “Modelagem por Deposição Fundida”;

FFF – *Fused Filament Fabrication*, traduzido do inglês “Fabricação de Filamento Fundido”;

ABS – acetonitrila butadieno estireno;

PLA – ácido polilático;

LED – *Light-emitting Diode*, traduzido do inglês “Diodo emissor de luz”;

SL – *Stereolithography*, traduzido do inglês “estereolitografia”;

CB/PLA – *carbon black/ácido polilático*;

pH – potencial hidrogeniônico;

VOQ – voltametria de onda quadrada;

VC – voltametria cíclica;

VPD – voltametria de pulso diferencial;

PGE – *Pencil Graphite Electrodes*, traduzido do inglês “eletrodo de grafite de lapiseira”;

C₆₀ – fulereno;

BZN – benzovindiflupir;

DT50 – tempo de meia-vida no solo;

HPLC-MS/MS – cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas;

MEV – microscopia eletrônica de varredura;

kV – quilovolt;

SDHI – *succinate dehydrogenase inhibitor*, traduzido do inglês “inibidor da succinato desidrogenase”;

TAC – *Tricarboxylic acid cycle*, traduzido do inglês “ciclo do ácido tricarboxílico”;

DPR – desvio padrão relativo;

LD – limite de detecção;

LQ – limite de quantificação;

LMC – limite máximo de contaminante.

LISTA DE TABELAS

Tabela 2. 1 Parâmetros instrumentais e experimentais investigados em relação à detecção de nitrito usando o μ TED impresso em 3D acoplado com eletrodos à base de CB/PLA.	69
Tabela 2. 2 Comparação entre o desempenho analítico do μ TED totalmente impresso em 3D com o detector eletroquímico acoplado descrito aqui e outras metodologias eletroquímicas aplicadas na detecção de nitrito.	71
Tabela 2. 3 Resultados obtidos para determinação amperométrica e por cromatografia de íons de nitrito nas amostras de água.	73
Tabela 2. 4 Resultados do estudo realizado para avaliar a seletividade da resposta eletroquímica nitrito em relação a algumas espécies interferentes tipicamente presentes em águas naturais.	74
Tabela 3. 1 Fungicidas contendo BZN em sua composição comercializados pela Syngenta.	87
Tabela 3. 2 Parâmetros instrumentais de VOQ otimizados para determinação de BZN.	99
Tabela 3. 3 Resultados obtidos para a determinação de benzovindifupir em amostras de produtos comerciais.	102

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. 1 Diagrama representativo de uma célula eletroquímica de 3 eletrodos. EA = eletrodo auxiliar; ET = eletrodo de trabalho; ER = eletrodo de referência; Red = espécie na forma reduzida; Ox = espécie na forma oxidada; Adaptado de Mirceski, Skrzypek, & Stojanov [6].	17
Figura 1. 2 Diagrama representativo da camada de difusão em decorrência do gradiente de concentração na superfície de um eletrodo. Adaptado de Skoog et. al. [10].....	18
Figura 1. 3 Tipos de transporte de massa. Retirado de Wang [4].	19
Figura 1. 4 A) Forma de variação de potencial em função do tempo na voltametria cíclica; B) típico voltamograma cíclico para um processo redox reversível. Adaptado de Wang, J. [4]. .	21
Figura 1. 5 Representação de um voltamograma cíclico A) reversível; B) quase-reversível e C) irreversível. Adaptado de Lee, J [19].	22
Figura 1. 6 A) modulação do potencial na voltametria de onda quadrada; B) típico voltamograma de onda quadrada; C) único ciclo de potencial; D) variação da corrente em função do tempo. Adaptado de Mirceski, Skrzypek, & Stojanov [6].....	23
Figura 1. 7 Resposta amperométrica da corrente em função do tempo.....	24
Figura 1. 8 Número de publicação por ano indexadas na base de dados Scopus para dispositivos microfluídicos. Adaptado da base de dados Scopus.....	28
Figura 1. 9 Mercado Global de produtos e dispositivos microfluídicos: previsão de 2019-2024. Retirado de <i>Yole Développement</i> [54].	29
Figura 1. 10 Número de publicação por ano indexadas na base de dados Scopus para dispositivos microfluídicos impresso em 3D. Adaptado da base de dados Scopus.	31
Figura 1. 11 Representação de uma impressão 3D por meio da técnica FDM. Retirado de Stansbury & Idacavage [72].	32
Figura 1. 12 Representação do processo de montagem do μ TED mostrando os materiais que compõem o dispositivo e os passos de montagem. O inset mostra o dispositivo totalmente montado. Adaptado de Agustini et. al. [52].....	34
Figura 1. 13 Esquema morfológico das partículas de CB. Retirado de Silva et. al. [119].	36
Figura 2. 1 A) Desenho CAD da plataforma do μ TED com suas respectivas dimensões e B) μ TED totalmente impresso em 3D com o detector acoplado, microcanais de fio de algodão e conexões elétricas conforme usado durante os experimentos. Os eletrodos CB/PLA impressos em 3D as seguintes dimensões: 45 mm de comprimento \times 3 mm de largura \times 1,60 mm de altura. O reservatório de saída é removível e foi fixado usando dois parafusos M3.....	59

Figura 2. 2 Voltamograma cíclico de nitrito registrado com o detector eletroquímico CB/PLA impresso em 3D na presença (linha sólida) e ausência (linha pontilhada) de 1,5 mmol L ⁻¹ de solução padrão de nitrito em tampão 0,1 mol L ⁻¹ BR (pH 4,0) e velocidade de varredura de 100 mV s ⁻¹ . A superfície dos eletrodos foi polida antes das medições.	61
Figura 2. 3 Respostas amperométricas obtidas na presença de solução padrão de nitrito (250 μmol L ⁻¹) no dispositivo impresso em 3D usando eletrodos de CB/PLA ativado e não ativado. Eletrólito suporte: tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 4,0); potencial de detecção: +1,15 V; volume injetado: 4 μL.	63
Figura 2. 4 Imagens de MEV obtidas da superfície do eletrodo CB/PLA antes (A) e após (B) o procedimento de ativação realizado por polimento com lixa. O potencial de aceleração foi de 10 kV e a ampliação foi de 5.000 ×.	64
Figura 2. 5 Efeito do pH na intensidade do sinal cronoamperométrico de 50 μmol L ⁻¹ de solução padrão de nitrito em meio de tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ . Condições: potencial de detecção = +0,90 V, intervalo de tempo = 0,1 s, e o volume injetado = 5,0 μL. Resultados para n = 3 medidas.	65
Figura 2. 6 A) variação na resposta cronoamperométrica da solução padrão de nitrito 10 μmol L ⁻¹ em função do potencial de detecção. O intervalo de tempo foi de 0,1 s e o volume injetado foi de 5,0 μL. Resultados para n = 3 medidas; B) voltamogramas cíclicos consecutivos (n = 150 ciclos) registrados com o detector eletroquímico de CB/PLA impresso em 3D na presença (linhas contínuas) e ausência (linha pontilhada) de 1,5 mmol L ⁻¹ de solução padrão de nitrito. A velocidade de varredura foi de 100 mV s ⁻¹ . Todas as medidas foram realizadas em meio de tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH = 4,0).	66
Figura 2. 7 A) Relação entre a quantidade de fios do canal microfluídico e a corrente de pico na resposta analítica da solução padrão de nitrito 10 μmol L ⁻¹ e B) Efeito do número de torções por metro na corrente de pico na resposta analítica da solução padrão de nitrito 10 μmol L ⁻¹ . Eletrólito suporte: tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 4,0); potencial aplicado: +1,15 V; volume injetado: 5,0 μL; intervalo de tempo: 0,1 s. Resultados para n = 3 medidas.	67
Figura 2. 8 A) Relação entre o volume de injeção da amostra e a corrente de pico de solução padrão de nitrito 10 μmol L ⁻¹ e B) Efeito da distância entre a região de injeção de solução padrão de nitrito 10 μmol L ⁻¹ e a zona de detecção na corrente de pico. Eletrólito suporte: tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 4,0); potencial aplicado: +1,15 V; volume injetado: 5,0 μL; intervalo de tempo: 0,1 s. Resultados para n = 3 medidas.	68

Figura 2. 9 Efeito da diferença de altura entre os reservatórios de entrada e saída na resposta analítica de solução padrão de nitrito $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0); potencial aplicado: $+1,15 \text{ V}$; volume injetado: $5,0 \mu\text{L}$; intervalo de tempo: $0,1 \text{ s}$. Resultados para $n = 3$ medidas.....	69
Figura 2. 10 Resposta amperométrica obtida para soluções padrão de nitrito em diferentes concentrações: a) $8 \mu\text{mol L}^{-1}$; b) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$; c) $25 \mu\text{mol L}^{-1}$; d) $50 \mu\text{mol L}^{-1}$; e) $100 \mu\text{mol L}^{-1}$; f) $150 \mu\text{mol L}^{-1}$ e g) $200 \mu\text{mol L}^{-1}$. O <i>inset</i> mostra a respectiva curva analítica obtida do amperograma. Resultados para $n = 3$ medições. Outras condições: consulte a Tabela 2.1.....	70
Figura 2. 11 Medidas amperométricas (A) e respectiva curva de adição de padrão (B) obtidas durante uma das determinações de nitrito nas amostras de água de poço. Os pontos na curva de adição de padrão correspondem à média de $n = 3$ medidas. Outras condições: consultar a Tabela 2.1.	72
Figura 2. 12 Sinais transitórios obtidos para $n = 20$ sucessivas injeções de solução padrão de nitrito $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ (A); Condições experimentais: ver Tabela 2.1; gráfico dos sinais de corrente usados para o cálculo do DPR (B). A linha horizontal indica a média das correntes.	75
Figura 2. 13 A) Estudo de estabilidade avaliada dentro de um período de 16 dias e B) Estudo de reprodutibilidade inter-eletrodo. Condições experimentais: ver Tabela 2.1. A linha pontilhada horizontal indica o valor médio da corrente obtida.	76
Figura 3. 1 Estrutura química de benzovindiflupir. Adaptado de Hou et. al. [11]......	86
Figura 3. 2 Foto da célula eletroquímica com seus sensores de PGE e conexões elétricas usada durante as medidas.....	90
Figura 3. 3 Voltamograma cíclico na presença (linha contínua) e na ausência (linha pontilhada) de $750 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BZN obtido utilizando a célula eletroquímica. Eletrólito: tampão BR ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em pH (4,0) e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}	92
Figura 3. 4 Efeito da concentração do tampão BR na corrente de pico anódico de BZN ($750 \mu\text{mol L}^{-1}$). Resultados para $n = 3$ medidas). Condições experimentais: velocidade de varredura = 100 mV s^{-1}	93
Figura 3. 5 Voltamogramas cíclicos para oxidação de $750 \mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de BZN em diferentes valores de pH usando PGE em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. <i>Inset</i> : Dependência das correntes de pico anódica e dos potenciais de pico anódico em diferentes valores de pH. Resultados com $n = 3$ medidas.	94

Figura 3. 6 Voltamogramas cíclicos de 750 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BZN registrados em várias velocidades de varredura usando PGEs em tampão BR 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0); <i>Inset</i> : Gráfico das correntes de pico anódico e catódico vs. a velocidade de varredura. Resultados para $n = 3$ medidas.....	95
Figura 3. 7 A) Dependência entre o logaritmo da corrente de pico anódica e o logaritmo da velocidade de varredura; B) Dependência entre o potencial de pico anódico e o logaritmo da velocidade de varredura. Condições experimentais idênticas à da Figura 3.6. Resultados para $n = 3$ medidas.....	96
Figura 3. 8 Voltamogramas de (A) pulso de diferencial e (B) onda quadrada na ausência (linhas pontilhadas) e na presença (linhas contínuas) de 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de BZN. Meio de tampão BR 0,1 mol L^{-1} (pH = 4,0). Resultados para $n = 3$ medidas. Condições para ambas medidas de VPD e VOQ: (a) = 20 mV, (ΔE_s) = 5 mV e (v) = 10 mV.	97
Figura 3. 9 Influência da amplitude dos pulsos (A), incremento de potencial (B) e frequência (C) na resposta analítica da solução de 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de BZN em tampão BR 0,1 mol L^{-1} (pH = 4,0). Resultados para $n = 3$ medidas.....	98
Figura 3. 10 Efeito do potencial de acumulação (A) e tempo de deposição (B) nas correntes de pico de BZN. Resultados para $n = 3$ medidas. Condições: 0,1 mol L^{-1} tampão Britton-Robinson (pH 4,0) com 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BZN; $f = 45$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV e $a = 30$ mV.	99
Figura 3. 11 Voltamogramas de onda quadrada de BZN em diferentes concentrações utilizando eletrodos de grafite: a) Branco; b) 1,25 μM ; c) 2,5 μM ; d) 3,75 μM ; e) 5 μM ; f) 6,25 μM ; g) 7,5 μM ; h) 8,75 μM ; i) 10 μM ; j) 11,25 μM e k) 12,5 μM . O <i>inset</i> mostra a curva de calibração obtida. Resultados com $n = 3$ medidas. Condições experimentais: ver Tabela 3.2.....	100
Figura 3. 12 Voltamograma cíclico de azoxistrobina em tampão BR 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0) obtido com PGEs na ausência (linha pontilhada) e na presença (linha sólida) de solução padrão de azoxistrobina 750 $\mu\text{mol L}^{-1}$	101
Figura 3. 13 Teste de estabilidade da solução estoque de BZN 3,75 μM ao longo de 13 dias. Resultados com $n = 3$ medidas. Condições experimentais: ver Tabela 3.2.....	102
Figura 3. 14 Resultados dos estudos de reprodutibilidade inter-eletrodo (A). Resposta dos VOQs para $n = 10$ medidas sucessivas (B). Adição de 3,75 e 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BZN foi usada para o estudo de reprodutibilidade e repetibilidade, respectivamente. A linha horizontal mostra a corrente média. Condições experimentais: vide a Tabela 3.2.....	103

RESUMO

Nesta dissertação é descrita a construção (prototipagem, montagem e utilização) de um dispositivo microfluídico eletroquímico de fios (μ TED) à base de fios de algodão e totalmente impresso em 3D, cuja estrutura é dividida em um detector eletroquímico composto de filamento condutivo de carbon black/ácido polilático integrado a uma estrutura de acrilonitrila butadieno estireno (ABS). Este dispositivo foi utilizado pela primeira vez na detecção amperométrica de nitrito. Além disso, pela primeira vez, é apresentado um estudo eletroanalítico usando eletrodos de grafite de lapiseira (PGEs, do inglês “*Pencil Graphite Electrodes*”) e voltametria de onda quadrada (VOQ) para detecção eletroquímica do fungicida benzovindiflupir (BZN). O trabalho está dividido em três capítulos: o Capítulo 1 traz uma revisão bibliográfica para contextualizar os assuntos que foram abordados ao longo do trabalho; o Capítulo 2 apresenta uma nova metodologia e o desenvolvimento de um dispositivo microfluídico impresso em 3D como uma alternativa promissora para a análise de fluxo que foi empregado na detecção eletroquímica de nitrito. Apresentando baixo custo de produção, pouco consumo de reagentes e mínima geração de resíduos, além de trazer portabilidade e rapidez na análise, esse dispositivo foi totalmente fabricado em uma impressora 3D e conta com fios de algodão como canais microfluídicos. Eletrodos de CB/PLA impressos em 3D foram usados como sensores eletroquímicos para detecção amperométrica. O comportamento eletroquímico do nitrito foi estudado, e os parâmetros do dispositivo foram otimizados. Uma taxa de fluxo de $0,41 \mu\text{L s}^{-1}$ foi alcançada. Um limite de detecção (LD) de $2,38 \mu\text{mol L}^{-1}$, um limite de quantificação (LQ) de $7,94 \mu\text{mol L}^{-1}$ e alta precisão (DPR de 2,1 %) foram alcançados pelo método desenvolvido. O dispositivo proposto foi, pela primeira vez, aplicado para determinação de nitrito em amostras de água. Apresentou resultados satisfatórios (recuperações de aproximadamente 104 %) e demonstrou potencial para estender o uso de dispositivos microfluídicos que, baseado em sua simplicidade e boa performance analítica, é possível superar algumas limitações de sistemas de análise em fluxo convencionais; o Capítulo 3 apresenta o desenvolvimento de um novo método eletroquímico para análise de benzovindiflupir empregando eletrodos de grafite de lapiseira como sensores eletroquímicos. O comportamento e os processos de eletro-oxidação do BZN foram estudados utilizando voltametria cíclica em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diversos valores de pH (1,0 a 4,5). O valor de pH 4,0 foi selecionado como ideal e a técnica voltamétrica escolhida e otimizada foi a VOQ cujos melhores parâmetros foram: o incremento de potencial de 4 mV, frequência de 45 Hz, amplitude de 30 mV, potencial de deposição de +0,45 V e tempo de deposição de 30s. Sob as condições otimizadas, uma dinâmica faixa linear foi observada ($1,25$ a $12,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) com R^2 de 0,999. Os valores de LD e LQ obtidos foram de $0,29 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,99 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Repetibilidade, reprodutibilidade e estabilidade foram satisfatórias com DPRs de 2,4 %, 3,7 % e 7,5 %, respectivamente. As análises das amostras comerciais por padrão externo apresentaram recuperações abaixo de 104 % e DPR abaixo de 3,2 %. Os valores apresentados são os primeiros reportados na literatura que demonstram um estudo eletroanalítico e o desenvolvimento de um método para detecção eletroquímica de BZN em amostras comerciais de fungicidas, trazendo uma nova alternativa para análise de pesticidas.

Palavras-chave: Impressão 3D; detecção amperométrica; eletroanálise; monitoramento ambiental; microfluídica.

ABSTRACT

This dissertation describes the construction (prototyping, assembly and use) of a microfluidic thread-electrochemical device (μ TED) based on cotton threads and fully 3D-printed, whose structure is divided in an electrochemical detector composed of conductive carbon black/polylactic acid CB/PLA filament integrated to an acrylonitrile butadiene styrene (ABS) structure. This device was first used for the amperometric detection of nitrite. In addition, for the first time, an electroanalytical study using pencil graphite electrodes (PGEs) and square wave voltammetry (SWV) for electrochemical detection of fungicide benzovindiflupyr (BZN) is presented. The work is divided into three chapters: Chapter 1 brings a bibliographical review to contextualize the subjects that were covered throughout the work; Chapter 2 presents a new methodology and the development of a 3D-printed microfluidic device as a promising alternative for flow analysis that has been employed for the electrochemical detection of nitrite. Presenting low production cost, reduced consumption of reagents and minimal waste generation, in addition to providing portability and speed of analysis, this device was entirely manufactured using a 3D printer and has cotton threads as microfluidic channels. 3D-printed CB/PLA electrodes were used as electrochemical sensors for amperometric detection. The electrochemical behavior of nitrite was evaluated and the experimental parameters were optimized. A flow rate of $0.41 \mu\text{L s}^{-1}$ was achieved. A detection limit (LOD) of $2.38 \mu\text{mol L}^{-1}$, a limit of quantification (LOQ) of $7.94 \mu\text{mol L}^{-1}$ and high precision (RSD of 2.1 %) were achieved by the developed method. The proposed device was, for the first time, applied for the determination of nitrite in water samples. It presented satisfactory results (recoveries of approximately 104 %) and demonstrated potential to extend the use of microfluidic devices which, based on their simplicity and good analytical performance, may overcome some limitations of conventional flow analysis systems; Chapter 3 presents the development of a new electroanalytical method for analysis of benzovindiflupyr employing pencil graphite electrodes as electrochemical sensors. The behavior and electro-oxidation processes of BZN were studied using cyclic voltammetry in 0.1 mol L^{-1} BR buffer at different pH values (1.0 to 4.5). The pH value of 4.0 was selected as ideal and the voltammetric technique chosen and optimized was the SWV, whose best parameters were: 4 mV potential increment, 45 Hz frequency, 30 mV amplitude, +0.45 V deposition potential and 30s deposition time. Under the optimized conditions, a dynamic linear range was observed (1.25 to $12.5 \mu\text{mol L}^{-1}$) with R^2 of 0.999. The LOD and LOQ values obtained were $0.29 \mu\text{mol L}^{-1}$ and $0.99 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. Repeatability, reproducibility and stability were satisfactory with RSDs of 2.4 %, 3.7 % and 7.5 %, respectively. The real analysis of commercial formulations by external standard showed recoveries below 104 % and RSD below 3.2 %. The data presented here are the first reported in literature that demonstrate an electroanalytical study and the development of a method for the electrochemical detection of BZN in commercial samples of fungicides, bringing a new alternative to the analysis of pesticides.

Keywords: 3D printing; amperometric detection; electroanalysis; environmental monitoring; microfluidics.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 ELETROQUÍMICA

A eletroquímica é uma área da ciência que envolve fenômenos químicos associados com transferência de carga na interface eletrodo-solução, onde a corrente elétrica estudada é um fenômeno mensurável proveniente de uma mudança química específica. Podendo ser utilizada na detecção de um ou mais analitos, essa área da Química inclui aplicações no controle industrial, monitoramento ambiental, análises clínicas e análises de substâncias da ordem de 10^{-9} mol L⁻¹ [1–4].

Muitos dos princípios básicos da eletroquímica foram descritos por J. J. Thompson, em 1893, enquanto em 1800 Alessandro Volta já havia inventado a primeira bateria, conhecida como pilha voltaica. Mas foi em 1835 que foi definido por Michael Faraday os conceitos de ânodo, cátodo, eletrodo, eletrólito, íon e toda a relação entre a corrente elétrica gerada durante uma eletrólise [2].

Os processos redox (eletrólise) que ocorrem na interface eletrodo-solução são resultantes do processo de redução e/ou oxidação, onde a corrente medida do processo de transferência de carga, a um potencial controlado, é proporcional à concentração da espécie eletroativa. Os processos eletroquímicos requerem pelo menos dois eletrodos condutores e um eletrólito para constituir a chamada célula eletroquímica [4]. As transferências eletrônicas que ocorrem na interface eletrodo-solução movem-se entre o eletrodo e um eletrólito [3,5].

O eletrodo onde ocorre a reação redox (reações químicas onde elétrons são transferidos diretamente entre as molécula e/ou átomos) é chamado de eletrodo de trabalho (indicador). Podem ser utilizados materiais como ouro, platina, carbono, dentre outros, na fabricação de um eletrodo de trabalho. O eletrodo de referência possui potencial constante (isto é, independe das propriedades da solução), tendo a função de controlar o potencial aplicado no eletrodo de trabalho. Podem ser utilizados os eletrodos de padrão de hidrogênio, calomelano saturado e prata/cloreto de prata como eletrodos de referência. Há também os eletrodos de pseudo-referência, que possuem a mesma função dos eletrodos de referência convencionais, porém não atingem o mesmo objetivo de controlar o potencial e deixá-lo constante, pois dependem da solução que está contida na célula eletroquímica. O contraeletrodo ou eletrodo auxiliar atua em fechar o circuito elétrico e diminuir a queda ôhmica causada pela resistência da célula eletroquímica no controle do potencial do eletrodo de trabalho. Uma célula eletroquímica

(Figura 1.1) consome eletricidade de uma fonte externa, sendo classificada como eletrolítica [3,4].

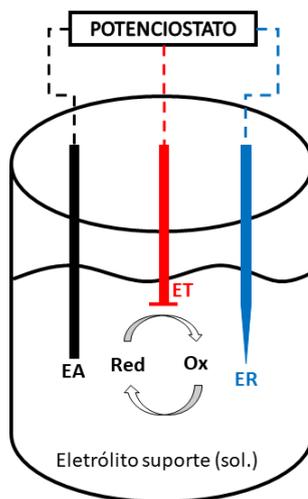


Figura 1. 1 Diagrama representativo de uma célula eletroquímica de 3 eletrodos. EA = eletrodo auxiliar; ET = eletrodo de trabalho; ER = eletrodo de referência; Red = espécie na forma reduzida; Ox = espécie na forma oxidada; Adaptado de Mirceski, Skrzypek, & Stojanov [6].

Um fluxo de corrente elétrica flui na célula eletroquímica entre o eletrodo de trabalho e o contraeletrodo quando uma medida é realizada com auxílio de um eletrólito suporte. Este eletrólito precisa obedecer a alguns critérios para assegurar a condutividade elétrica, tal como, boa densidade, boa tensão superficial e viscosidade, ser composto de sais inertes (podendo ser constituídos de sais orgânicos, ácidos minerais ou misturas de compostos com propriedades tamponantes) e ter uma concentração de cerca de 50 vezes maior que a concentração de espécie de interesse. A concentração de um eletrólito é muito importante, pois ela favorece o transporte de massa por difusão da espécie eletroativa no seio da solução e não por migração, pois a migração tem a contribuição da corrente capacitiva proveniente da dupla camada elétrica, o que não reflete a concentração do analito, já a difusão, esta sim reflete a concentração real do analito no seio da solução [4,7].

Técnicas de potencial controlado (como a amperometria e a voltametria cíclica) se preocupam em estudar como ocorrem os processos de transferência eletrônica na interface eletrodo-solução em situações dinâmicas (todo o processo redox é monitorado durante o procedimento), onde o potencial do eletrodo é usado para derivar uma reação de transferência de cargas que resulta em uma corrente, e é esta corrente que é medida na análise, e estas técnicas relacionam essa corrente medida com a concentração do analito [4].

A corrente resultante do processo redox é denominada corrente faradaica, corrente esta que obedece a lei de Faraday e é uma medida direta da taxa da reação [2,4]. A reação no eletrodo passa por vários passos e a velocidade das reações dependem da etapa mais lenta da reação. A corrente resultante medida pode ser limitada pela velocidade de transferência eletrônica ou pelo transporte de massa. Esse limite imposto é dependente de vários fatores tais como o material do eletrodo, faixa de potencial analisada, meio reacional, dentre outros. Quando as reações são controladas unicamente pela transferência de elétrons (quando as espécies eletroativas atingem a superfície do eletrodo), o transporte de massa é considerado limitado. Reações como estas, por obedecerem às relações termodinâmicas, são chamadas de reversíveis ou nernstianas. [4,8,9]. As reações que ocorrem na superfície do eletrodo e suas etapas estão esquematizados na Figura 1.2:

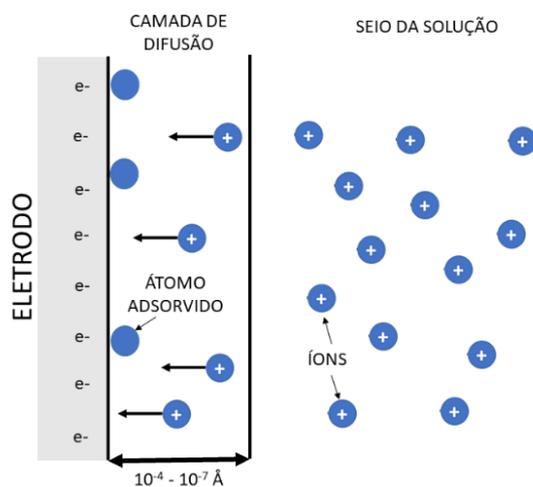


Figura 1. 2 Diagrama representativo da camada de difusão em decorrência do gradiente de concentração na superfície de um eletrodo. Adaptado de Skoog et. al. [10].

Os vários processos de transporte de massa são geralmente classificados em três categorias que são apresentadas na Figura 1.3 e descritas como [4,11]:

- Migração: caracterizada pela concentração e condutividade molar dos portadores de carga (geralmente denotada por λ_i). Ocorre quando espécies iônicas sofrem a ação de um campo elétrico, sendo atraídas ou repelidas em relação ao eletrodo de trabalho.
- Difusão: o movimento de espécies submetidas a um gradiente de concentração onde as espécies se difundem do meio mais concentrado para um menos concentrado. É geralmente caracterizada pelo coeficiente de difusão de cada espécie (Geralmente denotada por D_i).
- Convecção: É o movimento forçado de um fluido causado por um processo de homogeneização da solução por agitação mecânica. Pode assumir também uma convecção

natural causada por um gradiente de densidade. Este movimento é caracterizado em uma velocidade (m s^{-1}) carregando uma espécie i com uma concentração C_i .

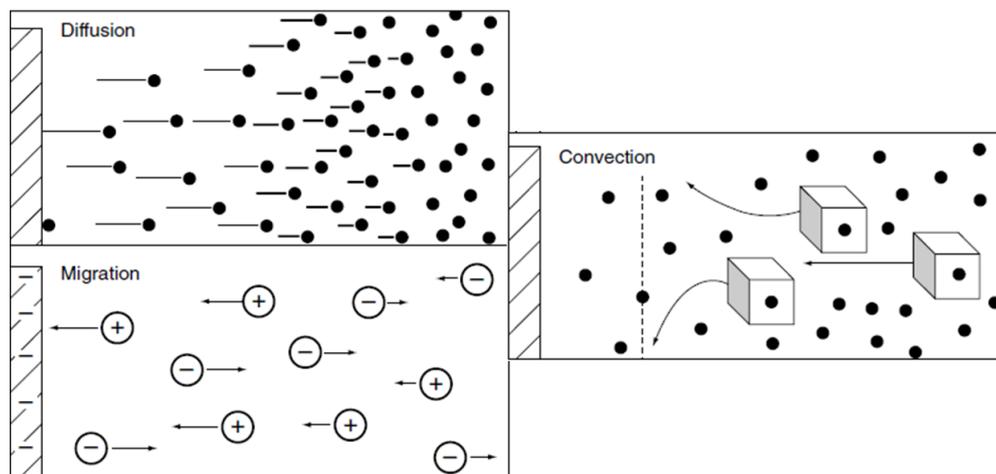


Figura 1.3 Tipos de transporte de massa. Retirado de Wang [4].

Para evitar que os três transportes de massa ocorram ao mesmo tempo, deve-se ajustar as condições experimentais de uma forma a suprimir os efeitos da convecção e da migração, pois estes não refletem a concentração da espécie de interesse no seio da solução. Este ajuste pode ser feito para que a correlação entre a corrente a concentração da espécie de interesse não seja afetada. Dessa forma, utilizar um eletrólito suporte em concentrações muito altas, cerca de 50 vezes maior que a concentração do analito, impede a formação do campo elétrico e minimiza o processo de migração. Utilizar um meio estacionário é uma maneira de evitar a contribuição da convecção. Logo, aplicando essas considerações, o transporte de massa ocorrerá apenas pelo processo de difusão. A difusão é o processo que ocorre primordialmente nas técnicas voltamétricas e, os processos adsorptivos acontecem na superfície do eletrodo de trabalho por um processo homogêneo, onde a corrente será proporcional à concentração do analito. [4,11–13].

1.1.1 Métodos eletroanalíticos

Os métodos eletroanalíticos são usados para análises quantitativas utilizando propriedades elétricas, que por sua vez são responsáveis pela detecção da molécula alvo [14]. Dentre os métodos analíticos modernos, as técnicas eletroquímicas têm sua importância baseada principalmente em vantagens como a sensibilidade satisfatória, operação facilitada que não requer uma mão-de-obra especializada, instrumentação de baixo custo e uma variedade de

aplicações nas análises do dia a dia como medidas de condutividade, análises clínicas, determinação de pH, coulometria e etc. [15].

1.1.1.1 Voltametria cíclica (VC)

A Voltametria Cíclica (VC) é a técnica mais usada para obter informações qualitativas em reações eletroquímicas. Esta técnica é um experimento eletroquímico de “reversão” controlado por potencial. A voltametria cíclica tem o poder de fornecer rapidamente informações consideráveis sobre a termodinâmica dos processos redox e cinéticas das reações heterogêneas de transferência eletrônica e sobre reações químicas acopladas ou processos de adsorção. Além disso, esta técnica é frequentemente usada como o primeiro experimento realizado em um estudo eletroanalítico, visto que, nesse processo, os potenciais redox das espécies eletroativas são rapidamente localizados e assim é possível ter uma avaliação conveniente desse processo redox. A corrente medida na análise fornece informações sobre a cinética e termodinâmica da transferência de elétrons na interface eletrodo-solução, bem como o mecanismo da reação [4,16].

A VC consiste na varredura linear do potencial de um eletrodo de trabalho em repouso (isso é, em solução não agitada), apresentando um formato de onda triangular (Figura 1.4A). Ademais, os chamados voltamogramas, podem ser únicos ou com múltiplos ciclos, ou seja, durante a varredura de potencial, o equipamento (potenciostato) medirá a corrente resultante dessa varredura. Esse resultado gerado nada mais é do que um voltamograma cíclico, que é uma função complicada e dependente de um grande número de parâmetros físicos e químicos. Além disso, essa varredura pode ser substituída por uma variação de potencial na forma de escada, chamada de *staircase*, onde cada degrau de potencial terá um tempo de duração, geralmente entre 10 - 50 ms, ou seja, ao final desse tempo de aplicação do potencial, a leitura da corrente será realizada. O intuito desse tempo é minimizar a contribuição negativa da corrente capacitiva na corrente final que resultará no voltamograma [4,9,16]. A Figura 1.4B representa um típico par redox reversível durante um único ciclo de potencial. Aqui, a ilustração supõe que apenas a forma *R* (reduzida) está presente inicialmente, logo, uma varredura de potencial positivo é escolhida para o primeiro meio ciclo, iniciando-se do potencial onde não existe oxidação. A medida que o potencial se aproxima do E° característico para o processo redox, uma corrente anódica começa a aumentar até formar-se o pico. Após isso, o potencial é varrido na direção inversa. Durante a varredura invertida, as moléculas *O* (geradas no meio ciclo direto e

acumuladas próximo à superfície) são reduzidas novamente para R, gerando um pico catódico [4].

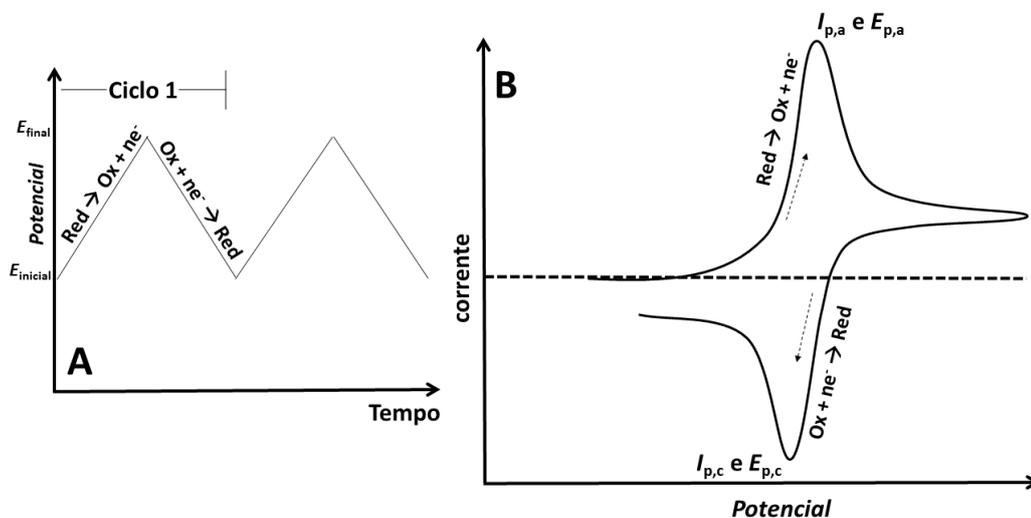


Figura 1. 4 A) Forma de variação de potencial em função do tempo na voltametria cíclica; B) típico voltamograma cíclico para um processo redox reversível. Adaptado de Wang, J. [4].

Reações químicas paralelas à reação na superfície do eletrodo podem afetar o formato do voltamograma. Os picos característicos da VC são resultado da camada de difusão próxima à superfície do eletrodo, isto é, em um processo reversível (onde existe equilíbrio dinâmico), a taxa de transferência de elétrons é controlada pelo processo de difusão [4,16]. A reversibilidade da reação é estabelecida de acordo com o transporte de massa difusional e a transferência heterogênea do analito. Estas, por sua vez, são expressas por meio da cinética eletroquímica apresentada abaixo (Equação 1), denominada Butler-Volmer:

$$\frac{i_p}{nFA} = C_{O(0,t)} k_s \exp \left[-\frac{\alpha n F}{RT} (E - E^\circ) \right] - C_{R(0,t)} k_s \exp \left[\frac{(1-\alpha)n}{RT} (E - E^\circ) \right] \quad (\text{Equação 1})$$

Onde i_p é a corrente gerada (A), A é a área do eletrodo (cm^2), k_s é a constante de taxa de transferência eletrônica heterogênea do potencial padrão ($\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$) e α é o coeficiente de transferência [9,16].

Alguns parâmetros são muito importantes em um voltamograma cíclico, como os potenciais de pico (E_{pc} e E_{pa}) e as correntes de pico (i_{pc} e i_{pa}) [17]. A corrente de pico i_p é dada pela equação de Randles-Sevcik (Equação 2):

$$i_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} \nu^{1/2} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde D é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), C é a concentração (mol cm^{-3}) e ν é a velocidade de varredura do potencial (V s^{-1}) [18]. O índice do tipo de transporte de massa pode ser encontrado por meio da raiz quadrada da velocidade de varredura ($\nu^{1/2}$) em relação à corrente

de pico, caso o gráfico apresente linearidade, isso vai significar um transporte de massa por difusão. Além disso, a separação entre os potenciais de pico do voltamograma pode fornecer informações sobre o número de elétrons envolvidos no processo redox, conforme a Equação 3 [4,12,16,17]:

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = \frac{0,059}{n} V \quad (\text{Equação 3})$$

Para processos irreversíveis, onde a transferência eletrônica na superfície do eletrodo é lenta, os picos individuais têm seu tamanho reduzido e a separação entre eles aumenta. A corrente de pico será proporcional à concentração do analito, entretanto será menor a depender do valor de α e também do valor de k_s . Sendo assim, a seguinte equação deverá ser usada para encontrar a corrente de pico (Equação 4) [4,16]:

$$i_p = (2,99 \times 10^5) n (\alpha n_a)^{1/2} A C D^{1/2} \nu^{1/2} \quad (\text{Equação 4})$$

Considerando uma reação quase-reversível, ou seja, onde $10^{-1} > k_s > 10^{-5} \text{ cm.s}^{-1}$, assume-se um processo controlado tanto pela transferência de carga quanto de massa. Dessa maneira os dois processos, direto e inverso, são importantes, mas não são rápidos o suficiente para alcançarem o equilíbrio assim como ocorre no processo reversível. Baseado nisso, uma aproximação de equação de Nernst é satisfeita [4,12]. Para resumir os três tipos de voltamogramas que são resultados diretos do processo de transferência eletrônica e compará-los em relação ao seu formato, os voltamogramas típicos de sistemas reversíveis, quase-reversíveis e os irreversíveis estão demonstrados na Figura 1.5:

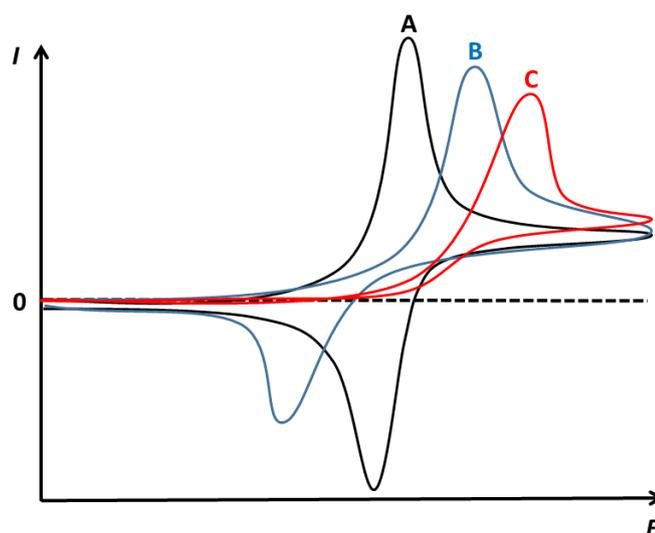


Figura 1.5 Representação de um voltamograma cíclico A) reversível; B) quase-reversível e C) irreversível. Adaptado de Lee, J [19].

1.1.1.2 Voltametria de onda quadrada (VOQ)

Esta é uma das técnicas eletroquímicas mais avançadas e poderosas para estudos mecanísticos, processos eletródicos, e medidas eletrocinética e, historicamente, teve sua origem na polarografia [20,21]. Nesta técnica, a cada degrau dessa rampa da escada de potencial, dois pulsos de potencial de igual altura e opostos são registrados (Figura 1.6A). Os dois últimos pulsos de potencial completam um único ciclo. Em outras palavras, ao final de cada pulso é registrada a corrente, tanto no sentido direto quanto no reverso, e a diferença entre elas dá origem em uma única medida voltamétrica. Logo, durante o experimento são registrados ao todo 3 voltamogramas, um com a corrente direta, um com a corrente reversa e o outro sendo a diferença entre elas (Figura 1.6B). Os principais parâmetros (Figura 1.6C) do ciclo voltamétrico resultante são: a altura de um único pulso de potencial na qual é denominada como amplitude (E_{sw}) e, podem ser atribuídos números ímpares (sentido direto) e pares (sentido reverso), o incremento de potencial (ΔE) e a frequência (f), definida como $f = 1/2t_p$. A duração de dois pulsos idênticos é definido como $t_p = \tau/2$ (onde τ é a duração de um ciclo de potencial) e a velocidade de varredura $\nu = \Delta E/\tau = f\Delta E$ [20]. As reações na superfície do eletrodo (Figura 1.6D), no decorrer do ciclo de potencial, podem ser do tipo catódicas (sentido reverso) ou anódicas (sentido direto), fornecendo uma visão do tipo de mecanismo existente [6,20,21].

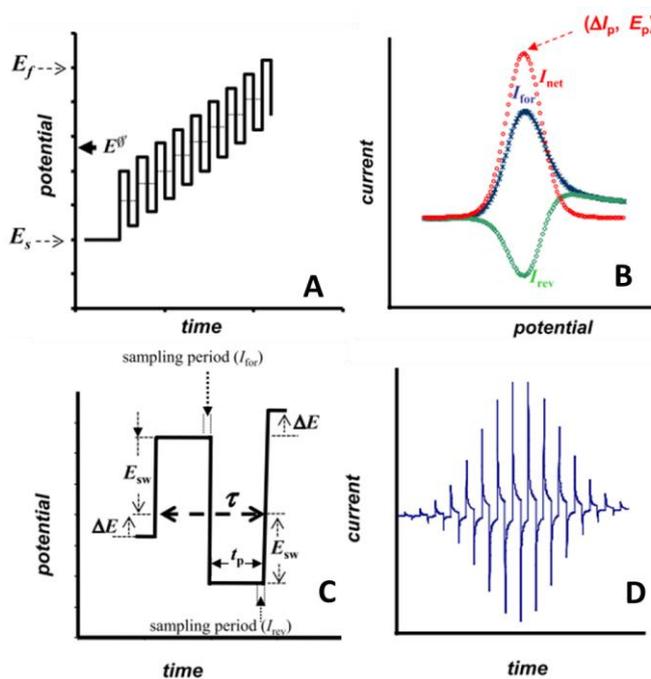


Figura 1. 6 A) modulação do potencial na voltametria de onda quadrada; B) típico voltamograma de onda quadrada; C) único ciclo de potencial; D) variação da corrente em função do tempo. Adaptado de Mirceski, Skrzypek, & Stojanov [6].

O voltamograma resultante tem o formato de um pico, semelhante a um voltamograma cíclico, e possui simetria em relação ao potencial de meia onda e a corrente de pico é proporcional à concentração. Esta técnica tem uma sensibilidade excelente em decorrência da própria corrente líquida final ser maior do que suas componentes direta e reversa. A rapidez é sua maior vantagem, logo um voltamograma completo pode ser medido em pouco segundos. Ademais, observa-se que esta técnica fornece informações análogas à voltametria cíclica, como dados mecanísticos, mas com uma sensibilidade e rapidez muito mais avançadas, típico de uma técnica de pulso além de oferecer uma redução adicional da dupla camada elétrica e da corrente de fundo, promovendo análises ainda mais precisas [6,22].

1.1.1.3 Amperometria

A amperometria convencional é uma técnica eletroquímica que constitui na aplicação de um potencial constante de oxidação ou redução a um eletrodo de trabalho (indicador) e na medição subsequente da corrente faradaica resultante em função do tempo [13,23]. O potencial otimizado é fixado em um valor durante toda a medida. Após isso, a corrente (que é proporcional à concentração do analito) em função do tempo é medida [2]. O transporte de massa é controlado apenas pela difusão, logo a curva corrente-tempo (Figura 1.7) reflete a mudança no gradiente de concentração na superfície do eletrodo [4]. Como o potencial se mantém constante, a amperometria não leva a um voltamograma [24]. As espécies eletroativas que são oxidadas ou reduzidas eletroquimicamente levam a uma corrente catódica ou anódica de estado estacionário [23].

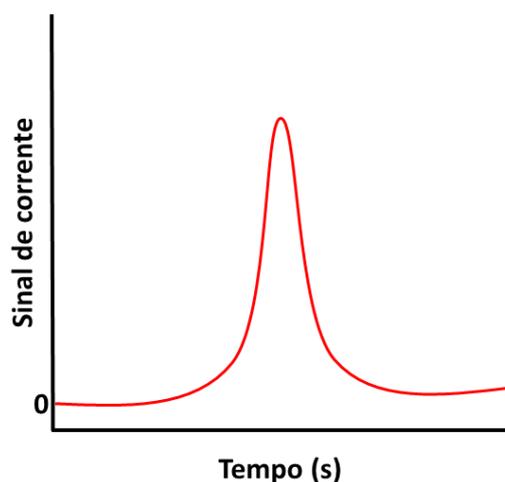


Figura 1. 7 Resposta amperométrica da corrente em função do tempo.

Esta técnica de potencial controlado traz inúmeras vantagens, dentre elas podem ser citadas: detecção de analitos em baixas concentrações e seletividade para espécies eletroativas, faixa de concentração linear geralmente bastante ampla, capacidade de especificação e uma vasta variedade de eletrodos que podem ser usados que permitem análises em ambientes comuns [23].

A reação mais simples que pode ocorrer na superfície do eletrodo polarizado no potencial apropriado, assume a seguinte forma de acordo com a Equação 5:



No potencial constante, a transferência de elétrons ocorre a uma taxa de difusão controlada. Aqui, apenas O ou R está presente, de modo que apenas uma reação na superfície do eletrodo é predominante (ou está ocorrendo uma redução ou uma oxidação), portanto, a corrente resultante é apenas faradaica devido a um processo de simples transferência de carga [1,2].

A corrente de difusão “ i ” depende do coeficiente de difusão “ D ”, do número de elétrons transferidos “ n ”, da camada de difusão “ δ ”, da área da superfície do eletrodo “ A ”, da concentração do analito “ C ” e da constante de Faraday “ F ” ($96.480 \text{ C mol}^{-1}$), como mostrado na Equação 6:

$$i = \frac{nFAD(C_{bulk} - C_{x=0})}{\delta} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde: C_{bulk} e $C_{x=0}$ representam a concentração do analito no seio da solução e a concentração na superfície do eletrodo, respectivamente [23].

No método amperométrico nem sempre é possível diferenciar seletivamente entre diversas espécies eletroativas em solução, mesmo realizando uma criteriosa seleção de potencial aplicado e/ou escolha do material do eletrodo, a corrente resultante pode ser proveniente da contribuição de várias espécies eletroativas [25,26].

A diminuição no sinal transiente de corrente e inclinação do perfil de concentração ao longo do tempo é resultado do esgotamento do reagente junto com uma expansão gradual da camada de difusão. A Equação 7, que expressa o controle de massa por difusão é dada como sendo:

$$i(t) = \frac{nFACD^{1/2}}{\pi^{1/2}t^{1/2}} = kt^{-1/2} \quad (\text{Equação 7})$$

Onde n , F , A , C , D e t são número de elétrons, constante de Faraday, área superficial, concentração, coeficiente de difusão e tempo, respectivamente [4].

Apesar de trazer vantagens, a amperometria possui alguns pontos fracos, como por exemplo, uma gradual perda de sensibilidade de detecção resultante de uma reação eletroquímica heterogênea na interface eletrodo-solução. Isso é explicado devido o produto da reação ser adsorvido na superfície do eletrodo e impedir a transferência eletrônica [27,28].

1.2 MICROFLUÍDICA

Os sistemas microfluídicos apareceram pela primeira na década de 1960. Entretanto, nesta época, esses dispositivos eram voltados ao desenvolvimento de sistemas semelhantes aos circuitos microeletrônicos, onde o fluxo de elétrons era análogo ao fluxo de fluidos. Mas foi na década de 1980, onde os sistemas miniaturizados e os MEMS (sistemas micro eletromecânicos) – com tamanhos que variavam entre 1 e 300 μm – foram ficando diversificados, sendo fabricados e aplicados em várias áreas da ciência, empregando fluxos de fluidos em condições anormais e pouco estudadas que naturalmente levaram à origem da microfluídica [29]. O primeiro sistema MEMS foi apresentado em 1982 [29,30] e depois apareceu novamente em 1984 [31]. Posteriormente, o termo MEMS foi complementado na qual eram também utilizados componentes ópticos integrados, introduzindo um novo termo, o chamado sistema micro-óptico-eletromecânico (MOEMS). Os primeiros sistemas microfluídicos previram a mudança constante que mais tarde seria uma de suas principais características [32].

Ainda na década de 1990, após o fim da guerra fria – momento onde armas químicas e biológicas representavam grande perigo –, a DARPA (Agência de projetos de pesquisa avançada de defesa) do departamento de defesa Norte-Americano apoiou diversos programas com a finalidade de desenvolver sistemas microfluídicos implantáveis em campo, justamente para serem usados como detectores de potenciais ameaças químicas e biológicas, que posteriormente serviram como o principal estímulo para o crescimento acelerado da tecnologia microfluídica acadêmica [33].

A microfluídica é uma ciência que lida com o manuseio de fluidos em várias quantidades, podendo ser da ordem de 10^{-6} a 10^{-18} litros usando canais com dimensões de 10 a 100 micrômetros [33–35]. Os canais de fluxo podem ser feitos usando materiais que estão de acordo com o conceito de química verde, como os fios de algodão [36–38], e também podem utilizar de bombeamento externo para conduzir o fluido, tal como as micro bombas [39] e as micro válvulas de acionamento [40].

Uma das possibilidades da microfluídica é fornecer um processo em uma única etapa, desde a aplicação da amostra até a geração dos resultados analíticos, em sistemas integralizados. Além disso, a microfluídica objetiva-se criar dispositivos que possam ser integralizados a ponto de diminuir o tempo da análise, podendo adicionar automação, diminuir o desperdício, além de poder proporcionar maior precisão e exatidão, fazendo isso com um baixo consumo de reagentes e mínima geração de resíduos, contribuindo com o conceito de Química verde [41]. Assim, o sistema microfluídico também é chamado de biochip ou microssistemas de análise total (μ TAS) e *lab-on-a-chip* (LOC) [34]. De uma forma geral, em todos esses sistemas microfluídicos é possível dimensionar as funções simples ou múltiplas de um laboratório em um único dispositivo[42]. Acredita-se que esses LOCs venham se tornar uma grande revolução no campo da química e da biologia, assim como os circuitos integrados foram na computação [43].

A microfluídica atualmente apresenta grande potencial para ser usada como uma tecnologia analítica miniaturizada para aplicações biomédicas e químicas devido muitas dessas aplicações necessitarem do manuseio de fluidos em suas análises. Em função dessa possibilidade de miniaturização, muitas vantagens são promovidas, como um baixo consumo de reagentes, redução do risco de contaminação, baixo custo, aprimoramento da sensibilidade e especificidade, capacidade de usar pequenas quantidades de amostras e reagentes, realizar separações e detecções com alta resolução e rapidez da análise dependendo da técnica eletroquímica utilizada [33,34,44–46]. Além disso, em outras áreas da ciência, como biologia, e eletrônica, a microfluídica tem sido amplamente aplicada devido suas diversas vantagens já citadas [47]. A Figura 1.8 apresenta o número de publicações feitas desde o ano de 2010 que estão relacionadas aos dispositivos microfluídicos utilizando as seguintes palavras-chave: *microfluidic device*. Como pode-se observar, existe um crescente número de publicações sobre este tema, o que mostra que cada vez mais a comunidade científica tem buscado novas aplicações para os dispositivos microfluídicos.

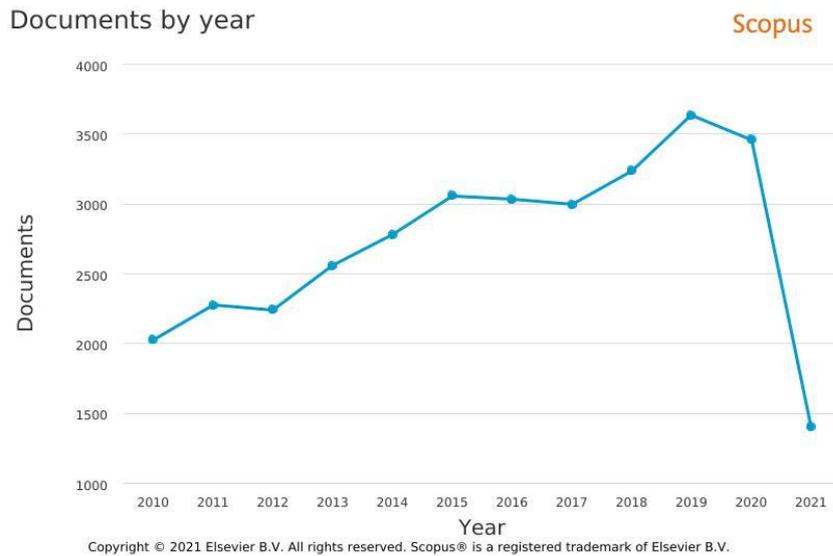


Figura 1. 8 Número de publicação por ano indexadas na base de dados *Scopus* para dispositivos microfluídicos. Adaptado da base de dados *Scopus*.

Os dispositivos microfluídicos são fabricados utilizando uma vasta variedade de substratos [47,48]. Os principais materiais utilizados são o PDMS (polidimetilsiloxano), o papel, o vidro e os termoplásticos [49–53]. No caso do PDMS, existem alguns desafios que dificultam a produção de dispositivos microfluídicos feitos com esse material, tal como a própria montagem ser um processo totalmente manual, sendo difícil a automatização completa, além de muitas vezes ser necessário a utilização de um sistema controlado para operar válvulas microfluídicas (computadores, softwares, fontes e outros equipamentos) ou para conectar chips relativamente simples. O papel, apesar de ser emergente e ter um custo baixo, possui pouca resistência mecânica quando comparados aos já citados e, necessita de barreiras hidrofóbicas para conduzir o fluido e impedir seu espalhamento [54]. Já o vidro é um material que não necessita de barreiras hidrofóbicas, é resistente termicamente e quimicamente e foi um dos primeiros substratos utilizados na fabricação de dispositivos microfluídicos. Porém, no processo de fabricação é necessário a utilização de ácido fluorídrico, o que torna o procedimento perigoso, além disso o custo da fabricação é elevada e existe uma dificuldade em integralizar o sistema, pois é preciso utilizar altas pressões e temperaturas para promover junções das partes do dispositivo, tornando o processo mais caro e restringindo o uso desse material como substrato para confecção de dispositivos microfluídicos [52,55]. Os termoplásticos, por sua vez, são filamentos que possuem uma certa resistência térmica e podem apresentar diferentes características físicas, químicas e mecânicas dependendo do seu polímero precursor. Esses filamentos podem ser encontrados em diversas formas, mas os mais

conhecidos e comumente usados são os filamentos ABS (acrilonitrila butadieno estireno) e PLA (ácido polilático) [56].

O PLA é um material biodegradável, higroscópico, fácil de manusear e aceita temperaturas de até 230 °C. Por possuir uma resistência térmica considerada baixa, em relação a outros termoplásticos, o PLA pode se tornar frágil dependendo da finalidade de seu uso. Já o ABS é um material que apresenta boa resistência térmica (aceita temperaturas de até 250 °C), tem alta resistência mecânica e flexibilidade moderada. Geralmente os filamentos de PLA e ABS são muito utilizados na confecção de objetos tridimensionais para aplicações eletroanalíticas, como por exemplo, dispositivos microfluídicos impressos em 3D [56].

Existem inúmeros estudos que buscam avaliar o potencial de mercado e as principais aplicações, tecnologias e o crescimento da microfluídica no mercado. Um dos estudos mais relevantes sobre esse assunto é publicado anualmente pela *Yole Développement*. A referida instituição publicou em 2019, o status da microfluídica no mercado industrial (Figura 1.9), na qual consta que em 2018 o mercado de produtos microfluídicos, em estimativa, tenha alcançado US\$8,7 bilhões, e estima-se que até 2024 terá um crescimento de CAGR^a₂₀₁₉₋₂₀₂₄ de 11,7 %, alcançando US\$17,4 bilhões [57], demonstrando o grande potencial científico e comercial das tecnologias microfluídicas.

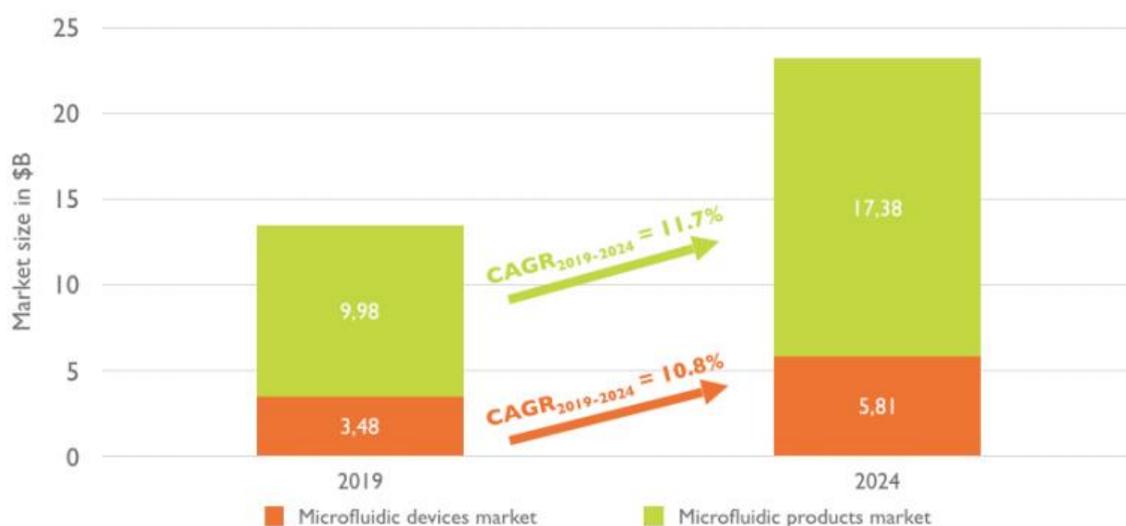


Figura 1. 9 Mercado Global de produtos e dispositivos microfluídicos: previsão de 2019-2024. Retirado de *Yole Développement* [54].

^a CAGR (traduzido do inglês “taxa de crescimento anual composta”) é um termo específico usado no mundo dos negócios e investimentos que fornece dados de progressão geométrica (por meio de uma figura representacional), ou seja, uma estimativa, para um estudo em um período de tempo.

Com esse crescente aumento na tecnologia microfluídica, está cada vez mais fácil a integração dos métodos eletroanalíticos a essas plataformas microfluídicas, pois por se basearem no transporte do analito através de um fluxo de eletrólito, a simplicidade, rapidez e especificidade são suas principais características. Ademais, caso o sistema sofra uma modificação, como o tamanho por exemplo, os resultados analíticos e sua sensibilidade não são influenciados [55-57]. Essa facilidade de associar técnicas eletroquímicas com dispositivos em fluxo levaram a eletroanálise a um outro nível [4].

1.2.1 Impressão 3D de dispositivos microfluídicos

Nos últimos anos a acessibilidade de impressoras 3D para o público geral cresceu substancialmente e, esse aumento das vendas mundiais, na qual incluem a impressão 3D de dispositivos, serviços, softwares e materiais, estima-se ter chegado em torno de US\$ 12,1 bilhões em 2019, sendo observado um crescimento de 25% ano a ano desde 2014 e, espera-se que até 2024 esse número alcance US\$ 35 bilhões [58].

A impressão 3D é uma tecnologia de manufatura aditiva na qual objetos tridimensionais são criados com camadas sucessivas de um material. Essa tecnologia é muito vantajosa, pois as impressoras 3D são ágeis, econômicas, fáceis de usar e possibilitam a impressão de peças e conjuntos utilizando diferentes materiais com diferentes propriedades físicas e mecânicas em um único processo automatizado de construção. Por ser uma tecnologia recente, está havendo um crescimento exponencial da impressão 3D de dispositivos eletroquímicos que estão sendo empregados em diversos tipos de aplicações, formatos e designs [59], como por exemplo células eletroquímicas para remoção de metais, detecção de glicose, de fármacos, de antioxidantes, de drogas ilícitas e etc. [60–63] Além disso, a impressão 3D também oferece o potencial de criar dispositivos microfluídicos com uma ótima qualidade de acabamento. [64,65]. Esse emprego recente da tecnologia de impressão 3D na microfluídica, que é mostrado na Figura 1.10 (palavras-chaves: *3D printed microfluidic device*), trouxe novos tipos de materiais na prototipagem de dispositivos [66] como os filamentos termoplásticos, que é o caso do ABS (acrilonitrila butadieno estireno), que é naturalmente não condutor, e é uma alternativa interessante para ser utilizado como substrato de um dispositivo microfluídico, sendo comum encontrar na literatura objetos tridimensionais feitos em ABS, pois este apresenta boas propriedades mecânicas, facilidade de processamento, possibilidade de reaproveitamento e é

produzido no mundo todo, demonstrando o potencial desse material para miniaturização e manufatura aditiva na Química Analítica [67–70].

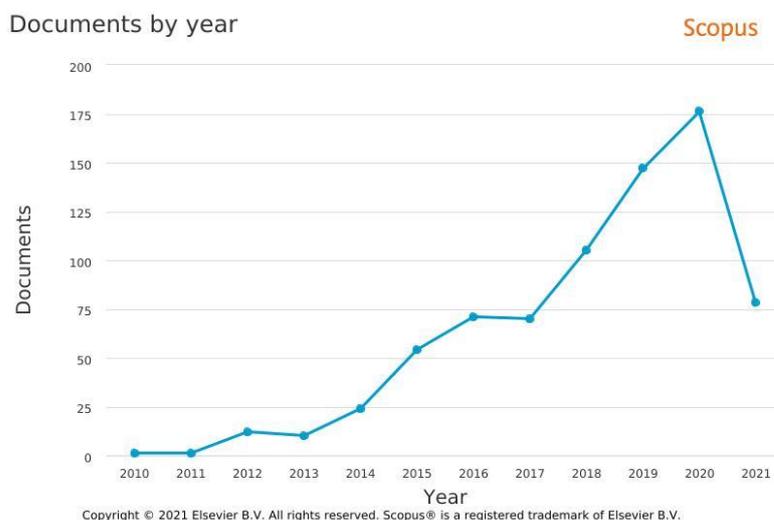


Figura 1. 10 Número de publicação por ano indexadas na base de dados *Scopus* para dispositivos microfluídicos impresso em 3D. Adaptado da base de dados *Scopus*.

Os materiais usados na confecção dos dispositivos microfluídicos são selecionados de acordo com a sua funcionalidade e examina-se também os desafios em sua fabricação e, a partir disso, explora-se e desenvolve-se tecnologias para configurações mais integralizadas e automatizadas, na qual incluem a impressão 3D [71]. A impressão 3D não busca substituir a moldagem por injeção, visto que uma impressora não tem a capacidade de realizar uma produção em escala industrial, mas, a impressão 3D – refere-se a um conjunto de técnicas de manufatura aditiva que cria objetos tridimensionais (3D) sólidos, camada por camada – é um processo de prototipagem rápida que permite fabricar uma quantidade pequena de peças, de forma digital, e simultaneamente transita suavemente entre a moldagem por injeção e a exigência de um alto rendimento de produção [65].

Dentre as técnicas de impressão 3D, está a FDM (traduzido do inglês, Modelagem por Deposição Fundida), também referida como FFF (Fabricação de Filamento Fundido) ou extrusão de termoplásticos, a qual consiste no aquecimento de um material termoplástico, que é extrudado por meio de um bico motorizado que se move em três direções (Figura 1.11). Este bico extrusor é responsável pela construção do objeto tridimensional. O movimento dos eixos X, Y e Z podem mudar de acordo com a impressora 3D utilizada, mas de todo modo seguem o sistema de coordenadas Cartesianas [56]. Após o resfriamento espontâneo, o material se solidifica imediatamente. Esta técnica foi criada por Scott Crump em 1992 e comercializada

pela Stratasys, Ltd., e atualmente existem diversas impressoras que realizam este tipo de impressão. O nome FDM foi registrado pela Starstrasys Inc. e o FFF foi um nome alternativo criado por alguns usuários, mas ambos referem-se à mesma tecnologia [65,72]. A impressão utilizando FDM possibilita utilização de muitos materiais polímeros biocompatíveis, tais como ABS (acrilonitrila butadieno estireno), PLA (ácido polilático), policarbonatos, poliamidas, dentre outros [65]. A utilização desta técnica produz uma anisotropia^b nas propriedades do material que é um pouco maior quando comparado com outras técnicas de impressão como a estereolitografia (SL) [73]. Além disso, a utilização de aquecimento durante a impressão favorece a aderência das camadas de filamentos umas sobre as outras. Entretanto, uma desvantagem dessa técnica é a incompatibilidade da maioria desses filamentos termoplásticos com alguns solventes orgânicos, como por exemplo a acetona, 2-butanona, diclorometano, tetraidrofurano e o clorofórmio, que podem promover a corrosão de materiais feitos de PLA e ABS [74]. Por outro lado, a FDM apresenta um baixo custo de impressão, ampla variedade de materiais disponíveis e com preço acessível, possibilidade de impressão de múltiplos objetos simultaneamente e possibilidade de impressão em larga escala [56].

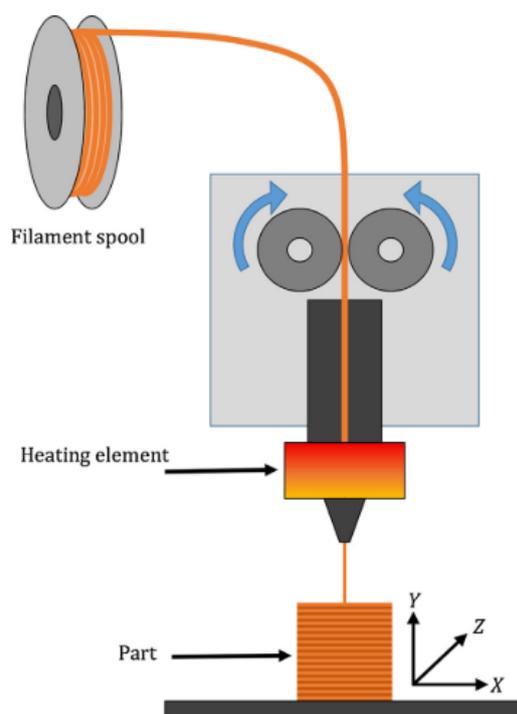


Figura 1. 11 Representação de uma impressão 3D por meio da técnica FDM. Retirado de Stansbury & Idacavage [72].

^b Anisotropia é uma característica de um determinado material onde suas propriedades não são iguais em todas as direções em que são medidas, no caso de um material impresso por FDM, isso se deve ao fato da distorção térmica associada ao resfriamento do material não ser uniforme após a impressão.

A SL também é uma técnica utilizada na manufatura de impressão 3D de dispositivo microfluídicos. A SL faz parte da tecnologia conhecida como fotopolimerização em cuba, junto com outra técnica chamada de Processamento Digital de Luz (DLP, do inglês “*Digital Light Processing*”). Nesta técnica a impressora 3D usa fontes de luz, seja LED (traduzido do inglês, Diodo emissor de luz) de alta intensidade ou luz ultravioleta (UV) para promover o processo de cura ou polimerização da resina empregada como substrato. Além disso, o processo é todo manual e a resolução do dispositivo dependerá da própria absorção das fotorresinas utilizadas, sendo este um processo não controlável [75,76]. Enquanto a SL usa luz UV/LED, a DLP usa um projetor digital para gerar uma única imagem de cada camada de uma vez por meio de uma tela digital e um conjunto de lentes que projetam a imagem sobre a resina, resultando em uma camada formada de pequenos blocos retangulares [56].

Como foi visto, ambas as tecnologias de impressão apresentadas permitem a confecção de dispositivos microfluídicos, cada uma da sua maneira. Entretanto, a fotopolimerização em cuba, que incluem a SL e a DLP, está perdendo popularidade por apresentar um processo de produção demorado e ainda manual, além disso não existem muitos materiais que podem ser utilizados nessas técnicas, requerem pós-processamento e não permitem a impressão de grandes volumes de objetos [56]. Já na técnica de impressão por FDM o processo que acontece é apenas uma fusão de filamentos termoplásticos, o que diminui o custo da técnica e ainda permite a produção de objetos tridimensionais versáteis, automatizados, em maior escala e com formas e dimensões moduláveis, possibilitando a criação de diversos tipos de designs para atender a demanda da Química Analítica moderna [68].

1.2.2 Dispositivo eletroquímico microfluídico baseado em fios (μ TED)

Um novo conceito de sistema microfluídico de baixo custo baseado em fios de algodão foi reportado em 2010 por Li e colaboradores [75] e por Reches e colaboradores [77]. O uso de fios de algodão como canais microfluídicos trazem diversos benefícios tais como: flexibilidade, alta resistência mecânica, possibilidade de reutilização, não necessita de energia externa para promover o fluxo (devido à sua propriedade hidrofílica), não requer barreiras hidrofóbicas, pode ser facilmente manipulado, é biodegradável, possui custo relativamente baixo e possibilita a integralização em estruturas 3D [37,38,52,78–81].

Baseado nesse conceito de utilizar fios de algodão para transportar um fluido por capilaridade, em 2016 um grupo de pesquisadores (Deonir Agustini, Márcio F. Bergamini e

Luiz Humberto Marcolino-Junior) da Universidade Federal do Paraná – UFPR – PR, Brasil, desenvolveram pela primeira vez um dispositivo microfluídico eletroanalítico baseado em fios (μ TED, do inglês “*microfluidic thread-based electroanalytical device*”) e demonstraram seu potencial para aplicações analíticas [52]. Nesta abordagem, a plataforma foi construída com lâminas de vidro para microscópio, apresentando um detector eletroquímico de grafite de lapiseira e utilizando os fios de algodão hidrofílico como canais microfluídicos, conforme mostrado na Figura 1.12:

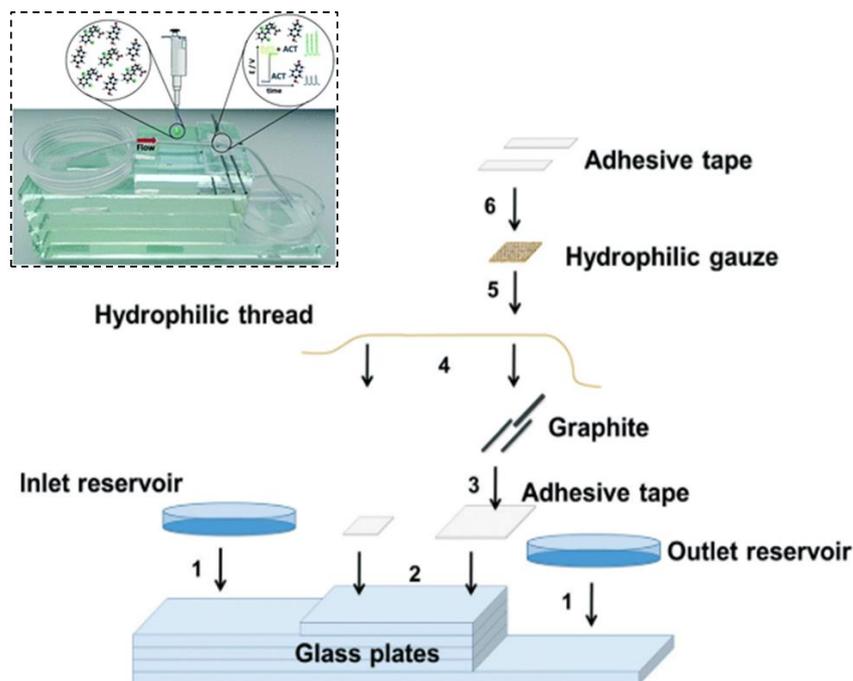


Figura 1. 12 Representação do processo de montagem do μ TED mostrando os materiais que compõem o dispositivo e os passos de montagem. O *inset* mostra o dispositivo totalmente montado. Adaptado de Agustini *et. al.* [52].

A forma de condução do fluido até o detector ocorre da seguinte maneira: o fluido flui através dos fios por um processo de absorção resultante de forças capilares geradas no interior de lacunas entre as fibras alinhadas, conduzindo o fluxo ao longo da extensão do fio [77,79,80,82–86]. O manuseio de fluidos em sistemas microfluídicos é um grande desafio, pois na forma tradicional usa-se bombas externas ou micro bombas que apresentam uma certa dificuldade de ser integrada aos sistemas. Com isso, para superar essa limitação, o bombeamento passivo, utilizando os fios de algodão, é uma das melhores alternativas, pois com esses canais microfluídicos baseados em fios de algodão o transporte da solução por força capilar reduz consideravelmente a força mecânica necessária para o movimento do fluido

através dos fios [87]. Contudo, como uma forma de reforçar o movimento do fluxo, por absorção capilar, é utilizar a própria força da gravidade para atingir maiores taxas de fluxo [80,85]. Entretanto, o movimento do fluxo por força capilar assistido pela gravidade ainda não poder ser descrito como preciso ou controlável [88]. A aplicação de sistemas microfluídicos baseados em fios de algodão na detecção eletroanalítica de diversos analitos vem sendo demonstrada em alguns artigos, que mostram a capacidade desse tipo de sistema ser usado na área de eletroquímica, como na determinação de espécies eletroativas em amostras de águas, alimentícias, farmacêuticas, biológicas, dentre outros analitos [37,52,78,80,89].

1.3 SENSORES ELETROQUÍMICOS À BASE DE CARBONO

Nos últimos anos têm crescido substancialmente a quantidade de novos sensores eletroquímicos que vem sendo desenvolvidos e aplicados em diversos campos e com diversas formas de fabricação. Ademais, no campo de análises ambientais, muitos esforços são feitos para que poluentes, orgânicos e inorgânicos, possam ser analisados por meio de sensores eletroquímicos portáteis à base de carbono [90–96].

Muitas são as vantagens de utilizar eletrodos à base de carbono na eletroanálise, como por exemplo a ampla faixa de potencial, corrente de fundo baixa (menor ruído), inércia química, disponibilidade em diversas formas (carbono vítreo, fibra de carbono, diamante dopado com boro, pasta de carbono, grafite, carbon black) e com baixo custo, características essas que os tornam uma alternativa aos eletrodos metálicos [1,13,97,98].

Um material muito comum utilizado como eletrodo é o grafite de lapiseira (PGE – do inglês, *Pencil Graphite Electrode*). Algumas características o tornam uma excelente opção para compor um eletrodo em relação a outros materiais convencionais, sendo elas: fácil manuseio, vasta disponibilidade, é facilmente encontrado, possui baixo custo, é descartável, sua superfície é facilmente renovável, é atóxico, portátil, estável química e mecanicamente, possui aceitável sensibilidade e seletividade, possibilidade de miniaturização, boa condutividade e superfície eletroativa ajustável [99–104]. Sua composição consiste em uma mistura de grafite natural (75-80 %), aglutinante orgânico (13 %) e óleo fuso (8 %) que é espremida em formato de haste e aquecida 300 °C para desidratação seguida de uma sinterização a 1000 °C [105]. Além disso, o grafite é a forma mais estável de carbono, sendo encontrado em carvão e minérios naturais. PGEs possuem uma subclassificação que relaciona a quantidade de grafite nele, sendo de dois tipos: *H* (representando sua dureza, do inglês *hardness*) e *B* (representando sua negritude, do

inglês *blackness*), aquele com maior teor de grafite, é também o mais macio. A junção *HB* também existe, tendo a mesma quantidade em argila a grafite. Ambos possuem numerações que representam sua dureza e maciez, variando de 1 a 9 [98,104,106,107].

Baseado em todas as características eletroquímicas e vantagens econômicas já mencionadas, nos últimos anos a aplicação de eletrodos PGE tem se difundido muito, principalmente na eletroanálise. Vários compostos de diferentes amostras como pesticidas, águas ou fluidos biológicos complexos já foram detectados utilizando PGEs [108–114].

Um outro material eletródico à base de carbono é o *carbon black* (traduzido do inglês – negro de fumo), obtido da queima de derivados de petróleo. É um nanomaterial de alta condutividade elétrica de superfície irregular. Possui locais com falhas e exibe rápida cinética de transferência eletrônica, além de ser dispersível em solventes e de fácil funcionalização [115–119].

Por ser um material de baixo custo, a aplicação de *carbon black* em dispositivos eletroquímicos tem avançado muito, principalmente em sensores e biossensores. O CB é comparável a outros eletrodos à base de nanomateriais de carbono já bastante conhecidos, como grafite, nanotubos de carbono e fulerenos (C_{60}) [119].

A partícula primária de CB é formada de finas partículas de carbono elementar, com estrutura amorfa e quase grafítica, que em média possui tamanho da ordem de 10 a 100 nm. Uma de suas características é a formação de aglomerados nanoestruturados devido seu agrupamento ser semiesférico [119]. Para um melhor entendimento, a Figura 1.13 mostra a disposição das partículas de CB.

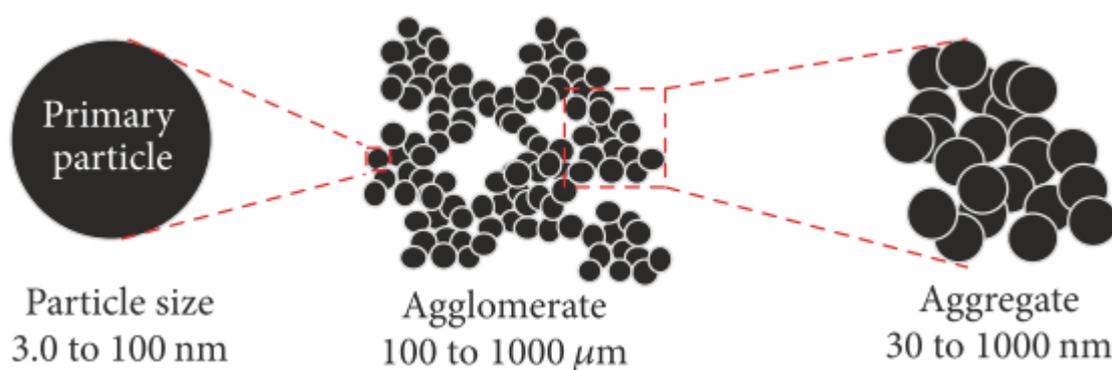


Figura 1. 13 Esquema morfológico das partículas de CB. Retirado de Silva et. al. [119].

Visto suas características estruturais e eletrônicas, muitas áreas da ciência moderna já empregam CB para detecção eletroquímica de diversos analitos. Atualmente, encontram-se também disponíveis filamentos comerciais contendo partículas de CB para possibilitar o

desenvolvimento de sensores eletroquímicos funcionais, como por exemplo o filamento comercial de CB/PLA, que possui alta condutividade, resistência térmica e mecânica e possibilidade de funcionalização [68,120].

Por ser um termoplástico, o filamento comercial CB/PLA permite o uso da impressão 3D para a produção de sensores eletroquímicos. Eletrodos de CB/PLA impresso em 3D são considerados novos e emergentes. A sua utilização em eletroanalítica como detectores eletroquímicos para amostras inorgânicas, farmacêuticas, fluidos corporais, contaminantes ambientais, dentre outros têm sido relatada constantemente e se mostrado bastante promissora [67,121–125].

1.4 CONTAMINANTES AMBIENTAIS

Com a população mundial sempre crescendo, vários desafios e esforços, tanto políticos quanto científicos, estão sendo feitos para combater a escassez de recursos hídricos, contaminantes do ar, do solo e dos corpos aquáticos, visando diminuir, na medida do possível, os impactos para o meio ambiente e para a saúde humana de materiais tóxicos [126].

Quando certos tipos de compostos, como metais, pesticidas, nitratos, ou hidrocarbonetos, entram em contato com o meio ambiente, de forma descontrolada ou não, tornam-se uma preocupação ambiental mundial. Podendo ter origem industrial (refinarias, plantas de tratamento de água ou petroquímicas), hospitalar (resíduos bioquímicos) ou da atividade agrícola (pesticidas e fungicidas) são todas fontes de contaminantes ambientais [127–132].

Os pesticidas são muito associados à poluição ambiental, neles estão inseridos vários grupos de inseticidas, fungicidas, herbicidas, produtos químicos para jardins, desinfetantes domésticos e rodenticidas (veneno de rato) que são usados no controle de pragas. Com propriedades físicas e químicas que podem variar de uma classe para outra, os pesticidas são compostos químicos sintéticos feitos pelo homem e não são encontrados em sua forma pura na natureza. São classificados em quatro tipos, de acordo com sua estrutura química: carbamatos, organofosforados, organoclorados e piretróides [133,134]. A maneira como o pesticida interage com a praga alvo é chamado de modo de entrada [135]. Todos eles estão envolvidos em uma ampla gama de micropoluentes orgânicos que têm efeitos negativos no meio ambiente. As duas principais formas de contaminação ambiental são: biomagnificação e bioconcentração. A biomagnificação ocorre quando organismos vivos menores são comidos por organismos vivos

maiores e nesse meio tempo os pesticidas é gradualmente amplificado nessa cadeia alimentar, isso significa que o nível de contaminação é maior em predadores maiores, incluindo os seres humanos. Já na bioconcentração, a contaminação ocorre quando o organismo absorve o contaminante do meio de forma direta (exposição) ou indireta (ingestão) em quantidades mais elevadas em relação à biomagnificação [136–140].

Os impactos ecológicos e à saúde humana desses produtos químicos são um problema mundial, com efeitos que podem ser até mesmo crônicos [141]. Devido a esses problemas ambientais, os sensores eletroquímicos são umas das alternativas que podem ser usadas como ferramentas analíticas de monitoramento e detecção de contaminantes ambientais [142,143].

Diante da revisão da literatura, este trabalho visa propor novas metodologias baseadas no uso de dispositivo microfluídico e aplicação de técnicas eletroquímicas para monitoramento e detecção de contaminantes ambientais utilizando eletrodos de carbono de baixo custo. Além disso, será empregada a técnica de impressão 3D para prototipagem de um sistema de 3 eletrodos e de um dispositivo microfluídico e, por meio de técnicas voltamétricas e de amperometria, será realizada a determinação eletroanalítica de benzovindiflupir e do íon nitrito em amostras reais.

1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS I

- [1] C.M.A. Brett, A.M.O. Brett, *Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*, 1st ed., Oxford University Press, 1993.
- [2] C.G. Zoski, *Handbook of Electrochemistry*, Elsevier, 2007. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-51958-0.X5000-9>.
- [3] L. Hart, *Electrochemistry and Electrochemical Engineering*, Library Press, New York, 2018.
- [4] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 3rd ed., John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 2006. <https://doi.org/10.1002/0471790303>.
- [5] S. GLASSTONE, *An introduction to ELECTROCHEMISTRY*, 4th ed., AFFILIATED EAST-WEST PRESS PVT. LTD., 1974.
- [6] V. Mirceski, S. Skrzypek, L. Stojanov, Square-wave voltammetry, *ChemTexts*. 4 (2018) 17. <https://doi.org/10.1007/s40828-018-0073-0>.
- [7] R. Memming, *Semiconductor Electrochemistry*, 2nd ed., WILEY-VCH, Weinheim, Germany, 2015.
- [8] J.D. Wadhawan, R.G. Compton, *Electrochemistry*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2012. <https://doi.org/10.1039/9781849734820>.
- [9] W.F. Pacheco, F.S. Semaan, V.G.K. De Almeida, A.G.S.L. Ritta, R.Q. Aucélio, Voltammetry: A brief review about concepts, *Rev. Virtual Quim.* 5 (2013) 516–537. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130040>.
- [10] D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, S.R. Crouch, *Fundamentos de Química Analítica*, 8th ed., 2006.
- [11] C. Lefrou, P. Fabry, J.-C. Poignet, *Electrochemistry: The Basics, With Examples*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-30250-3>.
- [12] F. Scholz, *Electroanalytical Methods*, 2nd ed., Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2010. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-02915-8>.
- [13] P.T. Kissinger, W.R. Heineman, *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2nd ed., Marcel Dekker, Inc., 1996.
- [14] S.D. Minteer, *Advances in Electroanalytical Chemistry*, *J. Am. Chem. Soc.* 140 (2018) 2701–2703. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b00986>.

- [15] M. Trojanowicz, Recent developments in electrochemical flow detections-A review. Part I. Flow analysis and capillary electrophoresis, *Anal. Chim. Acta.* 653 (2009) 36–58. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.08.040>.
- [16] D.K.J. Gossler, *Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*, VCH Publishers, Inc., New York, 1994. <https://doi.org/10.1080/00945719408001398>.
- [17] J. P.S., D.S. Sutrave, A Brief Study of Cyclic Voltammetry and Electrochemical Analysis, *Int. J. ChemTech Res.* 11 (2018) 77–88. <https://doi.org/10.20902/ijctr.2018.110911>.
- [18] P.S. Nnamchi, C.S. Obayi, *Electrochemical characterization of nanomaterials*, Elsevier Ltd., 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101973-3.00004-3>.
- [19] J. Lee, *Electrochemical Sensing of Oxygen Gas in Ionic Liquids on Screen Printed Electrodes*, 2014. https://www.researchgate.net/publication/301647753_Electrochemical_Sensing_of_Oxygen_Gas_in_Ionic_Liquids_on_Screen_Printed_Electrodes.
- [20] V. Mirceski, R. Gulaboski, Recent advances in square-wave voltammetry: A review, *Maced. J. Chem. Chem. Eng.* 33 (2014) 1–12.
- [21] V. Mirceski, R. Gulaboski, M. Lovric, I. Bogeski, R. Kappl, M. Hoth, Square-Wave Voltammetry: A Review on the Recent Progress, *Electroanalysis.* 25 (2013) 2411–2422. <https://doi.org/10.1002/elan.201300369>.
- [22] Á. Molina, J. González, A. Molina, J. González, *Pulse Voltammetry in Physical Electrochemistry and Electroanalysis*, Springer International Publishing, Cham, 2016. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-21251-7>.
- [23] A. Amine, H. Mohammadi, Amperometry, in: *Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem. Eng.*, Elsevier, 2018: pp. 85–98. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14204-0>.
- [24] D. (DePauw U. Harvey, *Modern analytical chemistry*, 1st ed., The McGraw-Hill Companies, Inc, 2000.
- [25] F. Ricci, A. Amine, D. Moscone, G. Palleschi, A probe for NADH and H₂O₂ amperometric detection at low applied potential for oxidase and dehydrogenase based biosensor applications, *Biosens. Bioelectron.* 22 (2007) 854–862. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2006.03.004>.
- [26] L. El Harrad, A. Amine, Amperometric biosensor based on prussian blue and nafion modified screen-printed electrode for screening of potential xanthine oxidase inhibitors from

medicinal plants, *Enzyme Microb. Technol.* 85 (2016) 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2016.01.006>.

[27] S.M. Hughes, Are guanine nucleotide binding proteins a distinct class of regulatory proteins?, *FEBS Lett.* 164 (1983) 1–8. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(83\)80006-4](https://doi.org/10.1016/0014-5793(83)80006-4).

[28] J.E. Anderson, A.M. Bond, I.D. Heritage, R.D. Jones, G.G. Wallace, Transient Electrochemical Techniques in Liquid Chromatography with Microprocessor-Based Instrumentation, *Anal. Chem.* 54 (1982) 1702–1705. <https://doi.org/10.1021/ac00248a011>.

[29] P.L. Chen, R.S. Muller, R.D. Jolly, G.L. Halac, R.M. White, A.P. Andrews, T.C. Lim, M.E. Motamedi, Integrated Silicon Microbeam Pi-Fet Accelerometer, *IEEE Trans. Electron Devices.* 29 (1982) 27–33. <https://doi.org/10.1109/T-ED.1982.20654>.

[30] K.E. Petersen, A. Shartel, N.F. Raley, Micromechanical Accelerometer Integrated With Mos Detection Circuitry, *IEEE Trans. Electron Devices.* 29 (1982) 23–27. <https://doi.org/10.1109/T-ED.1982.20653>.

[31] P.L. Chen, R.S. Muller, A.P. Andrews, Integrated silicon pi-fet accelerometer with proof mass, *Sensors and Actuators.* 5 (1984) 119–126. [https://doi.org/10.1016/0250-6874\(84\)80002-5](https://doi.org/10.1016/0250-6874(84)80002-5).

[32] B.E. Rapp, Introduction, in: *Microfluid. Model. Mech. Math.*, Elsevier, 2017: pp. 3–7. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4557-3141-1.50001-0>.

[33] G.M. Whitesides, The origins and the future of microfluidics, *Nature.* 442 (2006) 368–373. <https://doi.org/10.1038/nature05058>.

[34] Y. Song, D. Cheng, L. Zhao, K.F. Lei, Introduction: The Origin, Current Status, and Future of Microfluidics, in: *Microfluid. Fundam. Devices Appl.*, first edit, 2018: pp. 1–18. <https://doi.org/10.1002/9783527800643.ch1>.

[35] P. Tabeling, *Introduction to microfluidics*, New York, 2005.

[36] D. Agustini, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, Low cost microfluidic device based on cotton threads for electroanalytical application, *Lab Chip.* 16 (2016) 345–352. <https://doi.org/10.1039/C5LC01348H>.

[37] E.A. Carneiro, D. Agustini, L.C.S. Figueiredo-Filho, C.E. Banks, L.H. Marcolino-Junior, M.F. Bergamini, 3D-printed Microfluidic Device Based on Cotton Threads for Amperometric Estimation of Antioxidants in Wine Samples, *Electroanalysis.* 30 (2018) 101–108. <https://doi.org/10.1002/elan.201700579>.

- [38] D. Agustini, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, Characterization and optimization of low cost microfluidic thread based electroanalytical device for micro flow injection analysis, *Anal. Chim. Acta.* 951 (2017) 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.11.046>.
- [39] P. Woias, Micropumps—past, progress and future prospects, *Sensors Actuators B Chem.* 105 (2005) 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2004.02.033>.
- [40] K.W. Oh, C.H. Ahn, A review of microvalves, *J. Micromechanics Microengineering.* 16 (2006). <https://doi.org/10.1088/0960-1317/16/5/R01>.
- [41] C.M. Li, H. Dong, Q. Zhou, K.H. Goh, Biochips - fundamentals and applications, in: *Electrochem. Sensors, Biosens. Their Biomed. Appl.*, Academic Press, 2008: pp. 307–383. <https://doi.org/10.1016/B978-012373738-0.50013-1>.
- [42] S. Gupta, K. Ramesh, S. Ahmed, V. Kakkar, Lab-on-chip technology: A review on design trends and future scope in biomedical applications, *Int. J. Bio-Science Bio-Technology.* 8 (2016) 311–322. <https://doi.org/10.14257/ijbsbt.2016.8.5.28>.
- [43] F. Bragheri, R. Martinez Vazquez, R. Osellame, Microfluidics, in: *Three-Dimensional Microfabr. Using Two-Phot. Polym.*, Elsevier, 2016: pp. 310–334. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35321-2.00016-9>.
- [44] S. Prakash, M. Pinti, B. Bhushan, Review article: Theory, fabrication and applications of microfluidic and nanofluidic biosensors, *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* 370 (2012) 2269–2303. <https://doi.org/10.1098/rsta.2011.0498>.
- [45] C. Rivet, H. Lee, A. Hirsch, S. Hamilton, H. Lu, Microfluidics for medical diagnostics and biosensors, *Chem. Eng. Sci.* 66 (2011) 1490–1507. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2010.08.015>.
- [46] A. Manz, D.J. Harrison, E.M.J. Verpoorte, J.C. Fettinger, A. Paulus, H. Lüdi, H.M. Widmer, Planar chips technology for miniaturization and integration of separation techniques into monitoring systems. Capillary electrophoresis on a chip, *J. Chromatogr. A.* 593 (1992) 253–258. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)80293-4](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)80293-4).
- [47] H. Fallahi, J. Zhang, H.P. Phan, N.T. Nguyen, Flexible microfluidics: Fundamentals, recent developments, and applications, *Micromachines.* 10 (2019). <https://doi.org/10.3390/mi10120830>.
- [48] Y. Song, D. Cheng, Perspective for Microfluidics, in: *Microfluid. Fundam. Devices Appl.*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2018: pp. 517–540.

<https://doi.org/10.1002/9783527800643.ch17>.

[49] E.K. Sackmann, A.L. Fulton, D.J. Beebe, The present and future role of microfluidics in biomedical research, *Nature*. 507 (2014) 181–189. <https://doi.org/10.1038/nature13118>.

[50] H. Becker, L.E. Locascio, *Polymer microfluidic devices*, 2002. www.elsevier.com/locate/talanta (accessed August 26, 2020).

[51] J.C. Jokerst, J.A. Adkins, B. Bisha, M.M. Mentele, L.D. Goodridge, C.S. Henry, Development of a paper-based analytical device for colorimetric detection of select foodborne pathogens, *Anal. Chem.* 84 (2012) 2900–2907. <https://doi.org/10.1021/ac203466y>.

[52] D. Agustini, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, Low cost microfluidic device based on cotton threads for electroanalytical application, *Lab Chip*. 16 (2016) 345–352. <https://doi.org/10.1039/c5lc01348h>.

[53] C. Iliescu, H. Taylor, M. Avram, J. Miao, S. Franssila, A practical guide for the fabrication of microfluidic devices using glass and silicon, *Biomicrofluidics*. 6 (2012) 016505. <https://doi.org/10.1063/1.3689939>.

[54] C.K. Chiang, A. Kurniawan, C.Y. Kao, M.J. Wang, Single step and mask-free 3D wax printing of microfluidic paper-based analytical devices for glucose and nitrite assays, *Talanta*. 194 (2019) 837–845. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.104>.

[55] K. Ren, J. Zhou, H. Wu, Materials for microfluidic chip fabrication, *Acc. Chem. Res.* 46 (2013) 2396–2406. <https://doi.org/10.1021/ar300314s>.

[56] A.L. Silva, G.M. da S. Salvador, S.V.F. Castro, N.M.F. Carvalho, R.A.A. Munoz, A 3D Printer Guide for the Development and Application of Electrochemical Cells and Devices, *Front. Chem.* 9 (2021) 439. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.684256>.

[57] Yole Développement, Status of the Microfluidics Industry 2019, 2019. www.yole.fr (accessed August 28, 2020).

[58] 3D Hubs Manufacturing LLC, 3D Printing Trends 2020, 2020. www.3dhubs.com (accessed September 1, 2020).

[59] A.L. Silva, G.M. da S. Salvador, S.V.F. Castro, N.M.F. Carvalho, R.A.A. Munoz, A 3D Printer Guide for the Development and Application of Electrochemical Cells and Devices, *Front. Chem.* 9 (2021). <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.684256>.

[60] H.M. Elbardisy, E.M. Richter, R.D. Crapnell, M.P. Down, P.G. Gough, T.S. Belal, W. Talaat, H.G. Daabees, C.E. Banks, Versatile additively manufactured (3D printed) wall-jet flow

cell for high performance liquid chromatography-amperometric analysis: Application to the detection and quantification of new psychoactive substances (NBOMes), *Anal. Methods*. 12 (2020) 2152–2165. <https://doi.org/10.1039/d0ay00500b>.

[61] D.M.H. Mendonça, D.P. Rocha, G.S.V. Dutra, R.M. Cardoso, A.D. Batista, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, 3D-printed Portable Platform for Mechanized Handling and Injection of Microvolumes Coupled to Electrochemical Detection, *Electroanalysis*. 31 (2019) 771–777. <https://doi.org/10.1002/elan.201800834>.

[62] A.A. Dias, T.M.G. Cardoso, R.M. Cardoso, L.C. Duarte, R.A.A. Muñoz, E.M. Richter, W.K.T. Coltro, Paper-based enzymatic reactors for batch injection analysis of glucose on 3D printed cell coupled with amperometric detection, *Sensors Actuators, B Chem.* 226 (2016) 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.11.040>.

[63] C. Ponce De Leon, W. Hussey, F. Frazao, D. Jones, E. Ruggeri, S. Tzortzatos, R.D. Mckerracher, R.G.A. Wills, S. Yang, F.C. Walsh, The 3D Printing of a Polymeric Electrochemical Cell Body and its Characterisation, in: 2014. <https://doi.org/10.3303/CET1441001>.

[64] S. Tasoglu, A. Folch, 3D Printed Microfluidic Devices, 2019. <https://doi.org/10.3390/books978-3-03897-468-0>.

[65] N. Bhattacharjee, A. Urrios, S. Kang, A. Folch, The upcoming 3D-printing revolution in microfluidics, *Lab Chip*. 16 (2016) 1720–1742. <https://doi.org/10.1039/c6lc00163g>.

[66] Y. Song, D. Cheng, L. Zhao, Z. Wang, T. Zhang, Microfluidics Devices: Fabrication and Surface Modification, *Microfluid. Fundam. Devices Appl.* (2018) 113–145. <https://doi.org/10.1002/9783527800643.ch3>.

[67] E.M. Richter, D.P. Rocha, R.M. Cardoso, E.M. Keefe, C.W. Foster, R.A.A. Munoz, C.E. Banks, Complete Additively Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensing Platform, *Anal. Chem.* 91 (2019) 12844–12851. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02573>.

[68] R.M. Cardoso, C. Kalinke, R.G. Rocha, P.L. dos Santos, D.P. Rocha, P.R. Oliveira, B.C. Janegitz, J.A. Bonacin, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Additive-manufactured (3D-printed) electrochemical sensors: A critical review, *Anal. Chim. Acta.* 1118 (2020) 73–91. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.03.028>.

[69] H. Polli, L.A.M. Pontes, A.S. Araujo, J.M.F. Barros, V.J. Fernandes, Degradation

- behavior and kinetic study of ABS polymer, *J. Therm. Anal. Calorim.* 95 (2009) 131–134. <https://doi.org/10.1007/s10973-006-7781-1>.
- [70] J.A. Brydson, *Plastics Based on Styrene*, in: *Plast. Mater.*, Elsevier, 1999: pp. 425–465. <https://doi.org/10.1016/b978-075064132-6/50057-7>.
- [71] A. Bohr, S. Colombo, H. Jensen, Future of microfluidics in research and in the market, in: *Microfluid. Pharm. Appl. From Nano/Micro Syst. Fabr. to Control. Drug Deliv.*, Elsevier, 2018: pp. 425–465. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812659-2.00016-8>.
- [72] T.J. Gordelier, P.R. Thies, L. Turner, L. Johanning, Optimising the FDM additive manufacturing process to achieve maximum tensile strength: a state-of-the-art review, *Rapid Prototyp. J.* 25 (2019) 953–971. <https://doi.org/10.1108/RPJ-07-2018-0183>.
- [73] J.W. Stansbury, M.J. Idacavage, 3D printing with polymers: Challenges among expanding options and opportunities, in: *Dent. Mater.*, 2016: pp. 54–64. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.09.018>.
- [74] K.S. Erokhin, E.G. Gordeev, V.P. Ananikov, Revealing interactions of layered polymeric materials at solid-liquid interface for building solvent compatibility charts for 3D printing applications, *Sci. Rep.* 9 (2019) 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56350-w>.
- [75] A. Waldbaur, H. Rapp, K. Länge, B.E. Rapp, Let there be chip - Towards rapid prototyping of microfluidic devices: One-step manufacturing processes, *Anal. Methods.* 3 (2011) 2681–2716. <https://doi.org/10.1039/c1ay05253e>.
- [76] A. Bertsch, S. Zissi, J.Y. Jézéquel, S. Corbel, J.C. André, Microstereolithography using a liquid crystal display as dynamic mask-generator, *Microsyst. Technol.* 3 (1997) 42–47. <https://doi.org/10.1007/s005420050053>.
- [77] M. Reches, K.A. Mirica, R. Dasgupta, M.D. Dickey, M.J. Butte, G.M. Whitesides, Thread as a Matrix for Biomedical Assays, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2 (2010) 1722–1728. <https://doi.org/10.1021/am1002266>.
- [78] A. Nilghaz, D.R. Ballerini, W. Shen, Exploration of microfluidic devices based on multi-filament threads and textiles: A review, *Biomicrofluidics.* 7 (2013) 051501. <https://doi.org/10.1063/1.4820413>.
- [79] D.R. Ballerini, X. Li, W. Shen, Patterned paper and alternative materials as substrates for low-cost microfluidic diagnostics, *Microfluid. Nanofluidics.* 13 (2012) 769–787. <https://doi.org/10.1007/s10404-012-0999-2>.

- [80] D. Agustini, L. Fedalto, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, Microfluidic thread based electroanalytical system for green chromatographic separations, *Lab Chip*. 18 (2018) 670–678. <https://doi.org/10.1039/c7lc01267e>.
- [81] M. Gaines, M.J. Gonzalez-Guerrero, K. Uchida, F.A. Gomez, A microfluidic glucose sensor incorporating a novel thread-based electrode system, *Electrophoresis*. 39 (2018) 2131–2135. <https://doi.org/10.1002/elps.201800010>.
- [82] A. Nilghaz, D.R. Ballerini, X.-Y. Fang, W. Shen, Semiquantitative analysis on microfluidic thread-based analytical devices by ruler, *Sensors Actuators B*. 191 (2014) 586–594. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.10.023>.
- [83] Y.C. Wei, L.M. Fu, C.H. Lin, ~~RETRACTED ARTICLE~~: Electrophoresis separation and electrochemical detection on a novel thread-based microfluidic device, *Microfluid. Nanofluidics*. 14 (2013) 723–730. <https://doi.org/10.1007/s10404-012-1091-7>.
- [84] X. Li, J. Tian, W. Shen, Thread as a versatile material for low-cost microfluidic diagnostics, *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2 (2010) 1–6. <https://doi.org/10.1021/am9006148>.
- [85] D. Agustini, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, Tear glucose detection combining microfluidic thread based device, amperometric biosensor and microflow injection analysis, *Biosens. Bioelectron.* 98 (2017) 161–167. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.06.035>.
- [86] D. Agustini, L. Fedalto, D. Agustini, L.G. de Matos dos Santos, C.E. Banks, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, A low cost, versatile and chromatographic device for microfluidic amperometric analyses, *Sensors Actuators, B Chem.* 304 (2020) 127117. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127117>.
- [87] X. Weng, Y. Kang, Q. Guo, B. Peng, H. Jiang, Recent advances in thread-based microfluidics for diagnostic applications, *Biosens. Bioelectron.* 132 (2019) 171–185. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.03.009>.
- [88] S. Farajikhah, J.M. Cabot, P.C. Innis, B. Paull, G. Wallace, Life-Saving Threads: Advances in Textile-Based Analytical Devices, *ACS Comb. Sci.* 21 (2019) 229–240. <https://doi.org/10.1021/acscombsci.8b00126>.
- [89] L.M. Ochiai, D. Agustini, L.C.S. Figueiredo-Filho, C.E. Banks, L.H. Marcolino-Junior, M.F. Bergamini, Electroanalytical thread-device for estriol determination using screen-printed carbon electrodes modified with carbon nanotubes, *Sensors Actuators, B Chem.* 241 (2017) 978–984. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.10.150>.

- [90] N. Vishnu, A.S. Kumar, A preanodized 6B-pencil graphite as an efficient electrochemical sensor for mono-phenolic preservatives (phenol and meta-cresol) in insulin formulations, *Anal. Methods*. 7 (2015) 1943–1950. <https://doi.org/10.1039/c4ay02798a>.
- [91] D.F. Waller, B.E. Hew, C. Holdaway, M. Jen, G.D. Peckham, Rapid Detection Of Bacillus Anthracis Spores Using Immunomagnetic Separation And Amperometry, *Biosensors*. 6 (2016). <https://doi.org/10.3390/bios6040061>.
- [92] B. Rezaei, S. Foroughi-Dehnavi, A.A. Ensafi, Fabrication of electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer and nanoparticles for determination trace amounts of morphine, *Ionics (Kiel)*. 21 (2015) 2969–2980. <https://doi.org/10.1007/s11581-015-1458-3>.
- [93] E. Kanat, E. Eksin, B. Karacicek, Y. Eraç, A. Erdem, Electrochemical Detection of Interaction between Dacarbazine and Nucleic Acids in Comparison to Agarose Gel Electrophoresis, *Electroanalysis*. 30 (2018) 1566–1574. <https://doi.org/10.1002/elan.201800064>.
- [94] A.N. Kawde, Electroanalytical determination of heavy metals in drinking waters in the eastern province of Saudi Arabia, *Desalin. Water Treat.* 57 (2016) 15697–15705. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1108241>.
- [95] A.H. Oghli, E. Alipour, M. Asadzadeh, Development of a novel voltammetric sensor for the determination of methamphetamine in biological samples on the pretreated pencil graphite electrode, *RSC Adv.* 5 (2015) 9674–9682. <https://doi.org/10.1039/c4ra11399c>.
- [96] V. Narwal, C.S. Pundir, Development of glycerol biosensor based on co-immobilization of enzyme nanoparticles onto graphene oxide nanoparticles decorated pencil graphite electrode, *Int. J. Biol. Macromol.* 127 (2019) 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.253>.
- [97] M.R. Akanda, M. Sohail, M.A. Aziz, A.N. Kawde, Recent Advances in Nanomaterial-Modified Pencil Graphite Electrodes for Electroanalysis, *Electroanalysis*. 28 (2016) 408–424. <https://doi.org/10.1002/elan.201500374>.
- [98] N. Dossi, S. Petrazzi, R. Toniolo, F. Tubaro, F. Terzi, E. Piccin, R. Svirgelj, G. Bontempelli, Digitally Controlled Procedure for Assembling Fully Drawn Paper-Based Electroanalytical Platforms, *Anal. Chem.* 89 (2017) 10454–10460. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b02521>.
- [99] S. Sharma, N. Singh, V. Tomar, R. Chandra, A review on electrochemical detection of serotonin based on surface modified electrodes, *Biosens. Bioelectron.* 107 (2018) 76–93.

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.02.013>.

[100] H.C.B. Kalachar, Y. Arthoba Naik, S. Basavanna, R. Viswanatha, T.G. Venkatesha, T. Sheela, Amperometric and differential pulse voltammetric determination of 5-Hydroxy-L-tryptophan in pharmaceutical samples using gold modified pencil graphite electrode, *J. Chem. Pharm. Res.* 3 (2011) 530–539.

[101] R.M. Kakhki, Recent developments on the modification of graphite electrodes with nanoparticles, *Russ. J. Appl. Chem.* 89 (2016) 480–488. <https://doi.org/10.1134/S10704272160030204>.

[102] A. Özcan, S. İlkbay, A. Atılır Özcan, Development of a disposable and low-cost electrochemical sensor for dopamine detection based on poly(pyrrole-3-carboxylic acid)-modified electrochemically over-oxidized pencil graphite electrode, *Talanta*. 165 (2017) 489–495. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.01.007>.

[103] Annu, S. Sharma, R. Jain, A.N. Raja, Review—Pencil Graphite Electrode: An Emerging Sensing Material, *J. Electrochem. Soc.* 167 (2020) 037501. <https://doi.org/10.1149/2.0012003jes>.

[104] I.G. David, D.-E. Popa, M. Buleandra, Pencil Graphite Electrodes: A Versatile Tool in Electroanalysis, *J. Anal. Methods Chem.* 2017 (2017) 1–22. <https://doi.org/10.1155/2017/1905968>.

[105] B. Hatamluyi, F. Lorestani, Z. Es'haghi, Au/Pd@rGO nanocomposite decorated with poly (L-Cysteine) as a probe for simultaneous sensitive electrochemical determination of anticancer drugs, Ifosfamide and Etoposide, *Biosens. Bioelectron.* 120 (2018) 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.08.008>.

[106] D.C. Harris, *Análise Química Quantitativa*, 8^a, W.H. Freeman And Company, Rio, 2012.

[107] R.N. Bhowmik, Ferromagnetism in lead graphite-pencils and magnetic composite with CoFe₂O₄ particles, *Compos. Part B Eng.* 43 (2012) 503–509. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2011.07.013>.

[108] S. Malifarge, B. Delobel, C. Delacourt, Determination of Tortuosity Using Impedance Spectra Analysis of Symmetric Cell, *J. Electrochem. Soc.* 164 (2017) E3329–E3334. <https://doi.org/10.1149/2.0331711jes>.

[109] W. Li, D. Qian, Y. Li, N. Bao, H. Gu, C. Yu, Fully-drawn pencil-on-paper sensors for

electroanalysis of dopamine, *J. Electroanal. Chem.* 769 (2016) 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.03.027>.

[110] F.A.M. Abdel-aal, A.H. Rageh, M.I. Said, G.A. Saleh, ϵ -MnO₂-modified graphite electrode as a novel electrochemical sensor for the ultrasensitive detection of the newly FDA approved Hepatitis C antiviral drug ledipasvir, *Anal. Chim. Acta.* 1038 (2018) 29–40. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.07.018>.

[111] H.A. Hendawy, E.F. El Kady, H.M. El Qudaby, M.A. Omran, Highly sensitive voltammetric determination of dantrolene sodium in pure form, pharmaceuticals, human breast milk and urine at pencil graphite and glassy carbon electrodes, *Indo Am. J. Pharm. Sci.* 3 (2016) 1210–1222. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.166021>.

[112] A. Rouhollahi, M. Kouchaki, S. Seidi, Electrically stimulated liquid phase microextraction combined with differential pulse voltammetry: A new and efficient design for in situ determination of clozapine from complicated matrices, *RSC Adv.* 6 (2016) 12943–12952. <https://doi.org/10.1039/c5ra25157e>.

[113] S. Kumar, P. Karfa, S. Patra, R. Madhuri, P.K. Sharma, Molecularly imprinted star polymer-modified superparamagnetic iron oxide nanoparticle for trace level sensing and separation of mancozeb, *RSC Adv.* 6 (2016) 36751–36760. <https://doi.org/10.1039/c6ra03204d>.

[114] K. Skrzypczynska, K. Kusmierek, A. Swiatkowski, L. Dabek, The influence of pencil graphite hardness on voltammetric detection of pentachlorophenol, *Int. J. Electrochem. Sci.* 13 (2018) 88–100. <https://doi.org/10.20964/2018.01.100>.

[115] V. Mazzaracchio, M.R. Tomei, I. Cacciotti, A. Chiodoni, C. Novara, M. Castellino, G. Scordo, A. Amine, D. Moscone, F. Arduini, Inside the different types of carbon black as nanomodifiers for screen-printed electrodes, *Electrochim. Acta.* 317 (2019) 673–683. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.05.117>.

[116] S. Cinti, F. Arduini, M. Carbone, L. Sansone, I. Cacciotti, D. Moscone, G. Palleschi, Screen-Printed Electrodes Modified with Carbon Nanomaterials: A Comparison among Carbon Black, Carbon Nanotubes and Graphene, *Electroanalysis.* 27 (2015) 2230–2238. <https://doi.org/10.1002/elan.201500168>.

[117] F.C. Vicentini, A.E. Ravanini, L.C.S. Figueiredo-Filho, J. Iniesta, C.E. Banks, O. Fatibello-Filho, Imparting improvements in electrochemical sensors: Evaluation of different carbon blacks that give rise to significant improvement in the performance of electroanalytical

- sensing platforms, *Electrochim. Acta.* 157 (2015) 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.11.204>.
- [118] F. Arduini, C. Zanardi, S. Cinti, F. Terzi, D. Moscone, G. Palleschi, R. Seeber, Effective electrochemical sensor based on screen-printed electrodes modified with a carbon black-Au nanoparticles composite, *Sensors Actuators, B Chem.* 212 (2015) 536–543. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.02.051>.
- [119] T.A. Silva, F.C. Moraes, B.C. Janegitz, O. Fatibello-Filho, Electrochemical Biosensors Based on Nanostructured Carbon Black: A Review, *J. Nanomater.* 2017 (2017) 1–14. <https://doi.org/10.1155/2017/4571614>.
- [120] E. Vaněčková, M. Bouša, Š. Nováková Lachmanová, J. Rathouský, M. Gál, T. Sebechlebská, V. Kolivoška, 3D printed polylactic acid/carbon black electrodes with nearly ideal electrochemical behaviour, *J. Electroanal. Chem.* 857 (2020) 113745. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113745>.
- [121] H.H. Bin Hamzah, O. Keattch, D. Covill, B.A. Patel, The effects of printing orientation on the electrochemical behaviour of 3D printed acrylonitrile butadiene styrene (ABS)/carbon black electrodes, *Sci. Rep.* 8 (2018) 11800. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27188-5>.
- [122] V. Katseli, A. Economou, C. Kokkinos, Single-step fabrication of an integrated 3D-printed device for electrochemical sensing applications, *Electrochem. Commun.* 103 (2019) 100–103. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.05.008>.
- [123] D.P. Rocha, A.L. Squissato, S.M. da Silva, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Improved electrochemical detection of metals in biological samples using 3D-printed electrode: Chemical/electrochemical treatment exposes carbon-black conductive sites, *Electrochim. Acta.* 335 (2020) 135688. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.135688>.
- [124] H.H. Hamzah, O. Keattch, M.S. Yeoman, D. Covill, B.A. Patel, Three-Dimensional-Printed Electrochemical Sensor for Simultaneous Dual Monitoring of Serotonin Overflow and Circular Muscle Contraction, *Anal. Chem.* 91 (2019) 12014–12020. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02958>.
- [125] R.M. Carvalho, V.S. Ferreira, B.G. Lucca, A novel all-3D-printed thread-based microfluidic device with an embedded electrochemical detector: first application in environmental analysis of nitrite, *Anal. Methods.* 13 (2021) 1349–1357. <https://doi.org/10.1039/D1AY00070E>.

- [126] M. Bilal, T. Rasheed, J. Sosa-Hernández, A. Raza, F. Nabeel, H. Iqbal, Biosorption: An Interplay between Marine Algae and Potentially Toxic Elements—A Review, *Mar. Drugs*. 16 (2018) 65. <https://doi.org/10.3390/md16020065>.
- [127] M.C. Oliveira, E.Y. Watanabe, D. Agustini, C.E. Banks, L.H. Marcolino-Júnior, M.F. Bergamini, Nonenzymatic sensor for determination of glucose in blood plasma based on nickel oxyhydroxide in a microfluidic system of cotton thread, *J. Electroanal. Chem.* 840 (2019) 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.03.038>.
- [128] R. Rapini, G. Marrazza, Electrochemical aptasensors for contaminants detection in food and environment: Recent advances, *Bioelectrochemistry*. 118 (2017) 47–61. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2017.07.004>.
- [129] Y. Xie, J. Wang, Y. Wu, C. Ren, C. Song, J. Yang, H. Yu, J.P. Giesy, X. Zhang, Using in situ bacterial communities to monitor contaminants in river sediments, *Environ. Pollut.* 212 (2016) 348–357. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.031>.
- [130] Y. Zhang, S. Xiao, H. Li, H. Liu, P. Pang, H. Wang, Z. Wu, W. Yang, A Pb²⁺-ion electrochemical biosensor based on single-stranded DNAzyme catalytic beacon, *Sensors Actuators B Chem.* 222 (2016) 1083–1089. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.08.046>.
- [131] R.K. Mishra, A. Martín, T. Nakagawa, A. Barfidokht, X. Lu, J.R. Sempionatto, K.M. Lyu, A. Karajic, M.M. Musameh, I.L. Kyratzis, J. Wang, Detection of vapor-phase organophosphate threats using wearable conformable integrated epidermal and textile wireless biosensor systems, *Biosens. Bioelectron.* 101 (2018) 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.10.044>.
- [132] A.G. Capodaglio, In-stream detection of waterborne priority pollutants, and applications in drinking water contaminant warning systems, *Water Supply*. 17 (2017) 707–725. <https://doi.org/10.2166/ws.2016.168>.
- [133] F. He, Chapter 6 Synthetic pyrethroids, *Toxicology*. 91 (1994) 43–49. [https://doi.org/10.1016/0300-483X\(94\)90239-9](https://doi.org/10.1016/0300-483X(94)90239-9).
- [134] A. El Nemr, A.A. Moneer, A. Khaled, A. El-Sikaily, Contamination and risk assessment of organochlorines in surface sediments of Egyptian Mediterranean coast, *Egypt. J. Aquat. Res.* 38 (2012) 7–21. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2012.08.001>.
- [135] P. Gerolt, Mode of entry of contact insecticides, *J. Insect Physiol.* 15 (1969) 563–580. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(69\)90255-8](https://doi.org/10.1016/0022-1910(69)90255-8).

- [136] Z.Q. Jia, Y.C. Zhang, Q.T. Huang, A.K. Jones, Z.J. Han, C.Q. Zhao, Acute toxicity, bioconcentration, elimination, action mode and detoxification metabolism of broflanilide in zebrafish, *Danio rerio*, *J. Hazard. Mater.* 394 (2020) 122521. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122521>.
- [137] X. Wang, W. Zhong, B. Xiao, Q. Liu, L. Yang, A. Covaci, L. Zhu, Bioavailability and biomagnification of organophosphate esters in the food web of Taihu Lake, China: Impacts of chemical properties and metabolism, *Environ. Int.* 125 (2019) 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.018>.
- [138] K.L. Guan, Y. Liu, X.J. Luo, Y.H. Zeng, B.X. Mai, Short- and medium-chain chlorinated paraffins in aquatic organisms from an e-waste site: Biomagnification and maternal transfer, *Sci. Total Environ.* 708 (2020) 134840. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134840>.
- [139] X. Zhen, L. Liu, X. Wang, G. Zhong, J. Tang, Fates and ecological effects of current-use pesticides (CUPs) in a typical river-estuarine system of Laizhou Bay, North China, *Environ. Pollut.* 252 (2019) 573–579. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.141>.
- [140] D. Tian, H. Mao, H. Lv, Y. Zheng, C. Peng, S. Hou, Novel two-tiered approach of ecological risk assessment for pesticide mixtures based on joint effects, *Chemosphere.* 192 (2018) 362–371. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.001>.
- [141] M.A. Hassaan, A. El Nemr, Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques, *Egypt. J. Aquat. Res.* 46 (2020) 207–220. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007>.
- [142] A. Khanmohammadi, A. Jalili Ghazizadeh, P. Hashemi, A. Afkhami, F. Arduini, H. Bagheri, An overview to electrochemical biosensors and sensors for the detection of environmental contaminants, *J. Iran. Chem. Soc.* 17 (2020) 2429–2447. <https://doi.org/10.1007/s13738-020-01940-z>.
- [143] G. Hernandez-Vargas, J. Sosa-Hernández, S. Saldarriaga-Hernandez, A. Villalba-Rodríguez, R. Parra-Saldivar, H. Iqbal, Electrochemical Biosensors: A Solution to Pollution Detection with Reference to Environmental Contaminants, *Biosensors.* 8 (2018) 29. <https://doi.org/10.3390/bios8020029>.

CAPÍTULO 2 – DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO À BASE DE FIO DE ALGODÃO COM UM DETECTOR ELETROQUÍMICO EMBUTIDO TOTALMENTE IMPRESSO EM 3D: PRIMEIRA APLICAÇÃO PARA ANÁLISE AMBIENTAL DE NITRITO

2.1 INTRODUÇÃO

A microfluídica é hoje uma área já consolidada e que trouxe benefícios para diversos campos. Algumas das vantagens do uso de plataformas microfluídicas são o tamanho reduzido, biocompatibilidade, portabilidade, rapidez nas análises, integração de várias etapas analíticas, consumo extremamente baixo de amostras e reagentes e mínima geração de resíduos [1,2]. Sistemas microfluídicos têm sido utilizados para aplicações em muitas áreas, tal como pesquisas biomédicas [3], análises de alimentos [4], ciências forenses [5], diagnósticos clínicos [6] e monitoramento ambiental [7].

Entre os vários tipos de substratos usados na fabricação dos dispositivos microfluídicos, materiais à base de papel e, mais recentemente, fios de algodão, surgem como alternativas muito interessantes devido ao baixo custo e disponibilidade do material. Desde a primeira vez em que foi reportado em 2007 [8], o uso de papel como substrato em microfluídica tem sido amplamente explorado em muitas aplicações [9,10]. Entretanto, algumas limitações foram relatadas a respeito do uso dispositivos microfluídicos de papel, como a baixa resistência mecânica e a necessidade de barreiras hidrofóbicas para conduzir e evitar o espalhamento das soluções [11,12]. Por outro lado, fios de algodão são também uma opção atrativa para aplicação na microfluídica. Algumas características interessantes dos fios de algodão são a alta resistência mecânica, não necessitando de barreiras hidrofóbicas e a alta capilaridade, na qual possibilita seu uso como bomba passiva, excluindo a necessidade de dispositivos externos para transportes dos fluídos [13,14]. Essas características fazem os fios de algodão uma opção muito interessante para uso em dispositivos microfluídicos de baixo custo.

Embora várias técnicas possam ser utilizadas para detecção em dispositivos microfluídicos, os métodos eletroquímicos estão entre os mais empregados. A detecção eletroquímica é especialmente interessante para detecção em microfluídica devido a algumas vantagens, tais como a facilidade de operação, baixo consumo de energia, mínimo impacto ambiental, boa sensibilidade, permite miniaturização e portabilidade de instrumentação [15–17]. Dentre os materiais utilizados para detecção eletroquímica, os eletrodos à base de carbono

são os mais empregados em aplicações eletroanalíticas devido a características como ampla faixa de potencial, baixo custo, boa estabilidade química e grande disponibilidade [18]. Dentro desse tema, a tecnologia de impressão 3D, ou manufatura aditiva, é um tópico atual que tem sido amplamente explorado como uma ferramenta muito útil para a produção de dispositivos analíticos. A fabricação de dispositivos eletroquímicos por impressão 3D oferece diversas vantagens que incluem menores custos de produção, rapidez na prototipagem e possibilidade de implementação em grande escala [19,20]. Essa tecnologia pode ser utilizada tanto na fabricação dos sensores eletroquímicos quanto na produção das plataformas auxiliares, como células estacionárias ou de fluxo [21]. Apesar disso, conforme reportado recentemente na literatura, um desafio atual no uso da impressão 3D para aplicações eletroquímicas é a dificuldade de fabricar dispositivos com eletrodos embutidos [22]. A modelagem por deposição fundida (FDM, do inglês “*Fusion Deposition Modeling*”) é a técnica de impressão 3D mais popular e usa materiais termoplásticos naturalmente não condutores, como acrilonitrila butadieno estireno (ABS) e ácido poliláctico (PLA, do inglês, *polylactic acid*) para formar objetos tridimensionais. Esses termoplásticos também podem conter materiais à base de carbono, como grafeno e negro de fumo (CB, do inglês, *carbon black*), que oferecem propriedades condutoras e permitem seu uso para impressão de eletrodos. Tais aplicações têm sido frequentemente relatadas na literatura recente e demonstram o grande potencial de uso da manufatura aditiva na Química Analítica [23–25].

Nesse contexto, este trabalho apresenta, pela primeira vez, um dispositivo microfluídico eletroanalítico à base de fios de algodão (μ TED, do inglês “*microfluidic thread-based electroanalytical device*”) totalmente impresso em 3D. Os canais microfluídicos deste dispositivo consistem em fios de algodão hidrofílico. O conceito μ TED foi apresentado pela primeira vez em 2016 por Agustini *et al.*, que demonstrou seu potencial em aplicações analíticas [26]. A plataforma desenvolvida aqui apresenta como vantagens o fato de possuir um detector integrado e ser totalmente fabricada de forma automatizada por impressão 3D utilizando a técnica FDM combinando termoplásticos condutores e não condutores. A base principal do μ TED foi impressa com ABS, enquanto o detector eletroquímico embutido foi fabricado utilizando um filamento condutor comercial de CB/PLA. Este μ TED fabricado aditivamente foi empregado como uma plataforma de análise de injeção de microfluxo (μ FIA, do inglês “*microflow injection analysis*”) eficiente e de baixo custo para detecção amperométrica de nitrito. Este íon (NO_2^-) está presente nos solos, alimentos, água potável e sistemas fisiológicos [27]. Os efeitos tóxicos do nitrito na saúde humana são bem conhecidos: uma vez no fluxo

sanguíneo, nitrito tem a habilidade de converter hemoglobina em meta-hemoglobina, suprimindo sua capacidade de transportar oxigênio; além disso, o nitrito pode ser carcinogênico para o estômago. Assim, o monitoramento e controle dos níveis de nitrito em água potável é um importante parâmetro de qualidade estabelecido na legislação [28].

Até onde se sabe, esta é a primeira aplicação de um μ TED para a detecção de nitrito. Além disso, também é apresentado aqui, pela primeira vez, a determinação eletroquímica de nitrito usando eletrodos de CB/PLA impressos em 3D. Esta plataforma μ FIA totalmente impressa em 3D com detector eletroquímico embutido demonstra uma aplicação nova e promissora de impressão 3D em Química analítica, além de apresentar vantagens sobre os sistemas convencionais de fluxo eletroquímico que incluem portabilidade, integração total, fabricação simples e automatizada, fácil replicação, baixo custo, sem necessidade de bombas externas, mínimo consumo de reagentes e redução na geração de resíduos, o que está de acordo com o conceito de química verde.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo geral

Desenvolver um dispositivo microfluídico à base de fios de algodão com detector eletroquímico acoplado completamente impresso em 3D para detecção de contaminantes ambientais.

2.2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver uma nova metodologia utilizando a microfluídica e detecção amperométrica como alternativa para detectar nitrito;
- Propor uma montagem fácil, portátil e de baixa custo de um dispositivo microfluídico acoplado com detecção eletroquímica;
- Realizar caracterizações do dispositivo e dos eletrodos utilizando técnicas eletroquímicas e microscópicas;
- Realizar testes eletroquímicos para otimização do dispositivo e aplicação analítica através da determinação de nitrito em amostras de água.

2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes usados foram de grau analítico e utilizados como recebidos. Os percursores para a preparação da solução do analito, do tampão Britton-Robinson e o substrato para a montagem do dispositivo microfluídico foram: nitrito de sódio PA comprado da Neon (Suzano, SP, Brasil); solução de hidróxido de sódio 50 % e solução de ácido ortofosfórico 85 %, ambas adquiridas da Acros Organics (Geel, Belgica); ácido bórico PA obtido da Dinâmica (Diadema, SP, Brasil); carbonato de sódio e bicarbonato de sódio adquiridos da J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA); solução de ácido acético glacial 99,7 % fornecida pela Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brasil); filamento ABS (1,75 mm de diâmetro) adquirido da 3Dfila (Belo Horizonte, MG, Brasil); filamento condutivo CB/PLA (1,75 mm de diâmetro) fornecido pela Proto-pasta (Vancouver, WA, USA); fios de algodão (gaze hidrofílica) e fita dupla face (adesivo à base de resina sintética) comprados em lojas locais. Todas as soluções utilizadas durante os experimentos foram preparadas usando água ultrapura (resistividade $\geq 18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) obtida por um sistema de purificação de água por osmose reversa Permuton RO0310 (Permuton, Curitiba, PR, Brasil). As soluções estoque dos analitos e dos tampões foram preparadas semanalmente. As soluções utilizadas nos experimentos foram preparadas diariamente através da diluição da solução estoque.

2.3.2 Fabricação do μ TED impresso em 3D

A modelagem do dispositivo foi realizada por meio do software de design Fusion 360 free 3D CAD/CAM (Autodesk, San Rafael, CA, USA). O arquivo CAD obtido (arquivo.stl) foi processado com o software Ultimaker Cura 3.6 (Geldermalsen, Países Baixos) para obter o arquivo GCODE contendo os comandos de impressão. Uma impressora 3D Creality Ender 3 FDM (Creality, Shenzhen, China) equipada com um bico de extrusão de 0,4 mm de diâmetro foi utilizada. A impressão 3D do μ TED foi realizada da seguinte maneira: inicialmente, a base do μ TED foi impressa com filamento ABS não condutivo; então, após finalizada a impressão da plataforma microfluídica, o filamento ABS foi mudado para o filamento condutivo de CB/PLA e o processo foi retomado para a impressão dos eletrodos. A resolução de camada e a velocidade de impressão tanto para o μ TED quanto para os eletrodos de CB/PLA foram de 0,20 mm e 45 mm s⁻¹, respectivamente. A impressão dos eletrodos foi realizada com 100% de preenchimento. Conforme a Figura 2.1A, o μ TED tem dimensões de 122 mm de altura \times 95

mm de comprimento × 60 mm de largura. O dispositivo possui os seguintes componentes: um reservatório de entrada e outro de saída (ambos comportam um volume máximo de 4 mL, sendo que o reservatório de saída foi projetado para ser móvel (sendo fixado por dois parafusos M3) com o intuito de facilitar os ajustes de diferença de altura; fitas dupla face nas extremidades dos fios de algodão para fixá-los nos reservatórios de entrada e saída; um sistema com 3 eletrodos de CB/PLA (com dimensões de 45 mm de comprimento × 3 mm largura × 1,60 de altura).

O fluxo do eletrólito suporte ocorre a partir do reservatório de entrada, passando pela região de injeção – onde transporta a amostra até a zona de detecção – e finaliza ao chegar no reservatório de saída. Algumas características como o número e forma da disposição dos fios, distância entre a zona de detecção e a região de injeção de amostra e volume de injeção de amostra foram modificados ao longo do estudo de otimização para melhores resultados e desempenho do dispositivo.

2.3.3 Ativação dos eletrodos de CB/PLA e montagem do μ TED

Antes do uso, a superfície dos eletrodos foi submetida a um processo de ativação que consistiu no polimento com lixas d'água de gramatura 500 e 1500, respectivamente, na presença de água purificada. Os eletrodos foram polidos por aproximadamente 1 min em cada lixa, permitindo a alcançar uma superfície mais homogênea e regular além de aumentar a sensibilidade, que é alcançada pelo polimento, uma vez que esse procedimento expõe mais partículas de CB/PLA na superfície dos eletrodos.

Após os passos de impressão e ativação, a montagem do μ TED foi completada pela adição dos fios de algodão (que atuam como os canais de micro fluxo) que foram retirados de uma gaze hidrofílica. Nenhum processo de tratamento prévio dos fios de algodão foi realizado, uma vez que em sua própria confecção ocorrer um processo que remove a camada de cera (e outros composto não celulósicos) [29,30] que naturalmente cobre os fios de algodão, promovendo assim, a exposição da estrutura de celulose, tornando-os hidrofílicos por estarem ricos em grupos hidroxila (-OH) [31,32]. O número desejado de fios de algodão foi posicionado perpendicularmente aos eletrodos e suas extremidades forma fixadas nos reservatórios de entrada e saída usando uma fita dupla face. A Figura 2.1B mostra a imagem do μ TED impresso em 3D totalmente montado com todos os componentes necessários para seu funcionamento.

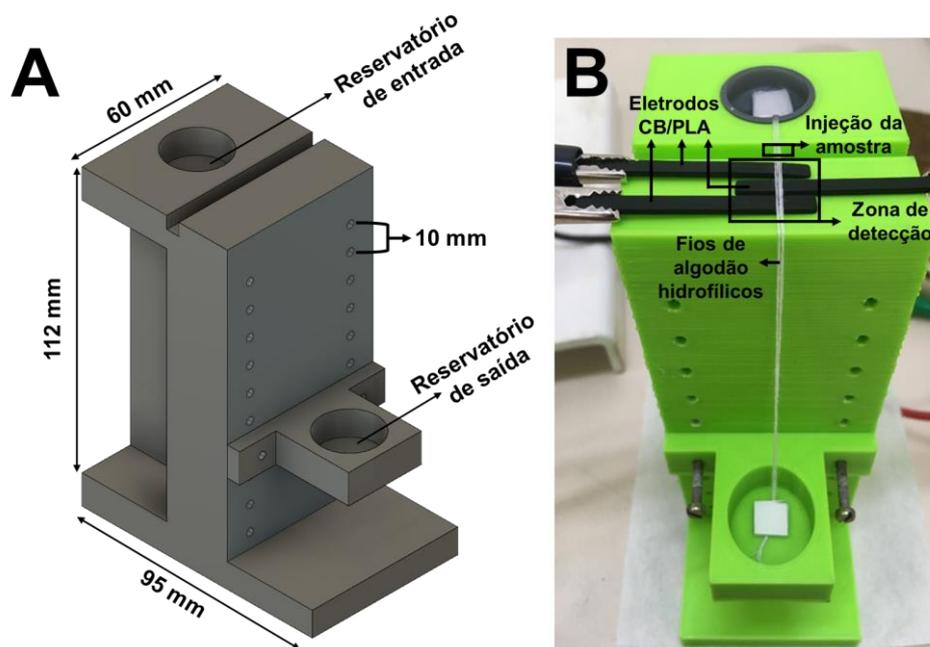


Figura 2. 1 A) Desenho CAD da plataforma do μ TED com suas respectivas dimensões e B) μ TED totalmente impresso em 3D com o detector acoplado, microcanais de fio de algodão e conexões elétricas conforme usado durante os experimentos. Os eletrodos CB/PLA impressos em 3D as seguintes dimensões: 45 mm de comprimento \times 3 mm de largura \times 1,60 mm de altura. O reservatório de saída é removível e foi fixado usando dois parafusos M3.

2.3.4 Instrumentação

Todos os estudos eletroquímicos foram realizados em temperatura ambiente utilizando um potenciostato/galvanostato Autolab modelo PGSTAT128N (Eco Chemie, Utrecht, The Netherlands) conectado a um computador e gerenciado pelo software Metrohm Autolab Nova 2.1. Todas as medidas amperométricas usando o μ TED foram realizadas utilizando o sistema de 3 eletrodos impresso em 3D a base de CB/PLA. Todas as conexões elétricas foram feitas diretamente na ponta dos eletrodos de CB/PLA. Os experimentos foram realizados em tampão Britton-Robinson (BR), preparado misturando soluções de ácido acético, ácido bórico e ácido fosfórico, na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os pH das soluções do tampão foram ajustados usando solução de NaOH 50% m/v. A injeção dos padrões/amostras foi realizada utilizando uma micropipeta com capacidade para $20 \mu\text{L}$.

2.3.5 Análise de microscopia eletrônica de varredura

A estrutura e morfologia dos eletrodos de CB/PLA foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Imagens de diferentes ampliações foram obtidas usando o equipamento JSM-6380LV (Jeol, Tokyo, Japan). Uma voltagem de aceleração de 10 kV foi aplicada para obter imagens em diferentes ampliações.

2.3.6 Preparo da amostra

Duas amostras foram coletadas de um poço semiartesiano localizadas no município de Nova Andradina, MS, Brasil. As amostras foram filtradas através de um filtro de seringa com membrana de 0,22 μm e submetidas às análises eletroquímicas e cromatográficas, antes e após a fortificação com concentrações conhecidas de solução padrão de nitrito. Para as determinações eletroquímicas, as amostras filtradas foram diluídas diretamente no eletrólito suporte.

2.3.7 Análise de cromatografia de íons

Para comparar e validar os resultados obtidos com o μTED , a água de poço também foi analisada pela cromatografia de íons. Experimentos cromatográficos foram realizados utilizando um instrumento ICS1100 (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) equipado com uma coluna IonPac AS22 (2 mm I.D. \times 250 mm de comprimento) e detecção de condutividade suprimida (Dionex AERS 500 2 mm). A eluição foi realizada em fase móvel composta de 4,5 mmol L⁻¹ Na₂CO₃ and 1,4 mmol L⁻¹ NaHCO₃. A taxa de fluxo foi de 0,25 $\mu\text{L min}^{-1}$ e o volume de injeção de amostra foi de 125 μL . Todos os cromatogramas foram obtidos à temperatura de célula de condutividade de 30 °C.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Comportamento eletroquímico do nitrito

Neste trabalho, é apresentado pela primeira vez um dispositivo eletroquímico microfluídico baseado em fios de algodão acoplado com um detector eletroquímico totalmente impresso em 3D. Com o intuito de demonstrar a performance analítica e avaliar a aplicabilidade desse μ TED impresso em 3D, nós selecionamos o íon nitrito como um analito modelo, uma vez que sua quantificação é um tópico importante a respeito da qualidade de águas naturais [33,34]. Inicialmente, os experimentos foram avaliados com o intuito de investigar a performance do detector embutido para a análise de nitrito. A Figura 2.2 mostra um voltamograma cíclico obtido com sistema de 3 eletrodos de CB/PLA impressos de 3D. Uma célula de vidro estacionária de compartimento único com capacidade de 15 mL foi usada nesse experimento. Como pode ser visto, o íon nitrito apresentou atividade eletroquímica na superfície do eletrodo de trabalho de CB/PLA. Foi observado um único pico de oxidação irreversível em $E_p = +1,08$ V. Esse comportamento eletroquímico é muito similar aos que já foi descrito previamente na literatura [25,35,36]. Logo, é possível utilizar esse dispositivo para a detecção analítica de nitrito. A baixa resposta eletroquímica dos eletrodos de CB/PLA é um problema já conhecido e reportado na literatura [37]. Dessa forma, processos de ativação são essenciais para melhorar a performance analítica desses sensores.

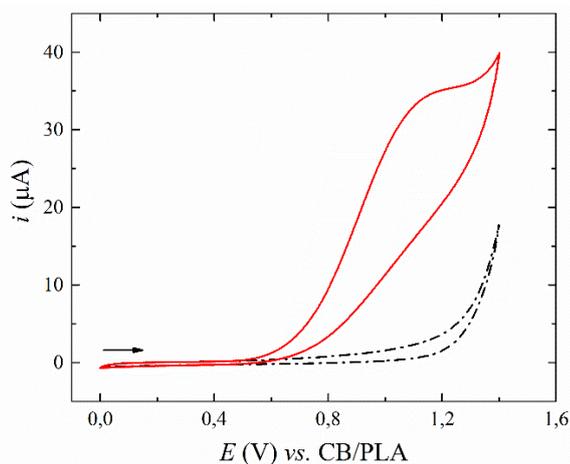


Figura 2. 2 Voltamograma cíclico de nitrito registrado com o detector eletroquímico CB/PLA impresso em 3D na presença (linha sólida) e ausência (linha pontilhada) de 1,5 mmol L⁻¹ de solução padrão de nitrito em tampão 0,1 mol L⁻¹ BR (pH 4,0) e velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹. A superfície dos eletrodos foi polida antes das medições.

2.4.2 Ativação e análises da superfície dos eletrodos

Aqui, avaliou-se um tratamento mecânico e eletroquímico para ativar a superfície dos eletrodos. O tratamento mecânico consistiu em um processo de polimento usando lixa d'água, como já foi detalhado na seção experimental, enquanto o tratamento eletroquímico foi baseado no procedimento descrito por Richter *et. al.*, na qual sugere a aplicação de uma sequência de potenciais durante tempos específicos (+1,4 V/200 s e -1,0 V/200 s cada) em meio de NaOH 0,5 mol L⁻¹ [24]. A ativação dos eletrodos de CB/PLA ocorreu de duas maneiras: apenas com o polimento mecânico e pelo polimento mecânico seguido pelo tratamento eletroquímico. A eficiência desses procedimentos foi investigada através da detecção amperométrica (técnica analítica empregada nos estudos) de nitrito usando o μ TED impresso em 3D. Os eletrodos ativados e não ativados foram comparados entre si. A Figura 2.3 mostra que a resposta eletroquímica dos eletrodos ativados aumentou significativamente quando comparado com os eletrodos não ativados. Porém, nenhuma diferença considerável na resposta de corrente (687 vs. 680 nA) foi observada entre os eletrodos ativados apenas pelo polimento e os eletrodos ativados pelo polimento e tratamento eletroquímico. Esse resultado, que foi diferente ao descrito por Richter *et. al.* [24], pode ter ocorrido devido ao fato de que neste trabalho que está sendo proposto aqui, o analito usado (íon nitrito ao invés de dopamina), as técnicas eletroquímicas empregadas (amperometria ao invés de voltametrias cíclica e de onda quadrada) e o sistema de medição (μ FIA ao invés de célula estacionária) foram diferentes do trabalho referenciado. Ademais, em outros trabalhos reportados recentemente é possível encontrar o uso analítico de eletrodos à base de CB/PLA impressos em 3D sem nenhum tipo de ativação eletroquímica [38,39]. Além disso, a área do eletrodo pode ter sido a principal causa de não haver ganho de sensibilidade como era esperado, pois os fios de algodão passam em uma área muito pequena do eletrodo, já no trabalho referenciado essa área é muito maior. Apesar disso, a repetibilidade intra-eletrodo e inter-eletrodo foi muito similar para ambos os processos de ativação realizados (desvio padrão relativo (DPR) foi < 3 % em todos os casos). Logo, com o intuito de tornar o protocolo de ativação mais rápido e simples, os eletrodos à base de CB/PLA usados aqui foram ativados apenas pelo polimento mecânico.

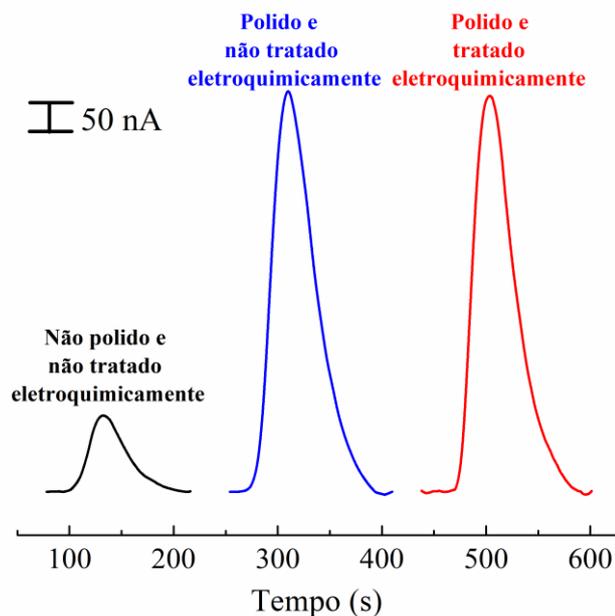


Figura 2. 3 Respostas amperométricas obtidas na presença de solução padrão de nitrito ($250 \mu\text{mol L}^{-1}$) no dispositivo impresso em 3D usando eletrodos de CB/PLA ativado e não ativado. Eletrólito suporte: tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0); potencial de detecção: $+1,15 \text{ V}$; volume injetado: $4 \mu\text{L}$.

A morfologia do eletrodo à base de CB/PLA impresso em 3D foi caracterizada por meio da microscopia eletrônica de varredura. Como visto na Figura 2.4, os eletrodos possuem uma superfície irregular e levemente áspera. Entretanto, antes do polimento (Figura 2.4A), a matriz polimérica PLA é predominante na superfície. Como um material isolante, o PLA diminui a condutividade e é responsável pela baixa resposta eletroquímica. Após o polimento (Figura 2.4B), a superfície se torna mais porosa, rugosa e irregular, similar à superfícies eletródicas à base de carbono [34]. Isso é devido a remoção parcial do PLA superficial pelo polimento, na qual expõem-se as partículas de CB, aumentando a condutividade e melhorando a sensibilidade do eletrodo.

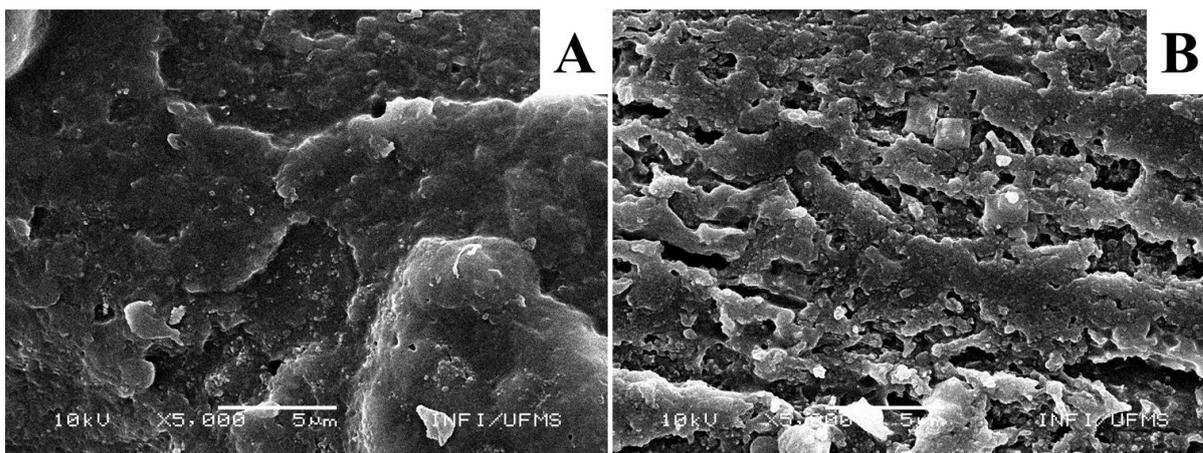


Figura 2.4 Imagens de MEV obtidas da superfície do eletrodo CB/PLA antes (A) e após (B) o procedimento de ativação realizado por polimento com lixa. O potencial de aceleração foi de 10 kV e a ampliação foi de 5.000 ×.

2.4.3 Otimização do Dispositivo

A viabilidade analítica do μ TED foi avaliada por meio da determinação do nitrito usando μ FIA e detecção amperométrica. Assim, todos os experimentos e parâmetros instrumentais foram avaliados usando esta técnica. O tampão empregado foi o Britton-Robinson, no qual a concentração utilizada foi de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e foi adotada para todos os estudos subsequentes. A influência do pH no sinal amperométrico de NO_2^- foi investigada na faixa entre 2,0 a 6,0 a fim de encontrar as melhores condições analíticas e avaliar o comportamento da substância em diferentes valores de pH. Essa faixa foi escolhida, pois em trabalhos anteriores foi constatado que o pH onde apresenta o maior sinal de corrente está dentro desse intervalo.

O pH é um parâmetro crucial que tem influência direta na intensidade do sinal amperométrico e também no processo redox. Como mostrado na Figura 2.5, o pH afeta fortemente a corrente de pico de NO_2^- . A melhor resposta se deu em pH 4 onde a corrente de pico atingiu seu valor máximo. Em valores acima de pH 4,0 o sinal de corrente começa a diminuir. Assim, o meio mais conveniente para os estudos analíticos com NO_2^- consistiu em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão Britton-Robinson em pH 4,0.

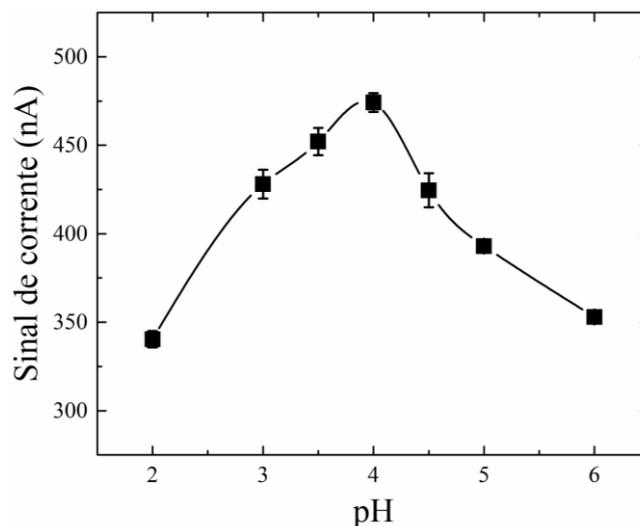


Figura 2.5 Efeito do pH na intensidade do sinal cronoamperométrico de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de solução padrão de nitrito em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Condições: potencial de detecção = $+0,90 \text{ V}$, intervalo de tempo = $0,1 \text{ s}$, e o volume injetado = $5,0 \mu\text{L}$. Resultados para $n = 3$ medidas.

Após encolhido o valor ideal de pH, outros parâmetros foram avaliados e otimizados com o intuito de alcançar a melhor performance analítica durante as determinações analíticas. As otimizações dos parâmetros do dispositivo foram avaliadas utilizando a técnica de amperometria.

Inicialmente a influência do potencial de detecção foi estudado. Baseado no perfil eletroquímico de nitrito observado na voltametria cíclica, o potencial aplicado na detecção amperométrica de nitrito foi avaliada para valores de potencial entre $+0,9 \text{ V}$ até $+1,30 \text{ V}$ (vs. eletrodo pseudo-referência CB/PLA). Para cada potencial avaliado, adições em triplicata de padrão de NO_2^- $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ foram feitas utilizando tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como substância transportadora. Esta relação entre a corrente obtida e o potencial aplicado é mostrado na Figura 2.6A. A oxidação de nitrito é favorecida com o aumento do potencial de detecção e o foi observado o maior valor no sinal de corrente quando alcançou o potencial de $+1,15 \text{ V}$ seguido por uma diminuição da corrente conforme o potencial aplicado seguia para valores mais positivos. O valor do potencial de detecção para as medidas subsequentes foi escolhido como $+1,15 \text{ V}$, visto que neste potencial foi obtido os maiores valores de corrente com um ótimo desvio padrão. A estabilidade do eletrodo pseudo-referência de CB/PLA foi também investigada, uma vez que a constância do potencial de detecção depende diretamente desse eletrodo. Para isso, voltamogramas cíclicos consecutivos foram realizados ($n = 150$ ciclos). A Figura 2.6B mostra que os potenciais de pico não tiveram mudança significativa. O DPR em

relação aos potenciais de pico foi de aproximadamente 2,0 %, sugerindo uma estabilidade satisfatória para o eletrodo de pseudo-referência.

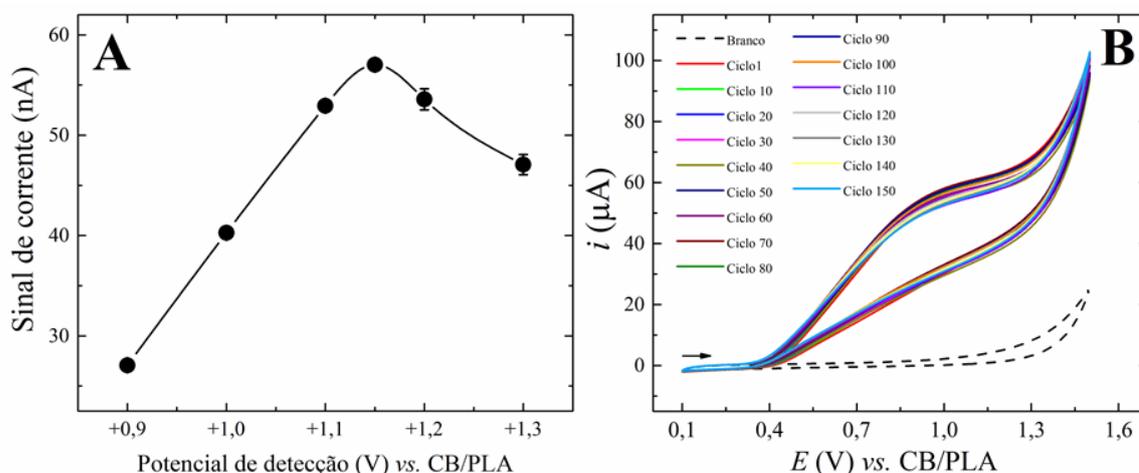


Figura 2.6 A) variação na resposta cronoamperométrica da solução padrão de nitrito $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em função do potencial de detecção. O intervalo de tempo foi de 0,1 s e o volume injetado foi de $5,0 \mu\text{L}$. Resultados para $n = 3$ medidas; B) voltamogramas cíclicos consecutivos ($n = 150$ ciclos) registrados com o detector eletroquímico de CB/PLA impresso em 3D na presença (linhas contínuas) e ausência (linha pontilhada) de $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de solução padrão de nitrito. A velocidade de varredura foi de 100 mV s^{-1} . Todas as medidas foram realizadas em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$).

O próximo parâmetro avaliado foi número de fios usados para criar o microcanal da plataforma μFIA . Neste estudo, várias medidas foram realizadas utilizando diferentes quantidades de fios agrupados, sendo que a faixa estudada foi de 3 - 6 fios. Um aumento progressivo nos sinais de corrente é observado conforme o número de fios aumenta de 3 para 4. Isso se deve em função da quantidade de espaços entre os fios serem maiores, refletindo em taxas de fluxo mais altas, visto que a vazão no canal com 4 fios é maior do que a vazão do canal com 3 fios, tornando o transporte do analito até o eletrodo mais rápido.

Observando a Figura 2.7A, foi obtido um valor máximo de corrente quando o dispositivo estava com um canal microfluídico composto pelo conjunto de 4 fios de algodão. Como discutido anteriormente, com o aumento do número de fios, foi observado uma melhor resposta da corrente em decorrência da maior vazão presente no canal com 4 fios, mas essa relação tem um comportamento diferente quando utilizou 5 e 6 fios, pois nesse caso a taxa de fluxo foi tão grande que não pode compensar a diluição da amostra e ocasionou um espalhamento da solução ao longo da extensão dos fios [40,41].

Assim, na sequência, o dispositivo passou a ter 4 fios de algodão como microcanais de fluxo. As medidas com o μ FIA também são dependentes da natureza física dos fios, ou seja, a forma como eles estão dispostos no sistema (em paralelo ou torcidos), visto que o transporte da amostra ao longo do fio ocorre principalmente nas lacunas existentes entre os fios, as chamadas interfibras [42]. Logo, este comportamento dos fios no dispositivo utilizando 4 fios dispostos paralelamente (ponto 0) e com número crescente de torções (até 200 torções por metro) foi avaliado. De acordo com a Figura 2.7B, pode-se observar que existe uma forte dependência dos valores de corrente com o número de torções.

Com o aumento do número de torções os espaços entre as fibras ficam menores, logo, as lacunas por onde a solução passa encontram resistência, assim a taxa de fluxo é reduzida, pois a solução leva um tempo maior para chegar até o detector, portanto, refletindo em valores mais baixos de corrente e em um maior tempo de análise [32]. Dessa forma, para melhorar o desempenho analítico do dispositivo e diminuir o tempo de análise, o arranjo dos fios usados para formar os microcanais do μ TED foram dispostos em paralelo para as medidas subsequentes.

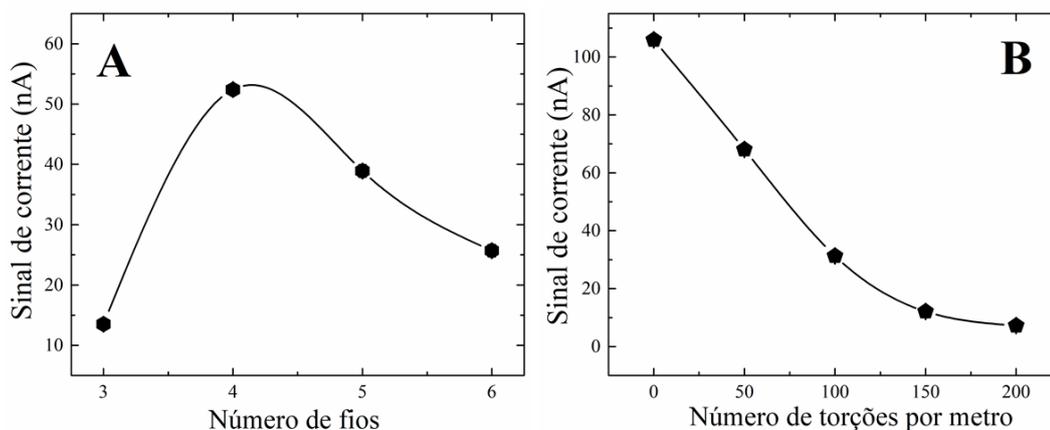


Figura 2. 7 A) Relação entre a quantidade de fios do canal microfluídico e a corrente de pico na resposta analítica da solução padrão de nitrito $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e B) Efeito do número de torções por metro na corrente de pico na resposta analítica da solução padrão de nitrito $10 \mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte: tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0); potencial aplicado: $+1,15 \text{ V}$; volume injetado: $5,0 \mu\text{L}$; intervalo de tempo: $0,1 \text{ s}$. Resultados para $n = 3$ medidas.

O efeito do volume de injeção da amostra foi estudado no intervalo de $2 \mu\text{L}$ até $7 \mu\text{L}$ e é mostrado na Figura 2.8A. Como pode ser observado, um aumento linear no valor de corrente foi observado para volumes de injeção entre $2 \mu\text{L}$ e $4 \mu\text{L}$. Isso sugere que a área central das amostras é menos dispersa para esses volumes. Para volumes superiores a $4 \mu\text{L}$, foi observado

uma queda nos valores de corrente visto que houve uma saturação da resposta do sistema. Isso pode ser atribuído a dois fatores: a dispersão é maior em volumes maiores de amostra e a saturação da capacidade do microcanal quando recebe volumes de amostra acima de 4 μL . Portanto, para os próximos estudos, o volume de injeção foi fixado em 4 μL .

O efeito da distância entre a região de injeção da amostra e a zona de detecção foi otimizada como mostrada na Figura 2.8B. Esse parâmetro foi variado de 5 até 20 mm. Como pode ser visto, o aumento dessa distância causa uma diminuição no sinal de corrente, provavelmente devido à dispersão da amostra ao longo do caminho mais longo antes de atingir o detector. Quanto mais distante da zona de detecção o analito estiver, maior o tempo gasto para alcançá-lo. Uma vez que distâncias menores que 5 mm causaram ruído e problemas de repetibilidade devido à proximidade do detector integrado, a distância ótima foi definida como 5 mm.

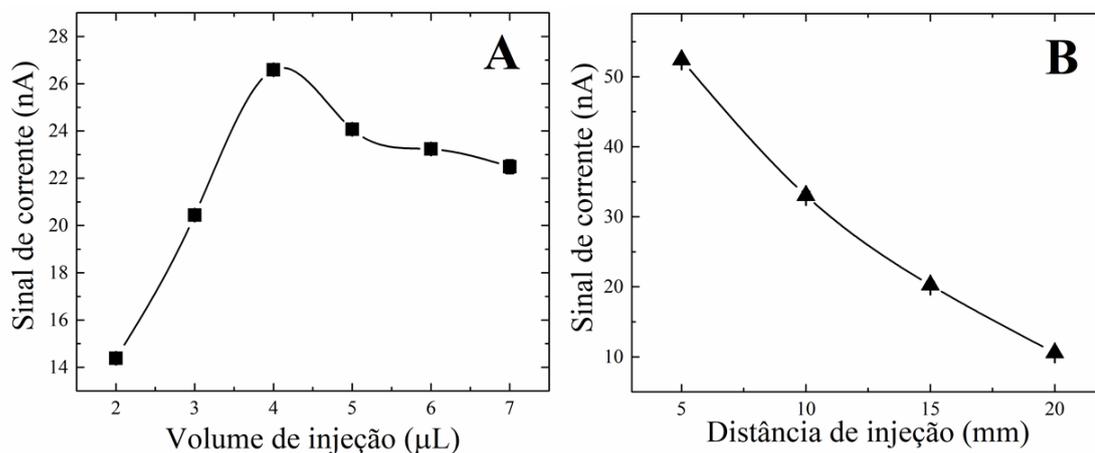


Figura 2. 8 A) Relação entre o volume de injeção da amostra e a corrente de pico de solução padrão de nitrito 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e B) Efeito da distância entre a região de injeção de solução padrão de nitrito 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e a zona de detecção na corrente de pico. Eletrólito suporte: tampão BR 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0); potencial aplicado: +1,15 V; volume injetado: 5,0 μL ; intervalo de tempo: 0,1 s. Resultados para $n = 3$ medidas.

Como a plataforma μFIA é baseada no bombeamento passivo, a diferença de altura entre o reservatório de entrada e saída tem uma grande influência na taxa de fluxo do analito e consequentemente na corrente de pico, pois essa diferença promove um fluxo constante e facilita a absorção capilar do fluido acionado pela ação da gravidade, dispensando o uso de fluxo induzido por bombas ou outro método [43,44]. O dispositivo desenvolvido aqui foi projetado para ser usado em várias diferenças de altura (20 mm a 100 mm) conforme a necessidade da análise. Dessa forma, esse parâmetro foi otimizado. Assim, o mesmo dispositivo

impresso em 3D pode ser usado em várias condições considerando esse parâmetro. De acordo com a Figura 2.9, é perceptível que o sinal de corrente foi muito afetado pela diferença de altura, mostrando um aumento expressivo até 60 mm. Para diferenças de altura maiores que 60 mm, o sinal de corrente diminui significativamente, muito provavelmente pela evaporação da solução, uma vez que a quantidade utilizada, tanto da solução quanto do eletrólito, é muito pequena e a distância é muito grande. Logo, a diferença de altura de 60 mm foi utilizada nos estudos seguintes.

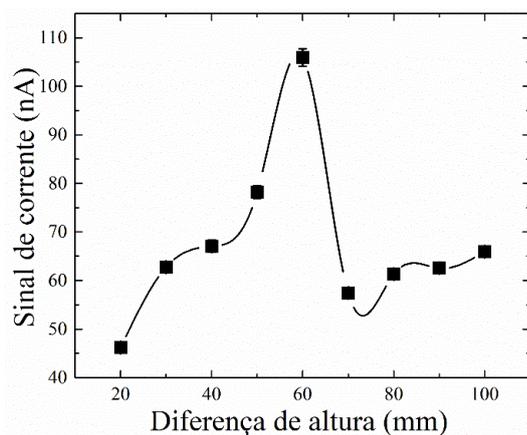


Figura 2. 9 Efeito da diferença de altura entre os reservatórios de entrada e saída na resposta analítica de solução padrão de nitrito $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0); potencial aplicado: +1,15 V; volume injetado: $5,0 \mu\text{L}$; intervalo de tempo: 0,1 s. Resultados para $n = 3$ medidas.

Todos os parâmetros estudados, bem como os valores otimizados, estão sumarizados na Tabela 2.1:

Tabela 2. 1 Parâmetros instrumentais e experimentais investigados em relação à detecção de nitrito usando o μTED impresso em 3D acoplado com eletrodos à base de CB/PLA.

Parâmetro	Faixa estudada	Valor ótimo
pH	2,0 - 6,0	4,0
Potencial de detecção	+0,90 - +1,30 V	+1,15 V
Diferença de altura	20 - 100 mm	60 mm
Número de fios de algodão	3 - 6	4
Torções por metro	0 - 200 por metro	0 (fios sem torções)
Volume de injeção	2,0 - 7,0 μL	4,0 μL
Distância entra a zona de detecção e a zona de injeção da amostra	5 - 20 mm	5 mm

2.4.4 Aplicação analítica

A utilidade analítica da plataforma μ FIA impressa em 3D contendo o detector eletroquímico de CB/PLA integrado foi verificada através da determinação de nitrito em amostras de água de poço. Para esse propósito, uma curva analítica foi construída na faixa de concentração de 8,0 a 200,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Como mostrado na Figura 2.10, o sinal analítico apresentou boa dependência linear com a concentração ($R^2 = 0,998$). A regressão linear da curva forneceu a equação Sinal de corrente (nA) = $-(82,92 \pm 3,01) + (3,78 \pm 0,23) \times [\text{NO}_2^-]$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$). Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram obtidos experimentalmente e também baseado nas equações $3 \times SD_a/b$ e $10 \times SD_a/b$, respectivamente, onde SD_a é o desvio padrão do ruído e b é o coeficiente angular da curva analítica [45]. Os valores alcançados para LD e LQ foram 2,39 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 7,61 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

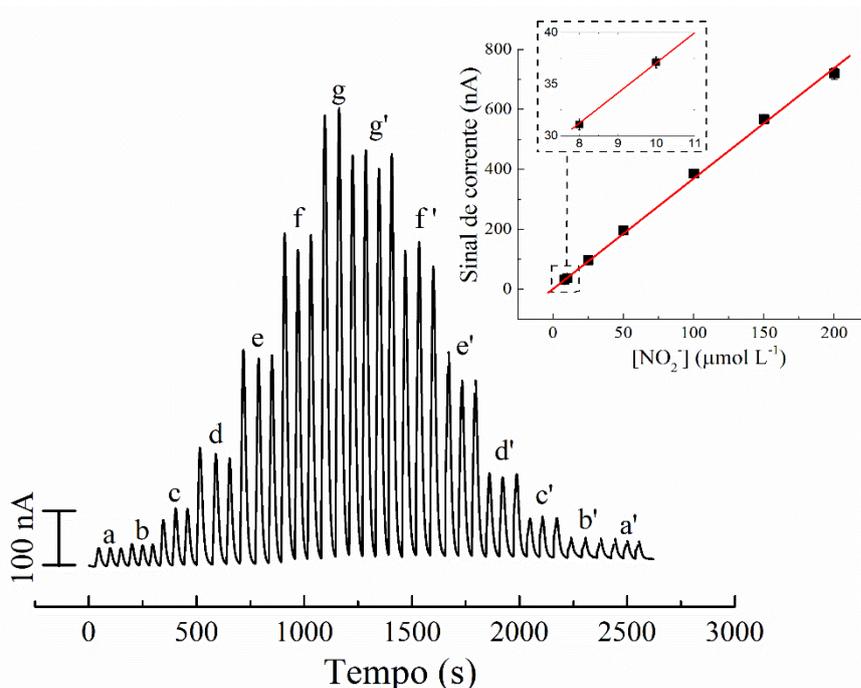


Figura 2. 10 Resposta amperométrica obtida para soluções padrão de nitrito em diferentes concentrações: a) 8 $\mu\text{mol L}^{-1}$; b) 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$; c) 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$; d) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$; e) 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$; f) 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e g) 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O *inset* mostra a respectiva curva analítica obtida do amperograma. Resultados para $n = 3$ medições. Outras condições: consulte a Tabela 2.1.

Para demonstrar a eficiência analítica da plataforma μ FIA impressa em 3D, os resultados obtidos aqui foram comparados com outros trabalhos publicados recentemente que também utilizaram a detecção eletroquímica para nitrito. Como pode ser visto na Tabela 2.2, o LD alcançado aqui foi similar ou até menor do que a maioria dos artigos apresentados. Além

disso, a maioria dos outros trabalhos usaram processos de modificações e/ou várias etapas de pré-tratamento da superfície dos eletrodos, o que torna a metodologia mais cara, enquanto nesse trabalho apresentado aqui houve apenas uma polimento simples, com lixa d'água, dos eletrodos utilizados. O LQ e a faixa de concentração linear obtida com o μ TED demonstrado aqui também permitem a aplicação dessa metodologia para a quantificação de nitrito em água potável. O LQ foi cerca de 3 vezes mais baixo do que o limite máximo de contaminante (LMC) determinado pelo Governo Brasileiro (RDC 357/2005) e pela Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (U.S.EPA), cujo valor é $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ (equivalente a $21,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) [46].

Tabela 2. 2 Comparação entre o desempenho analítico do μ TED totalmente impresso em 3D com o detector eletroquímico acoplado descrito aqui e outras metodologias eletroquímicas aplicadas na detecção de nitrito.

Eletrodo	Técnica	LD/$\mu\text{mol L}^{-1}$	Faixa linear/$\mu\text{mol L}^{-1}$	Ref.	Ano
Ag/H-C ₃ N ₄ /CC ^a	AMP	0,216	5 - 1000	[28]	2020
3D-printed G-PLA ^b	VPD	30	50 - 1300	[25]	2020
3D-printed G-PLA ^b	BIA-AMP	0,03	0,5 - 2500	[25]	2020
Au-SPE/IIP/AuNPs ^c	VPD	4	10,9 - 1087	[47]	2020
CILE/BPE/hemin ^d	VC	330	1000 - 10,500	[48]	2019
SPCE/Ag/rGO/ β -CD ^e	VVL	0,24	1 - 2000	[33]	2019
CPE/Ag/HNT/MoS ₂ ^f	AMP	0,7	2 - 425	[49]	2018
SPCE/AgMCs-PAA/PVA ^g	FIA-AMP	4,5	2 - 800	[50]	2017
PEDOT-Gr/Ta ^h	VPD	7,0	20 - 200	[51]	2017
3D-printed CB/PLA ⁱ	AMP	2,38	8 - 200	Este trabalho	-

^a nanoprata combinado com nitreto de carbono protonado apoiado em fibra de carbono;

^b eletrodo impresso em 3D composto de grafeno/ácido polilático;

^c eletrodo impresso em ouro modificado com polímero impresso com íon/nanopartículas de ouro;

^d eletrodo de líquido iônico de carbono modificado com fosforeno preto/hemina;

^e eletrodo de carbono impresso modificado com nanoestrutura de prata/óxido de grafeno reduzido/ β -ciclodextrina;

^f eletrodo de pasta de carbono modificado com prata/nanotubo de haloisita/dissulfeto de molibidênio;

^g eletrodo de carbono impresso modificado com microcubos de prata-ácido poliacrílico/álcool polivinílico;

^h compósito de poli(3,4-etilenodioxitiofeno)-grafeno depositado sobre filme de Ta;

ⁱ eletrodo impresso em 3D composto de carbon black/ácido polilático.

O sistema μ FIA impresso em 3D integrado aqui proposto foi utilizado para a determinação de nitrito em amostra de poço semiartesiano. O íon nitrito é um indicador de recente contaminação da água [52]. As amostras de água foram preparadas como descrito na parte experimental. Os ensaios preliminares realizados nas amostras usando o μ TED não mostraram contaminação por nitrito em níveis detectáveis. Logo, as amostras foram fortificadas e as análises foram realizadas em triplicata usando o método de adição de padrão, visando alcançar melhor precisão e minimizar o efeito de matriz. As amostras foram analisadas antes e depois da adição de concentração conhecida de padrão de nitrito e os níveis adicionados foram baseados na legislação Brasileira e Norte-Americana. A Figura 2.11 mostra as medidas amperométricas da curva de adição de padrão obtida em uma das determinações.

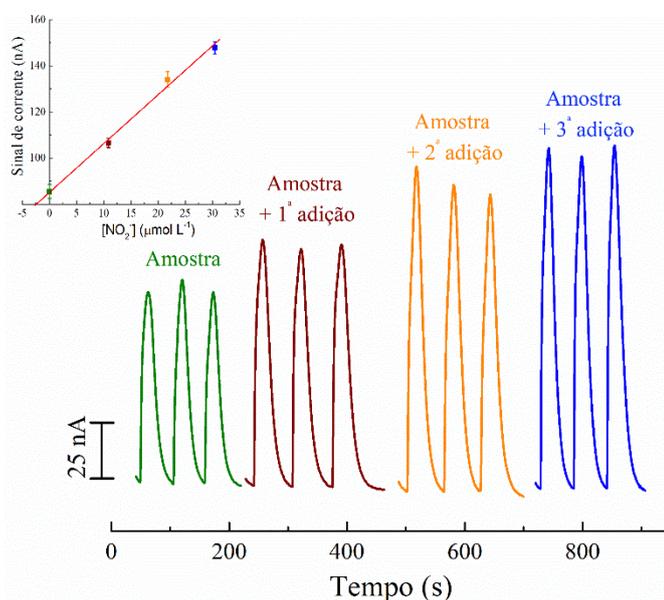


Figura 2. 11 Medidas amperométricas (A) e respectiva curva de adição de padrão (B) obtidas durante uma das determinações de nitrito nas amostras de água de poço. Os pontos na curva de adição de padrão correspondem à média de $n = 3$ medidas. Outras condições: consultar a Tabela 2.1.

Todos os resultados para as análises das amostras estão detalhados na Tabela 2.3. Como pode-se observar, as taxas de recuperação foram cerca de 99 %, indicando uma excelente exatidão. Ademais, os valores de DPR foram cerca de 3 %, indicando uma ótima precisão. As amostras de água também foram analisadas por cromatografia de íons, na qual foi empregada como técnica de referência para validação do método. Os resultados obtidos com o μ TED impresso em 3D apresentaram uma excelente concordância com os valores encontrados pela cromatografia de íons (erro relativo de aproximadamente ± 3 %).

Tabela 2. 3 Resultados obtidos para determinação amperométrica e por cromatografia de íons de nitrito nas amostras de água.

Método	Encontrado ^a ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperado \pm DP ^b ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DPR (%)	Erro relativo (%)
μ TED impresso	< LQ	15,0	14,8 \pm 0,4	2,7	+ 3,5
em 3D	< LQ	30,0	29,8 \pm 0,6	2,0	- 2,6
Cromatografia de	-	15,0	14,3 \pm 0,2	1,4	-
íons	-	30,0	30,6 \pm 0,2	0,6	-

^a antes da fortificação.

^b após a fortificação. Média de 3 determinações.

^c calculado usando os resultados da cromatografia de íons como valores de referência.

O efeito de matriz de algumas possíveis espécies interferentes que geralmente estão presentes em águas naturais foi avaliado para investigar a seletividade do método proposto. A resposta de nitrito foi monitorada em soluções padrão contendo NO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , PO_4^{3-} , F^- , K^+ , Na^+ e Mg^{+2} com proporção 100 vezes de massa e 10 vezes de massa de Mn^{+2} , Fe^{+3} , Pb^{+2} , Cu^{+2} , Co^{+2} , Cd^{+2} e Zn^{+2} . A resposta do nitrito na presença desses interferentes foi comparada com o nitrito presente na ausência dos mesmos. Os resultados mostraram que a resposta relativa de nitrito não foi significativamente afetada pela presença dessas espécies. Como detalhado na Tabela 2.4, os valores variaram entre 95 e 104 %, sugerindo boa seletividade para o método. Isso confirma a viabilidade desse μ TED impresso em 3D com detector integrado para quantificação de nitrito em água potável.

Tabela 2. 4 Resultados do estudo realizado para avaliar a seletividade da resposta eletroquímica nitrito em relação a algumas espécies interferentes tipicamente presentes em águas naturais.

Espécies interferentes	Razão nitrito/interferente	Resposta relativa de nitrito ¹ (%)	DPR ² (%)
NO ₃ ⁻	1/100	99,2	2,2
SO ₄ ²⁻	1/100	98,5	4,1
Cl ⁻	1/100	98,8	3,4
PO ₄ ³⁻	1/100	100,4	2,7
F ⁻	1/100	101,2	1,6
K ⁺	1/100	99,0	2,5
Na ⁺	1/100	96,5	3,1
Mg ⁺²	1/100	102,3	4,0
Mn ⁺²	1/10	103,6	3,7
Fe ⁺³	1/10	95,4	2,8
Pb ⁺²	1/10	98,1	1,4
Cu ⁺²	1/10	103,6	2,3
Co ⁺²	1/10	97,8	4,4
Cd ⁺²	1/10	96,9	1,9
Zn ⁺²	1/10	103,4	3,2

¹ (resposta de nitrito na presença/resposta de nitrito na ausência de interferente) × 100%

² Resultados para $n = 3$ medidas. Condições experimentais: ver Tabela 2.1.

2.4.5 Estudos de repetibilidade, reprodutibilidade, estabilidade e taxa de fluxo

Considerando o baixo custo de produção do sensor impresso em 3D e sua viabilidade de confecção de várias unidades por vez, o sistema de detecção eletroquímica proposto aqui é uma fonte promissora para substituição de eletrodos convencionais para uma grande variedade aplicações incluindo eletroanálises.

A repetibilidade intra-eletrodo das medidas amperométricas no dispositivo microfluídico foi investigada para injeções sucessivas ($n = 20$) usando a solução de nitrito na concentração de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 2.12). Um DPR de 2,1 % foi obtido, na qual é muito menor aos valores obtidos em outros trabalhos quando este tipo de dispositivo é usado em detecção eletroquímica [53,54], sugerindo uma excelente replicabilidade para as injeções.

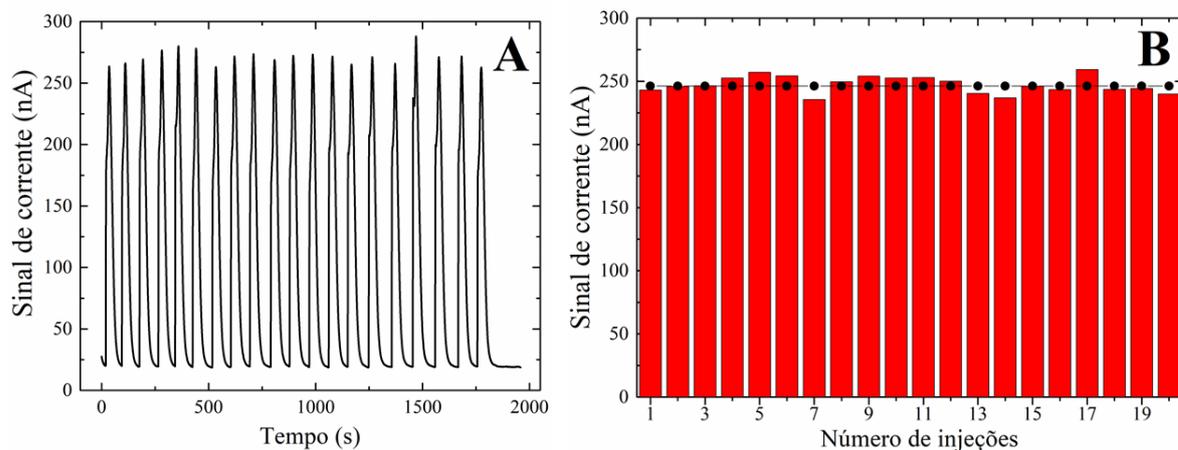


Figura 2. 12 Sinais transitórios obtidos para $n = 20$ sucessivas injeções de solução padrão de nitrito $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ (A); Condições experimentais: ver Tabela 2.1; gráfico dos sinais de corrente usados para o cálculo do DPR (B). A linha horizontal indica a média das correntes.

Ademais, isso também indica que não houve adsorção ou passivação do eletrodo de trabalho, confirmando as vantagens do uso do sistema baseado em fluxo, na qual promove a constante limpeza do eletrodo de trabalho, aumentando seu tempo de vida e reduzindo o custo da análise [40]. Isso é especialmente importante no caso do sensor integrado de CB/PLA usados aqui, na qual são eletrodos sólidos que podem ser usados várias vezes.

A estabilidade do dispositivo impresso em 3D foi estudada usando o mesmo dispositivo dentro de um período de 16 dias com injeções de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de solução padrão de nitrito (Figura 2.13A). Para esse estudo, a ativação por polimento do eletrodo CB/PLA foi realizada apenas no primeiro dia. É evidente que durante este tempo a performance do sistema se manteve com poucas variações dos resultados de corrente de pico, e não se observou variações significativas durante as medidas. Isso indica que não houve perda acentuada da sensibilidade do eletrodo de CB/PLA ou degradação da solução utilizada nas análises. Um DPR de 4,0 % foi obtido. Isso indica que não houve perda da sensibilidade dos eletrodos nem diminuição na eficiência analítica após esse período, que além de estável e reproduzível as análises indicaram uma ótima performance do dispositivo que foi construído sem o uso de materiais ou equipamentos sofisticados, sugerindo um tempo de vida longo para a plataforma. Além disso, quando algum decréscimo significativo da resposta eletroquímica é observado ao longo do tempo, o detector integrado de CB/PLA pode ser reativado novamente pelo processo de polimento.

A reprodutibilidade inter-eletrodo do dispositivo também foi avaliada para 4 diferentes sistemas μFIA impressos em 3D com injeções de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de solução padrão de nitrito

(Figura 2.13B), sendo obtido um DPR de 2,5 %, indicando ótima reprodutibilidade na fabricação e montagem da plataforma, e tornando a abordagem proposta aqui adequada para implementação em larga escala. Esses resultados indicam que os eletrodos não apresentaram instabilidade no fluxo ou envenenamento de sua superfície, além de mostrarem uma boa eficiência de limpeza na zona de detecção.

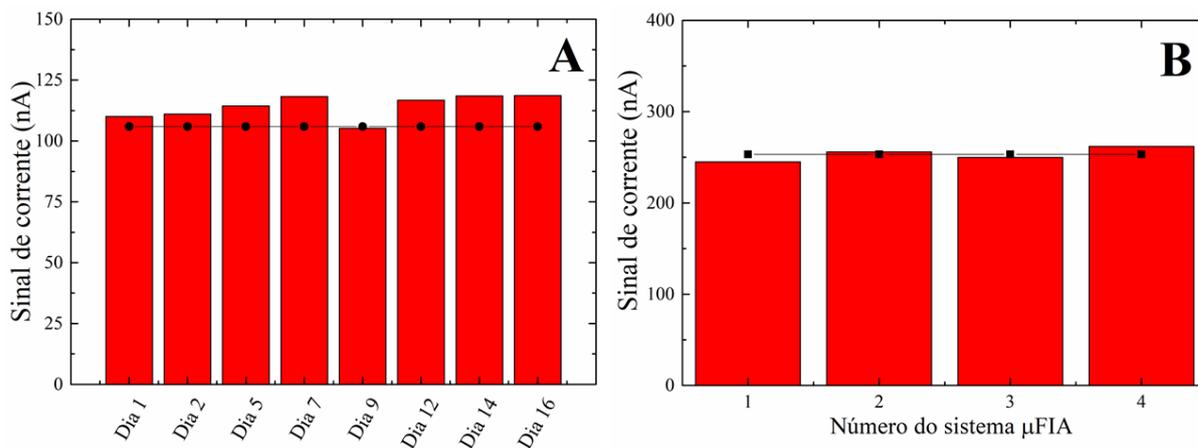


Figura 2. 13 A) Estudo de estabilidade avaliada dentro de um período de 16 dias e B) Estudo de reprodutibilidade inter-eletrodo. Condições experimentais: ver Tabela 2.1. A linha pontilhada horizontal indica o valor médio da corrente obtida.

Sob condições otimizadas, a taxa de fluxo fornecida pelo μ TED impresso em 3D foi de $0,41 \mu\text{L s}^{-1}$. Esse valor é maior do que aqueles apresentados em artigos reportados na literatura que também descrevem dispositivos de fluxo baseados em bombeamento passivo que variam de $0,03 \mu\text{L s}^{-1}$ a $0,16 \mu\text{L s}^{-1}$ [40,43,55]. Sobre a frequência analítica, o valor de 50 injeções/hora foi estimado para a plataforma μ FIA, na qual é similar ou até mesmo superior à outras abordagens [53,56]. O custo para fabricação e montagem total de cada dispositivo (considerando a plataforma principal, o detector integrado, parafusos e canal de fluxo) foi calculado como sendo aproximadamente 15 Reais, em relação aos μ FIA convencionais. Este valor pode ser considerado extremamente baixo para um dispositivo de fluxo, especialmente levando-se em conta que o canal hidrofílico e as partes impressas em 3D podem ser usadas inúmeras vezes. Assim, considerando que a plataforma μ FIA impressa em 3D possui baixo custo, é totalmente integrada, fabricada de forma automatizada, e consome volumes extremamente baixos de amostras e reagentes, podemos afirmar que esta abordagem é uma alternativa muito interessante para análises eletroquímicas de fluxo. Como prova de conceito, a plataforma proposta aqui foi aplicada na determinação de nitrito em amostras de água com ótima precisão, ausência da influência de interferentes possivelmente presentes na amostra, e

em níveis mais baixos do que aqueles estabelecidos pelas legislações dos governos Brasileiro e Norte-Americano, mostrando-se como uma nova aplicação promissora da impressão 3D na Química Analítica.

2.5 CONCLUSÃO

Demostramos nesse trabalho, pela primeira vez, a performance analítica de um dispositivo microfluídico acoplado com um sensor eletroquímico de CB/PLA, ambos impresos em 3D, combinado com fios de algodão (que realizam o fluxo do analito até a zona de detecção), construído em um processo eficiente com configurações simples e de baixo custo para medidas amperométricas em amostras de água. A plataforma μ TED construída e descrita aqui mostrou algumas vantagens que incluem fabricação de forma automatizada, viabilidade para implementação em larga escala, baixo consumo de amostras e reagentes e mínima geração de resíduos. Além disso, o dispositivo μ FIA não necessita de bombas externas e de custo elevado para o processo.

Como prova de conceito, a utilidade analítica do sistema μ FIA proposto foi testada na quantificação de nitrito em água potável. Este é o primeiro método analítico que usa uma plataforma μ TED para determinação de íons nitrito. Todos os experimentos e parâmetros foram estudados e otimizados. Sob as melhores condições, o μ TED apresentou boa precisão para detectar nitrito (DPR de 2,1 %), excelente reprodutibilidade (DPR de 2,5 %) e boa estabilidade (DPR de 4,0 %). Ademais, foi obtido um LQ de $7,61 \mu\text{mol L}^{-1}$, valor este aproximadamente três vezes menor do que o nível máximo de contaminante estabelecido pela legislação Brasileira e Norte-Americana em relação à presença de nitrito em água potável. A validação do método foi realizada com cromatografia de íons. Os resultados apresentados pela plataforma μ FIA nas análises de nitrito em amostras de água potável demonstraram grande precisão e exatidão. Assim, de acordo com os resultados reportados aqui, esse novo sistema μ TED impresso em 3D provou ser uma alternativa interessante e vantajosa para análises eletroquímicas de fluxo, uma vez que é totalmente integrado, facilmente fabricado, baixo custo, promove análises rápidas em poucas etapas e está de acordo com o conceito de Química verde. Portanto, o dispositivo proposto aqui tem potencial promissor para ser explorado em outras aplicações eletroquímicas/eletroanalíticas.

2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS II

- [1] M.J. Beauchamp, A. V Nielsen, H. Gong, G.P. Nordin, A.T. Woolley, 3D Printed Microfluidic Devices for Microchip Electrophoresis of Preterm Birth Biomarkers, *Anal. Chem.* 91 (2019) 14. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b01395>.
- [2] N.M. Neris, R.D. Guevara, A. Gonzalez, F.A. Gomez, 3D Multilayered paper- and thread/paper-based microfluidic devices for bioassays, *Electrophoresis*. 40 (2019) 296–303. <https://doi.org/10.1002/elps.201800383>.
- [3] B. Nasser, N. Soleimani, N. Rabiee, A. Kalbasi, M. Karimi, M.R. Hamblin, Point-of-care microfluidic devices for pathogen detection, *Biosens. Bioelectron.* 117 (2018) 112–128. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.05.050>.
- [4] K. Kant, M.A. Shahbazi, V.P. Dave, T.A. Ngo, V.A. Chidambara, L.Q. Than, D.D. Bang, A. Wolff, Microfluidic devices for sample preparation and rapid detection of foodborne pathogens, *Biotechnol. Adv.* 36 (2018) 1003–1024. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.03.002>.
- [5] P.T. Garcia, E.F.M. Gabriel, G.S. Pessôa, J.C. Santos Júnior, P.C. Mollo Filho, R.B.F. Guidugli, N.F. Höehr, M.A.Z. Arruda, W.K.T. Coltro, Paper-based microfluidic devices on the crime scene: A simple tool for rapid estimation of post-mortem interval using vitreous humour, *Anal. Chim. Acta.* 974 (2017) 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.04.040>.
- [6] C. Qian, S. Wu, H. Chen, X. Zhang, R. Jing, L. Shen, X. Wang, S. Ju, C. Jia, H. Cong, Clinical significance of circulating tumor cells from lung cancer patients using microfluidic chip, *Clin. Exp. Med.* 18 (2018) 191–202. <https://doi.org/10.1007/s10238-018-0485-6>.
- [7] M.I.G.S. Almeida, B.M. Jayawardane, S.D. Kolev, I.D. McKelvie, Developments of microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs) for water analysis: A review, *Talanta*. 177 (2018) 176–190. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.08.072>.
- [8] A.W. Martinez, S.T. Phillips, M.J. Butte, G.M. Whitesides, Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 46 (2007) 1318–1320. <https://doi.org/10.1002/anie.200603817>.
- [9] J.C. Jokerst, J.A. Adkins, B. Bisha, M.M. Mentele, L.D. Goodridge, C.S. Henry, Development of a paper-based analytical device for colorimetric detection of select foodborne pathogens, *Anal. Chem.* 84 (2012) 2900–2907. <https://doi.org/10.1021/ac203466y>.
- [10] C.K. Chiang, A. Kurniawan, C.Y. Kao, M.J. Wang, Single step and mask-free 3D wax

- printing of microfluidic paper-based analytical devices for glucose and nitrite assays, *Talanta*. 194 (2019) 837–845. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.104>.
- [11] L.G. Aguilar, J.M. Petroni, V.S. Ferreira, B.G. Lucca, Easy and rapid pen-on-paper protocol for fabrication of paper analytical devices using inexpensive acrylate-based plastic welding repair kit, *Talanta*. 219 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121246>.
- [12] D. Agustini, L. Fedalto, D. Agustini, L.G. de Matos dos Santos, C.E. Banks, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, A low cost, versatile and chromatographic device for microfluidic amperometric analyses, *Sensors Actuators, B Chem.* 304 (2020) 127117. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127117>.
- [13] L.M. Ochiai, D. Agustini, L.C.S. Figueiredo-Filho, C.E. Banks, L.H. Marcolino-Junior, M.F. Bergamini, Electroanalytical thread-device for estriol determination using screen-printed carbon electrodes modified with carbon nanotubes, *Sensors Actuators, B Chem.* 241 (2017) 978–984. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.10.150>.
- [14] X. Li, J. Tian, W. Shen, Thread as a versatile material for low-cost microfluidic diagnostics, *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2 (2010) 1–6. <https://doi.org/10.1021/am9006148>.
- [15] N. Dossi, R. Toniolo, F. Terzi, N. Sdrigotti, F. Tubaro, G. Bontempelli, A cotton thread fluidic device with a wall-jet pencil-drawn paper based dual electrode detector, *Anal. Chim. Acta*. 1040 (2018) 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.061>.
- [16] R.S. Martin, A.J. Gawron, S.M. Lunte, C.S. Henry, Dual-electrode electrochemical detection for poly(dimethylsiloxane)-fabricated capillary electrophoresis microchips, *Anal. Chem.* 72 (2000) 3196–3202. <https://doi.org/10.1021/ac000160t>.
- [17] J. Wang, Electrochemical detection for microscale analytical systems: A review, *Talanta*. 56 (2002) 223–231. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00592-6](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00592-6).
- [18] N.C. Moraes, E.N.T. da Silva, J.M. Petroni, V.S. Ferreira, B.G. Lucca, Design of novel, simple, and inexpensive 3D printing-based miniaturized electrochemical platform containing embedded disposable detector for analytical applications, *Electrophoresis*. 41 (2020) 278–286. <https://doi.org/10.1002/elps.201900270>.
- [19] H.H. Hamzah, S.A. Shafiee, A. Abdalla, B.A. Patel, 3D printable conductive materials for the fabrication of electrochemical sensors: A mini review, *Electrochem. Commun.* 96 (2018) 27–31. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2018.09.006>.
- [20] A. Ambrosi, M. Pumera, 3D-printing technologies for electrochemical applications,

Chem. Soc. Rev. 45 (2016) 2740–2755. <https://doi.org/10.1039/C5CS00714C>.

[21] R.M. Cardoso, D.M.H. Mendonça, W.P. Silva, M.N.T. Silva, E. Nossol, R.A.B. da Silva, E.M. Richter, R.A.A. Muñoz, 3D printing for electroanalysis: From multiuse electrochemical cells to sensors, *Anal. Chim. Acta.* 1033 (2018) 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.021>.

[22] A.D. Ambaye, K.K. Kefeni, S.B. Mishra, E.N. Nxumalo, B. Ntsendwana, Recent developments in nanotechnology-based printing electrode systems for electrochemical sensors, *Talanta.* 225 (2021) 121951. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121951>.

[23] R.G. Rocha, R.M. Cardoso, P.J. Zambiazzi, S.V.F. Castro, T.V.B. Ferraz, G. de O. Aparecido, J.A. Bonacin, R.A.A. Munoz, E.M. Richter, Production of 3D-printed disposable electrochemical sensors for glucose detection using a conductive filament modified with nickel microparticles, *Anal. Chim. Acta.* 1132 (2020) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.07.028>.

[24] E.M. Richter, D.P. Rocha, R.M. Cardoso, E.M. Keefe, C.W. Foster, R.A.A. Munoz, C.E. Banks, Complete Additively Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensing Platform, *Anal. Chem.* 91 (2019) 12844–12851. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02573>.

[25] R.M. Cardoso, P.R.L. Silva, A.P. Lima, D.P. Rocha, T.C. Oliveira, T.M. do Prado, E.L. Fava, O. Fatibello-Filho, E.M. Richter, R.A.A. Muñoz, 3D-Printed graphene/polylactic acid electrode for bioanalysis: Biosensing of glucose and simultaneous determination of uric acid and nitrite in biological fluids, *Sensors Actuators, B Chem.* 307 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127621>.

[26] D. Agustini, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, Low cost microfluidic device based on cotton threads for electroanalytical application, *Lab Chip.* 16 (2016) 345–352. <https://doi.org/10.1039/c5lc01348h>.

[27] C.S. Bruning-Fann, J.B. Kaneene, The effects of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds on human health: A review, *Vet. Hum. Toxicol.* 35 (1993) 521–538. <https://europepmc.org/article/med/8303822> (accessed June 22, 2021).

[28] Y. Shen, C. Ma, S. Zhang, P. Li, W. Zhu, X. Zhang, J. Gao, H. Song, D. Chen, D. Pang, A. Li, Nanosilver and protonated carbon nitride co-coated carbon cloth fibers based non-enzymatic electrochemical sensor for determination of carcinogenic nitrite, *Sci. Total Environ.* 742 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140622>.

- [29] R. Mitchell, C.M. Carr, M. Parfitt, J.C. Vickerman, C. Jones, Surface chemical analysis of raw cotton fibres and associated materials, *Cellulose*. 12 (2005) 629–639. <https://doi.org/10.1007/s10570-005-9000-9>.
- [30] G.R. Gamble, Variation in Surface Chemical Constituents of Cotton (*Gossypium hirsutum*) Fiber as a Function of Maturity, *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 7995–7998. <https://doi.org/10.1021/jf030178f>.
- [31] R.S.P. Malon, K.Y. Chua, D.H.B. Wicaksono, E.P. Córcoles, Cotton fabric-based electrochemical device for lactate measurement in saliva, *Analyst*. 139 (2014) 3009–3016. <https://doi.org/10.1039/c4an00201f>.
- [32] A. Nilghaz, D.H.B. Wicaksono, D. Gustiono, F.A. Abdul Majid, E. Supriyanto, M.R. Abdul Kadir, Flexible microfluidic cloth-based analytical devices using a low-cost wax patterning technique, *Lab Chip*. 12 (2012) 209–218. <https://doi.org/10.1039/c1lc20764d>.
- [33] T. Zhe, X. Sun, Q. Wang, Y. Liu, R. Li, F. Li, L. Wang, A screen printed carbon electrode modified with a lamellar nanocomposite containing dendritic silver nanostructures, reduced graphene oxide, and β -cyclodextrin for voltammetric sensing of nitrite, *Microchim. Acta*. 186 (2019). <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3414-9>.
- [34] J.M. Petroni, B.G. Lucca, V.S. Ferreira, Simple and Inexpensive Electrochemical Platform Based on Novel Homemade Carbon Ink and its Analytical Application for Determination of Nitrite, *Electroanalysis*. 29 (2017) 1762–1771. <https://doi.org/10.1002/elan.201700117>.
- [35] X. Li, N. Zou, Z. Wang, Y. Sun, H. Li, C. Gao, T. Wang, X. Wang, An electrochemical sensor for determination of nitrite based on Au nanoparticles decorated MoS₂ nanosheets, *Chem. Pap.* 74 (2020) 441–449. <https://doi.org/10.1007/s11696-019-00885-9>.
- [36] Y. Zhang, J. Nie, H. Wei, H. Xu, Q. Wang, Y. Cong, J. Tao, L. Chu, Y. Zhou, X. Wu, Electrochemical detection of nitrite ions using Ag/Cu/MWNT nanoclusters electrodeposited on a glassy carbon electrode, *Sensors Actuators B*. 258 (2018) 1107–1116. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.12.001>.
- [37] F.M. de Oliveira, E.I. de Melo, R.A.B. da Silva, 3D Pen: A low-cost and portable tool for manufacture of 3D-printed sensors, *Sensors Actuators B Chem.* 321 (2020) 128528. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128528>.
- [38] V. Katseli, A. Economou, C. Kokkinos, A novel all-3D-printed cell-on-a-chip device as

a useful electroanalytical tool: Application to the simultaneous voltammetric determination of caffeine and paracetamol, *Talanta*. 208 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120388>.

[39] V. Katseli, A. Economou, C. Kokkinos, Single-step fabrication of an integrated 3D-printed device for electrochemical sensing applications, *Electrochem. Commun.* 103 (2019) 100–103. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.05.008>.

[40] D. Agustini, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, Characterization and optimization of low cost microfluidic thread based electroanalytical device for micro flow injection analysis, *Anal. Chim. Acta.* 951 (2017) 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.11.046>.

[41] D.R. Ballerini, X. Li, W. Shen, Flow control concepts for thread-based microfluidic devices, *Biomicrofluidics*. 5 (2011) 014105. <https://doi.org/10.1063/1.3567094>.

[42] S.S. Banerjee, A. Roychowdhury, N. Taneja, R. Janrao, J. Khandare, D. Paul, Chemical synthesis and sensing in inexpensive thread-based microdevices, *Sensors Actuators, B Chem.* 186 (2013) 439–445. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.06.036>.

[43] J. Lankelma, Z. Nie, E. Carrilho, G.M. Whitesides, Paper-based analytical device for electrochemical flow-injection analysis of glucose in urine, *Anal. Chem.* 84 (2012) 4147–4152. <https://doi.org/10.1021/ac3003648>.

[44] J. Berthier, K.A. Brakke, D. Gosselin, E. Berthier, F. Navarro, Thread-based microfluidics: Flow patterns in homogeneous and heterogeneous microfiber bundles, *Med. Eng. Phys.* 48 (2017) 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2017.08.004>.

[45] J. Mocak, A.M. Bond, S. Mitchell, G. Scollary, A.M. Bond, A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: Application to voltammetric and stripping techniques, *Pure Appl. Chem.* 69 (1997) 297–328. <https://doi.org/10.1351/pac199769020297>.

[46] M. Shariati-Rad, M. Irandoust, S. Mohammadi, Spectrophotometric determination of nitrite in soil and water using cefixime and central composite design, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 149 (2015) 190–195. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.04.083>.

[47] A. Diouf, N. El Bari, B. Bouchikhi, A novel electrochemical sensor based on ion imprinted polymer and gold nanomaterials for nitrite ion analysis in exhaled breath condensate, *Talanta*. 209 (2020) 120577. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120577>.

[48] X. Li, G. Luo, H. Xie, Y. Niu, X. Li, R. Zou, Y. Xi, Y. Xiong, W. Sun, G. Li, Voltammetric sensing performances of a carbon ionic liquid electrode modified with black

phosphorene and hemin, *Microchim. Acta.* 186 (2019) 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3421-x>.

[49] M. Ghanei-Motlagh, M.A. Taher, A novel electrochemical sensor based on silver/halloysite nanotube/molybdenum disulfide nanocomposite for efficient nitrite sensing, *Biosens. Bioelectron.* 109 (2018) 279–285. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.02.057>.

[50] K. Promsuwan, P. Thavarungkul, P. Kanatharana, W. Limbut, Flow injection amperometric nitrite sensor based on silver microcubics-poly (acrylic acid)/poly (vinyl alcohol) modified screen printed carbon electrode, *Electrochim. Acta.* 232 (2017) 357–369. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.02.138>.

[51] F. Tian, H. Li, M. Li, C. Li, Y. Lei, B. Yang, Synthesis of one-dimensional poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-graphene composites for the simultaneous detection of hydroquinone, catechol, resorcinol, and nitrite, *Synth. Met.* 226 (2017) 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2017.02.016>.

[52] I. Yousfi, H. Ben Salem, D. Aouadi, S. Abidi, Effect of sodium chloride, sodium sulfate or sodium nitrite in drinking water on intake, digestion, growth rate, carcass traits and meat quality of Barbarine lamb, *Small Rumin. Res.* 143 (2016) 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.08.013>.

[53] E.A. Carneiro, D. Agustini, L.C.S. Figueiredo-Filho, C.E. Banks, L.H. Marcolino-Junior, M.F. Bergamini, 3D-printed Microfluidic Device Based on Cotton Threads for Amperometric Estimation of Antioxidants in Wine Samples, *Electroanalysis.* 30 (2018) 101–108. <https://doi.org/10.1002/elan.201700579>.

[54] Y. Sameenoi, K. Koehler, J. Shapiro, K. Boonsong, Y. Sun, J. Collett, J. Volckens, C.S. Henry, Microfluidic electrochemical sensor for on-line monitoring of aerosol oxidative activity, *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012) 10562–10568. <https://doi.org/10.1021/ja3031104>.

[55] C. Zhou, Y. Mu, M. Yang, Q. Song, Y. Zhang, Z. Wu, L. Xiang, W. Jin, Q. Jin, A gravity-induced flow injection system for surface plasmon resonance biosensor, *Talanta.* 112 (2013) 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.03.037>.

[56] A. Wisitsoraat, P. Sritongkham, C. Karuwan, D. Phokharatkul, T. Maturos, A. Tuantranont, Fast cholesterol detection using flow injection microfluidic device with functionalized carbon nanotubes based electrochemical sensor, *Biosens. Bioelectron.* 26 (2010) 1514–1520. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.07.101>.

CAPÍTULO 3 – DETERMINAÇÃO ELETROQUÍMICA DO FUNGICIDA BENZOVINDIFLUPIR UTILIZANDO ELETRODO DESCARTÁVEL DE GRAFITE DE LAPISEIRA

3.1 INTRODUÇÃO

A função dos pesticidas, em suma, é o controle de pragas, doenças e crescimento de ervas daninhas na produção de culturas agrícolas. Eles são indispensáveis na agricultura global. Entretanto, eles também são responsáveis pelo efeito nocivo ao meio ambiente e à saúde humana, pois geram grande quantidade de resíduos tóxicos. Para aumentar o rendimento das colheitas, cada vez mais tem se empregado esses produtos químicos, sendo que cerca de 70 % de todos os pesticidas conhecidos conseguem penetrar o solo, destruindo seu ecossistema [1–3].

Dentre os diversos tipos de pesticidas existentes estão os fungicidas, que atuam diretamente no combate a alguns tipos de fungos. O benzovindiflupir (BZN) é um fungicida com grande potencial de controle de doenças fúngicas frente a outros da mesma classe, pois possui uma fácil aplicabilidade e excelente valor econômico [4].

Pertencente ao grupo químico pirazol carboxamida dos fungicidas (uma das categorias mais importantes dos SDHIs – *succinate dehydrogenase inhibitor*, traduzido do inglês, “inibidores da succinato desidrogenase”), registrado sob o número CAS (1072957-71-1), categorizado no grupo C2 pelo Comitê de Ação de Resistência a Fungicidas (FRAC) e regularizado pela ANVISA. Foi autorizado para uso no Brasil pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em 2014 sob o número 2414 (<https://www.gov.br/agricultura/pt-br>) e registrado em 2015 pela Agência de Proteção Ambiental Americana (U.S.EPA) (<https://www.regulations.gov/>). O BZN é um fungicida foliar protetor de amplo espectro muito utilizado no tratamento de muitas doenças, atuando por um longo período, principalmente a ferrugem asiática da soja, tem seu modo de ação primário baseado no bloqueio do ciclo do ácido tricarboxílico (ciclo TAC) entre o fumarato e o succinato gerando a inibição da atividade da enzima SDHI, que é encontrada em muitos fungos, e bloqueando os sítios de ligação da ubiquinona na mitocôndria, causando assim a diminuição da respiração do fungo e levando à morte [5–9]. Desenvolvido pela Syngenta, com nome IUPAC (N-[(1S, 4R)-9-(diclorometileno)-1, 2, 3, 4-tetrahidro-1,4-metanonaftalen-5-il]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida), sua estrutura apresenta um anel de carbono

em ponte bastante tensionado [10]. Sua fórmula molecular é $C_{18}H_{15}Cl_2F_2N_3O$ e sua estrutura química está representada na Figura 3.1:

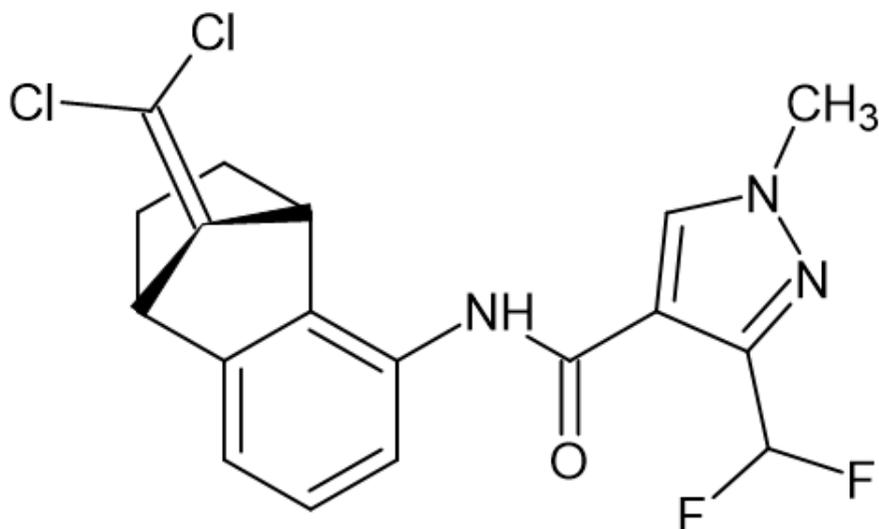


Figura 3. 1 Estrutura química de benzovindiflupir. Adaptado de Hou *et. al.* [11].

O BZN é empregado no combate da ferrugem asiática da soja, mancha foliar do amendoim e sarna da macieira, pois consegue atuar no tratamento dessas doenças por um período longo, protegendo principalmente a área foliar da cultura [11–13]. Geralmente o BZN é empregado junto com outros tipos de fungicidas por não apresentar resistência cruzada conhecida [5,12–14]. Em relação à sua estabilidade, o BZN demora cerca de 10 dias para que sua metade se fotodegrade em água ($DT_{50} > 10$ dias), sendo considerado relativamente estável no solo, além de ser firmemente adsorvido pelo solo podendo permanecer ali por vários anos [4].

Comercialmente, BZN é produzido e vendido exclusivamente pela empresa Syngenta sob o nome de SOLETANOL[®] (nome comercial do princípio ativo BZN). A Tabela 3.1 traz os principais produtos encontrados no mercado que possui BZN em sua composição. Além disso, é apresentado também, a classificação toxicológica à saúde humana e ao meio ambiente constatados para cada fungicida.

Tabela 3. 1 Fungicidas contendo BZN em sua composição comercializados pela Syngenta.

LOGOMARCA DO PRODUTO	[BZN]	REGISTRO NO MAPA ^a	CLASSIFICAÇÃO DE PERICULOSIDADE	
			TOXICOLÓGICA	AMBIENTAL
Elatus [®] [15]	15 % (m/m)	Nº 02414	Categoria 4 ^b	Classe 2 ^e
Aprovia [®] TOP [16]	7,30 % (m/v)	-	Categoria 4 ^b	Classe 2 ^e
Trivapro [®] B [17]	10,3 % (m/v)	-	Categoria 3 ^c	Classe 2 ^e
Mitrion [®] [18]	7,5 % (m/v)	Nº 07621	Categoria 5 ^d	Classe 2 ^e
Alade [®] [19]	6 % (m/v)	Nº 07521	Categoria 4 ^b	Classe 2 ^e

^a Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;

^b Pouco tóxico;

^c Moderadamente tóxico;

^d Improvável de causar dano agudo;

^e Muito perigoso ao meio ambiente.

Considerado um poluente marinho, é extremamente tóxico para organismos aquáticos (microcrustáceos, peixes e algas). O BZN pode causar danos agudos e crônicos com efeito prolongado a depender da quantidade derramada nos corpos d'água. Aos humanos é nocivo podendo provocar reações alérgicas e hipercalcemia [15].

Atualmente, fungicidas como o BZN são indispensáveis na agricultura mundial, visto sua aplicabilidade no controle de doenças e pragas. Porém, apesar de seu uso ser necessário para esse fim, seus resíduos podem ser altamente tóxicos e comprometer a integridade do meio ambiente e a saúde ecológica. Como mencionado anteriormente, o BZN pode ser associado a outros fungicidas para uma maior performance. Dentre vários deles, a azoxistrobina, é mais comumente utilizada com conjunto com o BZN. A azoxistrobina atualmente é o fungicida mais comercializado pela Syngenta. Entretanto, espera-se que o BZN a ultrapasse devido seu maior potencial, tanto na aplicação quanto no valor econômico [2–4].

Atualmente, existem poucos estudos sobre os impactos ambientais causados pelo BZN. A grande maioria das pesquisas envolvendo esta substância se concentra na síntese e aplicação [20,21]. Os métodos para detecção do BZN reportados pela literatura são apenas dois: cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas (HPLC-MS/MS) e o método de

multi resíduos QuEChERS segundo a Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) [13,22]. Entretanto, mesmos sendo as únicas técnicas reportadas na literatura para essa análise, suas instrumentações apresentam alto custo, longo tempo de análise, várias etapas no processo, além de necessitarem de um operador treinado para a manipulação do equipamento. Em oposição, tem-se os sensores eletroquímicos, que alcançam sensibilidade e seletividade semelhantes aos métodos cromatográficos e de multi resíduos citados, porém com um custo de muito menor, rapidez na análise, detecção não destrutiva e possibilidade/facilidade de miniaturização [23,24].

Até o presente momento, não existe nenhum relato acerca do uso de técnicas eletroquímicas para determinação de BZN. Dessa forma, nota-se uma escassez de métodos de análise para BZN visando a sua determinação analítica [20,21].

Assim, este trabalho apresenta pela primeira vez o estudo eletroquímico do BZN. Além disso, também foi desenvolvido um método eletroanalítico para análise da substância que utiliza uma célula eletroquímica composta por eletrodos de grafite de lapiseira (PGE), sendo uma alternativa de análise simples e de baixo custo em relação aos métodos existentes.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo geral

Demonstrar pela primeira vez o estudo eletroquímico e desenvolver um novo método eletroanalítico para detecção do fungicida BZN utilizando um sensor eletroquímico à base de eletrodos de grafite de lapiseira.

3.2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um método de detecção eletroquímica do benzovindiflupir;
- Otimizar o sistema proposto utilizando técnicas voltamétricas;
- Realizar a aplicação analítica do método por meio da detecção de benzovindiflupir em amostras reais de fungicidas.

3.3 PARTE EXPERIMENTAL

3.3.1 Materiais e reagentes

O pesticida BZN usado como padrão analítico foi fornecido pela Coordenadora Geral de Perícias (Campo Grande, MS, Brasil). Padrão azoxistrobina foi adquirido da Sigma-Aldrich (Cotia, SP, Brasil). Hidróxido de sódio e ácido ortofosfórico foram fornecidos pela Acros Organics (Geel, Bélgica). Ácido bórico foi adquirido da Dinâmica (Diadema, SP, Brasil). Ácido acético foi obtido da Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brasil). Acetonitrila foi fornecida pela Química Moderna. Grafites de lapiseira (0,7 mm de diâmetro, tipo 2B) foram comprados em papelarias locais. Todas as soluções utilizadas durante os experimentos foram preparadas com água ultrapura (resistividade $\geq 18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) fornecido por um sistema de purificação de água de osmose reversa Permuton RO0310 (Permuton, Curitiba, PR, Brasil). As soluções estoque dos tampões e analitos foram preparadas semanalmente. Todas as soluções padrão utilizadas para os experimentos foram preparadas diariamente através da diluição das soluções estoque.

3.3.2 Célula eletroquímica

Os sensores eletroquímicos empregados aqui (trabalho, contra e o pseudo-referência) consistiram de grafites de lapiseira de 0,7 mm de diâmetro (tipo 2B). Esses eletrodos foram inseridos na célula eletroquímica (Figura 3.2) sem nenhum processo de pré-tratamento. A conexão eletroquímica foi estabelecida diretamente nos grafites de lapiseira.

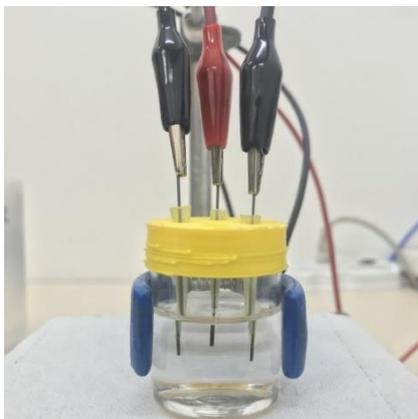


Figura 3. 2 Foto da célula eletroquímica com seus sensores de PGE e conexões elétricas usada durante as medidas.

3.3.3 Instrumentação e procedimento analítico

As medidas eletroquímicas usando as técnicas de voltametria cíclica (VC), voltametria de onda quadrada (VOQ) e voltametria de pulso diferencial (VPD) foram realizadas em temperatura ambiente usando um Autolab PGSTAT128N potentiostato/galvanostato (Ecochemie, Utrecht, Países Baixos) conectado a um computador e gerenciado pelo software Metrohm Autolab Nova 2.1. Os experimentos voltamétricos foram realizados em uma célula de vidro de compartimento único com capacidade de 15,0 mL junto com um sistema de três eletrodos composto pelos grafites de lapiseira em uma célula eletroquímica sem remoção de oxigênio.

3.3.4 Preparo e análise das amostras reais

As amostras de produtos comerciais contendo BZN como princípio ativo (Elatas) foram solubilizadas em acetonitrila, sonicadas por 10 min., filtrada através de um filtro de seringa com uma membrana porosa de 0,22 μm e levadas para análise na célula eletroquímica. Nenhuma outra etapa de pré-tratamento foi realizada. A solução foi agitada por 10 s antes de cada medida.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Comportamento eletroquímico de benzovindiflupir e estudo de pH

Os experimentos iniciais consistiram na investigação do comportamento eletroquímico da espécie de interesse (BZN) no PGE, principalmente no que se refere aos processos de oxirredução, usando voltametria cíclica (VC) em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). A Figura 3.3 apresenta o comportamento eletroquímico de BZN na superfície dos eletrodos de grafite. Como pode ser visto, BZN exibiu um par redox bem definido. Foi observado um único pico anódico em $E_p = +0,594 \text{ V}$ e um único pico catódico em $E_p = +0,433 \text{ V}$.

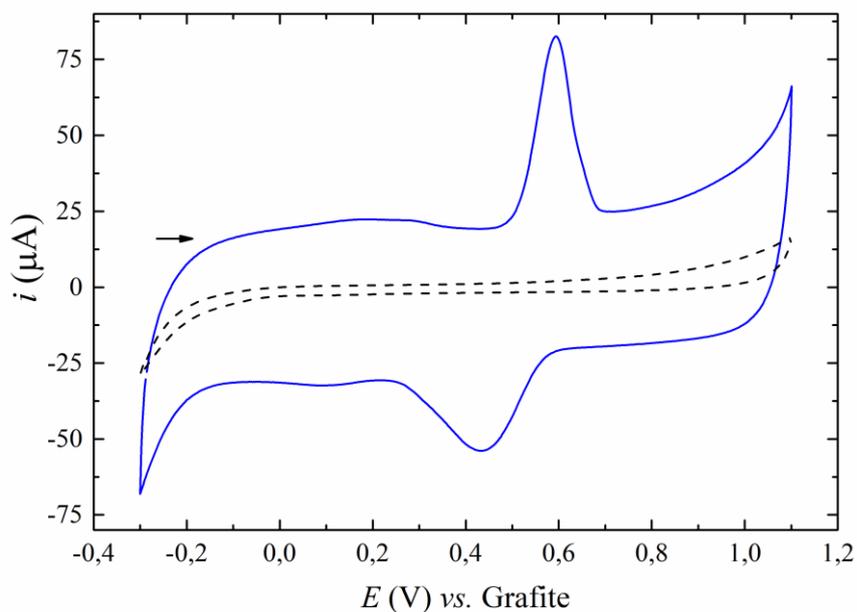


Figura 3. 3 Voltamograma cíclico na presença (linha contínua) e na ausência (linha pontilhada) de $750 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de BZN obtido utilizando a célula eletroquímica. Eletrólito: tampão BR ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em pH (4,0) e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

Em relação à composição do tampão, a solução de BR foi selecionada para todos os estudos e, após otimizações, sua concentração foi estabelecida para ser $0,1 \text{ M}$ como mostrado na Figura 3.4:

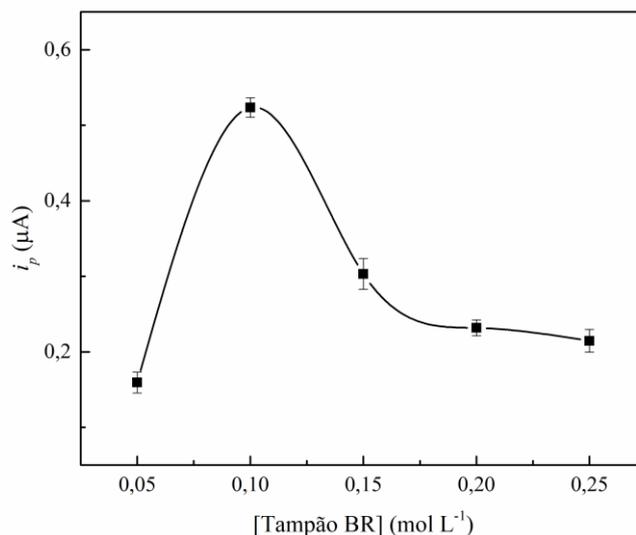


Figura 3. 4 Efeito da concentração do tampão BR na corrente de pico anódico de BZN (750 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Resultados para $n = 3$ medidas). Condições experimentais: velocidade de varredura = 100 mV s^{-1} .

Com a concentração do tampão otimizada, foi realizado um estudo de pH. A influência do pH no sinal voltamétrico foi avaliado na faixa de 2,0 até 4,5, em intervalos de 0,5. Esse parâmetro tem influência direta no processo eletroquímico redox e também na intensidade do sinal. VC foi usada para avaliar o efeito do pH. A Figura 3.5 exibe os voltamogramas cíclicos de BZN em diferentes valores de pH. Os voltamogramas cíclicos foram obtidos após adição de solução de BZN $750 \mu\text{mol L}^{-1}$ a uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} na qual exibiram um par redox bem definido. Um aumento no pH de 2,0 até 4,0 pode ser visto, alcançando o pico máximo de corrente em pH 4,0 e então uma diminuição no pH 4,5. Foi observado que os potenciais de pico anódico foram deslocados para valores mais negativos com uma dependência linear do pH conforme mostrado no *inset* da Figura 31. A equação obtida por meio da regressão linear foi $E_p (\text{V}) = (0,842 \pm 0,014) - (0,059 \pm 0,004) \times \text{pH}$ com $R = -0,989$. Uma inclinação de 59 mV/pH foi obtida, valor este igual ao valor teórico também de 59 mV/pH derivado da equação de Nernst [24,25], o que indica a participação do mesmo número de prótons e elétrons na reação eletroquímica.

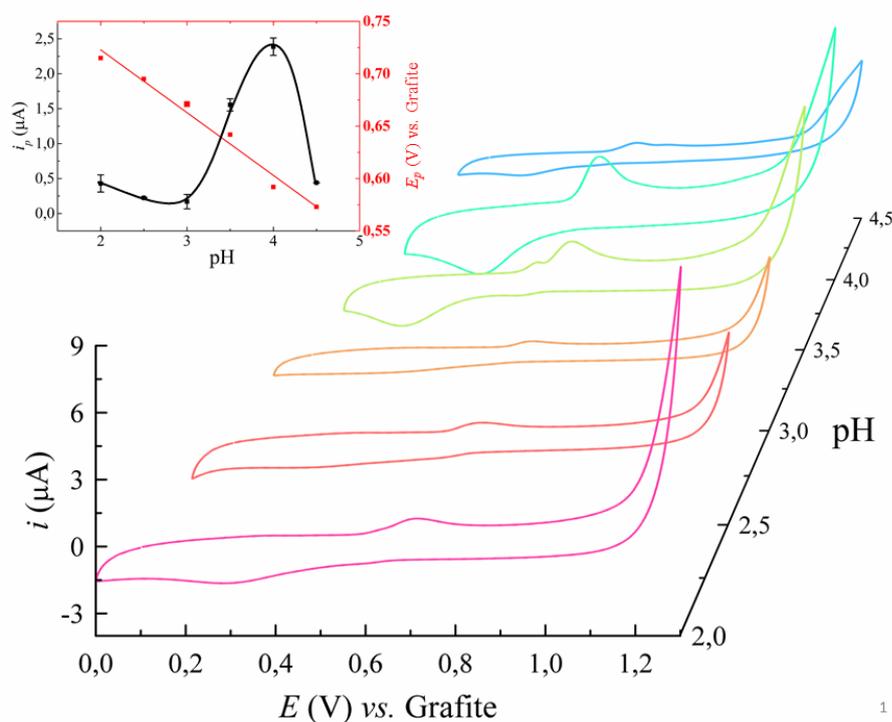


Figura 3. 5 Voltamogramas cíclicos para oxidação de $750 \mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de BZN em diferentes valores de pH usando PGE em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. *Inset*: Dependência das correntes de pico anódica e dos potenciais de pico anódico em diferentes valores de pH. Resultados com $n = 3$ medidas.

A corrente de pico máxima foi obtida em pH 4,0. Assim, a solução do tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 4,0 foi escolhida como valor ótimo de pH para o eletrólito suporte. Na varredura reversa, um pico de redução foi observado, entretanto, com o aumento do valor de pH, o deslocamento do potencial de pico catódico tende a valores mais negativos e tem sua visualização comprometida em alguns valores de pH enquanto os potenciais de pico anódico foram ligeiramente deslocados para valores mais positivos com o aumento do pH e são bem visíveis em todos os casos estudados.

O efeito da velocidade de varredura também foi estudado (Figura 3.6), e sua influência nas correntes de pico anódico e catódico foram avaliadas na faixa de 25 a 250 mV s^{-1} . Um perfil voltamétrico bem definido pode ser observado. O sistema redox apresentou um pico anódico (Pico 1) em $E_p = +0,622 \text{ V}$ e um pico catódico (Pico 2) em $E_p = +0,394 \text{ V}$. A separação entre os potenciais de pico (ΔE_p) encontrada foi de aproximadamente 228 mV . Ademais, a razão entre correntes de pico catódico e anódico (i_{pa}/i_{pc}) encontrada foi de aproximadamente $2,05$, sugerindo um comportamento quase-reversível do sistema redox. O *inset* da Figura 3.6 ilustra a influência da velocidade de varredura nas correntes de pico, na qual sugere um sistema

controlado por adsorção para o processo de oxidação de BZN. As equações obtidas pela regressão linear foram: i_{pa} (μA) = $(10,89 \pm 2,03) + (445 \pm 10,22) \times v$ (V s^{-1}) com $R = 0,997$ e i_{pc} (μA) = $-(7,18 \pm 1,90) - (224 \pm 10,95) \times v$ (V s^{-1}) com $R = -0,990$.

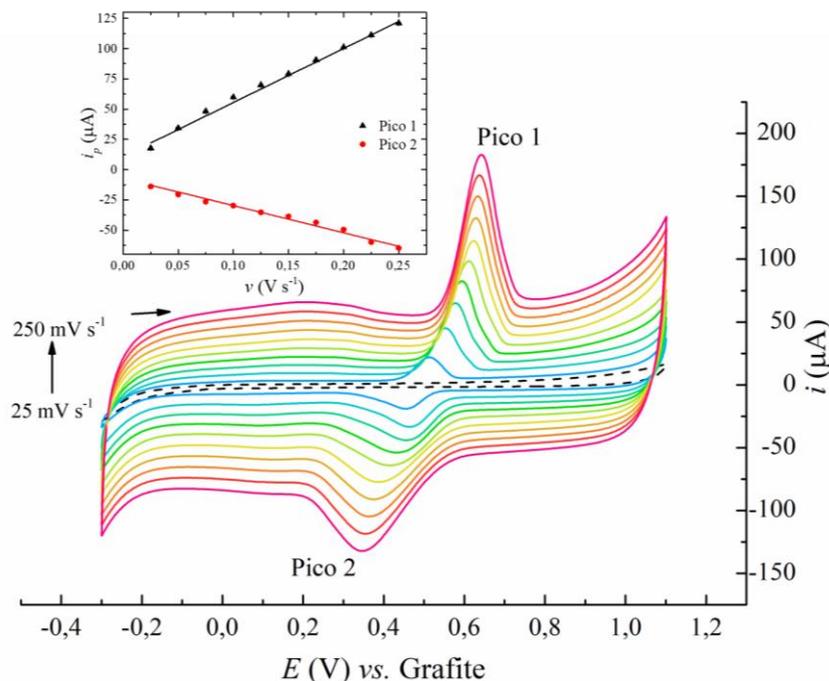


Figura 3. 6 Voltamogramas cíclicos de $750 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BZN registrados em várias velocidades de varredura usando PGEs em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0); *Inset*: Gráfico das correntes de pico anódico e catódico vs. a velocidade de varredura. Resultados para $n = 3$ medidas.

Esse transporte de massa controlado por adsorção é validado pois, adicionalmente, o gráfico do logaritmo da corrente de pico anódico vs. logaritmo da velocidade de varredura apresentou linearidade, e essa dependência é mostrada na Figura 3.7A com uma inclinação de 0,82. A equação obtida por meio da regressão linear foi: $\log i_p$ (μA) = $-(3,418 \pm 0,007) + (0,824 \pm 0,009) \times \log v$ (V s^{-1}) com $R = 0,999$. A inclinação angular de 0,82 é muito próxima ao valor teórico esperado de 1,0 para processos de transporte de massa controlados por adsorção [26]. Logo, a reação de oxidação de BZN é controlado por adsorção. Uma vez que o perfil voltamétrico observado na varredura reversa foi menos intenso do que aquele apresentado na varredura direta, a direção anódica foi escolhida para ser estudada nos processos eletroquímicos de BZN. A relação entre os potenciais de pico anódico e o logaritmo da velocidade de varredura foram investigados e usados para determinar a quantidade de elétrons envolvidos no processo de oxidação eletroquímica de BZN, conforme mostrado na Figura 3.7B:

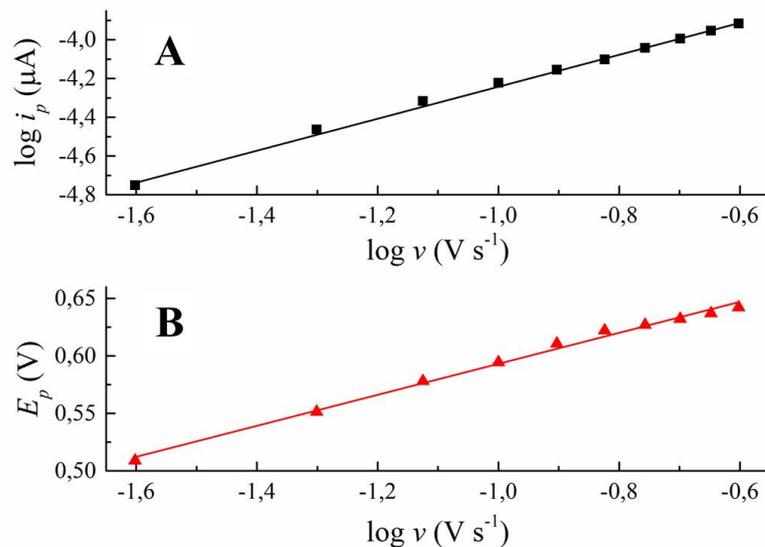


Figura 3. 7 A) Dependência entre o logaritmo da corrente de pico anódica e o logaritmo da velocidade de varredura; B) Dependência entre o potencial de pico anódico e o logaritmo da velocidade de varredura. Condições experimentais idênticas à da Figura 3.6. Resultados para $n = 3$ medidas.

Como pode ser visto, os potenciais de pico foram deslocados linearmente para valores mais negativos à medida que a velocidade de varredura aumentou. A equação obtida por meio da regressão linear foi $E_p \text{ (V)} = (0,727 \pm 0,003) + (0,134 \pm 0,003) \times \log v \text{ (V s}^{-1}\text{)}$ com $R = -0,996$. O número de elétrons envolvidos na reação de oxidação de BZN pode ser representado segundo a teoria de Laviron [27], onde o coeficiente angular obtido pela regressão linear corresponde a $2,3RT/(1-\alpha)nF$, onde R é a constante dos gases ideais ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$); T é a temperatura (298 K); α é o coeficiente de transferência, n é o número de elétrons transferidos e F constante de Faraday ($96,485 \text{ C mol}^{-1}$). Relacionando o coeficiente angular da curva com a equação apresentada, o valor de $(1-\alpha)n$ encontrado foi de 0,44. Assumindo valor de α sendo 0,5 para um processo simples de transferência eletrônica, foi possível obter um valor de $n = 0,88$, sugerindo que o mecanismo de oxidação de BZN sobre o PGE envolve 1 elétron.

3.4.2 Otimização dos parâmetros instrumentais

Para prosseguir com os estudos, fez-se uma avaliação inicial para definir a melhor técnica eletroquímica para determinação de BZN utilizando PGEs. Para isso, medidas de voltametria de pulso diferencial (VPD) e de voltametria de onda quadrada (VOQ), sob as mesmas condições, foram realizadas. Como pode ser observado na Figura 3.8A, a voltametria

de pulso diferencial alcançou uma corrente de pico de aproximadamente $i_p = 3,383 \mu\text{A}$ enquanto a voltametria de onda quadrada (Figura 3.8B) apresentou uma corrente de pico de aproximadamente $i_p = 9,454 \mu\text{A}$. Dessa forma, a voltametria de onda quadrada foi selecionada como a mais adequada e foi utilizada para os estudos seguintes por demonstrar uma sensibilidade quase 3 vezes maior que a voltametria de pulso diferencial.

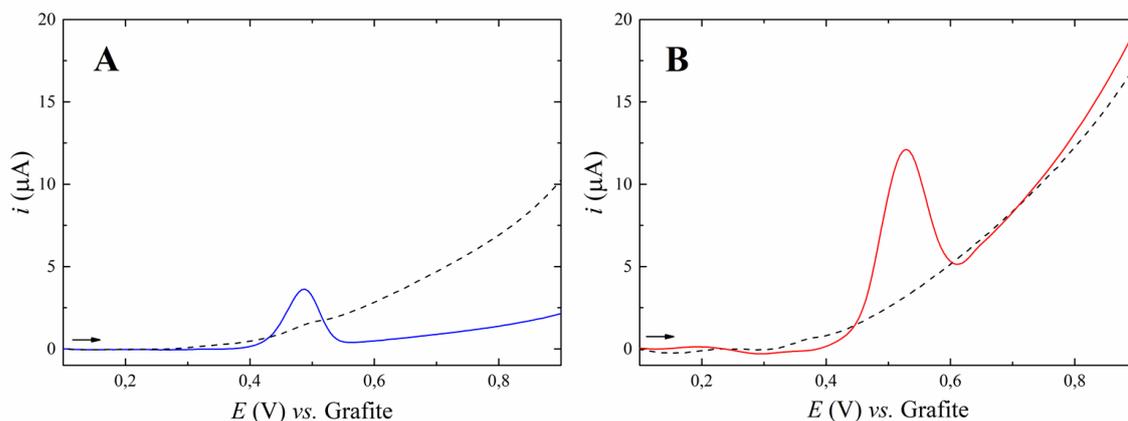


Figura 3. 8 Voltamogramas de (A) pulso de diferencial e (B) onda quadrada na ausência (linhas pontilhadas) e na presença (linhas contínuas) de $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de BZN. Meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0). Resultados para $n = 3$ medidas. Condições para ambas medidas de VPD e VOQ: (a) = 20 mV, (ΔE_s) = 5 mV e (v) = 10 mV.

A VOQ foi usada para a determinação de BZN. Os parâmetros para a performance analítica, tal como faixa de trabalho, seletividade, repetibilidade, limite de quantificação, limite de detecção, etc., foram investigados por meio dos voltamogramas de onda quadrada analisados. Os parâmetros da VOQ foram otimizados com o intuito de obter a melhor sensibilidade na detecção de BZN. As variáveis otimizadas foram: amplitude de pulsos (a), incremento de potencial (ΔE_s), potencial de acumulação (E_{acc}), frequência dos pulsos (f) e tempo de deposição (T_{acc}). Todas as medidas foram feitas em triplicatas para estimar o erro experimental.

A Figura 3.9A mostra a influência da amplitude dos pulsos com a corrente de pico, que foram avaliados de 10 a 50 mV, e foi observado um aumento do valor de corrente de 10 mV até 30 mV seguido pela diminuição do valor de corrente até 50 mV. O valor máximo de corrente foi obtido em 30 mV, na qual foi usado nos experimentos subsequentes. O incremento de potencial foi estudado na faixa de 1 mV a 10 mV. Conforme mostrado na Figura 3.9B é possível observar que à medida o valor do incremento de potencial aumenta, o sinal de corrente também aumenta, quase que linearmente, levando a uma maior sensibilidade. Porém, valores acima de

4 mV prejudicam na resolução do sinal e provoca o alargamento do pico. Assim, o valor de 4 mV foi adotado como ideal. A frequência dos pulsos também foi estudada e avaliada na faixa de 15 Hz até 65 Hz, e é possível observar na Figura 3.9C que a corrente de pico aumenta gradualmente até alcançar o máximo em 45 Hz e em seguida diminui até 65 Hz. Dessa maneira, o valor de frequência de 45 Hz foi escolhido como sendo o melhor e foi aplicado nas próximas medidas.

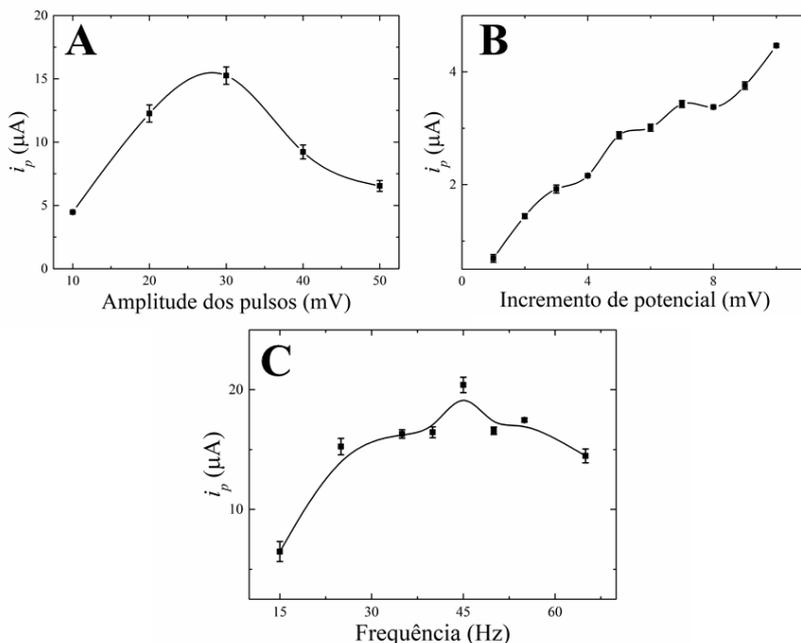


Figura 3. 9 Influência da amplitude dos pulsos (A), incremento de potencial (B) e frequência (C) na resposta analítica da solução de $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de BZN em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$). Resultados para $n = 3$ medidas.

Outros dois parâmetros importantes também foram avaliados, que são o potencial de acumulação e o tempo de deposição. Como pode ser observado na Figura 3,10A, o potencial de acumulação tem um aumento quase linear na faixa de $0,0 \text{ V}$ até $0,45 \text{ V}$, tendo seu platô em $0,45 \text{ V}$. Isto ocorre, pois, o potencial onde ocorre a oxidação visto na VC é em $+0,622 \text{ V}$, assim, o valor mais adequado é aquele anterior ao potencial onde ocorre a oxidação de BZN, sendo então o valor de $+0,45 \text{ V}$, e por isso foi escolhido para ser aplicado nos próximos estudos. Já na Figura 3.10B observamos que o tempo de deposição que demonstrou a maior corrente de pico foi em 30 s . Valores acima deste promovem a saturação da superfície o eletrodo, diminuindo a eficiência da reação de oxidação. Portanto, 30 s foi o valor escolhido e aplicado nos experimentos seguintes.

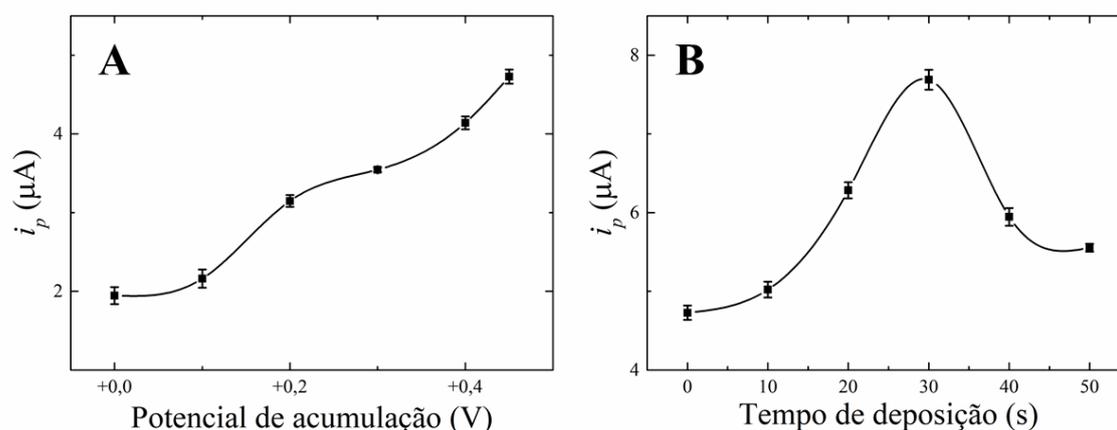


Figura 3. 10 Efeito do potencial de acumulação (A) e tempo de deposição (B) nas correntes de pico de BZN. Resultados para $n = 3$ medidas. Condições: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão Britton-Robinson (pH 4,0) com $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BZN; $f = 45 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$ e $a = 30 \text{ mV}$.

Todos os parâmetros que foram otimizados na VOQ, as faixas estudadas e os melhores valores encontrado que forneceram a melhor sensibilidade estão todos sumarizados na Tabela 3.2. Todos os experimentos analíticos realizados na sequência utilizaram esses valores.

Tabela 3. 2 Parâmetros instrumentais de VOQ otimizados para determinação de BZN.

Parâmetro	Condições investigadas	Melhor resultado
Técnica eletroquímica	VPD e VOQ	VOQ
Incremento de potencial	1 - 10 mV	4 mV
Amplitude	10 - 50 mV	30 mV
Frequência	15 - 65 Hz	45 Hz
Potencial de acumulação	0,0 - +0,45 V	+0,45 V
Tempo de deposição	0 - 50 s	30 s

3.4.3 Curva analítica

A construção de uma curva de calibração foi realizada utilizando os parâmetros otimizados da VOQ a fim de determinar a faixa de concentração linear de BZN no PGE e os limites de detecção do método. A faixa de concentração de $1,25 \mu\text{M}$ a $12,5 \mu\text{M}$ foi usada para a construção da curva conforme mostrado na Figura 3.11. A equação linear obtida foi $i_p (\mu\text{A}) = 0,276 \pm 0,03 + 0,510 \pm 0,004 \times [\text{BZN}] (\mu\text{M})$ ($R = 0,999$). Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram obtidos experimentalmente por meio da curva de calibração e calculados através das equações: $3 \times SD_a/b$ para LD e $10 \times SD_a/b$ para o LQ (onde SD_a é o

desvio padrão do ruído e b é o coeficiente angular da curva analítica) [28]. O LD e o LQ obtidos foram $0,29 \mu\text{M}$ e $0,99 \mu\text{M}$, respectivamente.

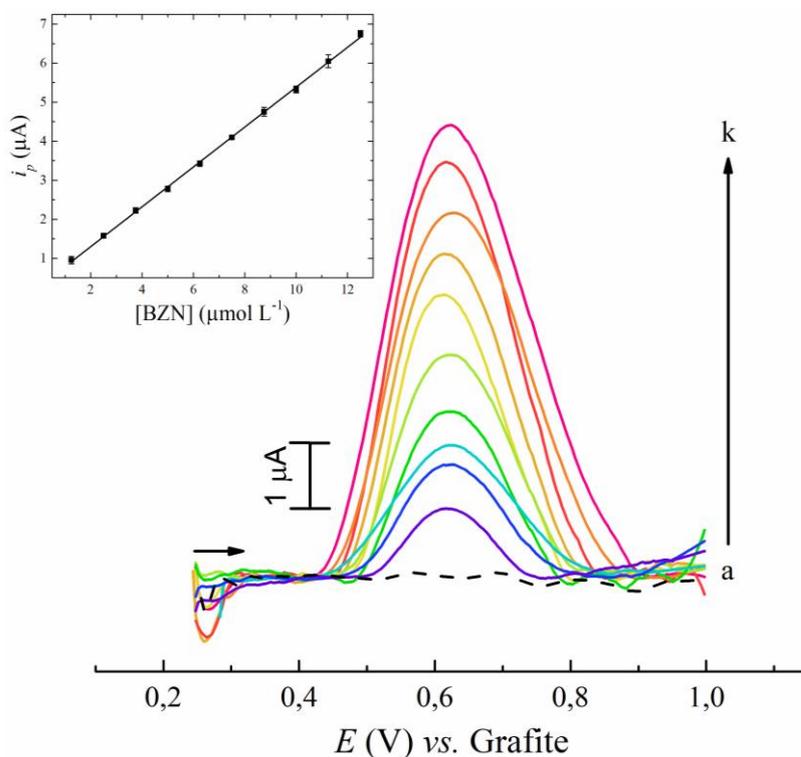


Figura 3. 11 Voltamogramas de onda quadrada de BZN em diferentes concentrações utilizando eletrodos de grafite: a) Branco; b) $1,25 \mu\text{M}$; c) $2,5 \mu\text{M}$; d) $3,75 \mu\text{M}$; e) $5 \mu\text{M}$; f) $6,25 \mu\text{M}$; g) $7,5 \mu\text{M}$; h) $8,75 \mu\text{M}$; i) $10 \mu\text{M}$; j) $11,25 \mu\text{M}$ e k) $12,5 \mu\text{M}$. O *inset* mostra a curva de calibração obtida. Resultados com $n = 3$ medidas. Condições experimentais: ver Tabela 3.2.

Os valores do LQ e LD e a faixa linear observados com o sistema de 3 eletrodos de grafite são os primeiros a serem reportados na literatura para análises eletroanalíticas de BZN. Dessa forma, não há como comparar os resultados obtidos por esse método com outros trabalhos similares visto que, até o momento, o fungicida benzovindiflupir nunca havia sido estudado e nem detectado por técnicas eletroquímicas.

3.4.4 Análises de amostra real

A solução padrão de azoxistrobina foi utilizada como um fator de exclusão, visto que existem apenas dois princípios ativos nas amostras comerciais de fungicidas analisados, um sendo a azoxistrobina e o outro o benzovindiflupir. Baseado nisso, com a adição de uma alíquota de solução padrão de azoxistrobina, apresentado na Figura 3.12, não foi observado

nenhum pico referente a essa adição. Logo, pode-se concluir que a presença de azoxistrobina não causa interferências no sinal voltamétrico do BZN, possibilitando a aplicação do método desenvolvido nas amostras comerciais do produto.

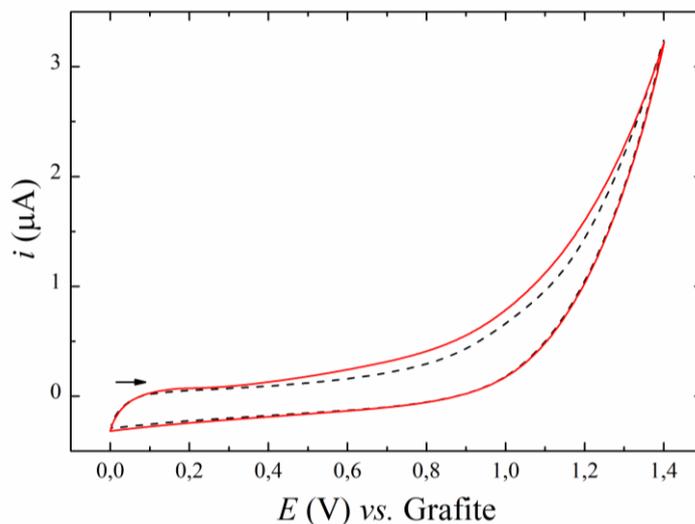


Figura 3. 12 Voltamograma cíclico de azoxistrobina em tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) obtido com PGEs na ausência (linha pontilhada) e na presença (linha sólida) de solução padrão de azoxistrobina 750 μmol L⁻¹.

Após o teste que confirma a ausência da azoxistrobina nos estudos, seguiu-se para as análises das amostras reais. Os parâmetros voltamétricos da VOQ foram aqueles otimizados anteriormente e mostrados na Tabela 3.2. Nesse procedimento, 15,0 mL de tampão BR 0,1 M L⁻¹ foram adicionados na célula eletroquímica, seguido pela adição de alíquotas de 75 μL da amostra sob análise. As amostras foram analisadas em triplicatas. Foram estudadas três concentrações de BZN (3,75 μM, 7,50 μM e 11,25 μM) na amostra de fungicida comercial fornecido pela Coordenadoria Geral de Perícias, valores que estão dentro da faixa de concentração linear encontrada na curva de calibração.

Esses valores encontrados na análise da amostra comercial foram considerados ótimos de acordo com a curva de calibração previamente realizada que foi utilizada como referência. Não foi observado nenhum tipo de contaminante ou interferente durante as análises, indicando que a performance analítica do método foi satisfatória para a determinação de BZN em amostras reais. Para fins de comparação, a Tabela 3.3 traz os valores obtidos pela curva de calibração e o erro encontrado na análise de padrão externo na determinação de BZN em amostras comerciais do fungicida pelo método proposto.

Tabela 3. 3 Resultados obtidos para a determinação de benzovindifupir em amostras de produtos comerciais.

	Valor de referência	Encontrado (μM)	Recuperação	DPR
Amostra 1	11,25 μM	11,59 \pm 0,21	103,2 %	2,3 %
Amostra 2	7,50 μM	7,61 \pm 0,12	101,4 %	1,6 %
Amostra 3	3,75 μM	3,90 \pm 0,12	104,0 %	3,2 %

Com boa concordância entre si, os valores de recuperação na faixa de 101 % a 104 % foram alcançados e uma exatidão de 3,02 %, 1,46 % e 4,03 % foram obtidos para a amostra 1, amostra 2 e amostra 3, respectivamente, demonstrando que o método voltamétrico proposto aqui para determinação de BZN é viável para detecção deste composto em amostras de fungicidas comerciais e indica ser a primeira alternativa para aplicação eletroquímica desse analito.

3.4.5 Reprodutibilidade, repetibilidade e estabilidade

A estabilidade foi avaliada dentro de um período de 13 dias utilizando os mesmos sensores eletroquímicos e a mesma solução de BZN. Nesse estudo, buscou-se verificar tanto a sensibilidade do eletrodo de trabalho quanto a estabilidade da própria solução de BZN utilizada (Figura 3.13).

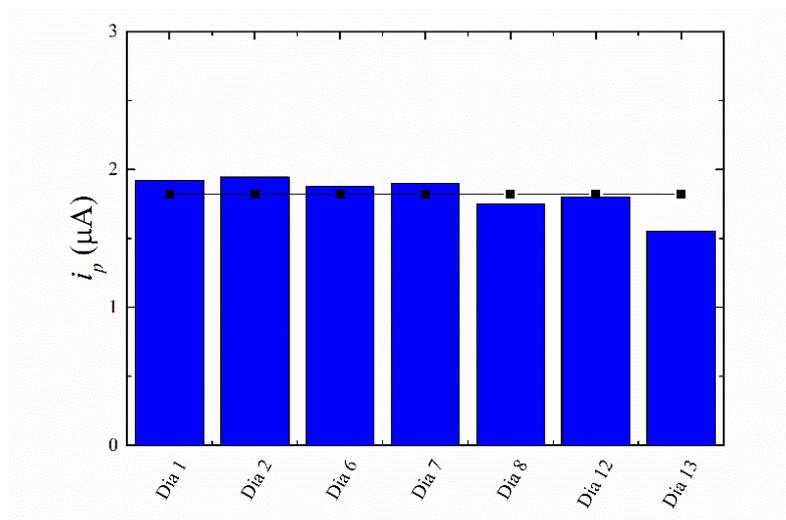


Figura 3. 13 Teste de estabilidade da solução estoque de BZN 3,75 μM ao longo de 13 dias. Resultados com $n = 3$ medidas. Condições experimentais: ver Tabela 3.2.

Como mostrado na Figura 3.13, a solução permaneceu praticamente estável ao longo dos dias avaliados, apresentando um DPR de 7,5 % para as correntes de pico (i_p) e um DPR de 3,33 % para os potenciais de pico (E_p) sugerindo que não houve passivação da superfície do eletrodo ou degradação da solução.

A avaliação da reprodutibilidade do método proposto foi estudada por meio da comparação das correntes de pico medidas (utilizando a técnica de VOQ) em 5 células eletroquímicas diferentes. A Figura 3.14A apresenta os resultados da reprodutibilidade. O estudo alcançou um DPR de 3,7 % para as correntes de pico (i_p) e um DPR de 1,07 % para os potenciais de pico (E_p), denotando uma boa estabilidade inter-eletrodo.

Para o estudo de repetibilidade (Figura 3.14B) foram realizadas 10 medidas consecutivas de VOQ na mesma célula eletroquímica, na qual foi alcançado um DPR de 2,4 % para as correntes de pico (i_p) e um DPR de 1,48 % para os potenciais de pico (E_p), demonstrando uma boa estabilidade do sistema proposto e uma boa resposta analítica nas medidas intra-eletrodo. Isso indica que não houve passivação ou algum tipo de adsorção na superfície do eletrodo, sugerindo uma boa estabilidade para as medidas.

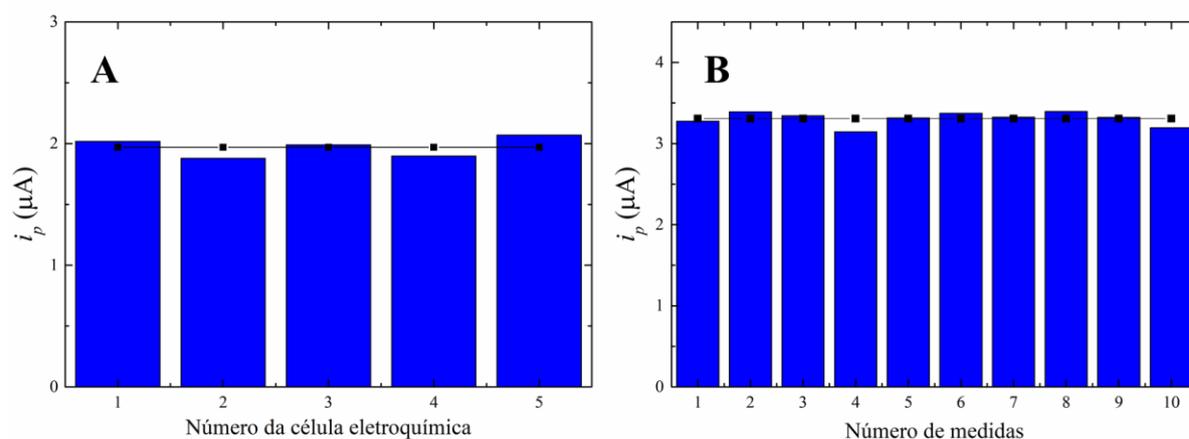


Figura 3. 14 Resultados dos estudos de reprodutibilidade inter-eletrodo (A). Resposta dos VOQs para $n = 10$ medidas sucessivas (B). Adição de 3,75 e 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BZN foi usada para o estudo de reprodutibilidade e repetibilidade, respectivamente. A linha horizontal mostra a corrente média. Condições experimentais: vide a Tabela 3.2.

De acordo com o que foi apresentado acima, o tempo de vida útil do eletrodo de trabalho de PGE se estendeu por pelo menos 13 dias e, durante uma única medida ele suportou várias análises consecutivas sem perder a sensibilidade, sendo bastante reprodutível mesmo quando diferentes células eletroquímicas são utilizadas. Ademais, o grafite é um dos materiais

eletródicos à base de carbono que apresenta o menor custo, além de ser descartável. Mas, mesmo com essas características, a metodologia apresentada aqui demonstrou que é possível reutilizar o PGE sem perder sua eficiência de detecção ao longo de várias medidas eletroquímicas e ainda alcançar resultados bastante satisfatórios após muitos dias de análise, aumentando o tempo de vida útil de um material considerado descartável e contribuindo com o conceito de Química verde.

3.5 CONCLUSÃO

Neste trabalho, é reportado pela primeira vez o estudo eletroquímico e o desenvolvimento de um método eletroanalítico para detecção do fungicida benzovindiflupir em amostras de produtos comerciais utilizando uma célula eletroquímica estacionária. Os sensores eletroquímicos utilizados na detecção de BZN consistiram em um sistema de 3 eletrodos de grafite de lapiseira. O detector eletroquímico mostrou boa eficiência e alta sensibilidade para a determinação de BZN em amostras comerciais do fungicida Elatus. As técnicas de VC e VOQ forneceram informações ainda não reportadas na literatura a respeito do comportamento eletroquímico e mecanismos de oxidação da molécula de BZN. Com boa estabilidade, reprodutibilidade (DPR de 3,7 %) e ótima precisão entre as medidas (DPR de 2,4 %), o sensor alcançou performance satisfatória, principalmente considerando ser o primeiro método eletroquímico de detecção de BZN demonstrado até o momento.

Vista a falta de métodos de determinação de BZN disponíveis na literatura, foi constatado neste trabalho que, o método eletroanalítico abordado aqui tem potencial para se tornar uma alternativa promissora nas análises de fungicidas por meio da utilização de sensores eletroquímicos.

3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS III

- [1] T. Yamaguchi, A. Mahmood, T. Ito, R. Kataoka, Non-target Impact of Dinotefuran and Azoxystrobin on Soil Bacterial Community and Nitrification, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1 (2021) 3. <https://doi.org/10.1007/s00128-021-03163-1>.
- [2] G.D. Bending, S.D. Lincoln, R.N. Edmondson, Spatial variation in the degradation rate of the pesticides isoproturon, azoxystrobin and diflufenican in soil and its relationship with chemical and microbial properties, *Environ. Pollut.* 139 (2006) 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.05.011>.
- [3] D. Pimentel, Amounts of pesticides reaching target pests: Environmental impacts and ethics, *J. Agric. Environ. Ethics.* 8 (1995) 17–29. <https://doi.org/10.1007/BF02286399>.
- [4] X. Yao, Z. Qiao, F. Zhang, X. Liu, Q. Du, J. Zhang, X. Li, X. Jiang, Effects of a novel fungicide benzovindiflupyr in *Eisenia fetida*: Evaluation through different levels of biological organization, *Environ. Pollut.* 271 (2021) 116336. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116336>.
- [5] H. Walter, H. Tobler, D. Gribkov, C. Corsi, Sedaxane, isopyrazam and SolatenolTM: Novel broad-spectrum fungicides inhibiting succinate dehydrogenase (SDH) - Synthesis Challenges and Biological Aspects, *Chimia (Aarau).* 69 (2015) 425–433. <https://doi.org/10.2533/chimia.2015.425>.
- [6] H.F. Avenot, T.J. Michailides, Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi, *Crop Prot.* 29 (2010) 643–651. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.02.019>.
- [7] F.R.A.C. (FRAC), FRAC Code List FRAC Code List ©* 2021: Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action (including coding for FRAC Groups on product labels), 2021. https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2021--final.pdf?sfvrsn=f7ec499a_2 (accessed June 11, 2021).
- [8] L. Chen, Y.J. Zhu, Z.J. Fan, X.F. Guo, Z.M. Zhang, J.H. Xu, Y.Q. Song, M.Y. Yurievich, N.P. Belskaya, V.A. Bakulev, Synthesis of 1,2,3-thiadiazole and thiazole-based strobilurins as potent fungicide candidates, *J. Agric. Food Chem.* 65 (2017) 745–751. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05128>.
- [9] A. Zhang, J. Zhou, K. Tao, T. Hou, H. Jin, Design, synthesis and antifungal evaluation of novel pyrazole carboxamides with diarylamines scaffold as potent succinate dehydrogenase

- inhibitors, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 28 (2018) 3042–3045.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.08.001>.
- [10] J. Zarn, A. Boobis, Benzovindiflupyr JMPR, 2013. file:///C:/My PC (DESKTOP-KF788I6)/Downloads/Benzovindiflupyr final.pdf.
- [11] Y.P. Hou, Y.L. Chen, L.Y. Wu, J.X. Wang, C.J. Chen, M.G. Zhou, Baseline sensitivity of *Bipolaris maydis* to the novel succinate dehydrogenase inhibitor benzovindiflupyr and its efficacy, *Pestic. Biochem. Physiol.* 149 (2018) 81–88.
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.06.002>.
- [12] E. Guicherit, J. Leadbeater, S. M. Dale, J. U. Haas, H. Walter, Solatenol-(TM), the second generation benzonorbornene SDHI carboxamide with outstanding performance against cereal diseases - AcademicFocus, in: *Abstr. ICPP 2013 10th Int. Congr. Plant Pathol.*, 2013: pp. 146–147.
<http://af.global.cnki.net/stmt/TitleBrowse/KnowledgeNet/ZGVS201308001365?db=STMI8320> (accessed May 31, 2021).
- [13] E. Food, S. Authority, Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance benzovindiflupyr, *EFSA J.* 13 (2015) 4043.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4043>.
- [14] K.A. Lewis, J. Tzilivakis, D.J. Warner, A. Green, An international database for pesticide risk assessments and management, *Hum. Ecol. Risk Assess.* 22 (2016) 1050–1064.
<https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242>.
- [15] Syngenta, ELATUS® - Bula completa, 2021.
https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/zhg256/f/elatus_1.pdf?token=1617216641 (accessed June 11, 2021).
- [16] Syngenta, SAFETY DATA SHEET - APROVIA™, 2017. https://www.syngenta-us.com/sds-label/aprovia_top (accessed June 11, 2021).
- [17] Syngenta, CURRENT SAFETY DATA SHEET - TRIVAPRO™, 2019.
https://assets.syngenta.ca/pdf/ca/msds/Trivapro_en_SDS.pdf (accessed June 11, 2021).
- [18] Syngenta, MITRION - Bula completa, 2021.
https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/zhg256/f/media/2021/03/22/mitrion_bula.pdf?token=1619097013 (accessed June 11, 2021).
- [19] Syngenta, ALADE - Bula completa, 2021.

https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/zhg256/f/media/2021/03/22/alade_bula.pdf?token=1619097117 (accessed June 11, 2021).

[20] H. Ishii, F. Zhen, M. Hu, X. Li, G. Schnabel, Efficacy of SDHI fungicides, including benzovindiflupyr, against *Colletotrichum* species, *Pest Manag. Sci.* 72 (2016) 1844–1853. <https://doi.org/10.1002/ps.4216>.

[21] L. He, K. Cui, Y. Song, W. Mu, F. Liu, High-Efficiency Control of Gray Mold by the Novel SDHI Fungicide Benzovindiflupyr Combined with a Reasonable Application Approach of Dipping Flower, *J. Agric. Food Chem.* 66 (2018) 6692–6698. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01936>.

[22] S. Chengcheng, Y. Xiangwei, L. Yiqiang, J. Huatao, Z. Guangyu, S. Chengcheng, Y. Xiangwei, L. Yiqiang, J. Huatao, Z. Guangyu, Rapid analysis of benzovindiflupyr in animal-origin food using QuEChERS coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Chinese J. Pestic. Sci.* 19 (2017) 659–664. <https://doi.org/10.16801/J.ISSN.1008-7303.2017.0089>.

[23] Z. Liu, M. Jin, J. Cao, R. Niu, P. Li, G. Zhou, Y. Yu, A. van den Berg, L. Shui, Electrochemical sensor integrated microfluidic device for sensitive and simultaneous quantification of dopamine and 5-hydroxytryptamine, *Sensors Actuators, B Chem.* 273 (2018) 873–883. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.06.123>.

[24] B.G. Lucca, J.M. Petroni, V.S. Ferreira, Voltammetric determination of insecticide thiodicarb through its electrochemical reduction using novel solid amalgam electrode fabricated with silver nanoparticles, *Electrochim. Acta.* 246 (2017) 748–756. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.06.056>.

[25] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed., JOHN WILEY & SONS, INC., 2001. <http://elib.tu-darmstadt.de/tocs/95069577.pdf>.

[26] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 3rd ed., John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 2006. <https://doi.org/10.1002/0471790303>.

[27] D.K.J. Gosser, *Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*, VCH Publishers, Inc., New York, 1994. <https://doi.org/10.1080/00945719408001398>.

[28] E. Laviron, General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems, *J. Electroanal. Chem.* 101 (1979) 19–28. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(79\)80075-3](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(79)80075-3).

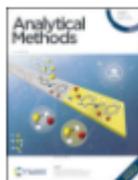
[29] J. Mocak, A.M. Bond, S. Mitchell, G. Scollary, A.M. Bond, A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: Application to voltammetric and stripping techniques, *Pure Appl. Chem.* 69 (1997) 297–328. <https://doi.org/10.1351/pac199769020297>.

ANEXO I – DISCIPLINAS CURSADAS

Disciplina	Carga horária (Horas)	Conceito
Redação de textos científicos	30	A
Química analítica avançada I	30	A
Química analítica avançada II	45	A
Tópicos especiais em Química: <i>Elementos de inglês instrumental para a redação de textos científicos</i>	45	A
Tópicos Especiais em Química: <i>Fundamentos de técnicas eletroquímicas e aplicações em eletroanalítica/microfluídica</i>	15	A
Estágio de Docência I	30	A
Seminários Gerais em Química I	15	B
Tópicos Especiais em Química: <i>Processos fotocatalíticos: teorias e aplicações em processos de remediação ambiental, geração de energia e conversão de produto</i>	30	A

ANEXO II – PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Issue 11, 2021



From the journal:
Analytical Methods

Received 11th January 2021
Accepted 17th February 2021

DOI: 10.1039/d1ay00070e

rsc.li/methods

This article is part of the themed collection: [Analytical Methods HOT Articles 2021](#)

Analytical Methods



PAPER

[View Article Online](#)

[View Journal](#) | [View Issue](#)



Cite this: *Anal. Methods*, 2021, 13, 1349

A novel all-3D-printed thread-based microfluidic device with an embedded electrochemical detector: first application in environmental analysis of nitrite†

Rayan Marcel Carvalho, Valdir Souza Ferreira and Bruno Gabriel Lucca *

Link: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/ay/d1ay00070e#!divAbstract>