



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



Instituto de Química

**Plataformas Eletroanalíticas Baseadas em Impressão 3D: Abordagens Sustentáveis
e de Baixo Custo para Análises Farmacêuticas, Ambientais e Forenses**

Natália Canhete de Moraes

Campo Grande - MS

Março/2025



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Instituto de Química

**Plataformas Eletroanalíticas Baseadas em Impressão 3D: Abordagens Sustentáveis
e de Baixo Custo para Análises Farmacêuticas, Ambientais e Forenses**

Natália Canhete de Moraes

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul como requisito para obtenção do título de Doutora em Química (Química Analítica).

Orientador: Prof. Dr. Bruno Gabriel Lucca

Campo Grande - MS

Março/2025



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



Instituto de Química

Defesa da tese de doutorado de Natália Canhete de Moraes, intitulada: “Plataformas Eletroanalíticas Baseadas em Impressão 3D: Abordagens Sustentáveis e de Baixo Custo para Análises Farmacêuticas, Ambientais e Forenses”, orientada pelo Prof. Dr. Bruno Gabriel Lucca, apresentada à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Química da UFMS, realizada em 14/03/2025.

Os membros da Banca Examinadora consideraram a candidata APROVADA.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Bruno Gabriel Lucca / UFMS

Prof. Dr. Lincoln Carlos Silva de Oliveira / UFMS

Prof. Dr. André Luiz dos Santos / UFU

Prof. Dr. Magno Aparecido Gonçalves Trindade / UFGD

Prof. Dr. Rodrigo Amorim Bezerra da Silva / UFU

AGRADECIMENTOS

A Deus e aos meus pais por permitirem que a minha pós-graduação aconteça.

Ao meu orientador Bruno Gabriel Lucca pela oportunidade, orientação e compreensão nos momentos difíceis.

Aos meus amigos e marido pelo companheirismo e ajuda.

Aos meus colegas de laboratório, principalmente à Jacqueline Marques Petroni, que tanto me ajudou.

Aos professores da banca por aceitarem o convite da minha defesa.

Aos órgãos de fomento CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), CAPES (Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e Fundect (Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul) pelo apoio financeiro.

À UFMS (Universidade Federal de Mato Grosso do Sul) e ao Inqui (Instituto de Química da UFMS) pela oportunidade.

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	12
LISTA DE TABELAS.....	20
RESUMO.....	23
ABSTRACT	24
CAPÍTULO 1.....	25
1.1. ELETROANALÍTICA.....	26
1.2. TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS.....	26
1.3. SENSORES ELETROQUÍMICOS	27
1.3.1. Miniaturização.....	27
1.3.2. Eletrodos de carbono.....	28
1.4. IMPRESSÃO 3D APLICADA A SENSORES ELETROQUÍMICOS.....	29
1.4.1. Impressão 3D e sustentabilidade.....	32
1.5. TÉCNICAS AUXILIARES	33
1.5.1. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE).....	33
1.5.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	34
1.5.3. Espectroscopia (espectrofotometria) UV-Vis e Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier	34
1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

CAPÍTULO 2	49
2.1. INTRODUÇÃO	50
2.2. OBJETIVOS	53
2.2.1. Objetivo geral.....	53
2.2.2. Objetivos específicos.....	53
2.3. METODOLOGIA.....	54
2.3.1. Reagentes e soluções	54
2.3.2. Instrumentação	54
2.3.3. Desenvolvimento, fabricação e montagem da célula e do sensor eletroquímico.....	55
2.3.4. Determinação de omeprazol em amostras farmacêuticas.....	57
2.3.5. Espectrofotometria UV-Vis	57
2.3.6. Matriz de urina sintética	57
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
2.4.1. Comportamento eletroquímico do sensor MSLA-3D-PDE	59
2.4.2. Análise de superfície, composição química e ângulo de contato (molhabilidade)	62
2.4.3. Estabilidade do dispositivo	65
2.4.4. Estudos analíticos do OMP	66
2.4.5. Estudos de recuperação e seletividade.....	73
2.4.6. Detecção do OMP em amostras reais	75

2.4.7. Eco-escala	76
2.5. CONCLUSÃO.....	79
2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
CAPÍTULO 3	87
3.1. INTRODUÇÃO	88
3.2. OBJETIVOS	91
3.2.1. Objetivo geral.....	91
3.2.2. Objetivos específicos.....	91
3.3. METODOLOGIA.....	92
3.3.1. Reagentes e soluções	92
3.3.2. Instrumentação	93
3.3.3. Fabricação e ativação do sensor CB/PLA	93
3.3.4. Fabricação e montagem do μ TED.....	93
3.3.5. Aplicação em amostras farmacêuticas.....	95
3.3.6. Medidas espectrofotométricas	96
3.3.7. Ensaios de recuperação	96
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	97
3.4.1. Comparação entre pipeta eletrônica e manual	97
3.4.2. Aplicação do CB/PLA- μ TED para a análise de íon ferroso	113
3.4.2.1. Investigação do comportamento voltamétrico do analito	113

3.4.2.2. Otimização das condições para a análise de injeção em microfluxo (μFIA)	114
3.4.2.3. Estudos de repetibilidade, reprodutibilidade, frequência analítica e estabilidade.....	119
3.4.2.4. Figuras de mérito e aplicação a amostras reais	122
3.4.2.5. Ensaio de recuperação.....	124
3.4.2.6. Estudos de seletividade e efeito de memória	125
3.4.2.7. Eco-escala	128
3.5. CONCLUSÃO.....	133
3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	134
CAPÍTULO 4.....	142
4.1. INTRODUÇÃO	143
4.2. OBJETIVOS	146
4.2.1. Objetivo geral.....	146
4.2.2. Objetivos específicos.....	146
4.3. METODOLOGIA.....	147
4.3.1. Reagentes e soluções	147
4.3.2. Instrumentação	147
4.3.3. Fabricação e montagem da célula eletroquímica.....	148
4.3.4. Estudo de recuperação em amostras de soro sanguíneo	150
4.3.5. Análise qualitativa e estudo de interferentes	150

4.3.6. Análises cromatográficas	150
4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	152
4.4.1. Comportamento eletroquímico da ADB-butinaca.....	152
4.4.2. Pré-tratamento do DDB	155
4.4.3. Comparação de técnicas e otimização de parâmetros.....	157
4.4.4. Estabilidade da ADB-butinaca	159
4.4.5. Figuras de mérito analíticas e estudo de recuperação.....	161
4.4.6. Análise qualitativa em amostras reais	163
4.4.7. Estudo de interferentes em amostras reais.....	165
4.5. CONCLUSÃO.....	167
4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	168
ANEXO I - TRABALHOS PRODUZIDOS DURANTE O DOUTORADO.....	172

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

5-HTP	5-hidroxitriptofano
AA	Ácido ascórbico
AC	Ácido cítrico
ABS	Acrilonitrila butadieno estireno
ADB-B	ADB-butinaca
AU	Ácido úrico
b	Coeficiente angular
BDDE	Eletrodo de diamante dopado com boro
Benz	Benzeno
BR	Britton-Robinson
C_c	Capacitância
C_{dl}	Capacitância da dupla camada elétrica
CB	Carbono <i>black</i>
CE	Contraeletrodo
CP	Cronopotenciometria
CS	Canabinoide sintético
DA	Detecção amperométrica
DDB	Diamante dopado com boro
DDP	Diferença de potencial
DE	Detecção eletroquímica
DP	Desvio padrão
DP_a	Desvio padrão do coeficiente linear
DPR	Desvio padrão relativo
E	Potencial
E_p	Potencial de pico
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
EAA	Espectrometria de absorção atômica
ECS	Eletrodo de calomelano saturado
EIE	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

EPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, do inglês <i>Environmental Protection Agency</i>
EPR	Eletrodo de pseudorreferência
ER	Eletrodo de referência
ET	Eletrodo de trabalho
FDM	Modelagem de deposição fundida
FIA	Análise de injeção em fluxo
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
GCE	Eletrodo de carbono vítreo
GLI	Glicose
Glif	Glifosato
<i>i</i>	Corrente elétrica
<i>i_p</i>	Corrente de pico
<i>i_{pa}</i>	Corrente de pico anódica
<i>i_{pc}</i>	Corrente de pico catódica
<i>j</i>	Densidade de corrente
LD	Limite de detecção
LER	Lesão por esforço repetitivo
LIG	Grafeno induzido a laser
LQ	Limite de Quantificação
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MSLA	Estereolitografia mascarada
m/v	Massa/volume
NPS	Novas substâncias psicoativas
OCP	Potencial de Circuito Aberto
OMP	Omeprazol
PAR	Paracetamol
PC-MS	Polícia civil de Mato Grosso do Sul
PDE	Eletrodo desenhado a lápis
PDMS	Polidimetilsiloxano
PLA	Ácido polilático
POC	<i>point-of-care</i>

PP	Ponto de penalidade
PVC	Cloreto de polivinila
R²	Coeficiente de determinação
R_{tc}	Resistência à transferência de carga
R_s	Resistência da solução
SLA	Estereolitografia
Tolu	Tolueno
UV	Ultravioleta
VC	Voltametria cíclica
Vis	Visível
VMP	Valor máximo permitido
VOQ	Voltametria de onda quadrada
VPD	Voltametria de pulso diferencial

α	Coeficiente de transferência
ΔE_p	Separação entre potenciais de pico
θ	Ângulo de contato
μFIA	Análise de injeção em microfluxo
μTED	Dispositivo eletroanalítico microfluídico baseado em fios
v	Velocidade de varredura
ρ	Fator de rugosidade

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Imagens de Desenho Assistido por Computador (CAD, do inglês *Computer Aided Design*) dos componentes impressos em 3D: (I) tampa, (II) base, (III) revestimentos de porca e (IV) substrato MSLA-3D-PDE (A). Imagem das peças impressas em 3D com parafusos, porcas e *O-ring* anexados (B). Etapas para a produção do MSLA-3D-PDE: aplicação do adesivo (C), desenho do eletrodo (D) e MSLA-3D-PDE pronto para uso após a remoção do adesivo (E). MSLA-3D-PDE montado no suporte eletroquímico personalizado com as conexões elétricas e solução no reservatório, conforme utilizado durante os experimentos (F). 56
- Figura 2.** A) Voltammogramas cíclicos na presença (linhas sólidas) e na ausência (linhas tracejadas) de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (1 mmol L^{-1} cada) registrados com os eletrodos de trabalho MSLA-3D-PDE (linhas vermelhas) e GCE (linhas pretas). B) Curvas de EIE (gráficos de Nyquist) obtidas. O CE e o EPR integrados do MSLA-3D-PDE foram utilizados em todas as medidas. Eletrólito de suporte: $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$; velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} 60
- Figura 3.** Voltammogramas cíclicos registrados em várias velocidades de varredura (50 a 275 mV s^{-1}) utilizando o MSLA-3D-PDE na presença de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (1 mmol L^{-1} cada). O gráfico inserido mostra a dependência entre as correntes de pico anódico e catódico com a raiz quadrada da velocidade de varredura (resultados para $n = 3$ medidas). Eletrólito de suporte: $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 61
- Figura 4.** Imagens, obtidas por MEV, do substrato impresso em 3D por MSLA em diferentes pontos na ampliação de 10.000 vezes (A) e (B) e do MSLA-3D-PDE na ampliação de 10.000 vezes (C) e 50.000 vezes (D)..... 63
- Figura 5.** Espectros FTIR do substrato impresso em 3D por MSLA e do MSLA-3D-PDE. 64
- Figura 6.** Medidas do ângulo de contato para o substrato impresso em 3D por MSLA (A) e para o eletrodo desenhado a lápis MSLA-3D-PDE (B)..... 65

Figura 7. Voltamogramas cíclicos obtidos na presença de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (1 mmol L^{-1} cada) registrados com apenas um dispositivo MSLA-3D-PDE (A) e com diferentes MSLA-3D-PDEs ($n = 4$) (B). Eletrólito de suporte: KCl 0,5 mol L^{-1} ; velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} 66

Figura 8. Voltamogramas cíclicos na presença (linha sólida) e na ausência (linha tracejada) de 1 mmol L^{-1} de OMP registrados com o MSLA-3D-PDE. Eletrólito de suporte: tampão BR 0,10 mol L^{-1} (pH 6,5); velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} 67

Figura 9. Possível mecanismo de eletrooxidação para OMP. 67

Figura 10. Comparação entre VOQ (linhas pretas) e VPD (linhas vermelhas) na ausência (linhas tracejadas) e na presença (linhas sólidas) de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de OMP. Condições: incremento de potencial foi de 5 mV, amplitude do pulso foi de 20 mV e a velocidade de varredura foi ajustada para 100 mV s^{-1} . Frequência de 20 Hz para VOQ e intervalo de tempo de 0,05 s para VPD. Eletrólito de suporte: BR 0,10 mol L^{-1} (pH 6,5). 68

Figura 11. (A) voltamogramas de onda quadrada de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de OMP em diferentes valores de pH (6,0 a 10,0); (B) dependência das correntes de pico obtidas em função do pH (resultados para $n = 3$ medidas) e (C) dependência das correntes de pico com a variação da concentração do tampão. Incremento de potencial: 3 mV; amplitude do pulso: 10 mV; velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} ; eletrólito de suporte: tampão BR 0,10 mol L^{-1} na faixa estudada em (A) e (B) e em pH 7,0 em (C). 69

Figura 12. Voltamogramas de onda quadrada registrados com o MSLA-3D-PDE em diferentes concentrações de OMP (10 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e a respectiva curva de calibração obtida (inserida, resultados para $n = 3$ medidas). Condições experimentais: vide Tabela 4. 70

Figura 13. Voltamogramas de onda quadrada e respectiva curva de adição de padrão (resultados para $n = 3$ medidas) obtidos durante uma das recuperações de OMP realizadas em urina sintética. Condições experimentais: vide Tabela 4..... 74

Figura 14. Medidas voltamétricas de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de OMP na ausência e na presença de K^+ , Cl^- , Na^+ , CO_3^{2-} , Ca^{2+} , glicose (GLI), ácido cítrico (AC), ácido ascórbico (AA), ácido

úrico (AU) e paracetamol (PAR). A concentração desses compostos foi fixada em 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Proporção com o analito de interesse de 1:10). Condições experimentais: vide Tabela 4. 75

Figura 15. Imagens da plataforma μTED : A) plataforma principal contendo os reservatórios de entrada (I) e saída (II), o suporte para o detector eletroquímico (III) e os trilhos (IV) que sustentam o suporte da pipeta eletrônica (V); B) dispositivo montado e pronto para uso, com o detector de três eletrodos, microcanais de fluxo de fios de algodão e pipeta eletrônica acoplada ao suporte móvel de 3 eixos. 95

Figura 16. Voltamogramas cíclicos na ausência (linhas pretas) e na presença (linhas vermelhas) de 1 mmol L^{-1} de PAR (A), de NO_2^- (B) e de 5-HTP (C) no eletrodo de CB/PLA. Eletrólito de suporte: tampão BR 0,10 mol L^{-1} com pH = 5,5 (PAR), 4,0 (nitrito) e 6,5 (5-HTP); velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} 98

Figura 17. Imagens da plataforma μTED acoplada aos diferentes modos de injeção de amostra avaliados: manual (A) e automatizado (B). 99

Figura 18. Influência da velocidade de injeção (A), altura de injeção (B) e distância de injeção (C) na resposta amperométrica do μTED para 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR. Volume de injeção: 4 μL . Eletrólito de suporte: tampão BR 0,10 mol L^{-1} (pH 5,5); potencial de detecção (vs. EPR de CB/PLA): + 0,66 V; velocidade de injeção (B e C): 0,12 $\mu\text{L s}^{-1}$ 101

Figura 19. Comparação entre injeções automatizadas e manuais realizadas por operadores experientes e não experientes, em que: (1) refere-se a injeções automatizadas e (2) a injeções manuais de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 5-HTP por operadores experientes (A) e não experientes (B); 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- por operadores experientes (C) e não experientes (D); e 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR por operadores experientes (E) e não experientes (F). 103

Figura 20. Reprodutibilidade entre pipetas. Comparação entre injeções de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 5-HTP utilizando pipetas automáticas (A1) e manuais (A2); entre injeções de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- utilizando pipetas automáticas (B1) e manuais (B2); e entre injeções de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR com pipetas automáticas (C1) e manuais (C2). Resultados para $n = 3$ medidas. 105

Figura 21. Reprodutibilidade entre dispositivos. Comparação entre injeções de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 5-HTP utilizando pipeta automática (A1) e manual (A2); entre injeções de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- utilizando pipeta automática (B1) e manual (B2); e entre injeções de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR utilizando pipeta automática (C1) e manual (C2). Resultados para $n = 3$ medidas.....	107
Figura 22. Comparação entre injeções automatizadas (1) e manuais (2) de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 5-HTP (A), 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- (B) e 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR (C) realizadas durante 15 dias consecutivos. Resultados para $n = 3$ medidas.	110
Figura 23. Amperogramas de 5-HTP nas concentrações de 10,0, 30,0, 60,0, 100,0 e 120,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (A); de nitrito a 10,0, 30,0, 50,0, 80,0 e 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (B); e de PAR a 10,0, 30,0, 50,0, 70,0 e 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (C) registrados com injeção automatizada (1) e manual (2). As curvas de calibração obtidas estão mostradas nos gráficos inseridos. Resultados para $n = 3$ medidas.....	112
Figura 24. Voltamogramas cíclicos na ausência (linha tracejada) e na presença (linha sólida) de 1 mmol L^{-1} de íon ferroso registrados com o detector CB/PLA em uma célula estacionária. Eletrólito de suporte: tampão BR 0,10 mol L^{-1} (pH = 6,5); velocidade de varredura: 100 mV s^{-1}	113
Figura 25. Efeito da concentração do tampão (A) e do pH do tampão (B) na resposta amperométrica de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso. Potencial de detecção: 0,50 V; pH do tampão BR em (A): 5,0; concentração do tampão BR em (B): 0,10 mol L^{-1} . Resultados para $n = 3$ medidas.....	114
Figura 26. Dependência da resposta amperométrica de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso em relação ao potencial de detecção. Eletrólito de suporte: tampão BR 0,10 mol L^{-1} (pH = 4,0). Resultados para $n = 3$ medidas.....	115
Figura 27. Efeito do número de fios de algodão (A) e da diferença de altura entre os reservatórios de entrada e saída (B) na resposta amperométrica do μTED . As medidas foram realizadas na presença de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso. Eletrólito de suporte: tampão BR 0,10 mol L^{-1} (pH = 4,0). Resultados para $n = 3$ medidas.	116

Figura 28. Dependência das correntes de pico de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso em relação ao volume de injeção (A) e à distância de injeção do detector (B) e os referentes amperogramas do estudo de volume de injeção (C) e de distância de injeção (D). Eletrólito de suporte: tampão BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$). Resultados de (A) e (B) para $n = 3$ medidas.....	117
Figura 29. Dependência das correntes de pico de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso em relação à velocidade de injeção (A) e à altura de injeção referente aos fios de algodão (B). Eletrólito de suporte: tampão BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$). Resultados para $n = 3$ medidas.	119
Figura 30. Medidas amperométricas obtidas para injeções sucessivas ($n = 15$) de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso utilizando injeção automatizada (A) e manual (B). Condições experimentais: vide Tabela 14.	120
Figura 31. Gráficos obtidos durante os estudos de reprodutibilidade intereletrodo (A) e estabilidade interdias (B). Todas as medidas foram realizadas na presença de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso utilizando injeção automatizada. Condições experimentais: vide Tabela 14.	121
Figura 32. Amperograma do íon ferroso na concentração de $0,70, 30,0, 70,0, 100,0$ e $200,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (a-e) registrado com a plataforma CB/PLA- μTED usando injeção automatizada. Os gráficos inseridos mostram as curvas de calibração nas direções ascendente (vermelha) e descendente (azul) (resultados para $n = 3$ medidas) e os amperogramas obtidos durante uma das replicatas da análise das amostras. Condições experimentais: vide Tabela 14.	123
Figura 33. Correntes de pico amperométricas do íon ferroso obtidas na ausência e presença de possíveis interferentes: Ca^{2+} , Al^{3+} , Mg^{2+} , K^{+} , Na^{+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , F^{-} , Cl^{-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , NO_3^{-} , glifosato (Glif), benzeno (Benz), tolueno (Tolu) e paracetamol (PAR). A concentração do analito foi fixada em $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ (ou $25 \mu\text{mol L}^{-1}$), enquanto a concentração utilizada para cada interferente é dada na Tabela 17. As linhas vermelhas representam um erro de $\pm 5\%$ usando como referência o valor da corrente de pico obtido para Fe^{2+} na ausência de qualquer interferente. Resultados para $n = 3$ medidas.	127

Figura 34. Amperograma obtido para injeções alternadas de 50 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso. Condições experimentais: vide Tabela 14.....	128
Figura 35. Estrutura química da ADB-butinaca.	144
Figura 36. Imagens de CAD dos componentes da célula impressa em 3D: base (A), contendo uma cavidade (A1) para posicionar a placa de metal (I) para dar contato ao eletrodo de trabalho (II); porção superior (B), contendo um orifício maior (B1), para inserção da solução de trabalho e os eletrodos de referência (III) e contra (IV), e um orifício menor (B2), para posicionar um O-ring (V) a fim de expor a solução ao ET; e o anexo (C) utilizado para acomodar o ER e o CE, com os respectivos parafusos, porcas e ímãs (VI e VII) usados para a fixação de todos os componentes.	149
Figura 37. Célula eletroquímica montada e pronta para ser utilizada com as conexões ligadas diretamente nos ER e CE e indiretamente no eletrodo de DDB através da placa de aço.....	149
Figura 38. Voltamogramas cíclicos na presença (linha sólida) e na ausência (linha tracejada) de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B. Eletrólito de suporte: H_2SO_4 0,10 mol L^{-1} ; velocidade de varredura: 100 mV s^{-1}	152
Figura 39. (A) Correlação entre diferentes eletrólitos em diferentes pHs e as correntes de pico alcançadas em cada um dos meios utilizando 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B, sendo o primeiro ponto (vermelho) H_2SO_4 0,10 mol L^{-1} em seu pH não modificado, e os demais pHs referentes ao tampão BR 0,10 mol L^{-1} ; (B) dependência dos potenciais de pico obtidos em função dos diferentes meios; (C) dependência das correntes de pico em função da variação da concentração de H_2SO_4 (eletrólito otimizado). Técnica utilizada: VC; velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} . Resultados para $n = 3$ medidas.	153
Figura 40. (A) Estudo de velocidade utilizando 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B em H_2SO_4 0,15	155
Figura 41. Gráfico de barras da relação entre os pré-tratamentos realizados na superfície do eletrodo de DDB utilizando 0,5 mol L^{-1} de H_2SO_4 e as correntes de pico atingidas na ausência de qualquer tratamento e na presença de cada um deles, descritos na Tabela 21.	

As medidas de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B foram realizadas através da técnica de VC. Eletrólito de suporte: H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$; velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} . Resultados para $n = 3$ medidas. 157

Figura 42. Comparação entre VOQ (linha azul) e VPD (linha vermelha) na ausência (linhas tracejadas) e na presença (linhas sólidas) de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B. Condições: incremento de potencial foi de 3 mV , amplitude do pulso foi de 20 mV e a velocidade de varredura foi ajustada para 30 mV s^{-1} . Frequência de 10 Hz para VOQ e intervalo de tempo de $0,1 \text{ s}$ para VPD. Eletrólito de suporte: H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ 158

Figura 43. Gráficos da correlação entre (A) frequência, (B) incremento de potencial e (C) amplitude de pulso e as correntes de pico obtidas na variação de cada parâmetro utilizando a técnica de VOQ. Em todas as otimizações, foi utilizado $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B em H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$. Resultados para $n = 3$ medidas. 159

Figura 44. Gráficos obtidos durante os estudos de repetibilidade intra-dispositivo (A), reprodutibilidade inter-eletrodo (B) e estabilidade inter-dias (C). Todas as medidas foram realizadas utilizando o analito ADB-B, no qual em (A) e (B) sua concentração foi de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ e em (C) foi de $75 \mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito: H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$; Técnica utilizada: VOQ; parâmetros: vide Tabela 22. Resultados para $n = 3$ medidas em (B) e (C). 160

Figura 45. Voltamogramas de onda quadrada registrados utilizando o dispositivo desenvolvido para análise de ADB-B em diferentes concentrações ($1,0, 5,0, 10,0, 25,0, 50,0, 100,0$ e $200,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) em meio de H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ e sua respectiva curva de calibração inserida. Condições experimentais: vide Tabela 22. Resultados para $n = 3$ medidas. 162

Figura 46. Voltamogramas de onda quadrada referentes ao estudo qualitativo da ADB-B em amostras apreendidas, no qual (A) e (B) se referem a amostras de ADB-B, (C) à ADB-binaca, (D) à 5-fluoro-BZO-poxizid, (E) à mistura de ADB-fubiata com BZO-hexoxizid e (F) à cetamina. Todos estão representados na ausência e na presença de $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ do padrão de ADB-B. Eletrólito: H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$; parâmetros: vide Tabela 22. Resultados para $n = 3$ medidas. 164

Figura 47. Comparação das estruturas químicas da (A) ADB-butinaca e da (B) ADB-binaca..... 164

Figura 48. Voltamogramas de onda quadrada (I e II) e o respectivo gráfico de barras (III) das correntes de pico referentes ao estudo de $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B na ausência (A) e na presença de possíveis interferentes, sendo eles (B) a mistura de 25B-NBOH e 25E-NBOH, (C) 25B-NBOH, (D) 5-fluoro-BZO-poxizid, (E) a mistura de ADB-fubiata e BZO-hexoxizid, (F) fentanil, (G) cetamina, (H) MDMB-4en-pinaca, (I) ADB-binaca e (J) *cannabis*. Eletrólito: H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$; parâmetros: vide Tabela 22. Resultados para $n = 3$ medidas..... 166

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Faixas de potencial, medidas contra um eletrodo de referência de calomelano saturado, para alguns dos eletrodos mais amplamente usados (considerando todos em solução de H_2SO_4 1 mol L^{-1}). As faixas de potencial para todos os materiais à base de carbono que não estão na tabela são comparáveis às do carbono vítreo. Retirado de [58].	29
Tabela 2. Comparação entre MSLA-3D-PDE e GCE a partir de dados obtidos por EIE e VC.....	61
Tabela 3. Resistências elétricas medidas durante a fabricação do MSLA-3D-PDE.	66
Tabela 4. Parâmetros estudados e otimizados para a determinação de OMP usando o dispositivo MSLA-3D-PDE e tampão BR como eletrólito.	70
Tabela 5. Comparação entre este trabalho e alguns outros relacionados à análise eletroquímica de OMP.....	72
Tabela 6. Recuperações de OMP em amostras de urina sintética fortificadas utilizando o método eletroquímico proposto.	73
Tabela 7. Resultados obtidos para as determinações de OMP em produtos farmacêuticos realizadas com MSLA-3D-PDE/VOQ e espectrofotometria UV-Vis.	76
Tabela 8. Pontuação da Eco-Escala baseada em pontos de penalidade para avaliar a sustentabilidade do dispositivo, juntamente com a metodologia proposta aqui.....	78
Tabela 9. Comparação entre injeções sequenciais ($n = 10$) de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- , 5-HTP e PAR (cada) realizadas por três operadores experientes (E1, E2 e E3) e três operadores não experientes (NE1, NE2 e NE3) utilizando os modos automatizado e manual.	102
Tabela 10. Comparação entre injeções de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- , 5-HTP e PAR (cada) realizadas com 3 pipetas automáticas distintas (A1, A2 e A3) e 3 micropipetas manuais distintas (M1, M2 e M3) por um usuário experiente.	104

Tabela 11. Comparação entre injeções automatizadas e manuais de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- , 5-HTP e PAR (cada) realizadas em $n = 5$ dispositivos (D) diferentes por um usuário experiente.....	106
Tabela 12. Comparação entre os volumes (faixa de 2 a 10 μL) dispensados por três pipetas eletrônicas (E1, E2 e E3) e três pipetas manuais (M1, M2 e M3).	108
Tabela 13. Comparação entre medidas de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- , 5-HTP e PAR (cada) obtidas com injeções automatizadas e manuais durante dias consecutivos ($n = 15$)....	109
Tabela 14. Parâmetros instrumentais e experimentais otimizados para a medida do íon ferroso usando a plataforma CB/PLA- μTED com injeção automatizada e tampão BR como eletrólito.....	119
Tabela 15. Resultados obtidos para a determinação de íon ferroso em amostras farmacêuticas usando a plataforma CB/PLA- μTED acoplada à detecção amperométrica (DA) e a técnica de espectrofotometria UV-Vis.	124
Tabela 16. Resultados do ensaio de recuperação realizado em amostras de água usando a plataforma CB/PLA- μTED	125
Tabela 17. Compostos inorgânicos e orgânicos geralmente encontrados em águas naturais e utilizados no estudo de interferentes.	126
Tabela 18. Pontos de penalidade estimados para avaliar a sustentabilidade da abordagem eletroanalítica proposta.....	129
Tabela 19. Pontos de penalidade estimados para avaliar a sustentabilidade do método UV-Vis utilizado na análise de Fe^{2+}	131
Tabela 20. Pontos de penalidade estimados para avaliar a sustentabilidade do método baseado em espectrometria de absorção atômica proposto para a determinação de Fe^{2+} em amostras de água.....	132
Tabela 21. Pré-tratamentos aplicados na superfície do eletrodo de DDB.	156

Tabela 22. Parâmetros estudados e otimizados para a determinação de ADB-B usando a célula eletroquímica impressa em 3D.....	159
Tabela 23. Ensaio de recuperação de ADB-B em amostras de plasma sanguíneo fortificadas utilizando a metodologia e sistema propostos.....	163
Tabela 24. Comparação do resultado qualitativo das amostras utilizando cromatografia e VOQ.	165

RESUMO

Nesta tese, é apresentado o desenvolvimento de três sistemas eletroquímicos alternativos para aplicações analíticas. O trabalho está dividido em quatro capítulos: o Capítulo 1 expõe os conceitos teóricos essenciais para o entendimento dos estudos realizados; o Capítulo 2 apresenta um sensor eletroquímico inovador, feito com eletrodos desenhados a lápis (PDE) e um substrato biodegradável impresso em 3D por estereolitografia mascarada (MSLA). Esse dispositivo é de baixo custo (~R\$ 0,60) e tem menor impacto ambiental. Comparado ao papel, o substrato 3D MSLA é hidrofóbico e mais resistente, garantindo sensores mais estáveis e duradouros. Além disso, o MSLA-3D-PDE, junto com uma célula customizada, demonstrou ótimo desempenho eletroquímico, semelhante ao do eletrodo de carbono vítreo, sem necessidade de ativação. A plataforma foi aplicada na quantificação de omeprazol, alcançando um limite de detecção de $0,72 \mu\text{mol L}^{-1}$ e alta precisão (erro $\leq 1,50\%$). Sua sustentabilidade foi confirmada pelo índice de Eco-Escala, destacando o MSLA-3D-PDE como uma ferramenta promissora em eletroanalítica; o Capítulo 3 apresenta uma nova abordagem para a injeção em dispositivos eletroanalíticos microfluídicos baseados em fios (μTED), substituindo micropipetas manuais por pipetas eletrônicas para maior precisão e reprodutibilidade. Sendo assim, foi desenvolvida uma nova plataforma impressa em 3D que permite acoplar a pipeta eletrônica ao μTED e sempre realizar injeções em uma posição fixa, aumentando a reprodutibilidade das medidas. Para demonstrar a aplicabilidade prática, essa abordagem foi utilizada para análise do íon Fe^{2+} em suplementos farmacêuticos e amostras ambientais. O método apresentou ampla faixa linear ($0,70$ a $200,0 \mu\text{mol L}^{-1}$), baixo limite de detecção ($0,21 \mu\text{mol L}^{-1}$), boa exatidão (recuperações entre 96 e 103%) e excelente precisão (desvio padrão relativo $\leq 3,3\%$). Assim, a injeção automatizada pode ser um grande avanço no estado da arte em relação aos μTED s; o Capítulo 4 investiga a caracterização eletroquímica e aplicação forense da ADB-butinaca (ADB-B), um canabinoide sintético que vem cada vez mais sendo apreendido no Brasil. Utilizando eletrodos convencionais e uma célula impressa em 3D, foi possível desenvolver um método portátil e de menor custo que os convencionais. Os estudos mostraram alta precisão e exatidão (recuperação de 107-108%) do método proposto e permitiu a detecção seletiva da ADB-B em amostras apreendidas, com mais de 80% de acerto em um teste de quantificação realizado às cegas. Os resultados destacam o potencial da metodologia para análises forenses de identificação rápida da ADB-B em campo e combate ao tráfico de drogas.

Palavras-Chave: impressão 3D; eletrodos de carbono; análises de injeção em fluxo; análises forenses; canabinoide sintético.

ABSTRACT

This thesis presents the development of three alternative electrochemical systems for analytical applications. The work is divided into four chapters: Chapter 1 outlines the essential theoretical concepts necessary to understand the conducted studies; Chapter 2 introduces an innovative electrochemical sensor made with pencil-drawn electrodes (PDE) and a biodegradable substrate 3D-printed via masked stereolithography (MSLA). This low-cost (~R\$ 0.60) device has a reduced environmental impact. Compared to paper, the MSLA 3D substrate is hydrophobic and more resistant, ensuring more stable and durable sensors. Additionally, the MSLA-3D-PDE, combined with a custom-designed cell, demonstrated great electrochemical performance, similar to that of a glassy carbon electrode, without requiring activation. The platform was applied to omeprazole quantification, achieving a detection limit of $0.72 \mu\text{mol L}^{-1}$ with high precision (error $\leq 1.50\%$). Its sustainability was confirmed using the Eco-Scale index, highlighting the MSLA-3D-PDE as a promising tool in electroanalysis; Chapter 3 presents a new approach for sample injection in microfluidic thread-based electroanalytical devices (μTED), replacing manual micropipettes with electronic pipettes for improved precision and reproducibility. A novel 3D-printed platform was developed to attach the electronic pipette to the μTED , ensuring injections occur in a fixed position, thereby enhancing measurement reproducibility. To demonstrate practical applicability, this approach was used to analyze Fe^{2+} ions in pharmaceutical supplements and environmental samples. The method exhibited a wide linear range (0.70 to $200.0 \mu\text{mol L}^{-1}$), a low detection limit ($0.21 \mu\text{mol L}^{-1}$), high accuracy (recoveries between 96% and 103%), and excellent precision (relative standard deviation $\leq 3.3\%$). Thus, automated injection represents a significant advancement in the state of the art for μTED s; Chapter 4 investigates the electrochemical characterization and forensic application of ADB-butinaca (ADB-B), a synthetic cannabinoid increasingly seized in Brazil. Using conventional electrodes and a 3D-printed cell, a portable and cost-effective method was developed. Studies demonstrated the method's high precision and accuracy (107 - 108% recovery) and enabled the selective detection of ADB-B in seized samples, achieving over 80% accuracy in a quantification blind test. The results highlight the potential of this methodology for rapid forensic identification of ADB-B in the field, aiding in drug trafficking control.

Keywords: 3D printing; carbon electrodes; flow injection analysis; forensic analysis; synthetic cannabinoid.

CAPÍTULO 1 - *REVISÃO BIBLIOGRÁFICA*

1.1. ELETROANALÍTICA

A eletroanalítica é uma subárea da química que desenvolve métodos de análise de compostos com base em propriedades elétricas utilizando eletrodos como sensores. Suas aplicações incluem monitoramento ambiental, controle de qualidade industrial e análises biomédicas, como a medição de glicose no sangue via glicosímetro. Dentre os métodos eletroanalíticos existentes, estão os voltamétricos e amperométricos, que são de interesse deste trabalho. Ambos são baseados em processos de oxirredução que ocorrem na interface eletrodo-solução dentro de uma célula eletroquímica, cuja composição se dá normalmente por três eletrodos (de trabalho, de referência e contraeletrodo) imersos em um eletrólito [1–3]. O eletrodo de trabalho responde diretamente ao analito de interesse através de processos de oxirredução; o eletrodo de referência tem a função de manter o potencial do eletrodo de trabalho controlado, a fim de que se defina um valor para este último. Há também o pseudorreferência, que é menos preciso, mas uma ótima estratégia para algumas configurações eletródicas; e o contraeletrodo completa o circuito elétrico, além de evitar que a corrente flua entre o eletrodo de trabalho e o de referência. Sendo assim, a instrumentação das células eletroquímicas se dá pela conexão dos eletrodos a um potenciostato que tem a função de controlar a diferença de potencial entre os eletrodos de trabalho e de referência, gerando um fluxo de corrente entre o eletrodo de trabalho e o contraeletrodo. O eletrólito de suporte, geralmente uma mistura de sais ou tampões, é essencial para minimizar a contribuição do efeito de migração para o transporte de massa do analito do seio da solução até a superfície eletrodo-solução e para a estabilidade iônica da solução [4–9].

1.2. TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS

A voltametria é uma técnica que estuda a relação entre potencial, corrente e tempo durante reações de oxirredução em uma célula eletroquímica, sendo usada para investigar propriedades básicas dos materiais e determinar concentrações de analitos [10,11]. As respostas voltamétricas se diferem com base no sinal de excitação utilizado. Sinais de excitação comuns em voltametria incluem a varredura linear, técnicas de pulso e a aplicação de um potencial fixo. A varredura linear é usada em voltametria cíclica (VC), no qual uma varredura triangular de potencial avalia a reversibilidade, a transferência de elétrons e transportes de massa das espécies eletroativas [1,2,12]. Já as técnicas de pulso, mais utilizados em análises quantitativas, são encontrados em técnicas como voltametria

de onda quadrada (VOQ) e voltametria de pulso diferencial (VPD), que se diferem na forma de aplicação da varredura de potencial e da amostragem da corrente, sendo a VOQ mais rápida [1,2,6,13,14]. A aplicação de um potencial fixo é utilizada na técnica de detecção amperométrica (DA), que mede a corrente em potencial constante e, quando utilizada em sistemas de fluxo e de batelada, se destaca pela execução de análises rápidas com pequenos volumes de amostra (na ordem de microlitros) e pela minimização de contaminação da superfície do eletrodo por proporcionar uma análise em fluxo [5,11,13,15,16].

Todas as técnicas citadas são amplamente utilizadas em sensores eletroquímicos, sendo uma alternativa mais simples e econômica aos métodos analíticos convencionais (como as cromatografias), que tendem a ser mais complexos e custosos de executar.

1.3. SENSORES ELETROQUÍMICOS

Nos dias de hoje, substâncias essenciais em áreas como medicina e ciências forenses são analisadas por técnicas como cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa, fluorescência e quimioluminescência, mas esses métodos usualmente envolvem processos complexos e caros. Em contrapartida, os sensores eletroquímicos se destacam pela facilidade de uso, resposta rápida, detecção não destrutiva, miniaturização, sensibilidade - que pode ser aprimorada com o uso de eletrodos quimicamente modificados - e baixo custo. Esses sensores detectam substâncias através da correlação entre os sinais elétricos medidos por meio de eletrodos e a concentração do analito alvo, sendo amplamente aplicados nos setores agrícola [17], ambiental [18], industrial [19,20] e clínico [21,22]. Uma subclasse importante de sensores são os chamados voltamétricos, que medem correntes em diferentes potenciais, exigindo o ajuste de condições, como escolha do material do eletrodo e aplicação de varreduras diretas ou em pulsos de potencial, para obter maior seletividade na detecção de diferentes espécies na solução [1,6,23–27].

1.3.1. Miniaturização

Os avanços na miniaturização de sistemas eletrônicos têm impulsionado o desenvolvimento de dispositivos analíticos mais compactos e eficientes, beneficiando áreas como as de monitoramento ambiental [28] e de testes farmacêuticos [29]. A miniaturização permite análises de pequenos volumes de amostra (em microlitros ou

nanolitros) com alta resolução, reduzindo o uso de reagentes e a geração de resíduos, promovendo sustentabilidade. Além disso, a possibilidade de tornar esses sistemas portáteis facilita análises em campo e no ponto de atendimento (POC, do inglês *point-of-care*), evitando atrasos e interferências associados ao transporte de amostras para laboratórios centralizados. Para viabilizar essa portabilidade, são utilizados eletrodos de tamanho reduzido, como fios de prata, platina ou grafite, e pseudoeletrodos substituem os eletrodos de referência tradicionais [23,26–31].

1.3.2. Eletrodos de carbono

A seleção do material do eletrodo é influenciada principalmente pela faixa de potencial útil no solvente e pela pureza do material, sendo o limite de potencial determinado pelo ponto em que a corrente de fundo ultrapassa um valor especificado. Embora o mercúrio tenha sido amplamente utilizado por sua renovabilidade de superfície e extensa faixa de potencial negativo, sua toxicidade e instabilidade levaram à preferência por eletrodos sólidos, que oferecem melhor estabilidade mecânica, ampla faixa de potencial catódico e anódico, atividade eletrocatalítica para eletro-oxidação ou redução de diversas moléculas orgânicas e adaptabilidade para diversas aplicações. Metais como ouro, prata e platina são comuns em eletrodos sólidos, assim como materiais à base de carbono que, ainda que exibam cinética de transferência de elétrons mais lenta em comparação com eletrodos metálicos, são valorizados por sua ampla faixa de potencial de trabalho, inércia química, baixa corrente de fundo, custo acessível, disponibilidade em várias formas e química de superfície diversa. Diferentes formas de carbono podem ser utilizadas como eletrodo, permitindo uma infinidade de possíveis combinações que podem potencializar seu desempenho [6,13]. Suas formas mais usualmente utilizadas são: carbono vítreo [32–34], pasta de carbono [35–37], diamante dopado com boro [38–41], grafite [27,42–45], nanotubos de carbono [32,35,46,47], carbono serigrafado (*screen-printed*) [48–50], fibra de carbono [51–53] e negro de fumo (carbono *black*) [54–57]. Na Tabela 1 encontram-se as faixas de potencial alcançadas por diferentes materiais eletródicos frequentemente utilizados em eletroanálise.

Tabela 1. Faixas de potencial, medidas contra um eletrodo de referência de calomelano saturado, para alguns dos eletrodos mais amplamente usados (considerando todos em solução de H_2SO_4 1 mol L^{-1}). As faixas de potencial para todos os materiais à base de carbono que não estão na tabela são comparáveis às do carbono vítreo. Retirado de [58].

Eletrodo	Faixa de potencial aproximada (V vs ECS)
Platina	- 0,2 a + 0,9 V
Ouro	- 0,3 a + 1,4 V
Mercúrio	- 1,3 a + 0,1 V
Carbono vítreo	- 0,8 a + 1,1 V
Diamante dopado com boro	- 1,5 a + 1,7 V

1.4. IMPRESSÃO 3D APLICADA A SENSORES ELETROQUÍMICOS

A impressão 3D (três dimensões), também conhecida como manufatura aditiva, é um processo baseado na deposição digitalmente controlada de sucessivas camadas de material até que um objeto tridimensional seja criado. Esse processo envolve várias etapas até que o produto final seja obtido, iniciando com a renderização de um modelo virtual da estrutura a ser fabricada através de um *software* de desenho assistido por computador, conhecido como CAD (do inglês *computer-aided design*). Após a criação do modelo do objeto, ele é convertido em um formato de arquivo STL (do inglês *STereoLithography*), adequado para ser usado em qualquer tipo de impressora 3D. Finalmente, o arquivo é convertido em um arquivo codificado, conhecido como G-code, que é o formato lido pela impressora a ser utilizada para a construção do objeto. Esse formato é responsável por dividir o modelo 3D em diversas seções transversais em 2D, que são geradas sucessivamente pela impressora até que a peça em 3D seja criada [59,60].

A tecnologia de impressão 3D foi reportada pela primeira vez em 1983 por Hull [61], que descreveu a técnica de estereolitografia como uma inovação na criação de objetos de formas variadas, sendo essa técnica a primeira tecnologia 3D relatada. No contexto dos sensores eletroquímicos, a impressão 3D ganhou notoriedade na química analítica a partir de 2012 [62] devido às suas vantagens em relação aos métodos convencionais de fabricação de sistemas eletroanalíticos, como baixo custo de produção, capacidade de usar uma grande variedade de materiais e a possibilidade de fabricar estruturas de diversos formatos. Isso permite o desenvolvimento de dispositivos com alta flexibilidade, leveza

e ótimas resoluções, além de possibilitar a construção de sistemas miniaturizados e portáteis que podem ser levados a campo e de poder se integrar a dispositivos de fluxo [59,63,64].

Dentre os variados tipos de impressão 3D existentes, os mais comumente utilizados para a fabricação de sensores eletroquímicos são a modelagem por deposição fundida (FDM, do inglês *fused deposition modeling*), a estereolitografia (SLA, do inglês *stereolithography*) e a fusão seletiva a laser (SLM, do inglês *selective laser melting*) [59,65,66]. A técnica de FDM é a mais utilizada devido à sua simplicidade e menor custo. Desenvolvida em 1989 por Scott Crump, ela consiste na extrusão de materiais termoplásticos aquecidos que são depositados camada por camada para criar objetos tridimensionais. Os termoplásticos mais utilizados são acrilonitrila butadieno estireno (ABS, do inglês *acrylonitrile butadiene styrene*) e o ácido polilático (PLA, do inglês *polylactic acid*), que podem ser misturados com alótropos de carbono, como negro de fumo (também chamado de carbono *black*) e grafeno, para formar materiais condutivos. A FDM é considerada uma técnica simples devido à sua rapidez e acessibilidade, porém apresenta limitações, como acabamento superficial de baixa qualidade, encolhimento térmico e resolução moderada ($\sim 200\ \mu\text{m}$) [59,65–69].

O método de SLM se baseia na criação de objetos sólidos a partir de partículas de metal, espalhando uma fina camada de pó metálico que é fundida seletivamente por um laser conforme o modelo digital. Suas vantagens incluem a minimização de resíduos - o pó de metal não utilizado serve como material de suporte -, a produção de peças duráveis com excelente acabamento de superfície e alta resolução ($\sim 100\ \mu\text{m}$). Porém, uma importante desvantagem que faz com que essa técnica não seja tão utilizada quanto a de FDM é seu custo elevado. A SLA, também conhecida como fotopolimerização, foi criada por Hideo Kodama em 1981 e usa luz ultravioleta (UV) para solidificar camada por camada de resina polimérica líquida para formar as estruturas em 3D. Existem mais de um tipo de fonte de luz UV e dois tipos de arranjo da plataforma onde o objeto é construído, então a SLA apresenta diversas variações dependendo dos parâmetros utilizados para a impressão. Esse método oferece excelentes resoluções (25-100 μm) e acabamento superficial, entretanto, na produção de sensores eletroquímicos ele é limitado pelos materiais que podem ser utilizados, pois a maioria não é condutiva, necessitando de processos adicionais que podem ser bastante complexos [59,60,65,66,70].

Uma outra técnica que vem sendo utilizada se baseia no uso de canetas de impressão 3D. Apesar de não serem digitalmente controladas, pois são dependentes da ação humana, essas canetas funcionam de forma similar à FDM, efetuando a extrusão de filamentos termoplásticos aquecidos para formar os objetos. Porém, ao contrário da FDM, essa técnica apresenta baixa reprodutibilidade na fabricação de sensores, pois a precisão da caneta depende do operador. Embora as canetas ofereçam portabilidade e facilidade de operação, ainda apresentam limitações, como a faixa restrita de velocidade e temperatura de extrusão (60-220°C), o que restringe os tipos de termoplásticos que podem ser utilizados nela. Essa técnica ainda é relativamente nova no contexto de desenvolvimento de sensores eletroquímicos e apresenta um grande potencial na fabricação de sensores por meio da moldagem [67,68].

Os primeiros estudos relacionados à impressão 3D de sensores eletroquímicos utilizavam metais como platina, ouro, irídio e bismuto para a construção desses dispositivos, porém esses materiais apresentavam algumas desvantagens consideráveis, como alto custo e uma quantidade limitada de tipos de metais aplicáveis. Sendo assim, eletrodos à base de carbono vêm ganhando mais popularidade por sua versatilidade e simplicidade, no qual filamentos condutivos para impressão 3D podem ser produzidos a partir da mistura de materiais termoplásticos (como ABS e PLA) com alótropos de carbono [59,64]. Estudos relacionados ao uso das mais diversas combinações de carbono para filamentos vêm sendo publicados, como ABS com negro de fumo [71,72], PLA com grafeno [73,74] e compósito de poliestireno com nanofibras de carbono e grafite [75,76].

Quanto à mistura de materiais para filamentos condutivos comerciais, a quantidade de termoplástico isolante presente nos filamentos para impressão 3D em comparação com o montante de carbono é muito maior, gerando sensores impressos com cinética de transferência eletrônica lenta e desempenho abaixo da média quando comparados com outros eletrodos à base de carbono. Logo, diferentes pré-tratamentos após a impressão podem ser utilizados para melhorar a atividade eletroquímica dos sensores: tratamento mecânico, que consiste na abrasão dos eletrodos por meio do uso de lixas para que se obtenha uma superfície mais lisa e homogênea; tratamento eletroquímico, que envolve a aplicação de potenciais altamente positivos (anodização) e altamente negativos (catodização) - podendo-se usar tanto uma das duas estratégias quanto ciclar entre elas -, com o objetivo de aumentar a presença de grupos funcionais de oxigênio e amina na superfície para melhorar o desempenho eletroquímico e a cinética de transferência de

elétrons do sensor; tratamento químico com o uso de solventes como dimetilformamida, acetona e hidróxido de sódio para dissolver o ligante não condutor do filamento e melhorar a condutividade e a cinética de transferência de elétron do sensor; e tratamento biológico, no qual enzimas como lipase, esterase, protease e alcalase são utilizadas para digerir o termoplástico isolante e expor a porção eletroativa do filamento [59,65,66].

1.4.1. Impressão 3D e sustentabilidade

Se tratando de sustentabilidade, a impressão 3D tem grande potencial para reduzir significativamente as demandas de recursos e energia. Diferentemente dos métodos tradicionais de manufatura, como a usinagem e a fresagem, que utilizam processos subtrativos para formar objetos, a impressão 3D, por ser um processo de manufatura aditiva, tende a minimizar consideravelmente os resíduos gerados na construção de estruturas diversas. Isso ocorre pois na manufatura subtrativa, frequentemente grandes porções de material são retiradas de um bloco sólido e descartadas, permanecendo apenas uma pequena parte desse bloco para ser utilizado no produto final [77,78]. Já a manufatura aditiva, por construir um objeto a partir da deposição camada por camada de um material, usa apenas a quantidade de matéria-prima necessária para o produto requerido, com o mínimo de sobras, reduzindo muito o desperdício de materiais residuais. Na indústria essa redução de desperdício é bastante benéfica quando há a produção de baixo volume de itens, no qual o uso de métodos convencionais acarretaria em quantidades desproporcionais de resíduos [77–79].

No quesito de eficiência energética, enquanto processos subtrativos demandam numerosos insumos para etapas de aquecimento, corte e montagem de produtos [80], a manufatura aditiva, portanto a impressão 3D, pode reduzir o consumo de energia de variadas formas: redução da necessidade de grandes instalações de fabricação e de locais de armazenamento, bem como a minimização de transporte e logística, quando há a necessidade de produção pontual de itens sob demanda; temperaturas mais baixas para o processamento de materiais, já que métodos de impressão 3D, como a FDM e a SLA, tipicamente operam em temperaturas entre 180 e 250 °C, enquanto processos tradicionais, como a moldagem por injeção e a fundição de metais sob pressão, operam em temperaturas acima de 1000 °C; capacidade de produzir componentes integrados em menos etapas ou, muitas vezes, em uma única etapa, aumentando a eficiência do uso de recursos; criação de estruturas leves, levando ao uso de menos insumo e à economia de

energia na produção; e uso de matéria prima ecológica, como polímeros biodegradáveis (um exemplo é o PLA), materiais recicláveis (o politereftalato de etileno, PET, vem sendo utilizado como filamento na impressão 3D) e resinas sustentáveis [78,81–85].

Por essas características, a tecnologia de manufatura aditiva tende a alcançar grande parte dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela Organização das Nações Unidas (ONU). As ODS são um conjunto de 17 metas que foram estabelecidas para se obter um futuro sustentável, abordando questões e desafios globais para melhorar os aspectos ambientais, econômicos e sociais do mundo. Essas metas consistem em: erradicação da pobreza (ODS 1), fome zero e agricultura sustentável (ODS 2), saúde e bem-estar (ODS 3), educação de qualidade (ODS 4), igualdade de gênero (ODS 5), água potável e saneamento (ODS 6), energia limpa e acessível (ODS 7), trabalho decente e crescimento econômico (ODS 8), indústria, inovação e infraestrutura (ODS 9), redução das desigualdades (ODS 10), cidades e comunidades sustentáveis (ODS 11), consumo e produção responsáveis (ODS 12), ação contra a mudança global do clima (ODS 13), vida na água (ODS 14), vida terrestre (ODS 15), paz, justiça e instituições eficazes (ODS 16) e parcerias e meios de implementação (ODS 17) [86–89]. Considerando os benefícios apresentados pela manufatura aditiva, diversas ODS podem ser alcançadas pelo seu uso, destacando-se as ODS 7, 8, 9, 11, 12 e 13 [89,90].

Dadas as vantagens da tecnologia de impressão 3D, com destaque para seu uso na fabricação de sensores eletroquímicos e dispositivos microfluídicos [91–93], essa abordagem vem sendo cada vez mais estudada, otimizada e aplicada aos mais variados campos, incluindo o monitoramento ambiental [94–96], as análises biológicas [97–99] e as ciências forenses [100–102].

1.5. TÉCNICAS AUXILIARES

Algumas técnicas secundárias foram utilizadas para auxiliar na interpretação dos resultados obtidos neste trabalho. Como não são as técnicas principais, uma abordagem superficial de cada uma delas será descrita abaixo, não sendo uma visão aprofundada por não ser o objetivo do trabalho.

1.5.1. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE)

A espectroscopia de impedância eletroquímica é uma técnica amplamente utilizada na eletroquímica tanto para analisar eletrodos quimicamente modificados quanto

para obter melhor compreensão acerca das reações eletroquímicas. Realizada em uma célula de três eletrodos com uma solução contendo um par redox padrão, como ferro/ferricianeto, essa técnica aplica um sinal de potencial elétrico alternado em diferentes frequências, registrando a impedância em função dessas frequências. A impedância reflete a resistência ao fluxo de corrente em circuitos elétricos e pode ser modelada por circuitos equivalentes, como o de Randles, que é o mais comum. A forma gráfica resultante dos valores de impedância medidos para as múltiplas frequências é comumente representada pelo diagrama de Nyquist, que fornece informações sobre a capacitância do eletrodo e suas propriedades interfaciais, como a cinética de transferência de elétrons e os processos de difusão. A resistência de transferência de carga (R_{tc}) é a medida mais relevante para sensores eletroquímicos, pois indica a facilidade ou dificuldade das reações de troca de carga na interface eletrodo-solução: quanto menor o R_{tc} , mais rápida a troca de carga, e quanto maior, mais lenta a reação [1,5,103,104].

1.5.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica versátil que fornece imagens - com resolução de até dezenas de angstroms (Å) - da amostra através de sua varredura com um feixe de elétrons de alta energia, trazendo informações acerca da textura (morfologia externa), da estrutura cristalina, da composição química e da orientação dos componentes da amostra, em alguns desses casos quando acoplada a outras técnicas. Para que essas imagens sejam formadas, um microscópio eletrônico de varredura produz elétrons no topo de uma coluna, sob vácuo, que são acelerados na direção de uma série de lentes e aberturas para gerar um feixe de elétrons concentrado. A superfície da amostra é então atingida por esse feixe, produzindo sinais que são captados por detectores específicos. A interação entre o feixe formado e a amostra pode produzir diferentes tipos de elétrons (secundários, retroespalhados e raios-X), no qual cada um proporciona uma informação específica na imagem bidimensional gerada. A técnica de MEV não é destrutiva, permitindo a análise da amostra diversas vezes sem consumi-la [105–108].

1.5.3. Espectroscopia (espectrofotometria) UV-Vis e Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

A espectroscopia UV-Vis (ultravioleta e visível) e a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier-transform infrared*

spectroscopy) são técnicas que analisam como as amostras interagem com diferentes tipos de radiação. A espectrofotometria UV-Vis investiga a absorção de luz nas faixas ultravioleta e visível (190-800 nm), gerando espectros de absorbância que refletem transições eletrônicas nas moléculas e permitem a identificação e quantificação de substâncias, com base na lei de Lambert-Beer [109–112]. Já a espectroscopia de FTIR foca na absorção de radiação infravermelha pelas ligações químicas das moléculas, produzindo espectros que revelam grupos funcionais característicos e possibilitam a identificação de compostos. A transformada de Fourier é um dos dois tipos de espectrômetros empregados na espectroscopia de infravermelho, sendo também o mais recentemente construído. O outro tipo é o dispersivo, que é mais antigo. Assim, diferentemente dos espectrômetros dispersivos, os modelos FTIR medem simultaneamente todos os comprimentos de onda, tornando a análise mais rápida e sensível, o que faz desse método o mais utilizado atualmente [11,58,113–116].

1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 3^a, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey, 2006.
- [2] 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, *Revista Virtual de Química* 5 (2013) 516–537. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130040>.
- [3] G.A. Mabbott, *Electroanalytical chemistry: principles, best practices, and case studies - Chemical Analysis: A Series of Monographs on Analytical Chemistry and Its Applications*, 1st ed., Wiley, Hoboken, NJ, 2020.
- [4] S.D. Minter, *Advances in Electroanalytical Chemistry*, *J Am Chem Soc* 140 (2018) 2701–2703. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b00986>.
- [5] M.T.F. Abedul, *Laboratory methods in dynamic electroanalysis*, Elsevier, Amsterdam, 2020.
- [6] C.M.A. Brett, A.M.O. Brett, *Electrochemistry - Principles, Methods and Applications*, Oxford University Press Inc, New York, 1994.
- [7] A.D. Skoog, J.F. Holler, T.A. Nieman, *Princípios de Análise Instrumental*, 5th ed., Bookman, São Paulo, 2002.
- [8] C. Lefrou, P. Fabry, J.-C. Poignet, *Electrochemistry - The basics, with examples*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012.
- [9] G. Inzelt, Pseudo-reference Electrodes, in: *Handbook of Reference Electrodes*, Springer, Berlin, 2013: pp. 331–332. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-36188-3>.
- [10] D. De Souza, S.A.S. Machado, L.A. Avaca, Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos, *Quim Nova* 26 (2003) 81–89. <https://doi.org/10.1002/open.201500042>.
- [11] Skoog, West, Holler, Crouch, *Fundamentos de Química Analítica*, 8^a, Editora Thomson, São Paulo - SP, 2006.
- [12] D.K.G. Jr, *Cyclic Voltammetry - Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*, VCH Publishers, Inc., New York, 1993. <https://doi.org/10.1080/00945719408001398>.
- [13] P.T. Kissinger, W.R. Heineman, *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2^a, MARCEL DEKKER, INC, New York, 1996.
- [14] L.M. Aleixo, Voltametria: conceitos e técnicas, *Revista Chemkeys* (2018) 1–21. <https://doi.org/10.20396/chemkeys.v0i3.9609>.

- [15] P.B. Deroco, J. de F. Giarola, D. Wachholz Júnior, G.A. Lorga, L.T. Kubota, Chapter Four - Paper-based electrochemical sensing devices, in: *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier B.V., 2020: pp. 91–137. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2019.11.001>.
- [16] S.B. Adeloju, Amperometry, in: P. Worsfold, A. Townshend, C. Poole (Eds.), *Encyclopedia of Analytical Science*, 2nd ed., Elsevier, Melbourne, 2005: pp. 70–79.
- [17] D.P. Nikolelis, T. Varzakas, A. Erdem, G.P. Nikoleli, *Portable Biosensing of Food Toxicants and Environmental Pollutants*, CRC Press, FL, USA, 2014. <https://www.routledge.com/Portable-Biosensing-of-Food-Toxicants-and-Environmental-Pollutants/Nikolelis-Varzakas-Erdem-Nikoleli/p/book/9781466576322>.
- [18] T.A. Kuchmenko, L.B. Lvova, A perspective on recent advances in piezoelectric chemical sensors for environmental monitoring and foodstuffs analysis, *Chemosensors* 7 (2019) 14–17. <https://doi.org/10.3390/chemosensors7030039>.
- [19] A. Yan, S. Huang, S. Li, M. Zaghloul, P. Ohodnicki, M. Buric, K.P. Chen, High spatial resolution fiber optical sensors for simultaneous temperature and chemical sensing for energy industries, *Micro- and Nanotechnology Sensors, Systems, and Applications IX* 10194 (2017) 101941R. <https://doi.org/10.1117/12.2263624>.
- [20] M. Rosenberg, B.W. Laursen, C.G. Frankær, T.J. Sørensen, A Fluorescence Intensity Ratiometric Fiber Optics–Based Chemical Sensor for Monitoring pH, *Adv Mater Technol* 3 (2018) 1–5. <https://doi.org/10.1002/admt.201800205>.
- [21] A. Tricoli, G. Neri, Miniaturized bio-and chemical-sensors for point-of-care monitoring of chronic kidney diseases, *Sensors (Switzerland)* 18 (2018) 1–18. <https://doi.org/10.3390/s18040942>.
- [22] N.S. Prado, L.A.J. Silva, R.M. Takeuchi, E.M. Richter, A.L. dos Santos, E.H.L. Falcão, Graphite sheets modified with poly(methylene blue) films: A cost-effective approach for the electrochemical sensing of the antibiotic nitrofurantoin, *Microchemical Journal* 177 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107289>.
- [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, *Sens 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. Bandodkar, J. Wang, Non-invasive wearable electrochemical sensors: A review, *Trends Biotechnol* 32 (2014) 363–371. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.04.005>.
- [26] J.M. Petroni, B.G. Lucca, L.C. da Silva Júnior, D.C. Barbosa Alves, V. Souza Ferreira, Paper-based Electrochemical Devices Coupled to External Graphene-Cu Nanoparticles Modified Solid Electrode through Meniscus Configuration and their Use in Biological Analysis, *Electroanalysis* 29 (2017) 2628–2637. <https://doi.org/10.1002/elan.201700398>.
- [27] N.C. de 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>.
- [28] A. Hájková, V. Vyskočil, B. Josypčuk, J. Barek, A miniaturized electrode system for voltammetric determination of electrochemically reducible environmental pollutants, *Sens Actuators B Chem* 227 (2016) 263–270. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.11.136>.
- [29] A.I.P. Jimenez, L. Challier, M. Di Pisa, M. Guille-Collignon, F. Lemaître, S. Lavielle, C. Mansuy, C. Amatore, E. Labbé, O. Buriez, Three-electrode analytical and preparative electrochemistry in micro-volume hanging droplets, *Electrochem Commun* 54 (2015) 41–45. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2015.02.013>.
- [30] 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>.
- [31] A.C.M. Oliveira, D.A.G. Araújo, L.A. Pradela-Filho, R.M. Takeuchi, A.L. Santos, A robust and versatile micropipette tip-based miniaturized electrochemical cell for determination of carbendazim, *Sens Actuators B Chem* 327 (2021) 128880. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128880>.
- [32] C.G. Sanz, S.H.P. Serrano, C.M.A. Brett, Electroanalysis of Cefadroxil Antibiotic at Carbon Nanotube/Gold Nanoparticle Modified Glassy Carbon Electrodes, *ChemElectroChem* 7 (2020) 2151–2158. <https://doi.org/10.1002/celc.202000255>.
- [33] R. Tchoffo, G.B.P. Ngassa, I.K. Tonlé, E. Ngameni, Electroanalysis of diquat using a glassy carbon electrode modified with natural hydroxyapatite and β -cyclodextrin composite, *Talanta* 222 (2021) 121550. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121550>.

- [34] A.R. Abbasi, M. Yousefshahi, K. Daasbjerg, Non-enzymatic Electroanalytical Sensing of Glucose Based on Nano Nickel-Coordination Polymers-Modified Glassy Carbon Electrode, *J Inorg Organomet Polym Mater* 30 (2020) 2027–2038. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01452-6>.
- [35] N. dos S. Conceição, G.F.S. dos Santos, J.G.A. Rodrigues, S. de B.G. Junior, W. Romão, R. de Q. Ferreira, Development of an electroanalytical methodology for the identification and quantification of cocaine in samples seized using a carbon paste electrode modified with multi-walled carbon nanotubes, *Microchemical Journal* 201 (2024) 110723. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110723>.
- [36] M. Pengou, G.B.P. Ngassa, M. Boutianala, H.K. Tchakouté, C.P. Nanseu-Njiki, E. Ngameni, Geopolymer cement-modified carbon paste electrode: application to electroanalysis of traces of lead(II) ions in aqueous solution, *Journal of Solid State Electrochemistry* 25 (2021) 1183–1195. <https://doi.org/10.1007/s10008-021-04897-y>/Published.
- [37] J. Estrada-Aldrete, J.M. Hernández-López, A.M. García-León, J.M. Peralta-Hernández, F.J. Cerino-Córdova, Electroanalytical determination of heavy metals in aqueous solutions by using a carbon paste electrode modified with spent coffee grounds, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 857 (2020) 113663. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113663>.
- [38] D.S. Araújo, L.C. Arantes, L. V. Faria, K.A.O. Souza, D.M. Pimentel, S.L. Barbosa, E.M. Richter, R.A.A. Muñoz, W.T.P. dos Santos, Electrochemistry of 5F-MDMB-PICA synthetic cannabinoid using a boron-doped diamond electrode with short anodic-cathodic pretreatment: A simple screening method for application in forensic analysis, *Electrochim Acta* 454 (2023) 142356. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2023.142356>.
- [39] G.S. Schmitz, E.R. Santana, L.G. Baumgarten, J.P. Winiarski, M.C. Colaço, G.F. Caramori, A. Spinelli, I.C. Vieira, A simple and reliable electrochemical method employing an unmodified boron-doped diamond electrode for the determination of triclocarban, *Electrochim Acta* 486 (2024) 144093. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2024.144093>.
- [40] H.A.H. Barzani, H.S. Ali, Y. Yardım, Electroanalytical sensing of antidiabetic drug linagliptin by using square-wave voltammetry on the boron-doped diamond electrode, *Monatsh Chem* 155 (2024) 927–935. <https://doi.org/10.1007/s00706-024-03229-w>.

- [41] G. Bettio, L.L. Okumura, R.C. Silva, T.A. Silva, Development of an Electroanalytical Method for Ronidazole Determination in Environmental and Food Matrices Using Boron-Doped Diamond Electrode, *J Braz Chem Soc* 35 (2024) 1–12. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20230162>.
- [42] N. Dossi, S. Petrazzi, R. Toniolo, F. Tubaro, F. Terzi, E. Piccin, R. Svegli, 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>.
- [43] N.C. de Moraes, J.M. Petroni, F. de Lima, V.S. Ferreira, B.G. Lucca, Paper-based electrochemical platform modified with graphene nanoribbons: A new and affordable approach for analysis of 5-hydroxy-L-tryptophan, *Microchemical Journal* 183 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.108030>.
- [44] N.C. de Moraes, R.J.B. Daakour, E.R. Pedão, V.S. Ferreira, R.A.B. da Silva, J.M. Petroni, B.G. Lucca, Electrochemical sensor based on 3D-printed substrate by masked stereolithography (MSLA): a new, cheap, robust and sustainable approach for simple production of analytical platforms, *Microchimica Acta* 190 (2023). <https://doi.org/10.1007/s00604-023-05912-x>.
- [45] N.S. Prado, L.A.J. Silva, R.M. Takeuchi, E.M. Richter, E.H.L. Falcão, A.L. dos Santos, Disposable electrochemical sensor for tryptamine detection using a graphite sheet electrode modified with poly(toluidine blue), *Electrochim Acta* 466 (2023) 143029. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2023.143029>.
- [46] M. Lo, M. Seydou, A. Bensghaïer, R. Pires, D. Gningue-Sall, J.-J. Aaron, Z. Mekhalif, J. Delhalle, M.M. Chehimi, Polypyrrole-wrapped carbon nanotube composite films coated on diazonium-modified flexible ITO sheets for the electroanalysis of heavy metal ions, *Sensors (Switzerland)* 20 (2020) 580. <https://doi.org/10.3390/s20030580>.
- [47] M.M. Charithra, J.G. Manjunatha, Electroanalytical Determination of Acetaminophen Using a Polymerised Carbon Nanotube Based Sensor, *J Electron Mater* 50 (2021) 6929–6940. <https://doi.org/10.1007/s11664-021-09242-7>.
- [48] L.R.G. Silva, J.G.A. Rodrigues, J.P. Franco, L.P. Santos, E. D’Elia, W. Romão, R. de Q. Ferreira, Development of a portable electroanalytical method using nickel modified screen-printed carbon electrode for ethinylestradiol determination in organic fertilizers, *Ecotoxicol Environ Saf* 208 (2021) 111430. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111430>.

- [49] M.A. Tapia, C. Pérez-Ràfols, F.M. Oliveira, R. Gusmão, N. Serrano, Z. Sofer, J.M. Díaz-Cruz, Antimonene-Modified Screen-Printed Carbon Nanofibers Electrode for Enhanced Electroanalytical Response of Metal Ions, *Chemosensors* 11 (2023) 219. <https://doi.org/10.3390/chemosensors11040219>.
- [50] T.C. Lozer, A.C.M. Prezilius, G.F.S. dos Santos, I. de F. Schaffel, T.R. Rosa, R. de Q. Ferreira, Development of a portable electroanalytical methodology for determination of sulfite in wine using screen-printed carbon electrodes modified with carbon nanotubes, *Journal of Food Composition and Analysis* 116 (2023) 105052. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.105052>.
- [51] K.G. Nikolaev, E. V. Kalmykov, D.O. Shavronskaya, A.A. Nikitina, A.A. Stekolshchikova, E.A. Kosareva, A.A. Zenkin, I.S. Pantiukhin, O.Y. Orlova, A. V. Skalny, E. V. Skorb, ElectroSens Platform with a Polyelectrolyte-Based Carbon Fiber Sensor for Point-of-Care Analysis of Zn in Blood and Urine, *ACS Omega* 5 (2020) 18987–18994. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02279>.
- [52] F. Seven, T. Gölceç, M. ŞEN, Nanoporous carbon-fiber microelectrodes for sensitive detection of H₂O₂ and dopamine, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 864 (2020) 114104. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114104>.
- [53] B.J. Ostertag, M.T. Cryan, J.M. Serrano, G. Liu, A.E. Ross, Porous Carbon Nanofiber-Modified Carbon Fiber Microelectrodes for Dopamine Detection, *ACS Appl Nano Mater* 5 (2022) 2241–2249. <https://doi.org/10.1021/acsanm.1c03933>.
- [54] N.C. de Moraes, R.M. Carvalho, V.S. Ferreira, R.A.B. da Silva, E.I. de Melo, J.M. Petroni, B.G. Lucca, Innovative microfluidic thread electroanalytical device with automated injector: A simple, green and upgraded analytical platform for the fast and sensitive analysis of ferrous ions, *Microchemical Journal* 204 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.111016>.
- [55] N.C. de Moraes, R.M. Carvalho, V.S. Ferreira, R.A.B. da Silva, E.I. de Melo, J.M. Petroni, B.G. Lucca, Improving the performance and versatility of microfluidic thread electroanalytical devices by automated injection with electronic pipettes: a new and powerful 3D-printed analytical platform, *Microchimica Acta* 190 (2023). <https://doi.org/10.1007/s00604-023-06026-0>.
- [56] S.F.L. do Nascimento, L. V. de Faria, T. da S. Cabral, T.P. Lisboa, P.H. de S. Borges, E. Nossol, F.S. Semaan, R.M. Dornellas, W.F. Pacheco, Carbon black/acrylonitrile-butadiene-styrene composite material incorporated with silver nanoparticles: A new

sensitive and cost-effective electrochemical platform for trace lead detection in seawater samples, *Electroanalysis* 36 (2024). <https://doi.org/10.1002/elan.202300183>.

- [57] F.C. Vicentini, T.A. Silva, O. Fatibello-Filho, Carbon black electrodes applied in electroanalysis, *Curr Opin Electrochem* 43 (2024) 101415. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2023.101415>.
- [58] D.C. Harris, *Análise Química Quantitativa*, 8th ed., W. H. Freeman and Company, Rio de Janeiro, 2012.
- [59] A. Abdalla, B.A. Patel, 3D Printed Electrochemical Sensors, *Annual Review of Analytical Chemistry* 14 (2021) 47–63. <https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-091120>.
- [60] D.M. dos Santos, R.M. Cardoso, F.L. Migliorini, M.H.M. Facure, L.A. Mercante, L.H.C. Mattoso, D.S. Correa, Advances in 3D printed sensors for food analysis, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 154 (2022) 116672. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116672>.
- [61] C.W. Hull, APPARATUS FOR PRODUCTION OF THREE-DIMENSIONAL OBJECTS BY STEREOLITHOGRAPHY, 4575330, 1986.
- [62] M.D. Symes, P.J. Kitson, J. Yan, C.J. Richmond, G.J.T. Cooper, R.W. Bowman, T. Vilbrandt, L. Cronin, Integrated 3D-printed reactionware for chemical synthesis and analysis, *Nat Chem* 4 (2012) 349–354. <https://doi.org/10.1038/nchem.1313>.
- [63] 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>.
- [64] 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>.
- [65] A. Sharma, H. Faber, A. Khosla, T.D. Anthopoulos, 3D printed electrochemical devices for bio-chemical sensing: A review, *Materials Science and Engineering R: Reports* 156 (2023) 100754. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2023.100754>.
- [66] J. Muñoz, M. Pumera, Accounts in 3D-Printed Electrochemical Sensors: Towards Monitoring of Environmental Pollutants, *ChemElectroChem* 7 (2020) 3404–3413. <https://doi.org/10.1002/celc.202000601>.
- [67] R.M. Cardoso, D.P. Rocha, R.G. Rocha, J.S. Stefano, R.A.B. Silva, E.M. Richter, R.A.A. Muñoz, 3D-printing pen versus desktop 3D-printers: Fabrication of carbon

- black/polylactic acid electrodes for single-drop detection of 2,4,6-trinitrotoluene, *Anal Chim Acta* 1132 (2020) 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.07.034>.
- [68] A.F. João, S.V.F. Castro, R.M. Cardoso, R.R. Gamela, D.P. Rocha, E.M. Richter, R.A.A. Muñoz, 3D printing pen using conductive filaments to fabricate affordable electrochemical sensors for trace metal monitoring, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 876 (2020) 114701. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114701>.
- [69] L.M. Roveda, V.F. Ottoni, C.T. de Carvalho, R. Rodrigues, M.Z. Corazza, M.A.G. Trindade, Merging 3D-printing technology and disposable materials for electrochemical purposes: A sustainable alternative to ensure greener electroanalysis, *Talanta* 272 (2024) 125814. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.125814>.
- [70] E.J. Carrasco-Correa, E.F. Simó-Alfonso, J.M. Herrero-Martínez, M. Miró, The emerging role of 3D printing in the fabrication of detection systems, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 136 (2021) 116177. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116177>.
- [71] 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) 9135. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27188-5>.
- [72] J. Zhang, B. Yang, F. Fu, F. You, X. Dong, M. Dai, Resistivity and its anisotropy characterization of 3D-printed acrylonitrile butadiene styrene copolymer (ABS)/carbon black (CB) composites, *Applied Sciences (Switzerland)* 7 (2017). <https://doi.org/10.3390/app7010020>.
- [73] C.Y. Foo, H.N. Lim, M.A. Mahdi, M.H. Wahid, N.M. Huang, Three-Dimensional Printed Electrode and Its Novel Applications in Electronic Devices, *Sci Rep* 8 (2018) 7399. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25861-3>.
- [74] C.L.M. Palenzuela, F. Novotný, P. Krupička, Z. Sofer, M. Pumera, 3D-Printed Graphene/Polylactic Acid Electrodes Promise High Sensitivity in Electroanalysis, *Anal Chem* 90 (2018) 5753–5757. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00083>.
- [75] Z. Rymansaib, P. Iravani, E. Emslie, M. Medvidović-Kosanović, M. Sak-Bosnar, R. Verdejo, F. Marken, All-Polystyrene 3D-Printed Electrochemical Device with Embedded Carbon Nanofiber-Graphite-Polystyrene Composite Conductor, *Electroanalysis* 28 (2016) 1517–1523. <https://doi.org/10.1002/elan.201600017>.
- [76] K.C. Honeychurch, Z. Rymansaib, P. Iravani, Anodic stripping voltammetric determination of zinc at a 3-D printed carbon nanofiber–graphite–polystyrene electrode

- using a carbon pseudo-reference electrode, *Sens Actuators B Chem* 267 (2018) 476–482. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.04.054>.
- [77] M. Gebler, A.J.M.S. Uiterkamp, C. Visser, A global sustainability perspective on 3D printing technologies, *Energy Policy* 74 (2014) 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2014.08.033>.
- [78] S.K. Lodhi, A.Y. Gill, I. Hussain, 3D Printing Techniques: Transforming Manufacturing with Precision and Sustainability, *International Journal of Multidisciplinary Sciences and Arts* 3 (2024) 129–138. <https://doi.org/10.47709/ijmdsa>.
- [79] S. Park, J. Lee, J.J. Kim, M. Ji, E. Cho, H.B. Sim, Y.T. Chang, J.H. Chung, M.J. Paik, J. Kim, H. Seonwoo, Osseointegrative and immunomodulative 3D-Printing Ti6Al4V-based implants embedded with biogenic hydroxyapatite, *Mater Des* 240 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2024.112822>.
- [80] S. Mallakpour, Z. Radfar, C.M. Hussain, Advanced application of additive manufacturing in the footwear industry: from customized insoles to fully 3D-printed shoes, in: *Medical Additive Manufacturing*, Elsevier, 2024: pp. 153–178. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95383-2.00015-9>.
- [81] R. Subramani, S. Kaliappan, S. Sekar, P.P. Patil, R. Usha, N. Manasa, E.S. Esakkiraj, Polymer Filament Process Parameter Optimization with Mechanical Test and Morphology Analysis, *Advances in Materials Science and Engineering 2022* (2022). <https://doi.org/10.1155/2022/8259804>.
- [82] M.I. Hasan, M. Tasnim, S.M. Ahmed, T. Morshed, S.A. Deowan, 3D printing technology in the management of carpal tunnel syndrome: A care report, *Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University Journal* 17 (2024). <https://doi.org/10.3329/bsmmuj.v17i1.71690>.
- [83] S.A.V. Dananjaya, V.S. Chevali, J.P. Dear, P. Potluri, C. Abeykoon, 3D printing of biodegradable polymers and their composites – Current state-of-the-art, properties, applications, and machine learning for potential future applications, *Prog Mater Sci* 146 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2024.101336>.
- [84] M.I. Hussain, M. Xia, X. Ren, C. Ge, M. Jamil, M.K. Gupta, Digital light processing 3D printing of ceramic materials: a review on basic concept, challenges, and applications, *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology* 130 (2024) 2241–2267.

- [85] S. Aghaiee, T. Azdast, R. Hasanzadeh, F. Farhangpazhouh, Fabrication of bone tissue engineering scaffolds with a hierarchical structure using combination of 3D printing/gas foaming techniques, *J Appl Polym Sci* 141 (2024).
- [86] Nações Unidas Brasil, *Objetivos de Desenvolvimento Sustentável*, (n.d.).
- [87] United Nations, *Sustainable Development Goals*, (n.d.).
- [88] A.H. Alami, A.G. Olabi, M. Ayoub, H. Aljaghoub, S. Alasad, M.A. Abdelkareem, 3D Concrete Printing: Recent Progress, Applications, Challenges, and Role in Achieving Sustainable Development Goals, *Buildings* 13 (2023) 924. <https://doi.org/10.3390/buildings13040924>.
- [89] A. Hai Alami, A.G. Olabi, A. Alashkar, S. Alasad, H. Aljaghoub, H. Rezk, M.A. Abdelkareem, Additive manufacturing in the aerospace and automotive industries: Recent trends and role in achieving sustainable development goals, *Ain Shams Engineering Journal* 14 (2023) 102516.
- [90] A. Hai Alami, A. Ghani Olabi, S. Khuri, H. Aljaghoub, S. Alasad, M. Ramadan, M. Ali Abdelkareem, 3D printing in the food industry: Recent progress and role in achieving sustainable development goals, *Ain Shams Engineering Journal* 15 (2024) 102386. <https://doi.org/10.1016/j.asej.2023.102386>.
- [91] M. Mader, C. Rein, E. Konrat, S.L. Meermeyer, C. Lee-Thedieck, F. Kotz-Helmer, B.E. Rapp, Fused deposition modeling of microfluidic chips in transparent polystyrene, *Micromachines (Basel)* 12 (2021) 1348. <https://doi.org/10.3390/mi12111348>.
- [92] J. Cheon, S. Kim, Fabrication and Demonstration of a 3D-printing/PDMS Integrated Microfluidic Device, *Recent Prog Mater* 4 (2022). <https://doi.org/10.21926/rpm.2201002>.
- [93] L.A. Milton, M.S. Viglione, L.J.Y. Ong, G.P. Nordin, Y. Toh, Vat photopolymerization 3D printed microfluidic devices for organ-on-a-chip applications, *Lab Chip* 23 (2023) 3537–3560.
- [94] 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, *Analytical Methods* 13 (2021) 1349–1357. <https://doi.org/10.1039/d1ay00070e>.
- [95] V. Katseli, N. Thomaidis, A. Economou, C. Kokkinos, Miniature 3D-printed integrated electrochemical cell for trace voltammetric Hg(II) determination, *Sens Actuators B Chem* 308 (2020) 127715. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127715>.

- [96] E. Fornells, E. Murray, S. Waheed, A. Morrin, D. Diamond, B. Paull, M. Breadmore, Integrated 3D printed heaters for microfluidic applications: Ammonium analysis within environmental water, *Anal Chim Acta* 1098 (2020) 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.11.025>.
- [97] L.C. Duarte, T.A. Baldo, H.A. Silva-Neto, F. Figueredo, B.C. Janegitz, W.K.T. Coltro, 3D printing of compact electrochemical cell for sequential analysis of steroid hormones, *Sens Actuators B Chem* 364 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.131850>.
- [98] 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, *Sens Actuators B Chem* 307 (2020) 127621. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127621>.
- [99] 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>.
- [100] A.F. João, R.G. Rocha, T.A. Matias, E.M. Richter, J. Flávio S. Petruc, R.A.A. Muñoz, 3D-printing in forensic electrochemistry: Atropine determination in beverages using an additively manufactured graphene-polylactic acid electrode, *Microchemical Journal* 167 (2021) 106324. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106324>.
- [101] C. Tan, M.Z.M. Nasir, A. Ambrosi, M. Pumera, 3D Printed Electrodes for Detection of Nitroaromatic Explosives and Nerve Agents, *Anal Chem* 89 (2017) 8995–9001. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b01614>.
- [102] S.V.F. Castro, A.P. Lima, R.G. Rocha, R.M. Cardoso, R.H.O. Montes, M.H.P. Santana, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Simultaneous determination of lead and antimony in gunshot residue using a 3D-printed platform working as sampler and sensor, *Anal Chim Acta* 1130 (2020) 126–136. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.07.033>.
- [103] S. Wang, J. Zhang, O. Gharbi, V. Vivier, M. Gao, M.E. Orazem, Electrochemical impedance spectroscopy, *Nature Reviews Methods Primers* 1 (2021). <https://doi.org/10.1038/s43586-021-00039-w>.
- [104] L.A. De Carvalho, A.R. De Andrade, P.R. Bueno, ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA APLICADA AO ESTUDO DAS REAÇÕES

HETEROGÊNEAS EM ÂNODOS DIMENSIONALMENTE ESTÁVEIS, *Quim. Nova* 29 (2006) 796–804.

- [105] D.J. Stokes, *Principles and Practice of Variable Pressure/Environmental Scanning Electron Microscopy (VP-ESEM)*, John Wiley & Sons, Ltd., West Sussex, Reino Unido, 2008. <https://doi.org/10.1002/9780470758731>.
- [106] W. Zhou, R. Apkarian, Z.L. Wang, D. Joy, *Fundamentals of scanning electron microscopy (SEM)*, in: *Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications*, Springer, New York, 2006: pp. 1–40. https://doi.org/10.1007/978-0-387-39620-0_1.
- [107] NanoScience instruments, *Scanning Electron Microscopy - Nanoscience Instruments*, Nanoscience Instruments (2018). <https://www.nanoscience.com/techniques/scanning-electron-microscopy/> (accessed May 2, 2020).
- [108] S. Swapp, *Scanning Electron Microscopy (SEM)*, Science Education Resource Center at Carleton College (2007). https://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/SEM.html (accessed September 23, 2024).
- [109] S. Kus, Z. Marczenko, N. Obarski, *Derivative UV-VIS Spectrophotometry in Analytical Chemistry*, *Chern. Anal. (Warsaw)* 41 (1996) 899.
- [110] W. Rashmi, A.F. Ismail, I. Sopyan, A.T. Jameel, F. Yusof, M. Khalid, N.M. Mubarak, *Stability and thermal conductivity enhancement of carbon nanotube nanofluid using gum arabic*, *J Exp Nanosci* 6 (2011) 567–579. <https://doi.org/10.1080/17458080.2010.487229>.
- [111] J. Østergaard, Chapter 1 - UV/Vis Spectrophotometry and UV Imaging, in: A. Müllertz, Y. Perrie, T. Rades (Eds.), *Analytical Techniques in the Pharmaceutical Sciences - Advances in Delivery Science and Technology*, Springer, New York, 2016: pp. 3–27. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-4029-5_1.
- [112] M. Abdolkarimi-Mahabadi, A. Bayat, A. Mohammadi, *Use of UV-Vis Spectrophotometry for Characterization of Carbon Nanostructures: a Review*, *Theoretical and Experimental Chemistry* 57 (2021) 191–198. <https://doi.org/10.1007/s11237-021-09687-1>.
- [113] C.L. Putzig, M.A. Leugers, M.L. Mckelvy, G.E. Mitchell, R.A. Nyquist, R.R. Papenfuss, L. Yurga, *Infrared Spectroscopy*, *Anal Chem* 66 (1994) 26–66. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.

- [114] B. Stuart, Infrared Spectroscopy, in: Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons, 2015: pp. 1–18. <https://doi.org/10.1002/0471238961.0914061810151405.a01.pub3>.
- [115] L.M. Ng, R. Simmons, Infrared spectroscopy, Anal Chem 71 (1999) 343–350. <https://doi.org/10.1021/a1999908r>.
- [116] A. Dutta, Chapter 4 - Fourier Transform Infrared Spectroscopy, in: S. Thomas, R. Thomas, A.K. Zachariah, R.K. Mishra (Eds.), Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization, Elsevier, 2017: pp. 73–93. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46140-5.00004-2>.

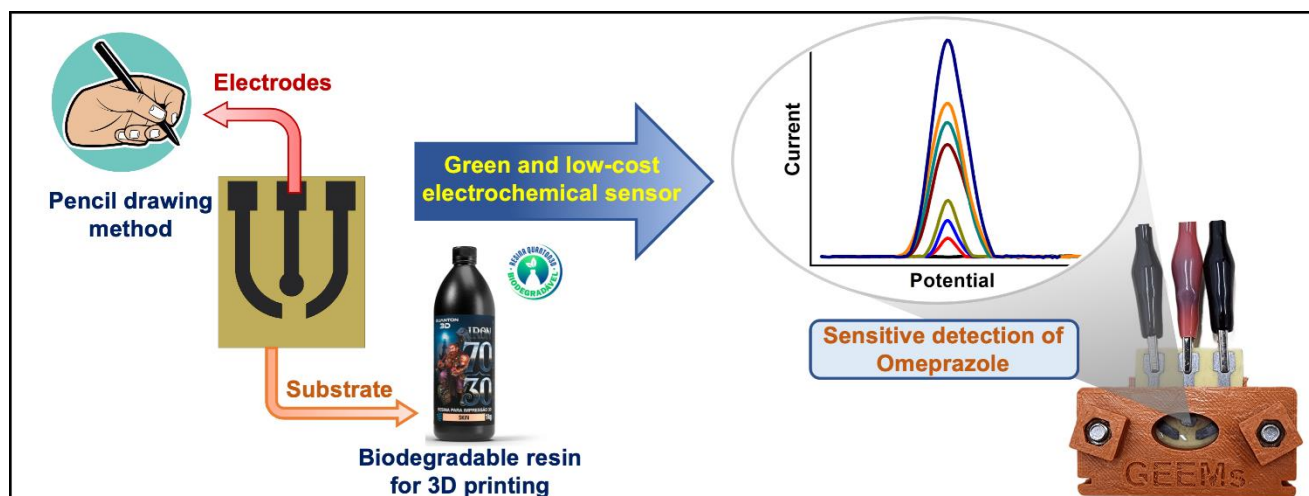
CAPÍTULO 2

Sensor eletroquímico de baixo custo baseado em substrato obtido por impressão 3D por estereolitografia mascarada (MSLA): uma abordagem inovadora e sustentável para a produção de plataformas analíticas

Este capítulo é uma adaptação do artigo “Electrochemical sensor based on 3D-printed substrate by masked stereolithography (MSLA): a new, cheap, robust and sustainable approach for simple production of analytical platforms” de autoria de Natália Canhete de Moraes, Radwan Jamal Barakat Daakour, Evandro Rodrigo Pedão, Valdir Souza Ferreira, Rodrigo Amorim Bezerra da Silva, Jacqueline Marques Petroni e Bruno Gabriel Lucca, publicado na revista Microchimica Acta no ano de 2023.

Disponível online em <https://doi.org/10.1007/s00604-023-05912-x>

RESUMO GRÁFICO



2.1. INTRODUÇÃO

A miniaturização de sistemas analíticos tem ganhado maior visibilidade nos últimos anos. Dispositivos analíticos miniaturizados oferecem diversas vantagens quando comparados a sistemas analíticos convencionais, como menor consumo tanto de amostra quanto de reagentes e menor geração de resíduos, reduzindo, assim, o impacto ambiental das análises. Um outro benefício é a portabilidade, pois permite que as análises sejam realizadas em campo, como em locais mais distantes que carecem de laboratórios adequados [1,2].

A impressão em três dimensões (3D), também conhecida como manufatura aditiva, é o processo no qual objetos são fabricados através da deposição de sucessivas camadas de material até sua completa construção, no qual esse material pode variar desde plásticos até resinas líquidas. A técnica de impressão 3D vem sendo amplamente utilizada para a fabricação de dispositivos miniaturizados para diversas aplicações, pois permite a rápida produção de estruturas complexas em larga escala a um custo acessível [3–5].

As técnicas de impressão 3D mais conhecidas são baseadas em estereolitografia (SLA, do inglês *stereolithography apparatus*) e modelagem de deposição fundida (FDM, do inglês *fused deposition modeling*). Na técnica de FDM, materiais termoplásticos como acrilonitrila butadieno estireno (ABS, do inglês *acrylonitrile butadiene styrene*) e ácido polilático (PLA, do inglês *polylactic acid*) são derretidos e extrudados por meio de um bico aquecido que os deposita em camadas para produzir estruturas tridimensionais [6]. Já a impressão baseada em SLA possui uma melhor qualidade de impressão, apresentando excelente resolução (25-100 μm), com deposições precisas de camadas, resultando em um acabamento fino da estrutura impressa [7,8]. A SLA compreende os processos de três principais categorias: estereolitografia baseada em laser, estereolitografia por processamento de luz digital e estereolitografia mascarada (MSLA, do inglês *masked stereolithography apparatus*). Em todos esses processos, o objeto é estruturado através da polimerização de uma resina líquida fotocurável que é exposta seletivamente a uma fonte de luz. A solidificação controlada das camadas da resina permite que elas sejam sucessivamente depositadas umas sobre as outras com uma boa aderência até que o objeto projetado seja produzido [9].

Entre as várias técnicas que podem ser utilizadas para detecção em dispositivos miniaturizados, a detecção eletroquímica (DE) se destaca, pois é totalmente compatível com a miniaturização (por exemplo, fabricação de microdispositivos e uso de

potenciostatos portáteis), além de fornecer seletividade e sensibilidade satisfatórias com a escolha correta dos parâmetros instrumentais e do material do eletrodo [10,11]. Os materiais mais utilizados como eletrodos para DE são metais nobres, especialmente ouro e platina, e materiais à base de carbono [12]. O carbono apresenta aspectos interessantes, como menor custo (em comparação com metais), ampla faixa de trabalho e baixa corrente de fundo [13]. Os eletrodos de carbono podem ser utilizados em várias formas, como carbono vítreo [14], fibra de carbono [15] e grafite de lápis [16]. O grafite de lápis também pode ser utilizado para desenhar os eletrodos, abrasando-o em um substrato, originando os chamados eletrodos desenhados a lápis (PDEs, do inglês *pencil drawn electrodes*). Nesse processo, várias camadas são depositadas no substrato, formando trilhas de carbono condutoras [13,17].

O substrato mais utilizado para a fabricação de PDEs é o papel [18], mas há relatos de outros substratos, como cloreto de polivinila (PVC) [19,20], poliéster ultraflexível [21] e papelão ondulado [22]. Apesar de serem funcionais, esses substratos apresentam algumas desvantagens: no caso do papel, ele fica úmido e enrugado quando entra em contato com soluções, causando vazamentos e encurtando sua vida útil. Essa particularidade gera a necessidade de selagem do lado oposto ao utilizado como eletrodo para evitar a passagem de soluções. As propriedades e desvantagens mencionadas acima se aplicam igualmente ao papelão ondulado, pois este também é um tipo de papel. Já o PVC, além de não ser biodegradável (nem ecologicamente correto), requer um tratamento prévio em sua superfície lisa para permitir a esfoliação do grafite do lápis, como relatado por Dossi *et al.* [20]. No caso do PDE de poliéster ultraflexível, este foi referido apenas como sendo utilizado como eletrodo de trabalho, concomitante ao uso de células convencionais e eletrodos de referência e contraeletrodo externos. Essa plataforma tradicional gera mais resíduos, não é portátil e, além disso, o eletrodo relatado no trabalho apresentou baixo desempenho eletroquímico.

Nesse contexto, a busca por novas opções de substratos que superem essas desvantagens é um tópico relevante. Os substratos impressos em 3D com a técnica MSLA podem ser uma opção atrativa para fabricar PDEs, pois são hidrofóbicos e não sofrem com problemas de vazamento ou enrugamento, nem requerem selagem ou tratamentos de superfície para criar rugosidade para a esfoliação do grafite. Esses atributos podem proporcionar plataformas analíticas mais estáveis, confiáveis e duráveis. Além disso, o uso de resinas fotossensíveis biodegradáveis para a produção de substratos impressos em

3D com MSLA, combinado com materiais inertes e não tóxicos como o grafite de lápis, permite a fabricação de sensores ecológicos e de baixo custo.

Perante o exposto, este trabalho propõe um dispositivo eletroquímico novo, simples e de baixo custo, que consiste em três eletrodos de grafite (trabalho, contra e pseudorreferência) desenhados em um substrato impresso em 3D utilizando a técnica de MSLA. Uma célula eletroquímica impressa em 3D personalizada também foi desenvolvida para acomodar o dispositivo. A combinação do método de desenho a lápis com um substrato feito de material biodegradável, juntamente com as dimensões reduzidas, proporcionou uma plataforma que atende aos conceitos de Química Analítica Verde e Sustentável. Esse novo sensor baseado em impressão 3D com MSLA e desenho a lápis (MSLA-3D-PDE) foi caracterizado, mostrando excelente desempenho, o que permite sua aplicação em várias áreas. Como prova de conceito, o MSLA-3D-PDE foi aplicado na detecção de omeprazol (OMP) em produtos farmacêuticos. Esse medicamento atua como um composto antiúlcera e é amplamente utilizado no tratamento de várias condições estomacais, como refluxo gastroesofágico, úlceras, esofagite erosiva, síndrome de Zollinger-Ellison e condições patológicas de hipersecreção [23,24]. O controle do teor de OMP em produtos farmacêuticos é de grande importância, pois esse composto pode ser prejudicial para pacientes idosos ou pessoas com problemas renais/hepáticos [25]. Embora a eletroanálise do OMP já tenha sido relatada em várias abordagens [26–28], nenhuma delas relata o uso de PDEs.

2.2. OBJETIVOS

2.2.1. Objetivo geral

Produzir um sensor eletroquímico baseado em impressão 3D através da técnica de estereolitografia mascarada com eletrodos desenhados a lápis, realizar sua caracterização eletroquímica, morfológica e aplicação analítica.

2.2.2. Objetivos específicos

- Projetar, em *software* apropriado, o substrato para o desenho do eletrodo e a célula eletroquímica personalizada para acomodá-lo;
- Imprimir as partes por meio de impressão 3D;
- Desenhar os eletrodos no substrato através da fricção de um lápis e fazer a montagem do sistema eletroquímico;
- Caracterizar o sistema proposto através de técnicas eletroquímicas, morfológicas e espectroscópicas;
- Otimizar parâmetros e condições analíticas para a aplicação da metodologia proposta;
- Realizar a aplicação analítica do sensor desenvolvido para a determinação de omeprazol em fármacos.

2.3. METODOLOGIA

2.3.1. Reagentes e soluções

Todos os produtos químicos e materiais utilizados são de grau analítico: hexacianoferrato (III) de potássio (pureza $\geq 99,0\%$), hexacianoferrato (II) de potássio tri-hidratado (pureza $\geq 98,5\%$), glicose (pureza $\geq 99,5\%$) e etanol (pureza $\geq 95,0\%$) foram adquiridos da Neon (Suzano, SP, Brasil); hidróxido de sódio (pureza $\geq 98,0\%$), paracetamol (pureza $\geq 99,0\%$), ácido ascórbico (pureza $\geq 99,0\%$) e cloreto de potássio (pureza $\geq 99,0\%$) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA); ácido fosfórico (pureza $\geq 85,0\%$) foi distribuído pela Acros Organics (Geel, Bélgica); ácido bórico (pureza $\geq 99,8\%$), carbonato de sódio (pureza $\geq 99,9\%$), ácido úrico (pureza $\geq 99,0\%$), ácido cítrico (pureza $\geq 99,5\%$) e cloreto de amônio (pureza $\geq 99,5\%$) foram fornecidos pela Merck (White-house Station, NJ, EUA); ácido acético (pureza $\geq 99,7\%$) e ureia (pureza $\geq 99,0\%$) foram adquiridos da Dinâmica (Indaiatuba, SP, Brasil); fosfato monobásico de potássio anidro (pureza $\geq 99,0\%$), sulfato de sódio (pureza $\geq 99,0\%$) e cloreto de sódio (pureza $\geq 99,0\%$) foram obtidos da Synth (Diadema, SP, Brasil); cloreto de cálcio di-hidratado (pureza $\geq 99,0\%$) foi adquirido da Vetec (Rio de Janeiro, RJ, Brasil); omeprazol (OMP, pureza $\geq 99,0\%$) foi fornecido pela Fagron Brasil (São Paulo, SP, Brasil); filamento de ácido polilático (PLA) (diâmetro de 1,75 mm) foi adquirido da 3D Fila (Belo Horizonte, MG, Brasil); resina fotossensível biodegradável para impressão 3D (linha Iron 70/30, cor *skin*, 405 nm) foi fornecida pela Quanton 3D (Belo Horizonte, MG, Brasil); lápis de desenho (grau 6B, Hindustan Pencils Pvt. Ltd., Mumbai, Índia), parafusos com suas respectivas porcas e papel adesivo A4 foram obtidos em lojas locais. As soluções padrão de OMP foram preparadas em etanol. Todas as outras soluções utilizadas nos experimentos foram preparadas com água deionizada (resistividade $\geq 18,2$ M Ω .cm) fornecida por um sistema de purificador de água por osmose reversa Permution RO0310 (Permution, Curitiba, PR, Brasil). Todas as soluções padrão foram preparadas semanalmente, incluindo tampões e analitos. As soluções de trabalho foram preparadas diariamente por diluição das soluções padrão.

2.3.2. Instrumentação

A voltametria cíclica (VC), a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE), a voltametria de pulso diferencial (VPD) e a voltametria de onda quadrada (VOQ) foram realizadas utilizando um potenciostato/galvanostato Autolab modelo PGSTAT 128N

(Ecochemie, Utrecht, Holanda) conectado a um computador executando o *software* Metrohm Autolab Nova 2.1. Os experimentos de EIE foram realizados em um potencial de circuito aberto (OCP, do inglês *open circuit potential*) de -0,008 V (em média), com uma perturbação de potencial de 10 mV na faixa de frequência de 100 mHz a 100 kHz. As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram registradas utilizando um instrumento JSM-6380LV (Jeol, Tóquio, Japão). As medidas de espectroscopia infravermelha por transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier-transform infrared spectroscopy*) foram realizadas em um espectrômetro Tensor 27 (Bruker, Billerica, MA, EUA). Para as medidas espectrofotométricas, foi utilizado um espectrofotômetro T80 Plus UV-Vis (PG Instruments Ltd., Leicestershire, Reino Unido). A célula eletroquímica e o substrato do sensor foram impressos utilizando uma impressora 3D FDM Ender 3 (Creality, Shenzhen, Guangdong, China) equipada com um bico extrusor de metal de diâmetro de 0,4 mm e uma impressora 3D MSLA Mars 3 4K (Elegoo, Shenzhen, Guangdong, China), respectivamente. As máscaras adesivas usadas como modelo para a fabricação dos eletrodos foram cortadas no formato desejado em uma plotter de recorte Silhouette Cameo 3 (Silhouette Brasil, Belo Horizonte, MG, Brasil).

2.3.3. Desenvolvimento, fabricação e montagem da célula e do sensor eletroquímico

Todo o processo de fabricação para obter o MSLA-3D-PDE e a célula eletroquímica personalizada está ilustrado na Figura 1. Primeiro, os arquivos 3D da célula eletroquímica e do substrato MSLA-3D-PDE (largura de 30 mm × altura de 35 mm × espessura de 1 mm) foram projetados no *software* gratuito de CAD/CAM 3D Fusion 360 (Autodesk, San Rafael, CA, EUA). Em seguida, os arquivos *.stl* foram gerados e processados com o *software* gratuito Ultimaker Cura 5.0 (Geldermalsen, Holanda) para obter os arquivos *.gcode* (extensão lida pela impressora 3D contendo todos os comandos de impressão). Conforme mostrado na Figura 1A, a tampa (I) e a base (II) da célula, assim como os revestimentos de porca (III), foram impressos em PLA por FDM, enquanto o substrato MSLA-3D-PDE (IV) foi impresso na resina fotossensível biodegradável através de MSLA. Após a impressão de todas as peças, parafusos e porcas foram instalados nos encaixes da base da célula e nos revestimentos de porca, respectivamente. Um anel de vedação (*O-ring*, $\varnothing = 20$ mm) foi instalado em um furo na parte inferior da tampa para evitar vazamentos (Figura 1B). Para fabricar o MSLA-3D-PDE, inicialmente foi selecionado o lado do substrato no qual estariam dispostos os eletrodos. Esse, por sua vez,

é o lado que esteve em contato com a base de construção da impressora 3D durante a impressão devido a sua maior rugosidade. Em seguida, o substrato foi limpo com etanol e posteriormente adesivado com um molde onde estariam posicionados os eletrodos (Figura 1C). Foi utilizada a configuração de três eletrodos: eletrodos de trabalho (ET, $\varnothing = 4 \text{ mm}$), contraeletrodo (CE) e eletrodo de pseudorreferência (EPR), os quais foram desenhados em carbono usando um lápis 6B (Figura 1D). Nesta etapa, um multímetro foi utilizado para monitorar as resistências elétricas nas extremidades dos eletrodos, a fim de se obter uma boa reprodutibilidade entre os dispositivos fabricados, mantendo um padrão de resistências entre 400-600 ohms. Após essa etapa, o adesivo foi removido (Figura 1E) e o MSLA-3D-PDE foi disposto na célula eletroquímica personalizada para a realização de experimentos futuros (Figura 1F). As conexões elétricas foram feitas diretamente nos contatos dos eletrodos por meio de garras estilo jacaré. O volume máximo do reservatório da célula é de aproximadamente 1,7 mL. No entanto, como os eletrodos estão na parte inferior, volumes muito menores podem ser usados (cerca de 300 μL).

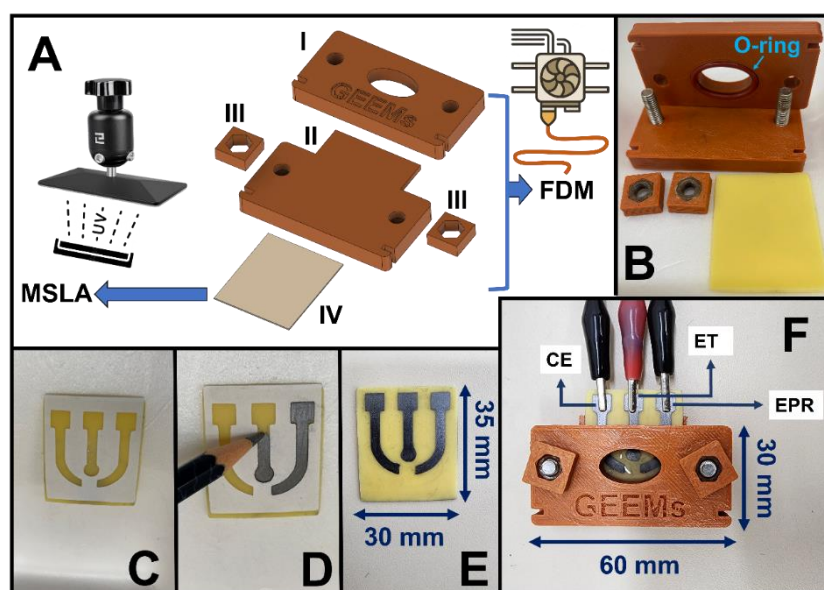


Figura 1. Imagens de Desenho Assistido por Computador (CAD, do inglês *Computer Aided Design*) dos componentes impressos em 3D: (I) tampa, (II) base, (III) revestimentos de porca e (IV) substrato MSLA-3D-PDE (A). Imagem das peças impressas em 3D com parafusos, porcas e O-ring anexados (B). Etapas para a produção do MSLA-3D-PDE: aplicação do adesivo (C), desenho do eletrodo (D) e MSLA-3D-PDE pronto para uso após a remoção do adesivo (E). MSLA-3D-PDE montado no suporte eletroquímico

personalizado com as conexões elétricas e solução no reservatório, conforme utilizado durante os experimentos (F).

2.3.4. Determinação de omeprazol em amostras farmacêuticas

O MSLA-3D-PDE foi empregado na eletroanálise de OMP utilizando duas marcas de produtos farmacêuticos comerciais. Para isso, o conteúdo de três cápsulas de cada marca foi pesado separadamente e a média foi calculada. Em seguida, as três cápsulas foram homogeneizadas e as massas correspondentes à média de uma cápsula de cada marca foram transferidas para balões volumétricos de 50,00 mL e solubilizadas em etanol. As duas soluções obtidas foram homogeneizadas, filtradas através de filtro de seringa com membrana de 0,22 μm e devidamente diluídas no tampão utilizado nas medidas eletroquímicas.

2.3.5. Espectrofotometria UV-Vis

Os resultados obtidos durante as eletroanálises das amostras farmacêuticas foram comparados com a espectrofotometria UV-Vis utilizando uma adaptação do método proposto por Rivai *et al.* [29]. Resumidamente, uma solução estoque de OMP em uma concentração de 1.000,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foi preparada em NaOH 0,10 mol L⁻¹. Em seguida, essa solução foi diluída dez vezes e, a partir dela, quantidades apropriadas da solução padrão de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foram adicionadas a balões volumétricos de 10,00 mL e solubilizadas em NaOH 0,10 mol L⁻¹. O mesmo procedimento foi aplicado para as amostras farmacêuticas: as massas correspondentes ao conteúdo de uma única cápsula de cada marca foram transferidas quantitativamente para frascos volumétricos de 20,00 e 50,00 mL e solubilizadas em NaOH. Subsequentemente, as soluções resultantes foram filtradas através de filtro de seringa com membrana de 0,22 μm , diluídas em balões de 10,00 mL a fim de se obter concentrações de 100,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ que, então, foram diluídas para concentrações adequadas e transferidas para cubetas de quartzo de 3 mL para as medidas UV-Vis, que foram realizadas no comprimento de onda de 304,8 nm.

2.3.6. Matriz de urina sintética

Os ensaios de recuperação utilizaram urina sintética que foi preparada com base no trabalho de Laube *et al.* [30]. Os seguintes compostos foram misturados em um balão volumétrico de 50,00 mL: 0,1460 g de NaCl, 0,0800 g de KCl, 0,0540 g de CaCl₂·2H₂O,

0,1120 g de Na_2SO_4 , 0,0700 g de KH_2PO_4 , 0,0500 g de NH_4Cl e 1,250 g de ureia. Após a adição de todos os reagentes, eles foram solubilizados em água deionizada. Esta urina sintética foi então fortificada com diferentes concentrações de OMP e diluída na proporção de 1:5 com tampão BR 0,15 mol L^{-1} em pH 7,0 para as análises eletroquímicas.

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1. Comportamento eletroquímico do sensor MSLA-3D-PDE

Com o intuito de analisar o desempenho eletroquímico do novo sensor proposto, foram realizados experimentos de EIE e VC em meio aquoso contendo 1 mmol L^{-1} de cada um dos compostos do par redox de referência $\text{Fe(CN)}_6^{3-}/\text{Fe(CN)}_6^{4-}$ em $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. Para fins de comparação, os mesmos experimentos também foram realizados com um eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês *glassy carbon electrode*, $\varnothing = 2,5 \text{ mm}$) comercial. Para um confronto preciso das respostas eletroquímicas dos dois eletrodos de trabalho (ET integrado e o GCE), o CE e o EPR integrados do MSLA-3D-PDE foram utilizados para as medidas de ambos e as correntes de pico foram normalizadas pela área geométrica ($A_{\text{ET integrado}} = 13,8 \text{ mm}^2$ e $A_{\text{GCE}} = 4,9 \text{ mm}^2$) e expressas como densidade de corrente (j).

Como mostrado na Figura 2A, o perfil eletroquímico obtido usando o MSLA-3D-PDE foi consistente com o esperado para o par redox utilizado [31,32]. Um pico anódico em $E_{pa} = + 0,068 \text{ V}$ e um pico catódico em $E_{pc} = - 0,090 \text{ V}$ foram observados, proporcionando uma separação de pico (ΔE_p) de 158 mV . As correntes de pico anódico e catódico forneceram uma razão (i_{pa}/i_{pc}) de $1,01$ (para $n = 3$ medidas), indicando um desempenho eletroquímico satisfatório para o MSLA-3D-PDE, com reversibilidade aceitável em relação ao par redox utilizado. Esses resultados estão de acordo com outros estudos do par redox de referência utilizando eletrodos desenhados [17,33]. Comparativamente, o GCE comercial exibiu um perfil voltamétrico semelhante: um pico anódico em $E_{pa} = + 0,087 \text{ V}$ e um pico catódico em $E_{pc} = - 0,082 \text{ V}$, com uma separação de pico de 169 mV , enquanto a razão i_{pa}/i_{pc} obtida foi de $1,02$ (para $n = 3$ medidas). Esse valor alto de separação de pico no GCE pode ser justificado pelo arranjo da célula, pois formam utilizados o CE e o EPR integrados do MSLA-3D-PDE.

Experimentos de EIE foram realizados para investigar a resistência à transferência de carga (R_{tc}) dos eletrodos [34]. Os valores de R_{tc} obtidos a partir dos gráficos de Nyquist (Figura 2B) para o MSLA-3D-PDE e o GCE foram de $0,24$ e $1,79 \text{ k}\Omega$ (ou $3,31$ e $8,77 \text{ k}\Omega \text{ mm}^{-2}$ normalizado pela área de cada um), respectivamente, o que está de acordo com os valores de ΔE_p observados nas medidas de VC. Os dados de EIE foram ajustados através do circuito equivalente $[R(Q[RQ])]$.

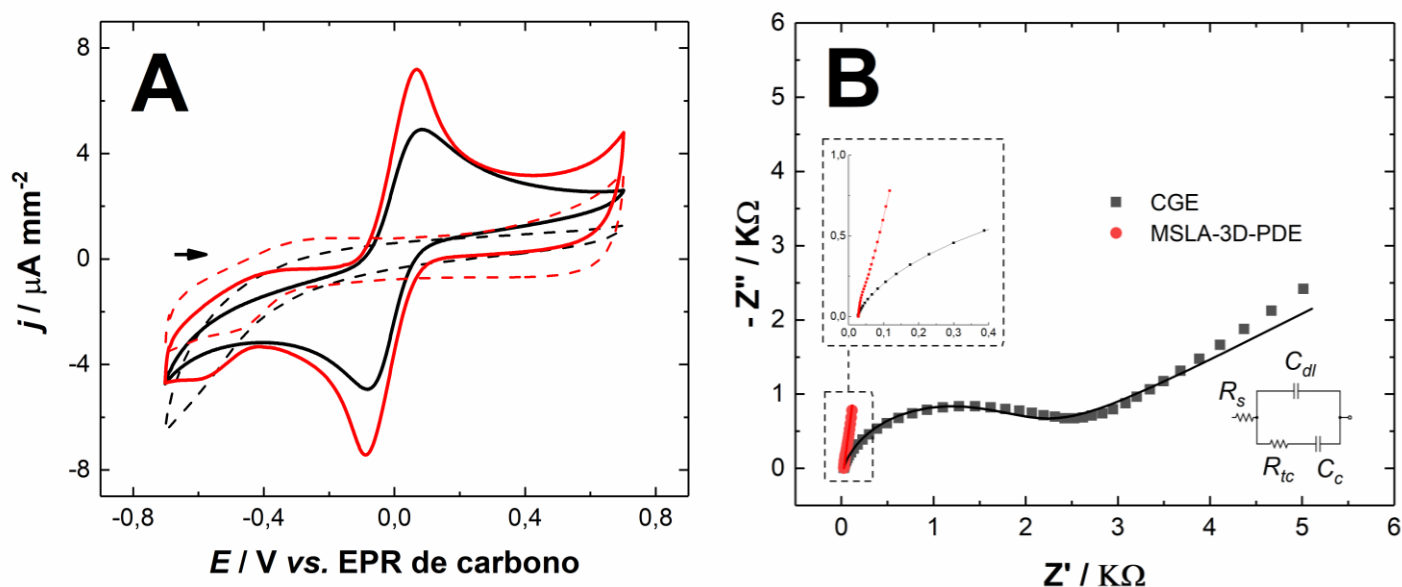


Figura 2. A) Voltammogramas cíclicos na presença (linhas sólidas) e na ausência (linhas tracejadas) de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (1 mmol L^{-1} cada) registrados com os eletrodos de trabalho MSLA-3D-PDE (linhas vermelhas) e GCE (linhas pretas). B) Curvas de EIE (gráficos de Nyquist) obtidas. O CE e o EPR integrados do MSLA-3D-PDE foram utilizados em todas as medidas. Eletrólito de suporte: $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$; velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} .

Como detalhado na Tabela 2, o MSLA-3D-PDE forneceu correntes de pico mais altas, maior condutividade (valor de R_{tc} mais baixo) e melhor reversibilidade (ΔE_p mais baixo) em comparação com o GCE. Por outro lado, o PDE mostrou uma corrente capacitiva maior do que o GCE (Figura 2A). Esse comportamento pode ser atribuído à natureza do PDE, que é composto por materiais mais rugosos do que o carbono vítreo. Esses resultados mostram que o MSLA-3D-PDE, embora seja mais simples e tenha um custo significativamente menor, apresenta desempenho comparável a um eletrodo amplamente utilizado na literatura.

Tabela 2. Comparação entre MSLA-3D-PDE e GCE a partir de dados obtidos por EIE e VC.

Eletrodo	$j_{\text{anódica}} (\mu\text{A mm}^{-2})^a$	$j_{\text{catódica}} (\mu\text{A mm}^{-2})^a$	$\Delta E_p (\text{V})^a$	$R_{\text{tc}} / A (\text{k}\Omega \text{ mm}^{-2})^b$	Área geométrica (mm^2)
MSLA-3D-PDE	6,32	- 6,23	0,158	3,31	13,8
GCE	4,40	- 4,31	0,169	8,77	4,9

^aDados obtidos através de voltamogramas cíclicos ($n = 3$) do par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (1 mmol L^{-1} cada) em solução aquosa de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ a uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} ;

^bNormalizado pela área geométrica de cada eletrodo de trabalho.

A influência da velocidade de varredura (v) na resposta eletroquímica do MSLA-3D-PDE foi estudada na faixa de 50 a 275 mV s^{-1} na presença de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. Como apresentado na Figura 3, as correntes de pico anódico e catódico mostraram uma dependência linear com a raiz quadrada das velocidades de varredura (os valores de R foram $0,999$ para ambos), indicando que a transferência eletrônica que ocorre na interface eletrodo-solução é controlada por difusão, como esperado para tal par redox [35].

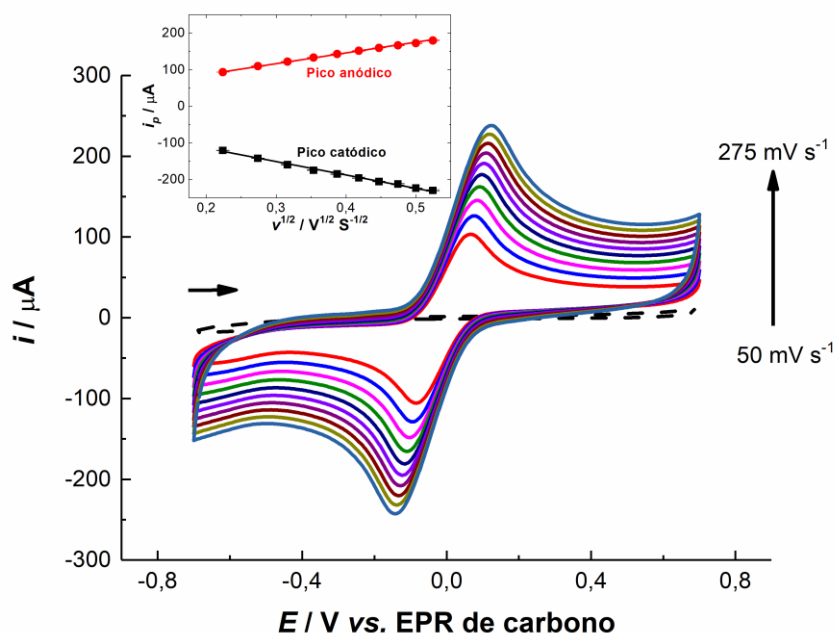


Figura 3. Voltamogramas cíclicos registrados em várias velocidades de varredura (50 a 275 mV s^{-1}) utilizando o MSLA-3D-PDE na presença de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (1 mmol L^{-1} cada). O gráfico inserido mostra a dependência entre as correntes de pico anódico e catódico com a raiz quadrada da velocidade de varredura (resultados para $n = 3$ medidas). Eletrólito de suporte: KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

A área eletroativa do MSLA-3D-PDE foi calculada usando a equação de Randles-Sevcik: $i_p = \pm 2,69 \times 10^5 n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2}$, no qual i_p é o pico anódico (i_{pa}) ou catódico (i_{pc}), n é o número de elétrons envolvidos na reação, A é a área eletroativa do eletrodo de trabalho, C é a concentração do analito de interesse, D é o coeficiente de difusão do analito ($6,39 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ para o par redox utilizado) e v é a velocidade de varredura [36,37]. Como resultado, o valor encontrado da área A foi de $43,2 \text{ mm}^2$. Considerando que a área geométrica é de $13,8 \text{ mm}^2$, foi possível calcular o fator de rugosidade do eletrodo (ρ , a razão entre a área eletroativa e a área geométrica), obtendo-se um valor de 3,13 [37,38]. Esse valor sugere uma superfície defeituosa, áspera e rugosa para o MSLA-3D-PDE, com ondulações e fendas, características típicas de eletrodos à base de carbono [39,40].

A constante heterogênea de taxa de transferência de elétrons (k^o), que permite estimar a velocidade da transferência de elétrons entre o eletrodo e o analito, foi calculada usando a seguinte equação: $k^o = RT/F^2 R_{tc} AC$, no qual R é a constante universal dos gases, T é a temperatura, F é a constante de Faraday, R_{tc} é a resistência à transferência de carga, A é a área eletroativa e C é a concentração do analito, nesse caso, do par redox utilizado [37]. O cálculo resultou em um valor de k^o de $3,46 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ para o MSLA-3D-PDE, que é maior do que alguns valores mencionados para abordagens envolvendo eletrodos de carbono, tanto eletrodos desenhados a lápis ($k^o = 3,28 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$ [21]) como eletrodos fabricados a partir de grafeno induzido a laser (LIG, do inglês *laser induced graphene*, $k^o = 2,17 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$) [41] e sensores impressos em 3D decorados com nanomateriais ($k^o = 2,0 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$) [42]. Este resultado valida o bom desempenho do MSLA-3D-PDE.

2.4.2. Análise de superfície, composição química e ângulo de contato (molhabilidade)

A morfologia do MSLA-3D-PDE foi avaliada por MEV. A superfície do substrato que acomoda o eletrodo desenhado, mostrada nas Figuras 4A e 4B, apresentou rugosidade e defeitos de superfície, que podem ser atribuídos às microirregularidades na placa de construção da impressora 3D. Essa rugosidade foi importante para auxiliar na deposição das camadas de grafite durante a fabricação dos eletrodos. Por outro lado, a microscopia do MSLA-3D-PDE (Figuras 4C e 4D) foi significativamente diferente do substrato e semelhante àquela observada em outros eletrodos à base de carbono [43–45]. Pode ser observado que a superfície do eletrodo não é uniforme, mostrando placas de grafite com

bordas afiadas depositadas sobre ela. Essa superfície irregular pode fornecer sítios ativos, o que explica a diferença observada entre a área eletroativa e a área geométrica, exibida na forma de fator de rugosidade (ρ).

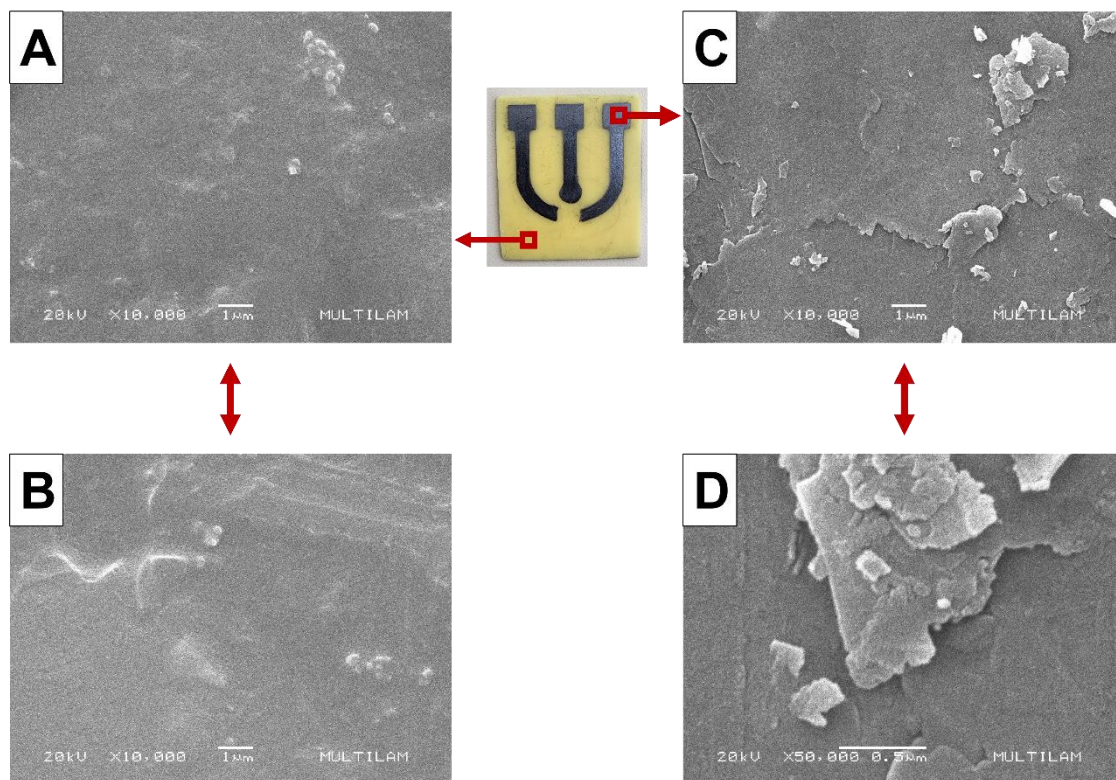


Figura 4. Imagens, obtidas por MEV, do substrato impresso em 3D por MSLA em diferentes pontos na ampliação de 10.000 vezes (A) e (B) e do MSLA-3D-PDE na ampliação de 10.000 vezes (C) e 50.000 vezes (D).

Os espectros de FTIR do substrato impresso em MSLA-3D e do MSLA-3D-PDE foram obtidos e utilizados para analisar suas composições químicas. Como mostrado na Figura 5, os dois espectros apresentaram perfis contrastantes. O substrato impresso em MSLA-3D exibiu bandas de vibração de estiramento para CH_3 e CH_2 (2854 e 2924 cm^{-1}), $\text{C}=\text{O}$ (1722 cm^{-1}), $\text{C}=\text{C}$ (1633 cm^{-1}) e $\text{C}-\text{O}$ (1238 e 1108 cm^{-1}), assim como uma banda de vibração de flexão para $\text{C}-\text{OH}$ (1444 cm^{-1}). Esse perfil sugere a presença de grupos epóxi e acrilato na resina biodegradável [46]. Diferentemente, o espectro do MSLA-3D-PDE apresentou apenas bandas de estiramento para $\text{C}=\text{C}$ (1634 cm^{-1}) e para $\text{C}-\text{O}$ (1107 cm^{-1}), que podem ser atribuídas às camadas de grafite depositadas, enquanto todas as outras bandas do substrato foram suprimidas. O perfil espectral obtido para o MSLA-3D-

PDE foi semelhante aos espectros FTIR observados para materiais à base de grafite em outros trabalhos [47,48].

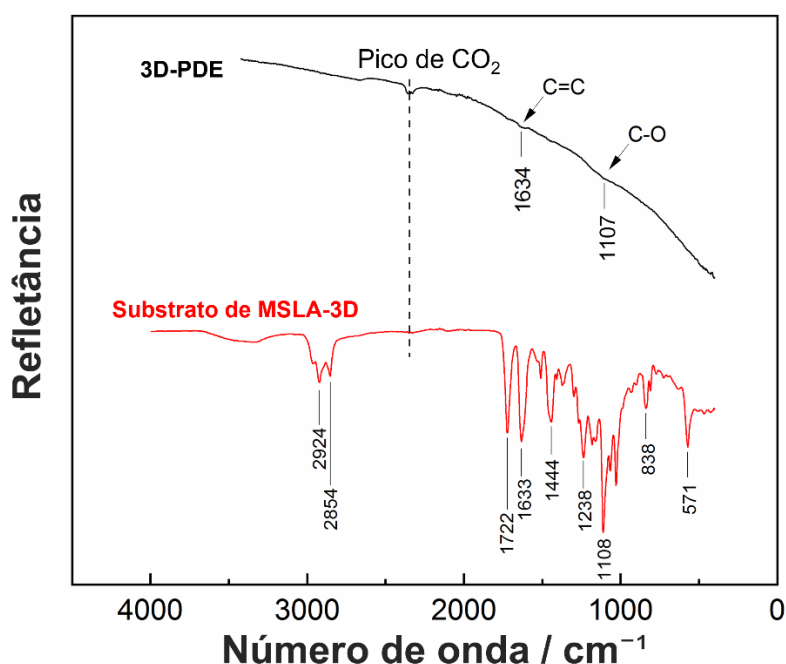


Figura 5. Espectros FTIR do substrato impresso em 3D por MSLA e do MSLA-3D-PDE.

As medidas do ângulo de contato foram utilizadas para avaliar a molhabilidade do substrato impresso em 3D por MSLA e do MSLA-3D-PDE. De acordo com a Figura 6, o substrato e os eletrodos apresentaram ângulos de contato, θ , de $80,5 \pm 1,3^\circ$ e $89,7 \pm 1,7^\circ$, respectivamente (para $n = 3$). Considerando que a classificação dos ângulos de contato se dá por super-hidrofílico ($\theta < 10^\circ$), hidrofílico ($\theta < 90^\circ$), hidrofóbico ($90^\circ < \theta < 150^\circ$) e super-hidrofóbico ($\theta > 150^\circ$), os valores obtidos, ainda que considerados dentro da classificação de superfícies hidrofílicas [49], estão no limite dessa faixa, já apresentando uma hidrofobicidade significativa, principalmente se tratando dos eletrodos. Essa característica indica uma interação fraca entre a água e a superfície do dispositivo, o que pode aumentar a estabilidade e durabilidade do sensor para uso durante períodos mais longos, diminuindo o custo por análise.

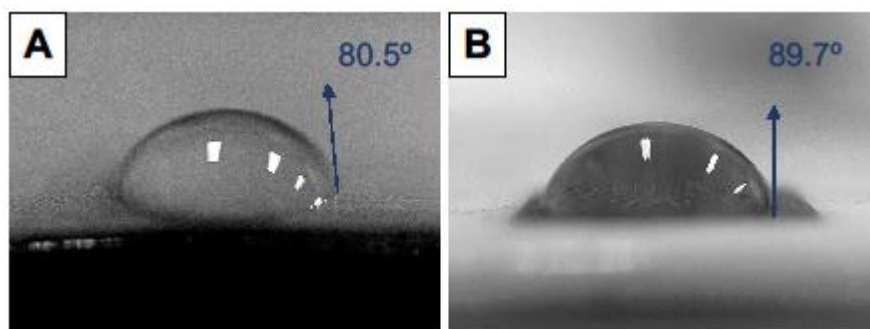


Figura 6. Medidas do ângulo de contato para o substrato impresso em 3D por MSLA (A) e para o eletrodo desenhado a lápis MSLA-3D-PDE (B).

2.4.3. Estabilidade do dispositivo

A vida útil e a reprodutibilidade dos dispositivos foram avaliadas. A repetibilidade intrassensor (Figura 7A) foi estudada medindo 200 ciclos consecutivos de VC usando os mesmos parâmetros, soluções e MSLA-3D-PDE. Valores de desvio padrão relativo (DPR) de 1,70% e 5,29% foram obtidos para as correntes de pico e potenciais de pico, respectivamente. Esses resultados mostram que a resposta analítica permanece estável mesmo após muitas medidas. Essa estabilidade é superior àquela observada em eletrodos de lápis desenhados em papel e pode ser atribuída à fraca interação entre a água e o substrato impresso em MSLA-3D, que, ao contrário do papel, não sofre infiltrações ou enrugamentos [17].

A reprodutibilidade intersensor foi investigada realizando medidas de VC em diferentes dispositivos ($n = 4$) sob as mesmas condições (Figura 7B). Nesse estudo, os DPRs em relação às correntes de pico e potenciais de pico resultaram nos valores de 8,67% e 13,53%, respectivamente. A variação observada para os potenciais de pico pode ser atribuída ao uso de um eletrodo de pseudoreferência. Para que não houvesse discrepâncias significativas entre as correntes e os potenciais de pico dos diferentes dispositivos, ao fabricar os eletrodos, foi feito uma espécie de triagem, no qual a resistência de cada um deles foi medida. Esse procedimento foi realizado para que se obtivesse uma estimativa de valor e mantivesse uma faixa padrão de resistência aceitável para cada eletrodo, que ficou em torno de 400 a 600 Ω . Assim, a resistência elétrica dos sensores foi medida através de um multímetro, posicionando suas ponteiros em cada uma das extremidades de cada eletrodo. Como mostrado na Tabela 3, os DPRs obtidos não foram maiores que 5,5%. Este conjunto de dados indica uma reprodutibilidade aceitável

no processo de fabricação, considerando a simplicidade e o baixo custo envolvidos. O custo de fabricação de cada MSLA-3D-PDE foi estimado em R\$ 0,60, o que é bastante acessível considerando o excelente desempenho e robustez do sensor.

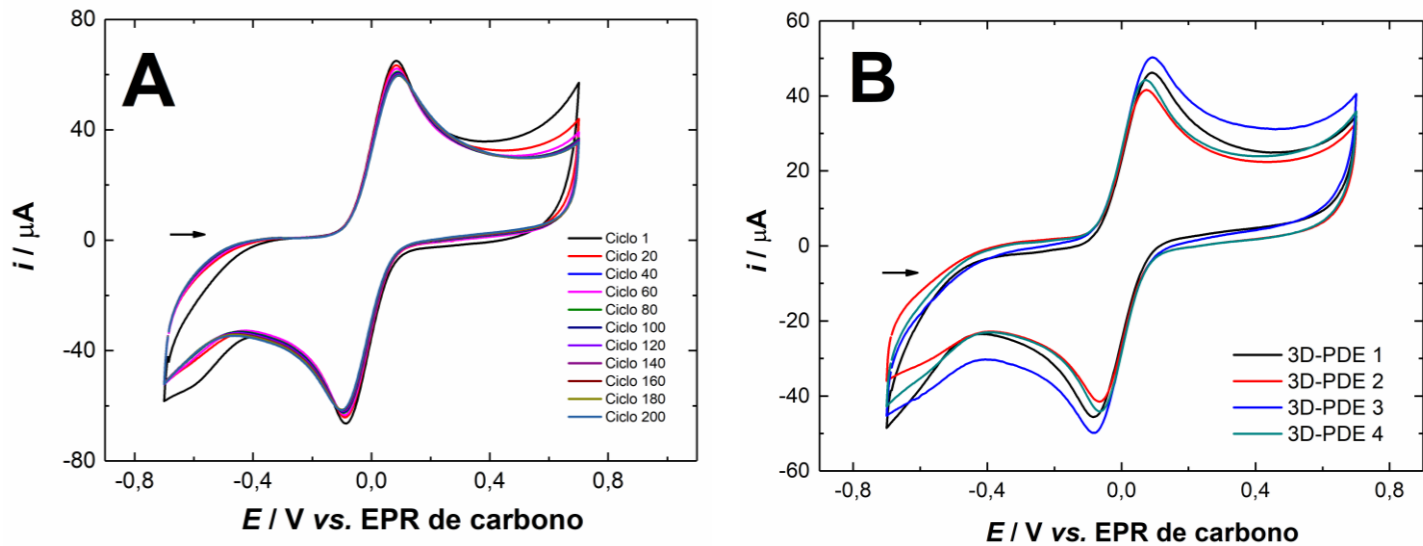


Figura 7. Voltamogramas cíclicos obtidos na presença de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (1 mmol L^{-1} cada) registrados com apenas um dispositivo MSLA-3D-PDE (A) e com diferentes MSLA-3D-PDEs ($n = 4$) (B). Eletrólito de suporte: KCl 0,5 mol L^{-1} ; velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} .

Tabela 3. Resistências elétricas medidas durante a fabricação do MSLA-3D-PDE.

Sensor	Pseudorreferência (Ω)	Trabalho (Ω)	Contra (Ω)
1	584	400	586
2	588	408	542
3	564	401	529
4	527	410	517
Média $\pm$ DP ^a	566 $\pm$ 28	405 $\pm$ 5	544 $\pm$ 30
DPR ^b	4,9 %	1,2 %	5,5 %

^a Desvio padrão da medida de resistência de cada eletrodo dos quatro sensores;

^b Desvio padrão relativo entre a resistência de cada eletrodo dos quatro sensores.

2.4.4. Estudos analíticos do OMP

A viabilidade analítica do MSLA-3D-PDE foi demonstrada por meio da detecção de OMP. Primeiramente, foi investigado o voltamograma cíclico de OMP usando o

MSLA-3D-PDE, que mostrou apenas um pico de oxidação em $E_{pa} = + 0,65$ V, como exibido na Figura 8. Esse perfil voltamétrico, que sugere uma oxidação irreversível, está de acordo com trabalhos anteriores [27,50]. Conforme apresentado na Figura 9, a oxidação de OMP é atribuída ao grupo benzimidazol da molécula [27,50]. Para os estudos analíticos, a voltametria de onda quadrada (VOQ) foi selecionada, pois essa técnica proporcionou maior sinal analítico (cerca de 1,5 vezes maior) em comparação com a voltametria de pulso diferencial (VPD) sob as mesmas condições (Figura 10).

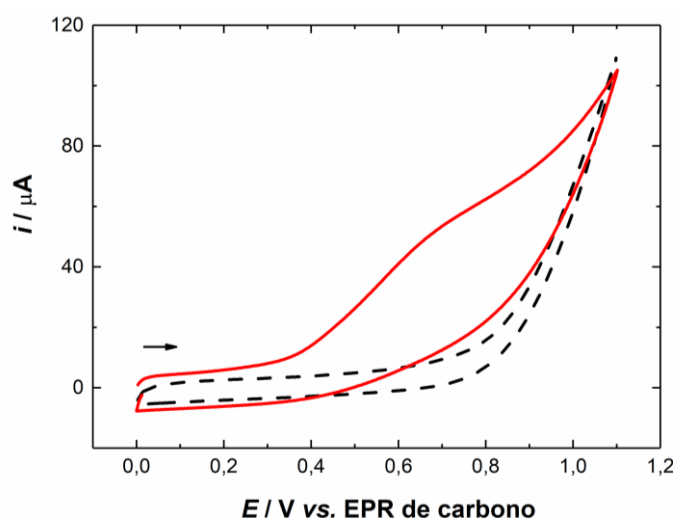


Figura 8. Voltamogramas cíclicos na presença (linha sólida) e na ausência (linha tracejada) de 1 mmol L^{-1} de OMP registrados com o MSLA-3D-PDE. Eletrólito de suporte: tampão BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5); velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} .

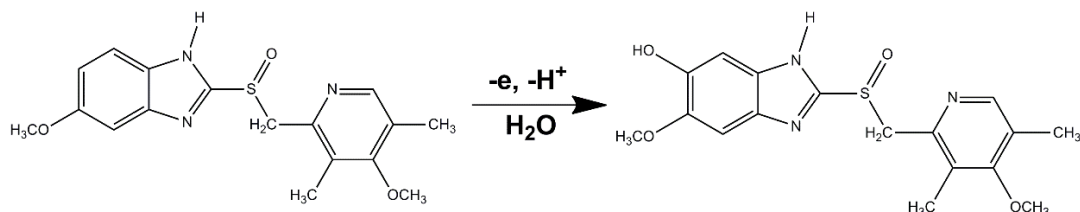


Figura 9. Possível mecanismo de eletrooxidação para OMP.

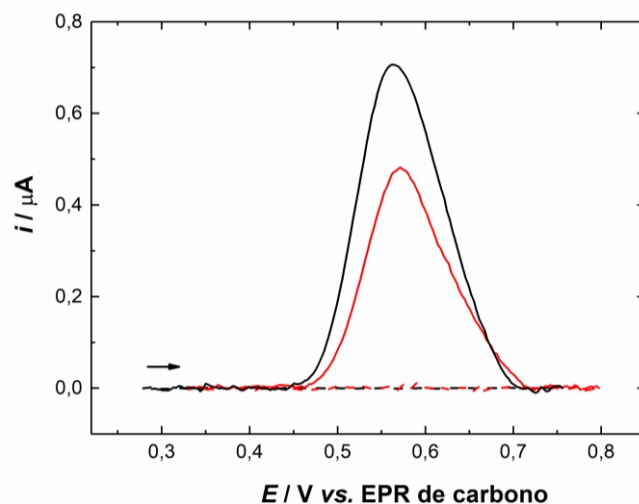


Figura 10. Comparação entre VOQ (linhas pretas) e VPD (linhas vermelhas) na ausência (linhas tracejadas) e na presença (linhas sólidas) de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de OMP. Condições: incremento de potencial foi de 5 mV , amplitude do pulso foi de 20 mV e a velocidade de varredura foi ajustada para 100 mV s^{-1} . Frequência de 20 Hz para VOQ e intervalo de tempo de $0,05 \text{ s}$ para VPD. Eletrólito de suporte: BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5).

Em seguida, as otimizações do pH e da concentração do tampão foram realizadas. O pH do tampão foi estudado na faixa de 6,0 a 10,0, uma vez que o analito sofre degradação em valores de pH inferiores a 6,0, o que é verificado através de uma mudança de cor na solução [28,51]. Como pode ser visto nas Figuras 11A e 11B, o sinal voltamétrico do OMP é dependente do pH, sugerindo a participação de prótons no processo redox. A maior corrente de pico (i_p) foi alcançada em pH = 7,0, que foi escolhida como a ótima para os experimentos posteriores. A concentração do tampão foi estudada na faixa de $0,05$ a $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ e a maior i_p foi observada ao usar $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 11C), sendo essa concentração definida como ótima. Por fim, os parâmetros instrumentais da técnica de VOQ foram investigados a fim de se obter máxima sensibilidade e resolução de pico para a detecção analítica de OMP. A frequência e amplitude dos pulsos e o incremento de potencial foram estudados nas faixas descritas na Tabela 4. Os valores que proporcionaram a melhor relação entre resolução e intensidade do sinal foram 5 Hz para frequência, 9 mV para incremento de potencial e 40 mV para amplitude dos pulsos.

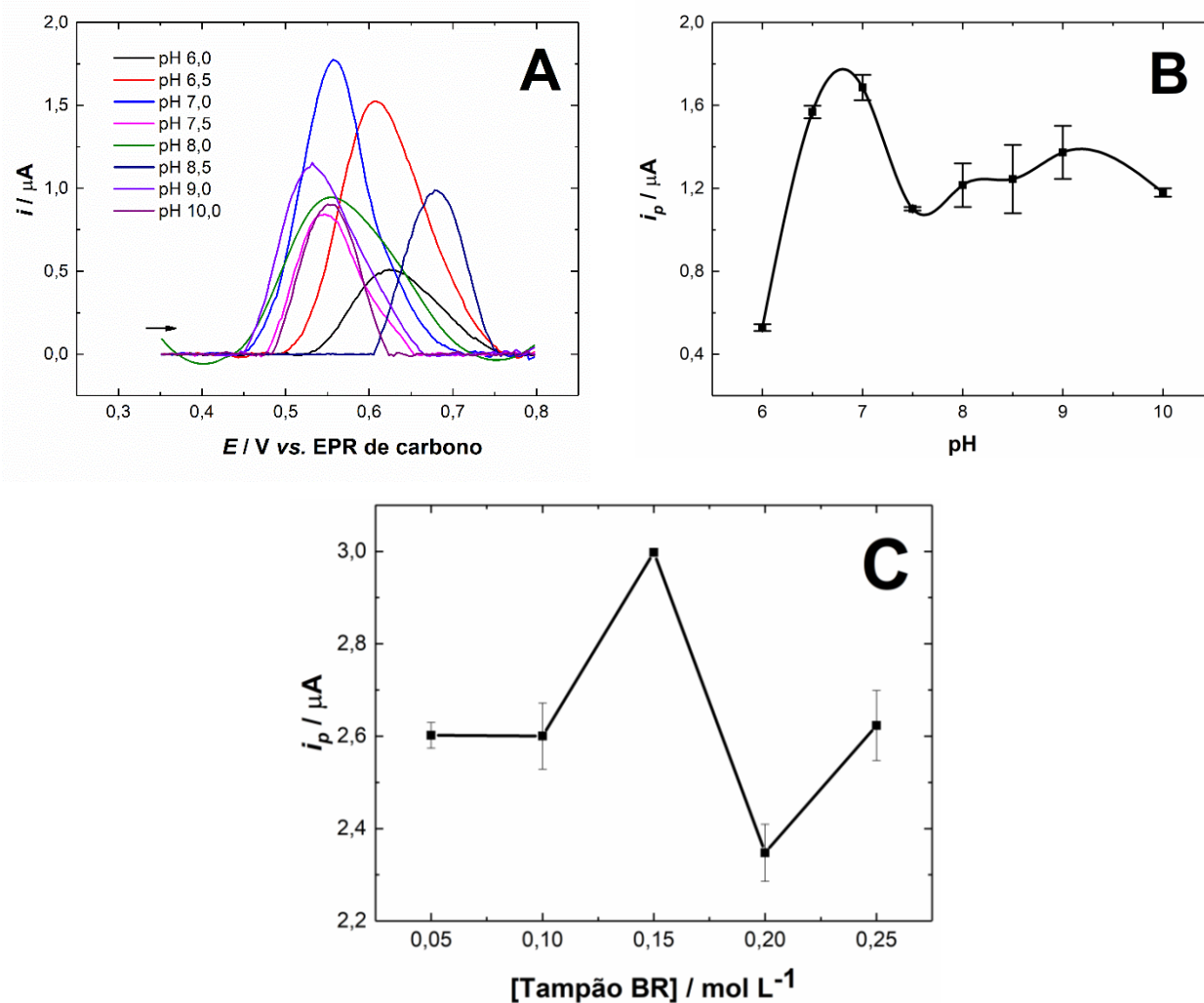


Figura 11. (A) voltamogramas de onda quadrada de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de OMP em diferentes valores de pH (6,0 a 10,0); (B) dependência das correntes de pico obtidas em função do pH (resultados para $n = 3$ medidas) e (C) dependência das correntes de pico com a variação da concentração do tampão. Incremento de potencial: 3 mV; amplitude do pulso: 10 mV; velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} ; eletrólito de suporte: tampão BR 0,10 mol L^{-1} na faixa estudada em (A) e (B) e em pH 7,0 em (C).

Tabela 4. Parâmetros estudados e otimizados para a determinação de OMP usando o dispositivo MSLA-3D-PDE e tampão BR como eletrólito.

Parâmetro	Faixa avaliada	Valor ótimo
pH	6,0 a 10,0	7,0
Concentração do tampão	0,05 a 0,25 mol L ⁻¹	0,15 mol L ⁻¹
Frequência	5 a 60 Hz	5 Hz
Incremento de potencial	1 a 10 mV	9 mV
Amplitude de pulso	10 a 100 mV	40 mV

A dependência das correntes de pico de oxidação do OMP em relação à concentração foi investigada por meio da construção de uma curva de calibração sob as condições otimizadas (Tabela 4). Como pode ser observado na Figura 12, o OMP apresentou uma boa dependência linear em uma faixa de concentração de 10 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,999. A sensibilidade eletroquímica foi calculada como sendo $6,01 \times 10^{-3} \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1} \text{ mm}^2$ (usando a área geométrica do MSLA-3D-PDE). A equação linear obtida foi $i_p (\mu\text{A}) = (0,505 \pm 0,020) + (0,083 \pm 0,001) \times [\text{OMP}]$ (μM). Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados utilizando as equações $3 \times \text{DP}_a/b$ e $10 \times \text{DP}_a/b$, respectivamente, onde DP_a é o desvio padrão da interseção (coeficiente linear) e b é a inclinação (coeficiente angular) da curva analítica [52]. Os valores obtidos foram $0,72 \mu\text{mol L}^{-1}$ para o LD e $2,41 \mu\text{mol L}^{-1}$ para o LQ.

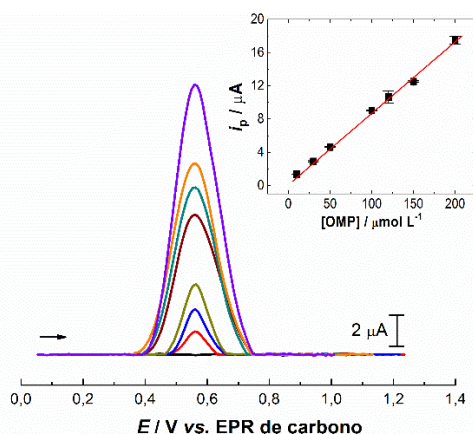


Figura 12. Voltamogramas de onda quadrada registrados com o MSLA-3D-PDE em diferentes concentrações de OMP (10,0 a 200,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e a respectiva curva de calibração obtida (inserida, resultados para $n = 3$ medidas). Condições experimentais: vide Tabela 4.

A Tabela 5 compara os parâmetros de desempenho analítico obtidos para o método desenvolvido com outros estudos relatados na literatura que visam a análise eletroquímica de OMP. Como pode ser visto, embora os parâmetros obtidos aqui não sejam os melhores, eles ainda são satisfatórios considerando a simplicidade e o baixo custo do dispositivo, permitindo a detecção de OMP em várias situações, como para controle de qualidade de produtos farmacêuticos ou análise em matrizes biológicas. Outro ponto importante a destacar é o fato de que, ao contrário de alguns desses estudos, nenhuma modificação de eletrodo foi empregada aqui. Além disso, a abordagem desenvolvida aqui também oferece outras características interessantes em comparação com os métodos mencionados, como a miniaturização de todo o aparato eletroquímico (sensor e célula), a integração dos três eletrodos em um único dispositivo e o baixo consumo de amostras/reagentes (na ordem de μL).

Tabela 5. Comparação entre este trabalho e alguns outros relacionados à análise eletroquímica de OMP.

Eletrodo	Técnica	LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Faixa linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Miniaturização do aparato	Integração dos eletrodos	Volume da célula	Ano	Referência
EPG ^a	AdSV	0,003	0,01-4,0	Não	Não	mL	2015	[51]
MWCNT-SPE ^b	DA	0,009	1-50	Não	Sim	mL	2017	[28]
BDDE ^c	VPD	0,91	2,3-14	Não	Não	mL	2017	[24]
PGE ^d	VPD	7,52	30-200	Não	Não	mL	2018	[53]
CPE/FeGluCNT-SDS ^e	VPD	0,0033	0,01-100	Não	Não	mL	2019	[23]
CPE/DES-PEBT ^f	DPASV	0,006	0,010-0,276	Não	Não	mL	2020	[25]
CPE/MOF-Mel ^g	VPD	0,01	0,05-60	Não	Não	mL	2020	[54]
MSLA-3D-PDE ^h	VOQ	0,72	10-200	Sim	Sim	μL	-	Este trabalho

^a Grafite pirolítico de plano de borda;

^b Eletrodo impresso (*screen-printed*) com nanotubos de carbono de paredes múltiplas;

^c Eletrodo de diamante dopado com boro;

^d Eletrodo de grafite de lápis;

^e Pasta de carbono modificada com nanotubos de carbono, glutamina e nanomagnetita em dodecil sulfato de sódio;

^f Pasta de carbono modificada com solvente eutético profundo e poli(preto de eriocromo T) eletropolimerizado;

^g Pasta de carbono modificada com estrutura metal-orgânica e melamina eletropolimerizada;

^h Sensor eletroquímico desenhado a lápis, fabricado em substrato impresso em 3D por estereolitografia mascarada.

AdSV: voltametria de redissolução adsortiva (do inglês *adsorptive stripping voltammetry*); DA: detecção amperométrica; VPD: voltametria de pulso diferencial; DPASV: voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (do inglês *differential-pulse anodic stripping voltammetry*); VOQ: voltametria de onda quadrada.

2.4.5. Estudos de recuperação e seletividade

Para investigar a eficiência do MSLA-3D-PDE na determinação de OMP, foram realizados estudos de recuperação em uma matriz de urina sintética, preparada conforme descrito na Seção 2.3.6. A urina sintética foi fortificada com diferentes quantidades de OMP e os valores encontrados foram determinados utilizando o método de adição padrão. Os valores de recuperação estão detalhados na Tabela 6 e uma das curvas de adição padrão obtidas é mostrada na Figura 13. As recuperações variaram de 98,5 a 105,0%, indicando que o sensor desenvolvido é uma opção confiável para a determinação de OMP, com potencial para aplicação em amostras biológicas. Também é importante mencionar que as inclinações das curvas obtidas durante os testes de recuperação (cerca de $0,08 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$) foram bastante semelhantes àquela obtida para a curva de calibração (Figura 12), indicando a ausência de efeitos significativos da matriz.

Tabela 6. Recuperações de OMP em amostras de urina sintética fortificadas utilizando o método eletroquímico proposto.

Amostra de urina	Adicionado / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Encontrado / $\mu\text{mol L}^{-1}$ $\pm \text{DP}^a$	Recuperação / %	DPR / %
1	10,0	$10,2 \pm 0,4$	102,0	3,9
2	20,0	$21,0 \pm 0,3$	105,0	1,4
3	32,8	$32,3 \pm 1,0$	98,5	3,1
4	44,2	$44,6 \pm 1,1$	100,9	2,5

^a Média de $n = 3$ determinações.

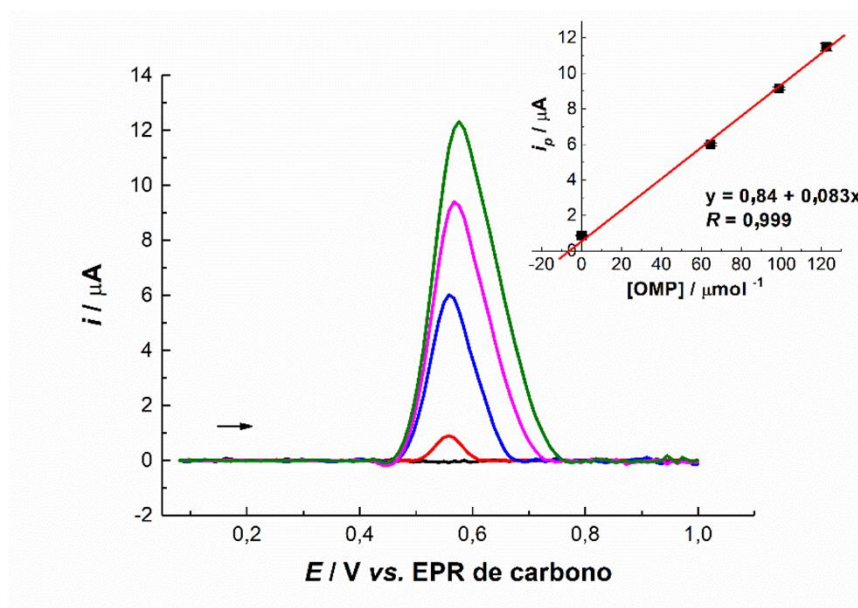


Figura 13. Voltamogramas de onda quadrada e respectiva curva de adição de padrão (resultados para $n = 3$ medidas) obtidos durante uma das recuperações de OMP realizadas em urina sintética. Condições experimentais: vide Tabela 4.

A seletividade do sensor foi investigada por meio da análise de possíveis interferentes que podem estar presentes em matrizes biológicas [23,24]. As medidas de VOQ do OMP foram realizadas na presença de alguns íons inorgânicos (K^+ , Cl^- , Na^+ , CO_3^{2-} e Ca^{2+}) e espécies orgânicas (glicose (GLI), ácido cítrico (AC), ácido ascórbico (AA), ácido úrico (AU) e paracetamol (PAR)). A razão de concentração entre OMP e cada interferente foi fixada em 1:10. Como mostrado na Figura 14, pode-se observar que as espécies iônicas, assim como GLI, AC, AA e AU, não interferiram no sinal voltamétrico do OMP, mesmo em concentrações dez vezes maiores. A interferência mais relevante foi causada pela presença de PAR, que alterou a forma do voltamograma de OMP. No entanto, o potencial de pico de oxidação (E_{pa}) do PAR difere em aproximadamente 0,35 V do E_{pa} do OMP, além da intensidade da i_p do OMP também não ser afetada. Dessa forma, a presença de PAR não impede a análise de OMP. As correntes de pico do OMP na presença dos interferentes avaliados variaram de 95,7 a 104,7% quando comparadas com a resposta isolada de OMP, denotando que a metodologia desenvolvida para o uso do MSLA-3D-PDE possui seletividade adequada.

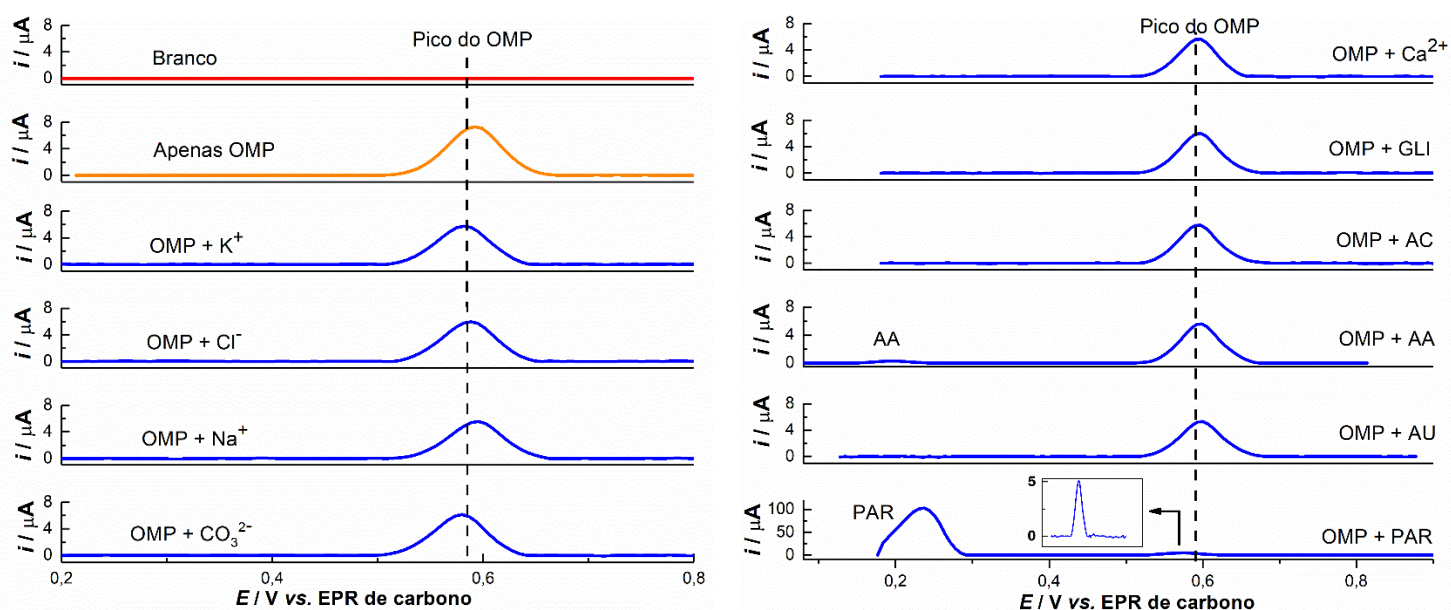


Figura 14. Medidas voltamétricas de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de OMP na ausência e na presença de K^+ , Cl^- , Na^+ , CO_3^{2-} , Ca^{2+} , glicose (GLI), ácido cítrico (AC), ácido ascórbico (AA), ácido úrico (AU) e paracetamol (PAR). A concentração desses compostos foi fixada em $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Proporção com o analito de interesse de 1:10). Condições experimentais: vide Tabela 4.

2.4.6. Detecção do OMP em amostras reais

O OMP presente em dois produtos farmacêuticos comerciais foi determinado utilizando a metodologia desenvolvida, como citado na seção 2.3.4. As análises foram realizadas em triplicata e, considerando que as matrizes das amostras não apresentaram interferências significativas, foi utilizado o método de padronização externa. Para comparar os resultados obtidos, a análise das amostras também foi realizada utilizando espectrofotometria UV-Vis, como descrito na seção 2.3.5. Os resultados estão apresentados na Tabela 7. Os valores encontrados aplicando o método eletroquímico variaram entre 101 e 105% das dosagens declaradas nos rótulos dos produtos. Ademais, esses valores mostraram excelente concordância com os obtidos pela espectrofotometria UV-Vis (com erro relativo $\leq 1,50\%$), demonstrando ótima exatidão. O método MSLA-3D-PDE/VOQ também forneceu precisão satisfatória para as análises das amostras (DPR foi $\leq 7,8\%$). Interferências ou efeitos de matriz não foram detectados.

Tabela 7. Resultados obtidos para as determinações de OMP em produtos farmacêuticos realizadas com MSLA-3D-PDE/VOQ e espectrofotometria UV-Vis.

Amostra	Dosagem rotulada ^a	OMP detectado por	OMP detectado por	Erro relativo ^c
		VOQ $\pm$ DP ^b	UV-Vis $\pm$ DP ^b	
Marca 1	20 mg/pílula	20,3 mg $\pm$ 1,6/pílula	20,0 mg $\pm$ 0,7/pílula	1,5 %
Marca 2	40 mg/pílula	41,8 mg $\pm$ 1,6/pílula	41,9 mg $\pm$ 0,4/pílula	- 0,2 %

^a Conteúdo de OMP informado na bula do medicamento;

^b Média de $n = 3$ determinações;

^c $[((\text{Resultado da VOQ}) - (\text{Resultado da UV-Vis})) / (\text{Resultado da UV-Vis})] \times 100\%$.

Os resultados obtidos durante as análises das amostras (Tabela 7) foram comparados utilizando testes estatísticos (teste t pareado e teste F) dentro de um nível de confiança de 95%. O valor t calculado (0,99) foi menor que o valor crítico (2,57, para $n = 6$). Ao mesmo tempo, o valor F calculado (1,16) também foi menor que o valor crítico (5,05, para $n = 6$). Isso implica que não há diferença estatística considerável entre os resultados obtidos com VOQ e UV-Vis em termos de exatidão e precisão, respectivamente.

2.4.7. Eco-escala

A escala de sustentabilidade da abordagem desenvolvida foi determinada quantitativamente pelo uso da Eco-Escala, que é um procedimento baseado na atribuição de Pontos de Penalidade (PPs) para procedimentos que não estão alinhados com os princípios da análise verde [55]. Esses PPs consideram vários parâmetros no método analítico, como materiais e reagentes utilizados, resíduos gerados, consumo de energia, entre outros. Um método totalmente verde tem uma pontuação de 100 na Eco-Escala. A sustentabilidade de um determinado procedimento analítico é medida subtraindo o número total de PPs do valor ideal (pontuação da Eco-Escala = 100 - PPs). Como pode ser visto na Tabela 8, a pontuação da Eco-Escala calculada para o método MSLA-3D-PDE/VOQ proposto foi de 78. No entanto, esse índice estaria ainda mais próximo do ideal (100) se considerarmos que a maior parte dos PPs se deve aos reagentes utilizados na preparação das soluções tampão (não relacionados à fabricação do MSLA-3D-PDE). Assim, a fabricação do sensor e o método MSLA-3D-PDE/VOQ para determinação de OMP apresentam um excelente índice verde de sustentabilidade de acordo com essa métrica. O desenvolvimento de dispositivos miniaturizados que utilizam

materiais não tóxicos e/ou biodegradáveis, consomem pequenos volumes de amostras/reagentes e geram quantidades mínimas de resíduos são contribuições importantes para o conceito de "Procedimentos Analíticos Sustentáveis". A Eco-Escala evidencia que o MSLA-3D-PDE está alinhado com esse conceito e tem grande potencial para uso se encaixando na Química Analítica Verde [56].

Tabela 8. Pontuação da Eco-Escala baseada em pontos de penalidade para avaliar a sustentabilidade do dispositivo, juntamente com a metodologia proposta aqui.

Reagente/material	Número de pictogramas	Palavra sinalizada	Pontos de penalidade (PPs)
Ácido acético (0,10 mol L ⁻¹)	2	Perigo (<i>Danger</i>)	4
Ácido fosfórico (0,10 mol L ⁻¹)	2	Perigo (<i>Danger</i>)	4
Ácido bórico (0,10 mol L ⁻¹)	1	Perigo (<i>Danger</i>)	2
Hidróxido de sódio (50% w/v)	1	Perigo (<i>Danger</i>)	2
Etanol	2	Perigo (<i>Danger</i>)	4
Omeprazol	1	Atenção (<i>Warning</i>)	1
Grafite para a produção dos sensores	2	Atenção (<i>Warning</i>)	2
Resina para a impressão 3D	1	Atenção (<i>Warning</i>)	1

Instrumentos/técnica	Energia usada	Pontos de penalidade (PPs)
Detecção voltamétrica	< 0,1 kWh por amostra	0
Impressora 3D para a produção do 3D-PDE	< 0,1 kWh por amostra	0
Geladeira para armazenar as soluções	≤ 1,5 kWh por amostra	1

Outras condições	Condição	Pontos de penalidade (PPs)
Resíduo	< 1 mL	1
Perigo ocupacional	Processo de hermetização	0
Pontos de penalidade total		22
Pontuação da Eco-escala analítica (100 – PPs)		78

2.5. CONCLUSÃO

Aqui foi apresentada a fabricação de sensores eletroquímicos desenhados a lápis utilizando um substrato de estereolitografia mascarada impressa em 3D (MSLA). Algumas vantagens desse novo substrato são rigidez e hidrofobicidade, que contribuem para a produção de plataformas analíticas versáteis, robustas e mais estáveis. Além disso, o substrato é impresso usando uma resina biodegradável, sendo uma abordagem sustentável com baixo impacto ambiental. Dessa forma, o substrato impresso em MSLA-3D pode ser uma alternativa interessante e ecológica ao papel para a fabricação de sensores mais duráveis e de baixo custo. O eletrodo desenhado a lápis impresso em 3D (MSLA-3D-PDE) foi totalmente caracterizado, apresentando excelente desempenho eletroquímico, comparável até mesmo ao amplamente utilizado e bem estabelecido eletrodo de carbono vítreo, a um custo extremamente baixo (aproximadamente R\$ 0,60 por dispositivo). A viabilidade analítica do MSLA-3D-PDE foi investigada através da análise quantitativa de omeprazol em produtos farmacêuticos. Os resultados mostraram excelente concordância com as dosagens rotuladas e também com os valores encontrados por espectrofotometria UV-Vis. Assim, baseado no exposto, o MSLA-3D-PDE é um dispositivo portátil e descartável que surge como uma opção analítica interessante com potencial promissor para aplicação nas áreas farmacêutica, forense, clínica e ambiental, incluindo também testes de diagnóstico rápido realizados no ponto de atendimento (POC, do inglês *point-of-care*) e análises de campo.

2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] W.R. de Araujo, T.M.G. Cardoso, R.G. da Rocha, M.H.P. Santana, R.A.A. Muñoz, E.M. Richter, T.R.L.C. Paixão, W.K.T. Coltro, Portable analytical platforms for forensic chemistry: A review, *Anal Chim Acta* 1034 (2018) 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.014>.
- [2] E.F.M. Gabriel, B.G. Lucca, G.R.M. Duarte, W.K.T. Coltro, Recent advances in toner-based microfluidic devices for bioanalytical applications, *Analytical Methods* 10 (2018) 2952–2962. <https://doi.org/10.1039/c8ay01095a>.
- [3] K. Kang, S. Oh, H. Yi, S. Han, Y. Hwang, Fabrication of truly 3D microfluidic channel using 3D-printed soluble mold, *Biomicrofluidics* 12 (2018). <https://doi.org/10.1063/1.5012548>.
- [4] R.M. Cardoso, S.V.F. Castro, M.N.T. Silva, A.P. Lima, M.H.P. Santana, E. Nossol, R.A.B. Silva, E.M. Richter, T.R.L.C. Paixão, R.A.A. Muñoz, 3D-printed flexible device combining sampling and detection of explosives, *Sens Actuators B Chem* 292 (2019) 308–313. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.04.126>.
- [5] D.S. Rocha, L.C. Duarte, H.A. Silva-Neto, C.L.S. Chagas, M.H.P. Santana, N.R. Antoniosi Filho, W.K.T. Coltro, Sandpaper-based electrochemical devices assembled on a reusable 3D-printed holder to detect date rape drug in beverages, *Talanta* 232 (2021) 122408. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122408>.
- [6] 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>.
- [7] A. Abdalla, B.A. Patel, 3D Printed Electrochemical Sensors, *Annual Review of Analytical Chemistry* 14 (2021) 47–63. <https://doi.org/10.1016/B978-012370624-9/50005-0>.
- [8] J. Muñoz, M. Pumera, 3D-printed biosensors for electrochemical and optical applications, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 128 (2020) 115933. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115933>.
- [9] A. Ambrosi, M. Pumera, 3D-printing technologies for electrochemical applications, *Chem Soc Rev* 45 (2016) 2740–2755. <https://doi.org/10.1039/c5cs00714c>.
- [10] B.M.D.C. Costa, S. Griveau, F. d’Orlye, F. Bedioui, J.A.F. da Silva, A. Varenne, Microchip electrophoresis and electrochemical detection: A review on a growing

- synergistic implementation, *Electrochim Acta* 391 (2021) 138928. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2021.138928>.
- [11] B.G. Lucca, S.M. Lunte, W.K. Tomazelli Coltro, V.S. Ferreira, Separation of natural antioxidants using PDMS electrophoresis microchips coupled with amperometric detection and reverse polarity, *Electrophoresis* 35 (2014) 3363–3370. <https://doi.org/10.1002/elps.201400359>.
- [12] C.M.A. Brett, A.M.O. Brett, *Electrochemistry - Principles, Methods and Applications*, Oxford University Press Inc, New York, 1994.
- [13] N. Dossi, S. Petrazzi, R. Toniolo, F. Tubaro, F. Terzi, E. Piccin, R. Svegli, 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>.
- [14] Z. Akça, H.İ. Özok, Y. Yardim, Z. Şentürk, Electroanalytical investigation and voltammetric quantification of antiviral drug favipiravir in the pharmaceutical formulation and urine sample using a glassy carbon electrode in anionic surfactant media, *Turk J Chem* 46 (2022) 869–880. <https://doi.org/10.55730/1300-0527.3375>.
- [15] I.M. Taylor, E.M. Robbins, K.A. Catt, P.A. Cody, C.L. Weaver, X.T. Cui, Enhanced Dopamine Detection Sensitivity by PEDOT/Graphene Oxide Coating on in vivo Carbon Fiber Electrodes, *Biosens Bioelectron* 89 (2017) 400–410.
- [16] R.M. Carvalho, E.R. Pedão, F.M.R. Guerbis, M.P. Tronchini, V.S. Ferreira, J.M. Petroni, B.G. Lucca, Electrochemical study and forensic electroanalysis of fungicide benzovindiflupyr using disposable graphite pencil electrode, *Talanta* 252 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123873>.
- [17] N.C. de Moraes, J.M. Petroni, F. de Lima, V.S. Ferreira, B.G. Lucca, Paper-based electrochemical platform modified with graphene nanoribbons: A new and affordable approach for analysis of 5-hydroxy-L-tryptophan, *Microchemical Journal* 183 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.108030>.
- [18] V.N. Ataide, W.A. Ameku, R.P. Bacil, L. Angnes, W.R. De Araujo, T.R.L.C. Paixão, Enhanced performance of pencil-drawn paper-based electrodes by laser-scribing treatment, *RSC Adv* 11 (2021) 1644–1653. <https://doi.org/10.1039/d0ra08874a>.
- [19] K.C. Honeychurch, The voltammetric behaviour of lead at a hand drawn pencil electrode and its trace determination in water by stripping voltammetry, *Analytical Methods* 7 (2015) 2437–2443. <https://doi.org/10.1039/c4ay02987a>.

- [20] N. Dossi, S. Petrazzi, F. Terzi, R. Toniolo, G. Bontempelli, Electroanalytical cells pencil drawn on PVC supports and their use for the detection in flexible microfluidic devices, *Talanta* 199 (2019) 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.01.126>.
- [21] E. Bernalte, C.W. Foster, D.A.C. Brownson, M. Mosna, G.C. Smith, C.E. Banks, Pencil it in: Exploring the feasibility of hand-drawn pencil electrochemical sensors and their direct comparison to screen-printed electrodes, *Biosensors (Basel)* 6 (2016). <https://doi.org/10.3390/bios6030045>.
- [22] L.O. Orzari, I.A. de A. Andreotti, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino Junior, B.C. Janegitz, Disposable electrode obtained by pencil drawing on corrugated fiberboard substrate, *Sens Actuators B Chem* 264 (2018) 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.02.162>.
- [23] N.F. Atta, A. Galal, E.H. El-Ads, A.E. Galal, New Insight in Fabrication of a Sensitive Nano-Magnetite/Glutamine/Carbon Based Electrochemical Sensor for Determination of Aspirin and Omeprazole, *J Electrochem Soc* 166 (2019) B161–B172. <https://doi.org/10.1149/2.1241902jes>.
- [24] Z. Chomisteková, E. Culková, R. Bellová, D. Melicherčíková, J. Durdiak, J. Timko, M. Rievaj, P. Tomčík, Oxidation and reduction of omeprazole on boron-doped diamond electrode: Mechanistic, kinetic and sensing performance studies, *Sens Actuators B Chem* 241 (2017) 1194–1202. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.10.014>.
- [25] B. Mostafiz, L. Fotouhi, P.S. Dorraji, An electrochemical sensor based on an Eriochrome Black T polymer and deep eutectic solvent for the simultaneous determination of omeprazole and lansoprazole, *Analytical Methods* 12 (2020) 4072–4079. <https://doi.org/10.1039/d0ay01078b>.
- [26] M.K. Bojdi, M. Behbahani, M.H. Mashhadizadeh, A. Bagheri, S.S.H. Davarani, A. Farahani, Mercapto-ordered carbohydrate-derived porous carbon electrode as a novel electrochemical sensor for simple and sensitive ultra-trace detection of omeprazole in biological samples, *Materials Science and Engineering C* 48 (2015) 213–219. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.12.006>.
- [27] S.M.A. Jorge, A.D.R. Pontinha, A.M. Oliveira-Brett, Electrochemical redox behavior of omeprazole using a glassy carbon electrode, *Electroanalysis* 22 (2010) 625–631. <https://doi.org/10.1002/elan.200900377>.
- [28] J.S. Stefano, T.F. Tormin, J.P. da Silva, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Amperometric determination of omeprazole on screen-printed electrodes using batch injection analysis,

- [29] H. Rivai, R. Hasanah, Z. Azizah, Development and Validation of Omeprazole Analysis Methods in Capsules with Absorbance Methods and Areas under Curves Methods with UV-Vis Spectrophotometry, *Int. Journal of Pharmaceutical Sciences and Medicine (IJPSM)* 3 (2018) 21–32. <https://doi.org/10.9734/bpi/tipr/v3/1695c>.
- [30] N. Laube, B. Mohr, A. Hesse, Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines, *J Cryst Growth* 233 (2001) 367–374. [https://doi.org/10.1016/S0022-0248\(01\)01547-0](https://doi.org/10.1016/S0022-0248(01)01547-0).
- [31] P.A. Ferreira, F.M. de Oliveira, E.I. de Melo, A.E. de Carvalho, B.G. Lucca, V.S. Ferreira, R.A.B. da Silva, Multi sensor compatible 3D-printed electrochemical cell for voltammetric drug screening, *Anal Chim Acta* 1169 (2021) 338568. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338568>.
- [32] J.M. Petroni, M.M. Neves, N.C. de Moraes, R.A. Bezerra da Silva, V.S. Ferreira, B.G. Lucca, Development of highly sensitive electrochemical sensor using new graphite/acrylonitrile butadiene styrene conductive composite and 3D printing-based alternative fabrication protocol, *Anal Chim Acta* 1167 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338566>.
- [33] J.M. Petroni, B.G. Lucca, L.C. da Silva Júnior, D.C. Barbosa Alves, V. Souza Ferreira, Paper-based Electrochemical Devices Coupled to External Graphene-Cu Nanoparticles Modified Solid Electrode through Meniscus Configuration and their Use in Biological Analysis, *Electroanalysis* 29 (2017) 2628–2637. <https://doi.org/10.1002/elan.201700398>.
- [34] C.C.L. de França, D. Meneses, A.C.A. Silva, N.O. Dantas, F.C. de Abreu, J.M. Petroni, B.G. Lucca, Development of novel paper-based electrochemical device modified with CdSe/CdS magic-sized quantum dots and application for the sensing of dopamine, *Electrochim Acta* 367 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.137486>.
- [35] L.R. Siara, F. De Lima, C.A.L. Cardoso, G.J. Arruda, Electrochemically pretreated zeolite-modified carbon-paste electrodes for determination of linuron in an agricultural formulation and water, *Electrochim Acta* 151 (2015) 609–618. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.11.008>.
- [36] C.G. Zoski, *Handbook of Electrochemistry*, 1st ed., Elsevier, Amsterdam, 2007.
- [37] L.R. Bard, A. J., Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2^a, Wiley-VCH, New York, 2001.

- [38] 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>.
- [39] Z. Guo, S. Zhou, J. Li, X. Guo, J. Cui, D. Wu, Development of a paper-based microanalysis device doped with multi-walled carbon nanotubes for in vitro evaluation of fluorene cytotoxicity, *Bioelectrochemistry* (2020) 107552. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2020.107552>.
- [40] G. Bolat, Y.T. Yaman, S. Abaci, Highly sensitive electrochemical assay for Bisphenol A detection based on poly (CTAB)/MWCNTs modified pencil graphite electrodes, *Sens Actuators B Chem* 255 (2018) 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.08.001>.
- [41] L.F. de Lima, W.R. de Araujo, Laser-scribed graphene on polyetherimide substrate: an electrochemical sensor platform for forensic determination of xylazine in urine and beverage samples, *Microchimica Acta* 189 (2022) 1–11. <https://doi.org/10.1007/s00604-022-05566-1>.
- [42] W.B. Veloso, V.N. Ataide, D.P. Rocha, H.P. Nogueira, A. de Siervo, L. Angnes, R.A.A. Muñoz, T.R.L.C. Paixão, 3D-printed sensor decorated with nanomaterials by CO₂ laser ablation and electrochemical treatment for non-enzymatic tyrosine detection, *Microchimica Acta* 190 (2023) 1–11. <https://doi.org/10.1007/s00604-023-05648-8>.
- [43] B.G. Lucca, F. de Lima, W.K.T. Coltro, V.S. Ferreira, Electrodeposition of reduced graphene oxide on a Pt electrode and its use as amperometric sensor in microchip electrophoresis, *Electrophoresis* 36 (2015) 1886–1893. <https://doi.org/10.1002/elps.201500092>.
- [44] E. Natiele Tiago da Silva, J. Marques Petroni, B. Gabriel Lucca, V. Souza Ferreira, Pencil graphite leads as simple amperometric sensors for microchip electrophoresis, *Electrophoresis* 38 (2017) 2733–2740. <https://doi.org/10.1002/elps.201700160>.
- [45] 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, *Analytical Methods* 13 (2021) 1349–1357. <https://doi.org/10.1039/d1ay00070e>.
- [46] T.A. de Araujo, N.C. de Moraes, J.M. Petroni, V.S. Ferreira, B.G. Lucca, Simple, fast, and instrumentless fabrication of paper analytical devices by novel contact stamping

- method based on acrylic varnish and 3D printing, *Microchimica Acta* 188 (2021) 1–12. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-05102-7>.
- [47] Y. Qiu, Y. Yu, L. Zhang, Y. Qian, Z. Ouyang, An investigation of reverse flotation separation of sericite from graphite by using a surfactant: MF, *Minerals* 6 (2016). <https://doi.org/10.3390/min6030057>.
- [48] S. Gea, J.N. Sari, R. Bulan, A. Piliang, S.A. Amaturrahim, Y.A. Hutapea, Chitosan/graphene oxide biocomposite film from pencil rod, *J Phys Conf Ser* 970 (2018).
- [49] V.A.O.P. da Silva, V.A.P. Tartare, C. Kalinke, P.R. de Oliveira, D.C. de Souza, J.A. Bonacin, B.C. Janegitz, LAB-MADE 3D-PRINTED CONTACT ANGLE MEASUREMENT ADJUSTABLE HOLDER, *Quim Nova* 43 (2020) 1312–1319. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170624>.
- [50] K. Deng, X. Liu, C. Li, Z. Hou, H. Huang, An electrochemical omeprazole sensor based on shortened multi-walled carbon nanotubes-Fe₃O₄ nanoparticles and poly(2, 6-pyridinedicarboxylic acid), *Sens Actuators B Chem* 253 (2017) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.06.117>.
- [51] S. Shahrokhian, M. Ghalkhani, M. Bayat, F. Ghorbani-Bidkorbeh, Voltammetric behavior and determination of trace amounts of omeprazole using an edge-plane pyrolytic graphite electrode, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 14 (2015) 465–471.
- [52] 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 and Applied Chemistry* 69 (1997) 297–328. <https://doi.org/10.1351/pac199769020297>.
- [53] I.A. Alamin, A.A. Elbashir, Anodic voltammetric determination of Omeprazole in Pharmaceutical formulation via pencil graphite electrode, *Journal of Pharmaceutical Advanced Research* 8 (2018) 373–381. https://www.researchgate.net/publication/329140286_Anodic_voltammetric_determination_of_Omeprazole_in_Pharmaceutical_formulation_via_pencil_graphite_electrode.
- [54] N. Arab, L. Fotouhi, P.S. Dorraji, G. Sargazi, Signal amplification for simultaneous determination of two proton pump inhibitors in biological matrix based on newly synthesized metal organic framework and polymeric film, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 860 (2020) 113923. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.113923>.

- [55] A. Gałuszka, P. Konieczka, Z.M. Migaszewski, J. Namieśnik, Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 37 (2012) 61–72. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.013>.
- [56] K. Van Aken, L. Strekowski, L. Patiny, EcoScale, a semi-quantitative tool to select an organic preparation based on economical and ecological parameters, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 2 (2006) 1–7. <https://doi.org/10.1186/1860-5397-2-3>.

CAPÍTULO 3

Dispositivo eletroanalítico microfluídico baseado em fios com injetor automatizado: uma nova e poderosa plataforma analítica impressa em 3D para análise de íon ferroso de forma simples, rápida, ecológica e aprimorada

Este capítulo é uma adaptação dos artigos 1 e 2 citados abaixo juntamente com a patente abaixo descrita:

1. “Improving the performance and versatility of microfluidic thread electroanalytical devices by automated injection with electronic pipettes: a new and powerful 3D-printed analytical platform” de autoria de Natália Canhete de Moraes, Rayan Marcel Carvalho, Valdir Souza Ferreira, Rodrigo Amorim Bezerra da Silva, Edmar Isaias de Melo, Jacqueline Marques Petroni e Bruno Gabriel Lucca, publicado na revista Microchimica Acta no ano de 2023.

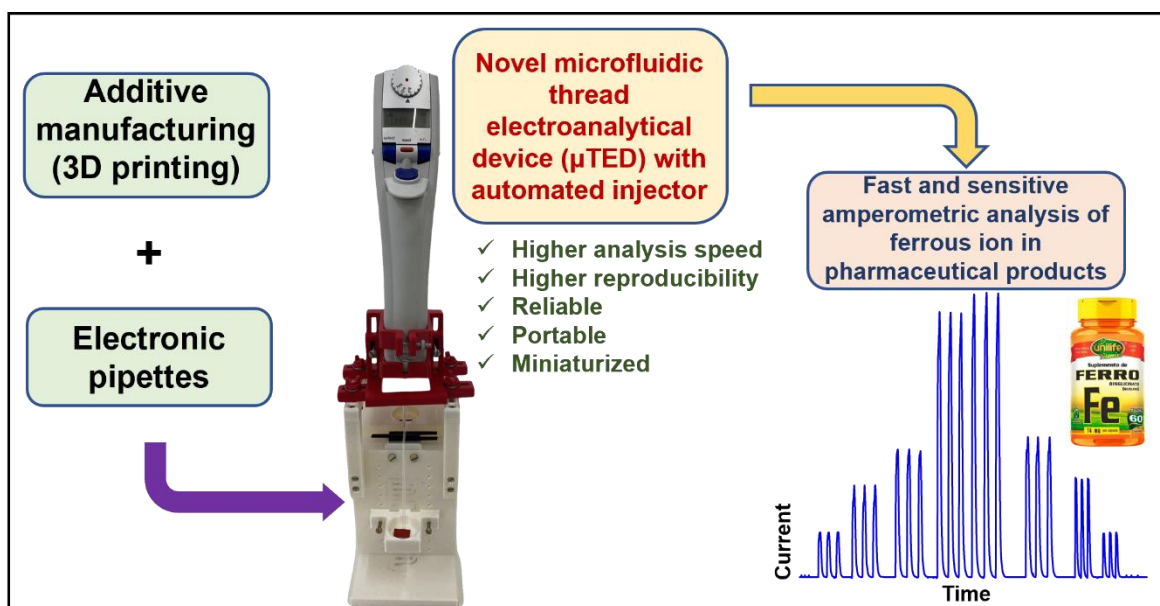
Disponível online em: <https://doi.org/10.1007/s00604-023-06026-0>

2. “Innovative microfluidic thread electroanalytical device with automated injector: A simple, green and upgraded analytical platform for the fast and sensitive analysis of ferrous ions” de autoria de Natália Canhete de Moraes, Rayan Marcel Carvalho, Valdir Souza Ferreira, Rodrigo Amorim Bezerra da Silva, Edmar Isaias de Melo, Jacqueline Marques Petroni e Bruno Gabriel Lucca, publicado na revista Microchemical Journal no ano de 2024.

Disponível online em: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.111016>

Patente: “DISPOSITIVO ANALÍTICO DE MICROFLUXO COM INJEÇÃO AUTOMATIZADA” de autoria de Bruno Gabriel Lucca, Natália Canhete de Moraes e Jacqueline Marques Petroni, sob o nº BR 10 2024 009034 9, no ano de 2024.

RESUMO GRÁFICO DO ARTIGO 2



3.1. INTRODUÇÃO

A microfluídica, uma das áreas mais pesquisadas na química analítica, se baseia no controle e manipulação de fluidos que são fisicamente confinados em dimensões submilimétricas. Devido ao pequeno tamanho dos dispositivos microfluídicos e às propriedades físicas únicas que surgem quando os fluidos são restritos a dimensões em escala microscópica, muitas atividades químicas podem ser realizadas usando uma quantidade mínima de soluções (na ordem de microlitros). Portanto, em tais dimensões microscópicas, o consumo de reagentes e a quantidade de resíduos gerados são drasticamente reduzidos [1,2]. Além disso, outras vantagens incluem a portabilidade, a rapidez da análise e a capacidade de realizar diversas etapas analíticas (como injeção, mistura, separação, detecção, entre outros) em uma única plataforma miniaturizada. Essas características tornam os dispositivos microfluídicos altamente adequados para aplicações no ponto de atendimento (POC, do inglês *point-of-care*), permitindo análises mais rápidas e sendo extremamente úteis em diversas áreas, como forense, análise ambiental, monitoramento clínico e controle de qualidade farmacêutico [3].

Entre os materiais frequentemente utilizados na fabricação de plataformas microfluídicas estão o vidro [4] e o polidimetilsiloxano (PDMS) [5,6]. Além disso, os procedimentos comuns de microfabricação incluem fotolitografia [7], ablação a laser [8] e gravação úmida [9]. Apesar de serem amplamente utilizadas, essas técnicas são complexas, necessitam de longos tempos de fabricação, instalações como salas limpas e pessoal especializado, além de custos significativos de implementação [10,11]. Para superar essas barreiras, materiais e métodos de fabricação mais acessíveis têm sido explorados na produção de plataformas microfluídicas, como papel [12,13], fios têxteis [14,15] e impressão 3D [16].

Em 2010, Li *et al.* publicaram o primeiro estudo sobre a criação simples e de baixo custo de plataformas microfluídicas usando fios têxteis [17], no qual fios de algodão foram empregados como dispositivos para medições colorimétricas de nitrito e ácido úrico. Outros materiais sintéticos e naturais, incluindo celulose, seda, poliéster e nylon, também podem ser utilizados em vez do algodão para esse fim [18]. Uma das características mais interessantes dos dispositivos microfluídicos à base de fios de algodão é o uso de forças capilares atuando como bombas passivas, sem a necessidade de qualquer fonte de energia adicional ou equipamento para criar o fluxo [19,20]. Esses materiais também são amplamente acessíveis, leves, baratos, flexíveis e possuem alta

resistência mecânica (seco ou molhado). Além disso, por se assemelharem naturalmente a canais, barreiras hidrofóbicas não são necessárias [21–23].

As plataformas microfluídicas baseadas em fios podem ser acopladas à detecção eletroquímica para construir o que é conhecido como dispositivo eletroanalítico microfluídico baseado em fios (μ TED, do inglês *microfluidic thread-based electroanalytical device*). Esse conceito foi introduzido por Agustini *et al.* em 2016, que demonstraram o uso da amperometria para detecção em dispositivos de microfluxo à base de fios [24]. O uso de técnicas de manufatura aditiva, como a impressão 3D, e sensores eletroquímicos de baixo custo, como grafite de lápis [25] ou eletrodos impressos em 3D [26], combinados com o tamanho reduzido dos instrumentos eletroquímicos modernos, fornecem plataformas analíticas poderosas e portáteis.

O potencial promissor dos dispositivos de microfluxo à base de fios tem sido explorado em várias aplicações recentes [27–30]. No entanto, como em qualquer tecnologia recém-desenvolvida, há características que ainda precisam ser melhoradas. Uma delas diz respeito à etapa de injeção, que, devido aos volumes muito baixos injetados nos μ TEDs (geralmente na faixa de 2 a 6 μ L), exige um sistema de dispensação de fluidos extremamente preciso e confiável. Até o momento, o único método relatado para injeção de amostras em μ TEDs envolve o uso de micropipetas manuais. Esse modo de injeção apresenta alguns empecilhos, como as variabilidades inter e intra-operador, que afetam parâmetros cruciais durante a pipetagem, como a profundidade de imersão da ponta da pipeta, seu ângulo de operação e a pressão aplicada ao botão de operação, o que altera a velocidade com que o líquido é aspirado e dispensado. Esses fatores aumentam o erro e comprometem significativamente a reprodutibilidade das medidas em μ TEDs, que dependem fortemente do desempenho da pipetagem durante a injeção da amostra. Estudos anteriores enfatizam que essas fontes de erro podem até tornar a pipetagem de baixo volume (faixa de 1-10 μ L) inaceitável em algumas situações [31,32]. Portanto, ao realizar ensaios analíticos, essas fontes significativas de variabilidade devem ser cuidadosamente consideradas. Além disso, a pipetagem por longos períodos pode ser desconfortável e até causar lesões por esforço repetitivo (LER) devido às altas taxas de disfunções musculoesqueléticas na mão e no punho. Dessa forma, o sistema de botão das pipetas eletrônicas/automáticas evita acidentes laboratoriais e aumenta a segurança no ambiente de trabalho, oferecendo uma vantagem ergonômica em relação às tarefas que dependem de força quando se utilizam pipetas manuais, além de reduzir o desgaste mecânico do

equipamento [33,34]. Uma solução possível para todos esses problemas é minimizar o elemento de erro humano através da automatização do protocolo de injeção.

Neste trabalho, essas deficiências no sistema são contornadas demonstrando uma abordagem aprimorada para a injeção de amostras em μ TEDs. Este protocolo de injeção inovador, chamado de injeção automatizada, utiliza uma pipeta eletrônica e trabalha todas as desvantagens da injeção manual. As pipetas eletrônicas fornecem volumes e taxas de aspiração/dispensação precisos e confiáveis, pois essas operações são controladas eletronicamente e não dependem da habilidade individual dos usuários. Além disso, também é apresentado um novo *design* para a plataforma μ TED através de um dispositivo fabricado por impressão 3D (incluindo os eletrodos utilizados como sensor) que contém um suporte móvel de 3 eixos, permitindo fixar a pipeta eletrônica durante as injeções. Esse suporte tem uma trava, garantindo que as injeções sejam sempre realizadas em posição, ângulo e altura constantes, minimizando a variabilidade durante as medidas. Outro benefício importante proporcionado por essa nova abordagem de injeção diz respeito à ergonomia aprimorada durante injeções sucessivas de um grande número de amostras. Concluiu-se que a injeção automatizada foi bastante eficiente em aumentar a estabilidade e a reprodutibilidade das medidas, bem como o desempenho analítico dos μ TEDs (alcançando maior frequência analítica, maior precisão e menores limites de detecção).

A viabilidade prática dessa abordagem foi testada por meio da determinação de íon ferroso em amostras farmacêuticas e ambientais. O íon ferroso é um micronutriente encontrado no ambiente e também no corpo humano, sendo indispensável em funções biológicas importantes, como o transporte de oxigênio para as células, a participação em reações enzimáticas e o transporte de elétrons [35,36]. Como um mineral essencial para o corpo humano, concentrações inadequadas de ferro podem causar condições como anemia, toxicidade em células tubulares renais, funções hepáticas anormais e doenças neurodegenerativas [37–39]. Para algumas dessas condições clínicas, é recomendada a suplementação oral. Assim, considerando a importância do íon ferroso, o desenvolvimento de procedimentos rápidos, eficientes, sensíveis e de baixo custo para o controle de qualidade de produtos farmacêuticos e monitoramento ambiental é relevante.

3.2. OBJETIVOS

3.2.1. Objetivo geral

Construir um dispositivo eletroanalítico microfluídico baseado em fios impresso em 3D com injeção automatizada, realizar comparação dos modos de injeção e aplicar na análise de íon ferroso em amostras reais.

3.2.2. Objetivos específicos

- Projetar, em *software* apropriado, o dispositivo analítico com todos os seus anexos e os eletrodos usados com sensor;
- Fabricar todas as partes através da impressão 3D;
- Ativar mecanicamente os eletrodos que compõem o sensor;
- Montar o sistema eletroquímico de fluxo com o uso de fios de algodão como canais;
- Comparar os modos de injeção manual e automatizado, utilizando micropipetas manuais e eletrônicas, respectivamente, através da técnica de amperometria utilizando analitos modelo;
- Otimizar parâmetros e condições analíticas para a aplicação da metodologia proposta;
- Aplicar o dispositivo desenvolvido com a injeção automatizada para a determinação de íon ferroso em medicamentos e amostras de água de diferentes fontes utilizando a técnica de detecção amperométrica.

3.3. METODOLOGIA

3.3.1. Reagentes e soluções

Todos os produtos químicos e materiais utilizados são de grau analítico: ácido acético (pureza $\geq 99,7\%$), ureia (pureza $\geq 99,0\%$), fluoreto de potássio di-hidratado (pureza $\geq 99,0\%$), nitrato de sódio (pureza $\geq 99,0\%$) e sulfato de alumínio octadecahidratado (pureza $\geq 98,0\%$) foram fornecidos pela Dinâmica (Indaiatuba, SP, Brasil); ácido bórico (pureza $\geq 99,8\%$), carbonato de sódio (pureza $\geq 99,9\%$) e cloreto de amônio (pureza $\geq 99,5\%$) foram adquiridos da Merck (White-house Station, NJ, EUA); ácido fosfórico (pureza $\geq 85,0\%$) foi obtido da Acros Organics (Geel, Bélgica); hidróxido de sódio (50% m/v), acetaminofeno (paracetamol, pureza $\geq 99,0\%$), nitrato de níquel (II) hexahidratado (pureza $\geq 99,9\%$), cloreto de potássio (pureza $\geq 99,0\%$) e glifosato (pureza $\geq 98,0\%$) foram distribuídos pela Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA); a Neon (Suzano, SP, Brasil) forneceu nitrito de sódio (pureza $\geq 97,0\%$), hexacianoferrato (II) de potássio tri-hidratado (pureza $\geq 98,5\%$), sulfato ferroso de amônio hexa-hidratado (pureza $\geq 98,0\%$), orto-fenantrolina (pureza $\geq 99,0\%$) e hidroxilamina (pureza $\geq 99,0\%$); 5-hidroxitriptofano (5-HTP, pureza $\geq 99,0\%$) foi adquirido da Infinity Pharma (Campinas, SP, Brasil); sulfato de sódio (pureza $\geq 99,0\%$), fosfato monobásico de potássio anidro (pureza $\geq 99,0\%$) e cloreto de sódio (pureza $\geq 99,0\%$) foram obtidos pela Synth (Diadema, SP, Brasil); cloreto de cálcio di-hidratado, benzeno (pureza $\geq 99,5\%$) e manganês monoidratado (pureza $\geq 98,0\%$) (pureza $\geq 99,0\%$) foram distribuídos pela Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brasil); tolueno (pureza $\geq 99,5\%$) foi adquirido da ACS Científica (Sumaré, SP, Brasil); a CRQ Química (Diadema, SP, Brasil) forneceu cloreto de magnésio hexahidratado (pureza $\geq 99,0\%$); filamento de carbono *black*/ácido polilático (CB/PLA, diâmetro de 1,75 mm, utilizado para produzir os eletrodos) foi adquirido da ProtoPlant (Vancouver, WA, EUA); filamento de acrilonitrila butadieno estireno (ABS, diâmetro de 1,75 mm, utilizado para fabricar a plataforma μ TED) foi adquirido da 3DFila (Belo Horizonte, MG, Brasil); gaze hidrofílica de algodão, lixa, fita dupla face, corante alimentício e parafusos M3/M4 com suas respectivas porcas e arruelas foram obtidos em lojas locais. Todas as soluções aquosas utilizadas foram preparadas com água purificada (resistividade $\geq 18,2\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) proveniente de um sistema de purificação por osmose reversa Permution RO0310 (Permution, Curitiba, PR, Brasil). As soluções estoque de analitos e tampões foram preparadas semanalmente, enquanto as soluções padrão

utilizadas nos experimentos foram preparadas diariamente através da diluição das soluções estoque.

3.3.2. Instrumentação

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando um sistema de três eletrodos composto por sensores de CB/PLA (carbono *black*/ácido polilático) impressos em 3D e um potenciostato/galvanostato Autolab modelo PGSTAT 128N (Ecochemie, Utrecht, Holanda) conectado a um computador rodando o *software* Metrohm Autolab Nova 2.1. A voltametria cíclica (VC) foi utilizada para verificar o comportamento eletroquímico dos analitos. Para medidas quantitativas, a detecção amperométrica (DA) foi aplicada usando o dispositivo CB/PLA- μ TED. Em ambas as situações, as conexões foram feitas diretamente nos eletrodos. Uma impressora 3D Creality Ender 3 FDM (Creality, Shenzhen, China) equipada com um bico extrusor de metal de 0,4 mm de diâmetro foi utilizada para produzir a plataforma μ TED e os eletrodos. Para a injeção dos analitos no μ TED, foram utilizadas três pipetas eletrônicas Multipette Stream® (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) acopladas a ponteiros Combitips® (faixas de volume de 1-100 e 2-200 μ L) e três micropipetas manuais de canal único (K1-10C, faixa de volume de 1-10 μ L, K1-20C, faixa de volume de 2-20 μ L, ambas da Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil; e uma Labmate Soft, faixa de volume de 2-20 μ L, da HTL, Varsóvia, Polônia). As medidas espectrofotométricas foram realizadas em um espectrofotômetro Kasvi K37-VIS (Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil).

3.3.3. Fabricação e ativação do sensor CB/PLA

Os eletrodos de CB/PLA foram impressos com uma resolução de camada de 0,20 mm, velocidade de 30 mm s⁻¹ e preenchimento de 100% (sólido), nas dimensões de 45 mm de comprimento $\times$ 3 mm de largura $\times$ 1,6 mm de altura. A ativação dos eletrodos foi realizada por meio de seu polimento com lixas de três granulações diferentes, seguindo a ordem de 220, 1500 e 2000, com duração aproximada de 1 minuto para cada granulação. Após esse pré-tratamento mecânico, os eletrodos estavam prontos para uso.

3.3.4. Fabricação e montagem do μ TED

O *design* da nova plataforma μ TED foi desenvolvido usando o *software* gratuito de *design* 3D CAD/CAM Fusion 360 (Autodesk, CA, EUA), onde os arquivos CAD

foram obtidos, convertidos para o formato STL e processados com o *software* Ultimaker Cura 5.0 (Geldermalsen, Holanda) para obter os arquivos GCODE para posterior impressão 3D. A plataforma μ TED foi fabricada usando filamento ABS, com uma resolução de camada de 0,25 mm, velocidade de 50 mm/s e 35% de preenchimento.

Conforme apresentado na Figura 15A, a parte principal da plataforma possui as dimensões de 115 mm de comprimento $\times$ 90 mm de largura $\times$ 165 mm de altura e contém um reservatório de entrada (I) e um reservatório de saída (II), ambos com 25 mm de diâmetro e capacidade máxima de cerca de 5 mL. O reservatório de saída é móvel para permitir ajustes de altura e é fixado à base principal por dois parafusos M3. Ao lado do reservatório de entrada, há um suporte para o detector de três eletrodos (III), que é fixado por dois parafusos M4, permitindo ajustes de altura para alinhar precisamente os eletrodos ao canal de fluxo dos fios de algodão. A plataforma conta com dois trilhos horizontais (IV) na parte superior que sustentam um suporte (V) que é preso com a ajuda de parafusos M4 e suas respectivas porcas. Esse suporte foi projetado especialmente para acoplar a micropipeta automática durante as medidas, permitindo movimentos precisos nos 3 eixos (XYZ) para posicionamento ideal da ponta da micropipeta. O eixo Z (altura da pipeta) é ajustável através da parte do suporte que acomoda a pipeta, que é movida por outros dois trilhos verticais através de parafusos M3 e suas respectivas porcas. Após o ajuste para a altura Z desejada, o suporte pode ser fixado em uma configuração X-Y estável apertando os parafusos e as porcas instalados nos trilhos horizontais.

Na Figura 15B é mostrado o detector eletroquímico, composto pelos eletrodos de trabalho (ET), pseudorreferência (EPR) e contraeletrodo (CE), todos fabricados em CB/PLA, anexado ao suporte para detector do μ TED usando fita dupla face. Perpendicularmente aos eletrodos, fios de algodão hidrofílico são conectados do reservatório de entrada ao reservatório de saída, cruzando o detector para funcionarem como microcanais de fluxo. As extremidades dos fios de algodão são fixadas nos reservatórios com fita dupla face. Nenhum tratamento foi realizado na gaze hidrofílica antes do uso, pois durante o processo de fabricação, os materiais não celulósicos que compõem os fios já são removidos, expondo os grupos hidroxila da celulose, que conferem a natureza hidrofílica do fio [26,40]. Após esse procedimento, a micropipeta eletrônica é acoplada ao suporte de 3 eixos e a plataforma está pronta para uso. Assim, as injeções do analito na plataforma são realizadas de forma simples, pois a micropipeta eletrônica pode ser encaixada e retirada de seu suporte facilmente, não havendo a

necessidade de retirar também o suporte a cada troca de solução, já que este fica fixado à plataforma principal através de parafusos e porcas.

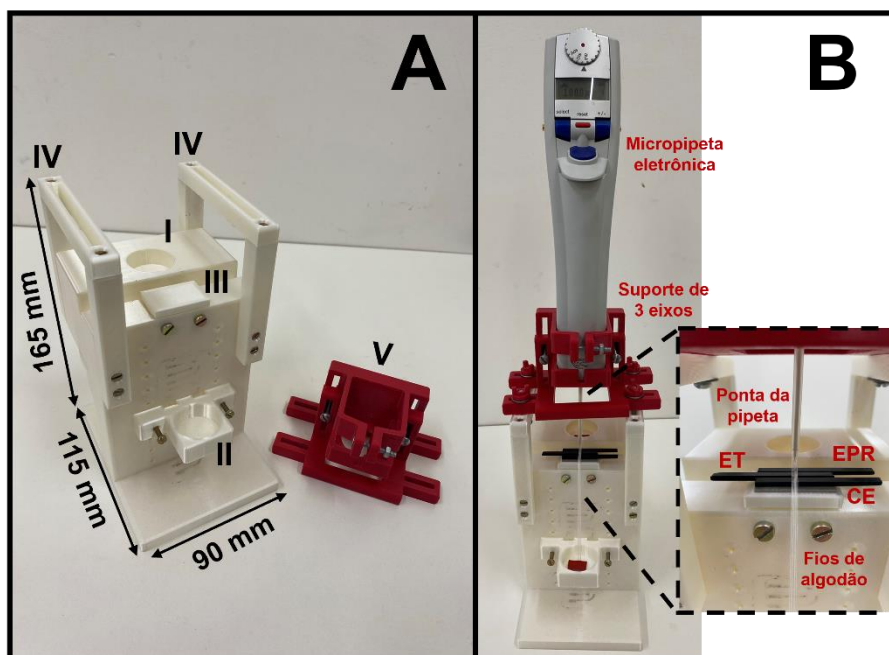


Figura 15. Imagens da plataforma μ TED: A) plataforma principal contendo os reservatórios de entrada (I) e saída (II), o suporte para o detector eletroquímico (III) e os trilhos (IV) que sustentam o suporte da pipeta eletrônica (V); B) dispositivo montado e pronto para uso, com o detector de três eletrodos, microcanais de fluxo de fios de algodão e pipeta eletrônica acoplada ao suporte móvel de 3 eixos.

3.3.5. Aplicação em amostras farmacêuticas

Suplementos comerciais de duas marcas diferentes foram adquiridos em farmácias locais e utilizados como amostras. Três comprimidos de cada marca (sem seus revestimentos) foram pesados e foi calculada a média de suas massas para cada marca. Em seguida, o conteúdo dos comprimidos foi macerado e as massas correspondentes às médias calculadas foram transferidas para frascos volumétricos de 50 mL, sendo solubilizadas em tampão Britton-Robinson (BR) $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0). Após a homogeneização, as soluções foram filtradas com filtro de seringa com membrana de $0,22 \mu\text{m}$ e, em seguida, diluídas em tampão BR para atingir as concentrações adequadas para as medidas.

3.3.6. Medidas espectrofotométricas

O método eletroanalítico desenvolvido aqui foi comparado com a espectrofotometria UV-Vis utilizando um método adaptado proposto anteriormente [41]. Para isso, em balões volumétricos de 50,00 mL foram adicionados 1,00 mL de solução aquosa de hidroxilamina a 10% (m/v), quantidades adequadas de padrão de ferro (sulfato ferroso amoniacal hexahidratado) e 4,00 mL de solução aquosa de orto-fenantrolina a 0,1% (m/v). Posteriormente, o volume foi completado com tampão BR 0,10 mol L⁻¹ (pH = 4,0). Essas soluções foram então homogeneizadas e transferidas para cubetas de 3 mL, no qual a absorbância foi medida no comprimento de onda de 510 nm.

3.3.7. Ensaios de recuperação

Testes de recuperação foram realizados em amostras de água da torneira e água de poço coletadas na cidade de Campo Grande, MS. A técnica de adição de padrão foi utilizada para minimizar possíveis efeitos de matriz, uma vez que essas amostras contêm diversos íons e matéria orgânica. Antes das medidas, as amostras de água foram fortificadas, filtradas através de filtro de seringa com membrana de 0,22 µm e, em seguida, diluídas no eletrólito.

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1. Comparação entre pipeta eletrônica e manual

A injeção utilizando micropipetas manuais é o único método relatado atualmente para a injeção de amostras em μ TEDs. No entanto, pipetas eletrônicas são instrumentos mais atraentes para essa tarefa, já que um motor computadorizado controla o movimento do pistão de acordo com um programa pré-determinado pelo usuário, permitindo um controle preciso do volume e das velocidades de aspiração/dispensação. Esse comportamento tende a minimizar a variabilidade entre operadores (por exemplo, usuários experientes vs. inexperientes), produzindo resultados mais confiáveis e estáveis [31, 32]. As micropipetas eletrônicas também podem ser vantajosas quando é necessário um número maior de injeções (períodos de tempo prolongados), pois oferecem uma vantagem ergonômica sobre a dependência de força nas pipetas manuais, que podem levar a distúrbios musculoesqueléticos [33, 34]. Pipetas eletrônicas são amplamente utilizadas para injeção de amostras em plataformas, como sistemas de injeção em batelada, e têm demonstrado vantagens claras em relação às pipetas manuais [32, 35].

Para discutir as vantagens proporcionadas pelas injeções automatizadas em μ TEDs, pipetas eletrônicas e manuais foram comparadas. Estudos foram realizados utilizando três analitos modelo (orgânicos e inorgânicos): paracetamol (PAR), 5-hidroxitriptofano (5-HTP) e nitrito (NO_2^-). Os potenciais de detecção foram escolhidos considerando o comportamento voltamétrico de cada analito obtido no eletrodo de CB/PLA, demonstrado na Figura 16: + 0,55 V para 5-HTP, + 0,81 V para NO_2^- e + 0,66 V para PAR (vs. EPR de CB/PLA). O eletrólito de suporte utilizado foi o tampão BR 0,10 mol L^{-1} com valores de pH ajustados em 6,5, 4,0 e 5,5 para 5-HTP, NO_2^- e PAR, respectivamente, de acordo com referências anteriores [22, 36–38]. Nos experimentos, os seguintes parâmetros foram utilizados: (a) taxa de fluxo passivo de cerca de 0,4 $\mu\text{L s}^{-1}$, definida pelo número de fios de algodão ($n = 6$) e pela diferença de altura entre os reservatórios de entrada e de saída (50 mm); (b) distância de injeção (vs. detector de CB/PLA): 1 mm; (c) altura de injeção (vs. fio de algodão): 1 mm; e (d) volume de injeção: 4,0 μL .

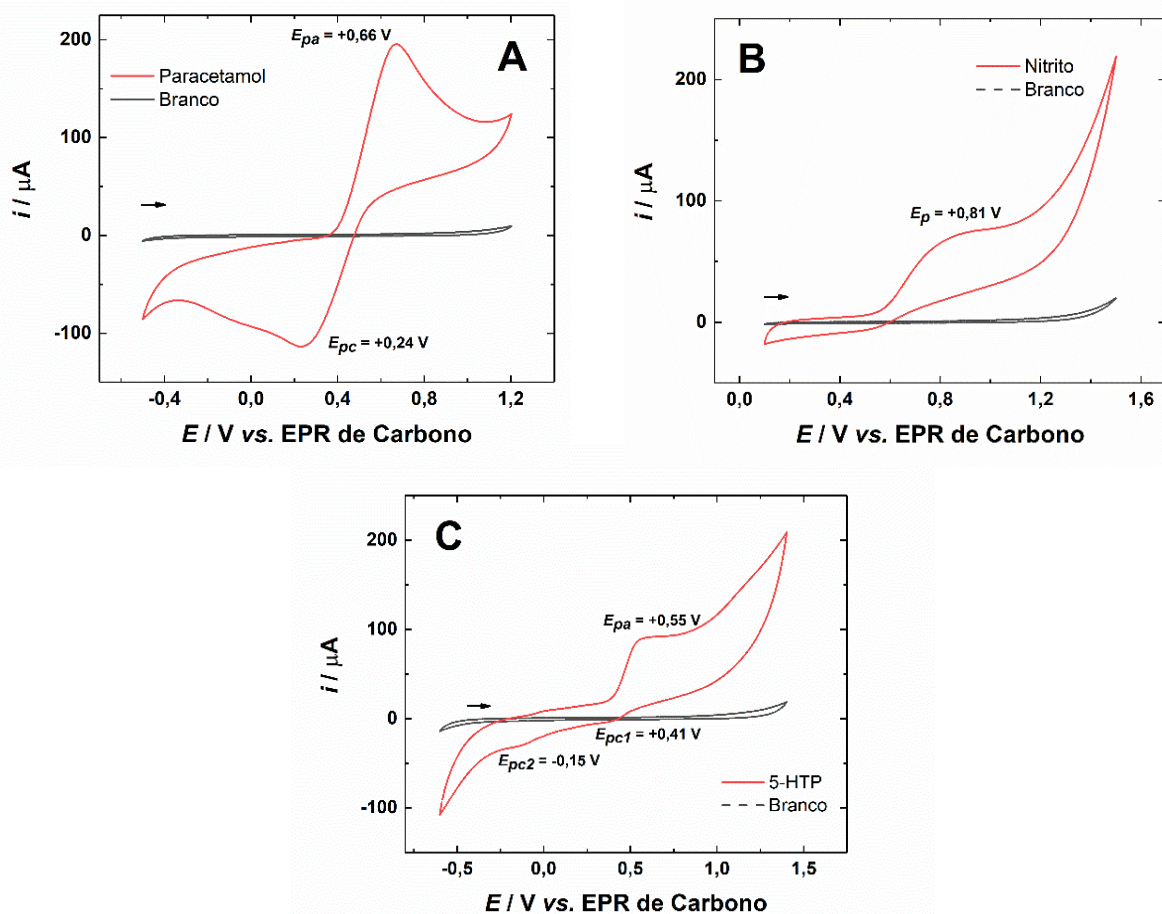


Figura 16. Voltamogramas cíclicos na ausência (linhas pretas) e na presença (linhas vermelhas) de 1 mmol L⁻¹ de PAR (A), de NO₂⁻ (B) e de 5-HTP (C) no eletrodo de CB/PLA. Eletrólito de suporte: tampão BR 0,10 mol L⁻¹ com pH = 5,5 (PAR), 4,0 (nitrito) e 6,5 (5-HTP); velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.

Como ilustrado na Figura 17A, a injeção manual convencional depende completamente das habilidades do operador. As velocidades de aspiração e dispensação (injeção) são controladas pela velocidade e força com que o usuário move manualmente o pistão, o que naturalmente varia entre as repetições. Além disso, a posição da ponta da pipeta durante as injeções (em termos de altura, ângulo e distância do detector e dos fios) também pode variar entre as réplicas e entre diferentes operadores. Outro inconveniente da injeção manual é o fato de que alíquotas de amostras devem ser pipetadas uma a uma, aumentando o esforço físico necessário durante a pipetagem prolongada e elevando o

risco de lesão por esforço repetitivo (LER). Por outro lado, a injeção automatizada usando pipetas eletrônicas (Figura 17B) corrige todas as deficiências mencionadas da injeção manual. Nesse método, o movimento do pistão é controlado eletronicamente, o que garante operações de aspiração e dispensação reproduzíveis, proporcionando controle preciso das velocidades de injeção. Sendo assim, a influência desse parâmetro na resposta do μ TED foi avaliada.

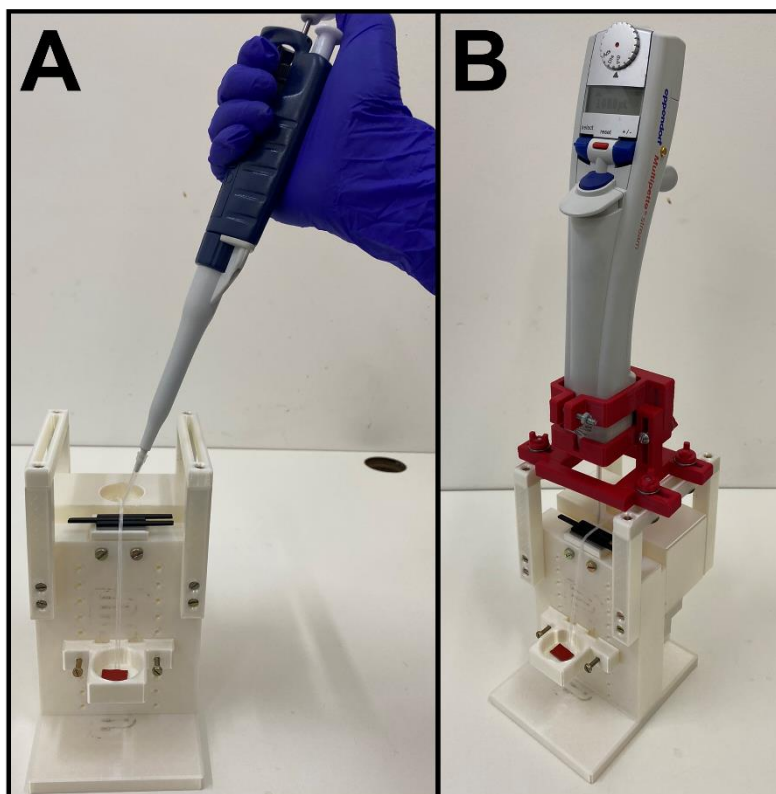


Figura 17. Imagens da plataforma μ TED acoplada aos diferentes modos de injeção de amostra avaliados: manual (A) e automatizado (B).

A velocidade de injeção tem um efeito significativo no sinal analítico, no qual velocidades de dispensação mais lentas proporcionaram correntes de pico mais altas, como pode ser observado na Figura 18A. Uma possível razão para isso é que quando o analito é dispensado muito rapidamente, ele pode saturar a capacidade de fluxo dos canais de algodão, causando maior dispersão do analito antes de alcançar o detector, prejudicando a sensibilidade e a reprodutibilidade das medidas. Controlar a velocidade de dispensação também pode ser útil para otimizar a injeção de amostras com diferentes

densidades/viscosidades, sendo uma vantagem importante da injeção eletrônica sobre a injeção manual. Outra melhoria significativa do μ TED apresentado é a minimização da dependência do operador, possibilitada pela capacidade de manter precisamente a ponta da pipeta em uma posição fixa. O suporte de pipeta com controle de 3 eixos permite ajustar a altura (eixo Z), a distância (eixos X-Y) e o ângulo das injeções. Conforme mostrado na Figura 18B, a resposta amperométrica apresentou uma forte dependência da altura de injeção. Se o analito for injetado a uma distância (vertical) muito grande dos canais de algodão, ele não será transportado adequadamente pelo fluxo passivo. Por outro lado, se a ponta da pipeta tocar o canal de algodão durante a injeção (altura de 0 mm), o analito se dispersa de forma aleatória, uma vez que é necessário um espaço mínimo para que o volume injetado saia corretamente da ponta da pipeta e seja transportado pelo fluxo passivo. Além disso, as correntes de pico também foram influenciadas pela distância horizontal entre a ponta da pipeta e o detector, apresentando uma relação inversamente proporcional (Figura 18C). Isso ocorre porque, à medida que a distância percorrida pelo analito até o detector aumenta, maior é a dispersão ao longo desse trajeto. Assim, o ajuste preciso desses parâmetros é crucial para se obter a melhor sensibilidade e reprodutibilidade das medidas realizadas com o μ TED.

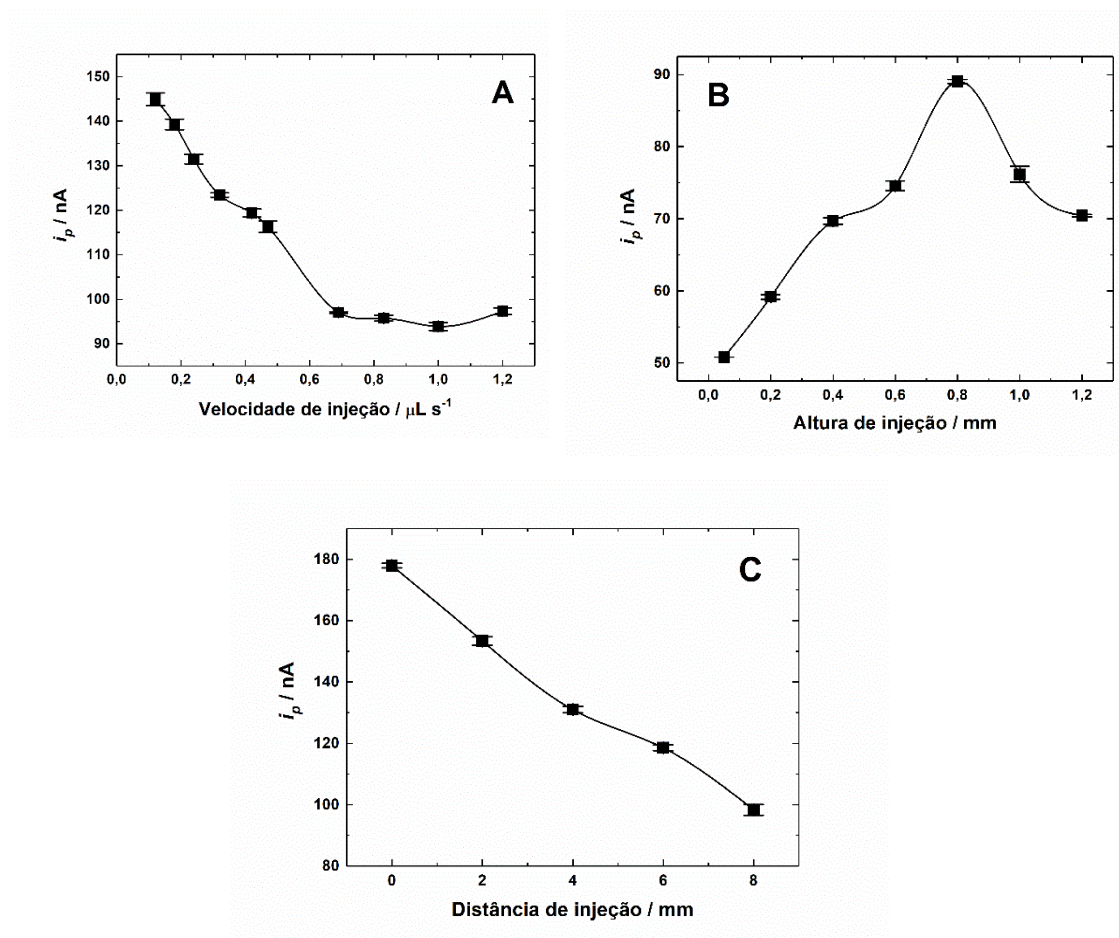


Figura 18. Influência da velocidade de injeção (A), altura de injeção (B) e distância de injeção (C) na resposta amperométrica do μTED para $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR. Volume de injeção: $4 \mu\text{L}$. Eletrólito de suporte: tampão BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,5); potencial de detecção (vs. EPR de CB/PLA): $+0,66 \text{ V}$; velocidade de injeção (B e C): $0,12 \mu\text{L s}^{-1}$.

Para demonstrar algumas das vantagens das injeções automatizadas em sistemas microfluídicos baseados em fios, foram realizadas medidas amperométricas dos três analitos modelo (PAR, 5-HTP e NO_2^-) em um estudo de repetibilidade. Injeções sequenciais de cada analito ($n = 10$) foram feitas no μTED proposto, usando tanto injeção manual quanto automatizada, por três operadores experientes e três inexperientes. Como mostrado na Tabela 9 e na Figura 19, embora as correntes de pico anódicas obtidas por ambas as pipetas e pelos seis operadores tenham apresentado intensidades semelhantes, a injeção automatizada produziu medidas significativamente mais estáveis e precisas do que a manual, com desvios padrões relativos (DPRs) até dez vezes menores, mesmo quando manipulada por um operador inexperiente. A precisão aprimorada alcançada com

a pipeta eletrônica é atribuída à constância dos parâmetros do sistema (posição x/y/z, volume e velocidade de dispensação), que garantem que zonas de amostra muito semelhantes passem pela superfície do detector. A menor dependência da injeção automatizada em relação aos fatores humanos, como a habilidade do operador, é claramente evidenciada ao se comparar os DPRs obtidos. Injeções com pipetas eletrônicas alcançaram DPRs $\leq 3,4\%$, enquanto os DPRs para a injeção manual excederam 16,0% quando se compara o mesmo operador inexperiente nos dois modos de injeção. Esses resultados indicam a alta robustez da injeção automatizada acoplada ao μ TED, que proporciona excelentes resultados mesmo quando utilizada por operadores sem treinamento prévio. Isso torna esse recurso útil em ambientes laboratoriais, especialmente quando o operador é iniciante e não tem muita experiência ou prática com a técnica utilizada.

Tabela 9. Comparação entre injeções sequenciais ($n = 10$) de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- , 5-HTP e PAR (cada) realizadas por três operadores experientes (E1, E2 e E3) e três operadores não experientes (NE1, NE2 e NE3) utilizando os modos automatizado e manual.

Analito	Modo de injeção	DPR das injeções para cada operador (%)					
		E1	E2	E3	NE1	NE2	NE3
5-HTP	Automatizado	0,7	0,9	1,9	3,7	1,4	2,5
	Manual	5,5	5,7	7,8	15,1	10,7	11,4
NO_2^-	Automatizado	0,8	1,5	1,3	1,8	2,7	3,4
	Manual	5,4	7,0	6,4	9,8	11,5	16,3
PAR	Automatizado	0,5	0,5	0,4	1,3	2,9	0,6
	Manual	5,1	3,8	4,1	9,3	13,1	6,6

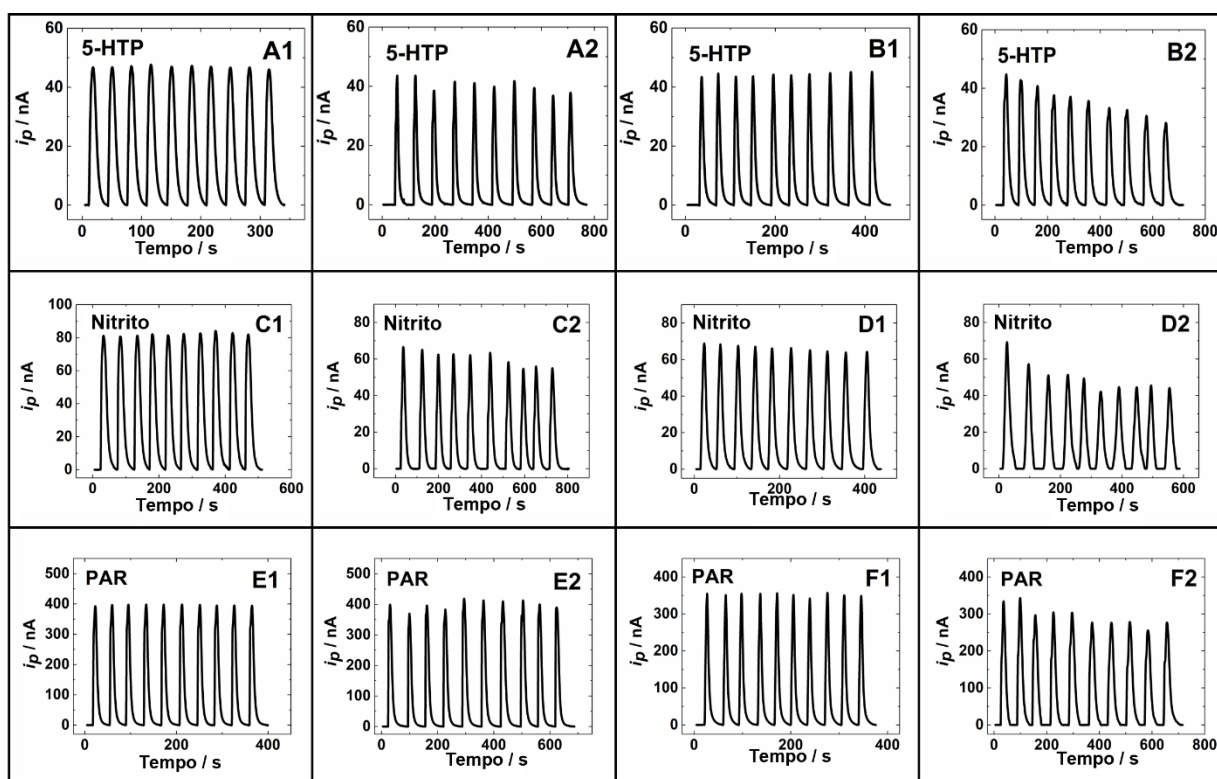


Figura 19. Comparação entre injeções automatizadas e manuais realizadas por operadores experientes e não experientes, em que: (1) refere-se a injeções automatizadas e (2) a injeções manuais de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 5-HTP por operadores experientes (A) e não experientes (B); $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- por operadores experientes (C) e não experientes (D); e $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR por operadores experientes (E) e não experientes (F).

Para investigar a influência das injeções realizadas por diferentes pipetas, em diferentes dispositivos e avaliar os erros associados a diferentes volumes dispensados por cada pipeta, três estudos de reprodutibilidade foram realizados por um operador experiente. O primeiro estudo foi realizado utilizando três pipetas automáticas e três manuais para injetar o mesmo volume de amostra de cada analito modelo. Como pode ser visto na Tabela 10 e na Figura 20, as correntes médias para cada analito foram semelhantes para os dois modos de injeção, no entanto, correntes de pico ligeiramente maiores foram obtidas com a injeção automatizada para os três compostos analisados. Além disso, ao analisar separadamente o grupo de pipetas automáticas e manuais, observou-se que as pipetas automáticas apresentaram correntes muito mais semelhantes entre si, com valores de DPR menores (cinco a oito vezes menores) em comparação com as manuais, para os três compostos investigados.

Tabela 10. Comparação entre injeções de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- , 5-HTP e PAR (cada) realizadas com 3 pipetas automáticas distintas (A1, A2 e A3) e 3 micropipetas manuais distintas (M1, M2 e M3) por um usuário experiente.

Analito	Corrente de pico para cada pipeta (nA) $\pm$ DP ^a					
	A1	A2	A3	M1	M2	M3
5-HTP	40,6 $\pm$ 0,4	40,2 $\pm$ 0,5	39,9 $\pm$ 0,7	41,3 $\pm$ 1,5	37,7 $\pm$ 5,5	40,3 $\pm$ 2,8
DPR (%) ^b	0,9			4,7		
NO_2^-	68,3 $\pm$ 0,8	69,0 $\pm$ 0,4	69,0 $\pm$ 1,0	67,6 $\pm$ 2,2	63,4 $\pm$ 7,1	62,6 $\pm$ 0,7
DPR (%) ^b	0,6			4,2		
PAR	311,6 $\pm$ 0,1	312,3 $\pm$ 0,1	310,3 $\pm$ 0,3	293,3 $\pm$ 19,3	282,7 $\pm$ 32,8	297,2 $\pm$ 18,6
DPR (%) ^b	0,3			2,6		

^a Média de $n = 3$ determinações;

^b Desvio padrão relativo entre cada grupo de pipetas (automática e manual).

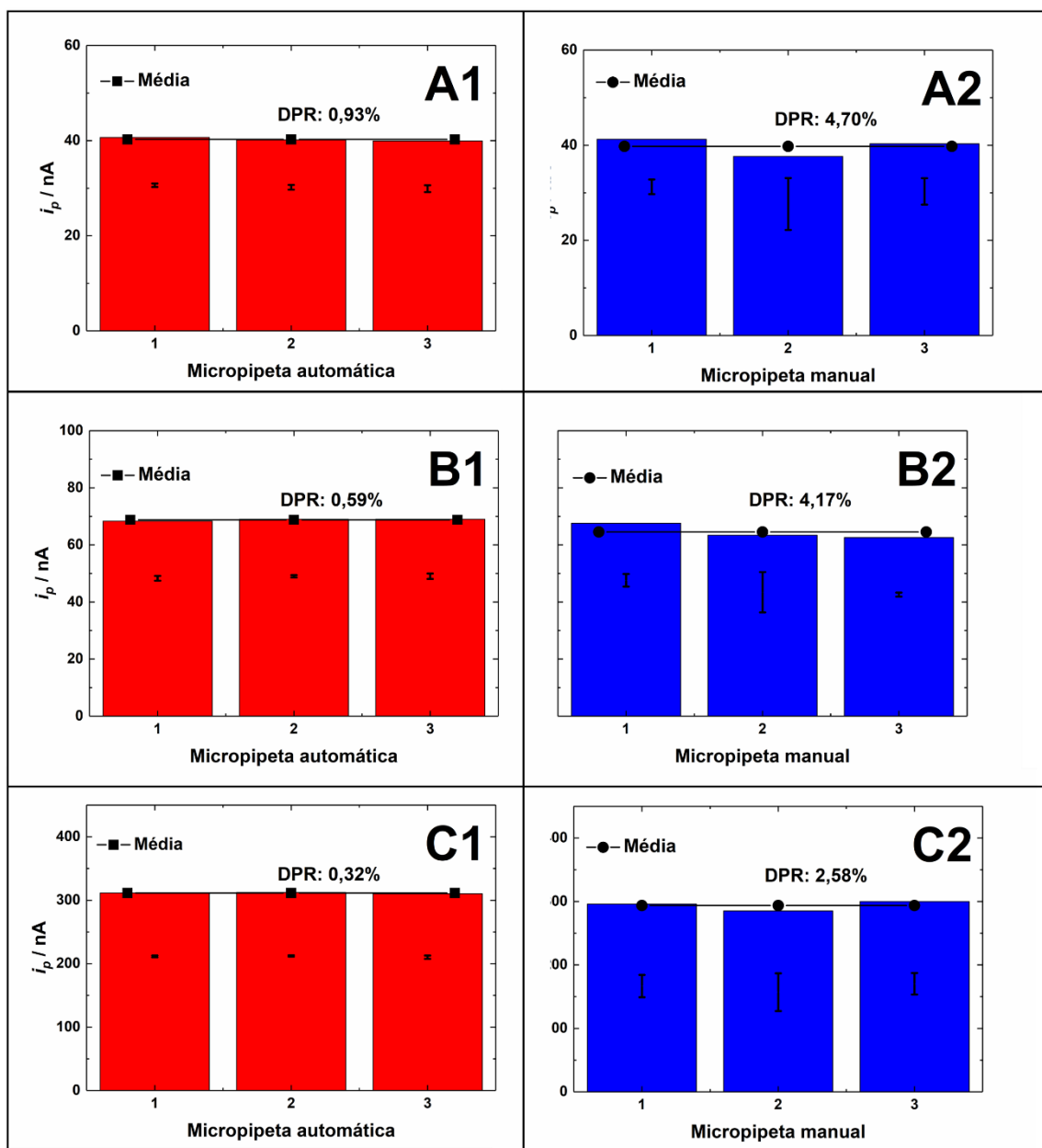


Figura 20. Reprodutibilidade entre pipetas. Comparação entre injeções de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 5-HTP utilizando pipetas automáticas (A1) e manuais (A2); entre injeções de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- utilizando pipetas automáticas (B1) e manuais (B2); e entre injeções de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR com pipetas automáticas (C1) e manuais (C2). Resultados para $n = 3$ medidas.

A reprodutibilidade entre dispositivos foi estudada utilizando pipetas manuais e automáticas para a injeção de 5-HTP, NO_2^- e PAR em diferentes μTEDs ($n = 5$). Como mostrado na Figura 21 e na Tabela 11, as correntes de pico obtidas por meio de injeções automatizadas e manuais apresentaram valores semelhantes, embora ligeiramente

superiores nas injeções realizadas com pipeta automática. Além disso, os DPRs observados entre os cinco dispositivos foram de quatro a seis vezes menores quando as injeções foram realizadas de maneira automatizada. Esses estudos corroboram o fato de que o modo de injeção (manual ou automatizado) tem uma influência muito mais significativa nas medidas do que a marca/modelo da pipeta, a habilidade do operador ou a plataforma analítica utilizada.

Tabela 11. Comparação entre injeções automatizadas e manuais de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- , 5-HTP e PAR (cada) realizadas em $n = 5$ dispositivos (D) diferentes por um usuário experiente.

Analito	Modo de injeção	Corrente de pico para cada dispositivo (nA) $\pm$ DP ^a					DPR ^b
		D1	D2	D3	D4	D5	
5-HTP	Automatizado	43,0 $\pm$ 0,4	43,3 $\pm$ 0,5	43,2 $\pm$ 0,5	43,5 $\pm$ 0,3	42,6 $\pm$ 0,4	0,8
		41,3 $\pm$ 3,6	39,2 $\pm$ 3,1	40,1 $\pm$ 3,1	44,0 $\pm$ 3,3	41,5 $\pm$ 4,0	
	Manual	75,8 $\pm$ 0,1	76,1 $\pm$ 1,3	72,1 $\pm$ 1,2	72,0 $\pm$ 0,7	75,8 $\pm$ 1,3	2,8
		68,4 $\pm$ 8,8	55,6 $\pm$ 1,0	77,8 $\pm$ 6,0	69,2 $\pm$ 4,6	69,8 $\pm$ 4,6	
NO_2^-	Automatizado	276,9 $\pm$ 0,3	280,2 $\pm$ 0,1	276,1 $\pm$ 1,3	279,1 $\pm$ 1,0	275,4 $\pm$ 0,9	0,8
		267,0 $\pm$ 23,2	284,1 $\pm$ 17,0	279,2 $\pm$ 27,1	284,1 $\pm$ 16,5	257,6 $\pm$ 20,5	
	Manual	276,9 $\pm$ 0,3	280,2 $\pm$ 0,1	276,1 $\pm$ 1,3	279,1 $\pm$ 1,0	275,4 $\pm$ 0,9	0,8
		267,0 $\pm$ 23,2	284,1 $\pm$ 17,0	279,2 $\pm$ 27,1	284,1 $\pm$ 16,5	257,6 $\pm$ 20,5	
PAR	Automatizado	276,9 $\pm$ 0,3	280,2 $\pm$ 0,1	276,1 $\pm$ 1,3	279,1 $\pm$ 1,0	275,4 $\pm$ 0,9	0,8
		267,0 $\pm$ 23,2	284,1 $\pm$ 17,0	279,2 $\pm$ 27,1	284,1 $\pm$ 16,5	257,6 $\pm$ 20,5	
	Manual	276,9 $\pm$ 0,3	280,2 $\pm$ 0,1	276,1 $\pm$ 1,3	279,1 $\pm$ 1,0	275,4 $\pm$ 0,9	0,8
		267,0 $\pm$ 23,2	284,1 $\pm$ 17,0	279,2 $\pm$ 27,1	284,1 $\pm$ 16,5	257,6 $\pm$ 20,5	

^a Média de $n = 3$ determinações;

^b Desvio padrão relativo entre os dispositivos estudados.

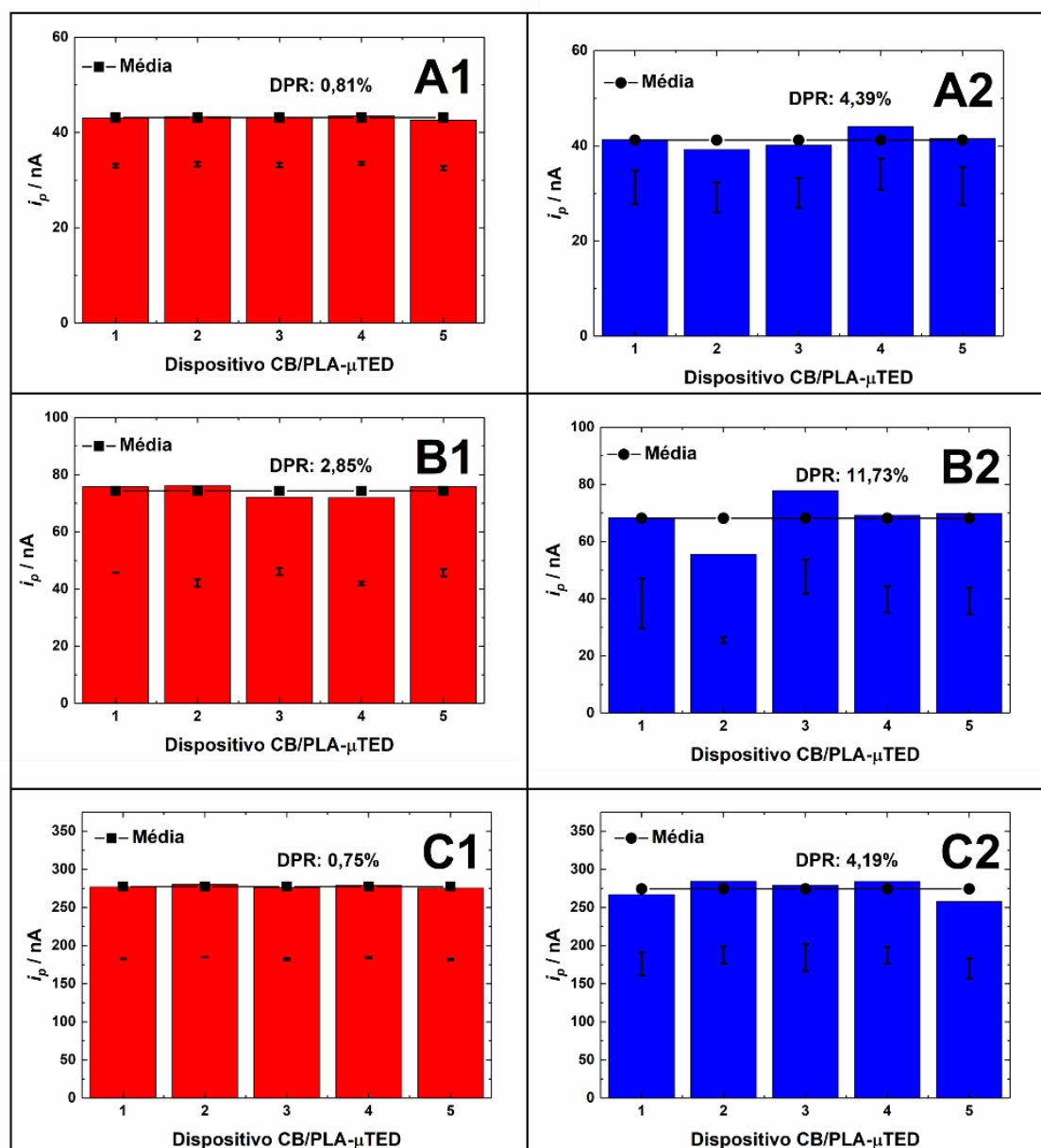


Figura 21. Reprodutibilidade entre dispositivos. Comparação entre injeções de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 5-HTP utilizando pipeta automática (A1) e manual (A2); entre injeções de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- utilizando pipeta automática (B1) e manual (B2); e entre injeções de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR utilizando pipeta automática (C1) e manual (C2). Resultados para $n = 3$ medidas.

Um estudo foi realizado para investigar a repetibilidade (intra) e a reprodutibilidade (inter) dos volumes dispensados por diferentes pipetas (três automáticas e três manuais). Para isso, diferentes volumes de água ($2\text{--}10 \mu\text{L}$, faixa típica de injeção usada em μTEDs) foram aspirados, pesados e calculados usando o valor de densidade

apropriado. Os resultados (Tabela 12) demonstraram que a repetibilidade intra-pipeta mostrou desvios insignificantes para cada volume, enquanto os volumes de injeção dispensados por pipetas manuais e eletrônicas (reprodutibilidade interpipeta) mostraram-se bastante semelhantes ($DPRs \leq 1,3\%$). Esses resultados sugerem que essa variável não tem uma influência significativa nas grandes diferenças observadas no desempenho dos dois modos de injeção.

Tabela 12. Comparação entre os volumes (faixa de 2 a 10 μL) dispensados por três pipetas eletrônicas (E1, E2 e E3) e três pipetas manuais (M1, M2 e M3).

Volume nominal / μL ^a	Volume calculado para cada pipeta $\pm DP^b$ / μL						DPR ^c
	E1	E2	E3	M1	M2	M3	
2,0	1,8 $\pm$ 0,0	1,8 $\pm$ 0,0	1,8 $\pm$ 0,0	1,8 $\pm$ 0,0	1,8 $\pm$ 0,1	1,8 $\pm$ 0,0	0,8
4,0	3,9 $\pm$ 0,0	3,9 $\pm$ 0,0	3,8 $\pm$ 0,1	3,9 $\pm$ 0,1	3,9 $\pm$ 0,0	3,9 $\pm$ 0,1	0,9
6,0	5,9 $\pm$ 0,0	5,9 $\pm$ 0,0	5,9 $\pm$ 0,1	6,0 $\pm$ 0,1	6,0 $\pm$ 0,1	6,1 $\pm$ 0,1	1,2
8,0	7,9 $\pm$ 0,1	7,9 $\pm$ 0,0	7,9 $\pm$ 0,1	8,0 $\pm$ 0,1	7,9 $\pm$ 0,1	8,1 $\pm$ 0,1	1,3
10,0	9,9 $\pm$ 0,0	9,9 $\pm$ 0,1	9,9 $\pm$ 0,1	10,0 $\pm$ 0,1	9,9 $\pm$ 0,2	10,0 $\pm$ 0,1	0,6

^a Volume informado na pipeta;

^b Média de $n = 3$ determinações;

^c Desvio padrão relativo entre os mesmo volume de todas as pipetas investigadas (manuais e automáticas).

A estabilidade das medidas foi avaliada por 15 dias consecutivos, utilizando três μTEDs e três sensores, um para cada analito. Como mostrado na Tabela 13 e na Figura 22, as medidas de 5-HTP, NO_2^- e PAR permaneceram estáveis por 11, 9 e 15 dias, respectivamente. Essas diferenças podem ser atribuídas à degradação de cada composto ao longo do tempo. Mais uma vez, ao analisar os desvios obtidos entre as réplicas das medidas (DPRs), observou-se que as injeções manuais proporcionaram menor precisão em comparação com as injeções automatizadas.

Tabela 13. Comparação entre medidas de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- , 5-HTP e PAR (cada) obtidas com injeções automatizadas e manuais durante dias consecutivos ($n = 15$).

Dia	Modo de injeção	Corrente de pico de cada analito (nA) $\pm$ DP ^a		
		5-HTP	NO_2^-	PAR
1	Automatizado	59,5 $\pm$ 0,2	61,8 $\pm$ 0,1	268,8 $\pm$ 0,8
	Manual	56,7 $\pm$ 1,3	59,6 $\pm$ 2,5	255,0 $\pm$ 9,2
2	Automatizado	59,0 $\pm$ 0,0	60,6 $\pm$ 0,0	266,7 $\pm$ 1,7
	Manual	58,7 $\pm$ 0,8	52,9 $\pm$ 3,3	270,8 $\pm$ 13,2
3	Automatizado	58,6 $\pm$ 0,2	60,1 $\pm$ 0,1	264,7 $\pm$ 0,2
	Manual	57,3 $\pm$ 3,1	55,3 $\pm$ 7,2	270,1 $\pm$ 3,8
4	Automatizado	57,7 $\pm$ 0,1	60,4 $\pm$ 0,1	267,6 $\pm$ 0,4
	Manual	57,1 $\pm$ 1,1	57,1 $\pm$ 12,4	268,2 $\pm$ 40,0
5	Automatizado	57,5 $\pm$ 0,0	59,7 $\pm$ 0,3	263,3 $\pm$ 0,4
	Manual	57,4 $\pm$ 1,9	57,1 $\pm$ 4,5	252,8 $\pm$ 12,4
6	Automatizado	57,4 $\pm$ 0,1	58,7 $\pm$ 0,1	262,2 $\pm$ 0,7
	Manual	58,8 $\pm$ 1,1	56,5 $\pm$ 0,8	277,2 $\pm$ 21,1
7	Automatizado	56,6 $\pm$ 0,2	59,2 $\pm$ 0,1	260,5 $\pm$ 0,1
	Manual	55,0 $\pm$ 3,4	50,5 $\pm$ 1,1	286,0 $\pm$ 12,5
9	Automatizado	55,6 $\pm$ 0,7	57,8 $\pm$ 0,3	261,8 $\pm$ 0,3
	Manual	54,0 $\pm$ 0,5	55,0 $\pm$ 12,0	256,1 $\pm$ 25,2
11	Automatizado	55,6 $\pm$ 0,4	-	258,3 $\pm$ 0,3
	Manual	58,0 $\pm$ 4,3	-	266,4 $\pm$ 14,8
13	Automatizado	-	-	250,4 $\pm$ 0,4
	Manual	-	-	264,4 $\pm$ 48,3
15	Automatizado	-	-	255,4 $\pm$ 1,1
	Manual	-	-	290,1 $\pm$ 4,3
DPR ^b	Automatizado	2,3	2,1	2,1
	Manual	2,8	5,1	4,5

^a Média de $n = 3$ determinações;

^b Desvio padrão relativo entre os dias.

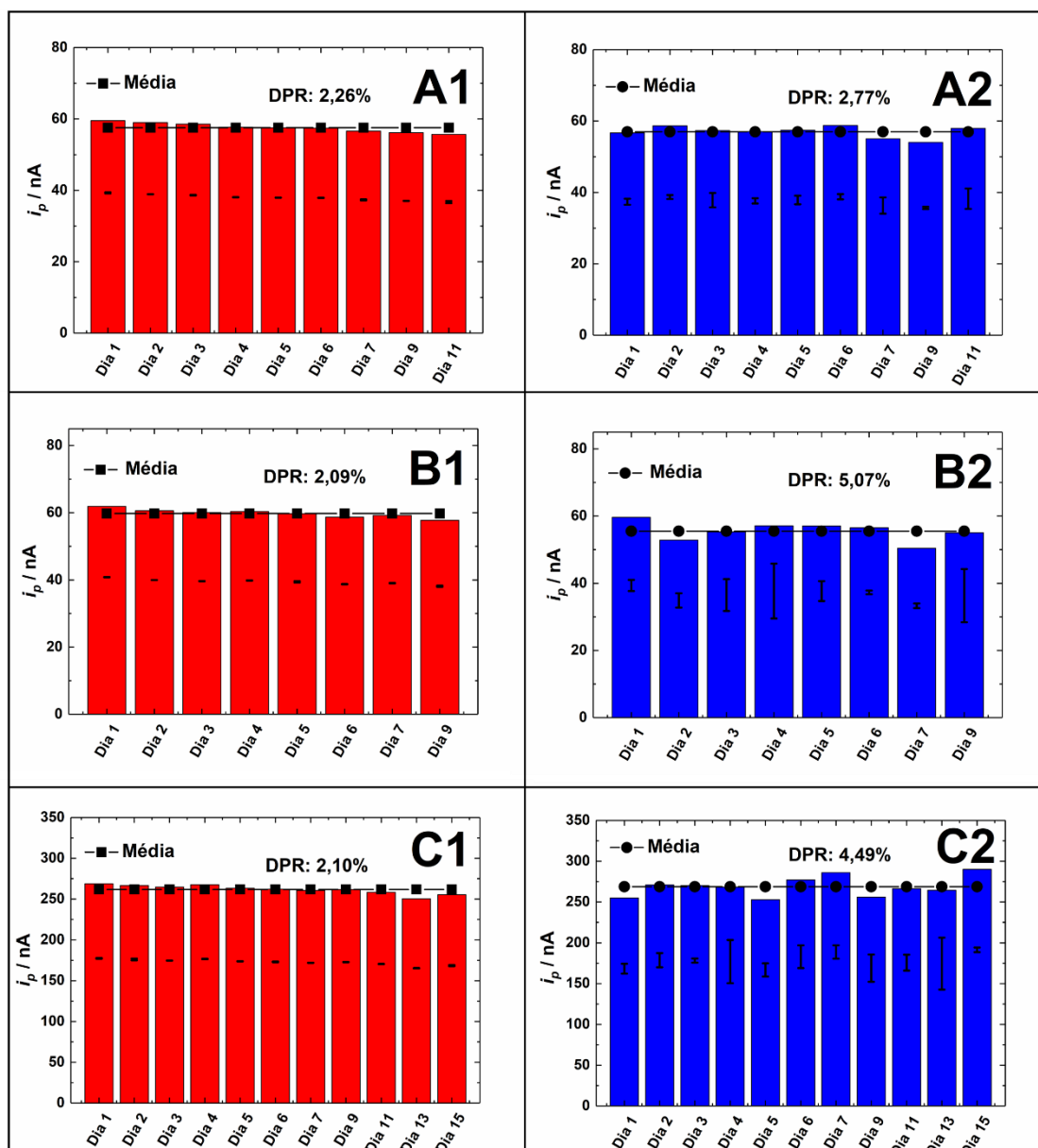


Figura 22. Comparação entre injeções automatizadas (1) e manuais (2) de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 5-HTP (A), 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO₂⁻ (B) e 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR (C) realizadas durante 15 dias consecutivos. Resultados para $n = 3$ medidas.

Em termos de velocidade de medida, a injeção automatizada resultou em frequências analíticas mais altas do que as obtidas com a injeção manual (PAR: 134 vs. 111 injeções h⁻¹; nitrito: 126 vs. 98 injeções h⁻¹; 5-HTP: 170 vs. 149 injeções h⁻¹), representando um tempo de análise mais curto. Esse aumento é atribuído às injeções sequenciais automatizadas permitidas pela pipeta eletrônica com apenas um passo de aspiração (pelo menos 25 injeções de 4,0 μL usando as ponteiros Combitips® de 1-100

μL), ao contrário da pipeta manual, que requer um passo de aspiração e dispensação para cada injeção individual. Essa característica é especialmente interessante, por exemplo, ao otimizar parâmetros instrumentais/experimentais (como pH do tampão, potencial de detecção ou volume de injeção da amostra) durante o desenvolvimento de métodos analíticos, no qual a mesma solução padrão é injetada muitas vezes ($n \geq 3$). Nesses casos, a injeção automatizada pode otimizar significativamente o trabalho rotineiro.

A fim de comparar os modos de injeção na caracterização analítica, curvas de calibração foram construídas para os analitos modelos. Como mostrado na Figura 23, observou-se uma dependência linear na faixa de concentração de 10-120 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para 5-HTP e 10-100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para NO_2^- e PAR. Em todos os casos, os coeficientes de determinação das curvas (R^2) foram ligeiramente mais altos e os desvios padrões (DPs) entre as réplicas foram menores quando utilizada a injeção automatizada. Além disso, os coeficientes angulares obtidos com a injeção automatizada também foram mais altos, resultando em maiores sensibilidades e limites de detecção (LDs) entre 2,5 e cinco vezes menores em comparação com aqueles obtidos a partir das curvas construídas usando injeção manual. Os LDs foram calculados usando a equação $3 \times \text{DP}_a/b$, na qual DP_a é o desvio padrão do coeficiente linear e b é o coeficiente angular da curva analítica [42], resultando em 3,22 e 8,46 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para 5-HTP, 0,72 e 3,51 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para nitrito e 0,40 e 1,62 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para PAR, usando injeção automatizada e manual, respectivamente.

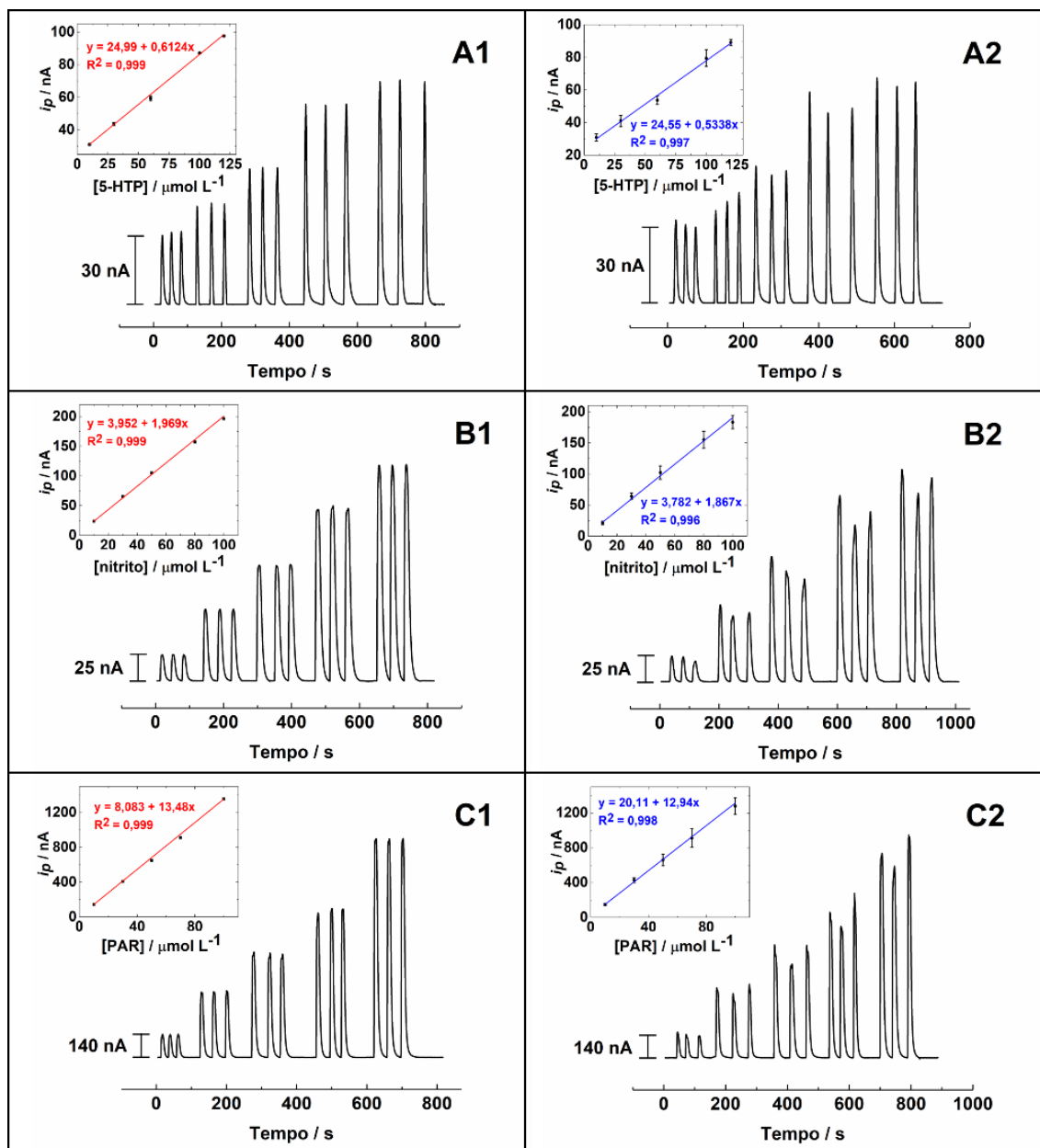


Figura 23. Amperogramas de 5-HTP nas concentrações de 10,0, 30,0, 60,0, 100,0 e 120,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (A); de nitrito a 10,0, 30,0, 50,0, 80,0 e 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (B); e de PAR a 10,0, 30,0, 50,0, 70,0 e 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (C) registrados com injeção automatizada (1) e manual (2). As curvas de calibração obtidas estão mostradas nos gráficos inseridos. Resultados para $n = 3$ medidas.

No contexto apresentado, é evidente que a injeção automatizada melhora significativamente o desempenho dos μTEDs , tornando o passo de injeção mais rápido (facilita múltiplas injeções), mais fácil (mais confortável) e mais reprodutível (muito menos dependente do fator humano). Ademais, as pipetas eletrônicas modernas oferecem

uma variedade de programas de dispensação computadorizados, que se diferenciam de acordo com o modelo e o fabricante. Isso torna esse modo de injeção muito mais personalizável, versátil e independente do usuário, permitindo novas aplicações (por exemplo, automatização de estudos envolvendo volume de injeção e velocidade de dispensação, diluições seriadas para curva de calibração/análise de amostras, mistura de soluções). Como demonstrado aqui, essa nova plataforma impressa em 3D combinada com pipetas eletrônicas representa um avanço significativo na operação e nas possibilidades de aplicação dos μ TEDs.

3.4.2. Aplicação do CB/PLA- μ TED para a análise de íon ferroso

3.4.2.1. Investigação do comportamento voltamétrico do analito

Para verificar as melhorias e a aplicação prática proporcionadas pela abordagem apresentada neste trabalho em rotinas analíticas, a plataforma de μ TED com injeção automatizada foi utilizada para a determinação de íon ferroso. Inicialmente, o perfil eletroquímico do analito na superfície do eletrodo de CB/PLA foi investigado através do registro de voltamogramas cíclicos em condições estacionárias. Como mostrado na Figura 24, utilizando-se um meio composto por tampão BR 0,10 mol L⁻¹ (pH 6,5), o íon ferroso apresentou um pico de oxidação em $E_{pa} = +0,54$ V e um pico de redução em $E_{pc} = -0,32$ V. Esse comportamento possibilita a detecção eletroquímica do analito utilizando o μ TED, estando em conformidade com o esperado para essa espécie [43–45].

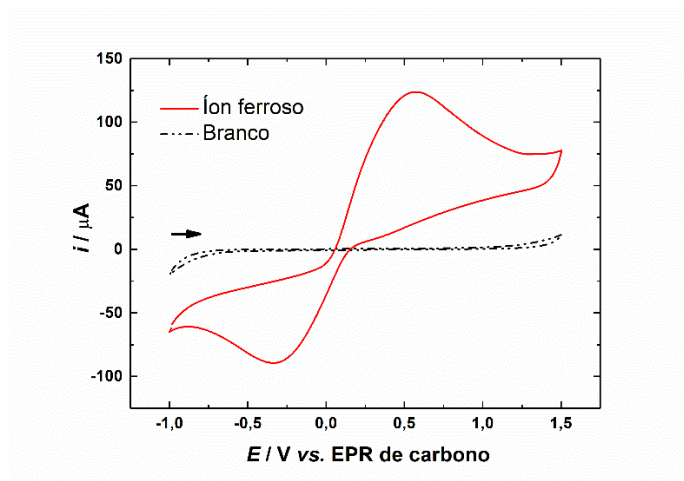


Figura 24. Voltamogramas cíclicos na ausência (linha tracejada) e na presença (linha sólida) de 1 mmol L⁻¹ de íon ferroso registrados com o detector CB/PLA em uma célula estacionária. Eletrólito de suporte: tampão BR 0,10 mol L⁻¹ (pH = 6,5); velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.

3.4.2.2. Otimização das condições para a análise de injeção em microfluxo (μ FIA)

Os parâmetros experimentais e instrumentais relacionados à μ FIA foram estudados e otimizados para obter as melhores condições de medida do íon ferroso. As variáveis selecionadas foram concentração e pH do tampão, potencial de detecção, diferença de altura entre os reservatórios de entrada e saída, número de fios de algodão, volume de injeção e distância da injeção (em relação ao detector). Além disso, dois novos parâmetros relacionados ao uso da pipeta eletrônica e do suporte de pipeta de 3 eixos também foram investigados: velocidade de injeção e altura de injeção (em relação ao canal microfluídico de algodão).

Primeiramente, o eletrólito de suporte tampão BR foi otimizado. A concentração do tampão foi estudada na faixa de 0,05 a 0,20 mol L⁻¹. Na Figura 25A, que apresenta o gráfico do sinal do analito em relação à concentração do tampão, pode-se notar que a maior corrente de pico é alcançada em 0,10 mol L⁻¹. Assim, essa concentração foi escolhida para a continuação dos estudos. O pH do tampão foi avaliado na faixa de 2,0 a 6,0, como mostrado na Figura 25B. A corrente de pico atingiu seu máximo em pH = 4,0, diminuindo significativamente em valores superiores. Portanto, o valor de pH escolhido como ideal para as medidas foi 4,0.

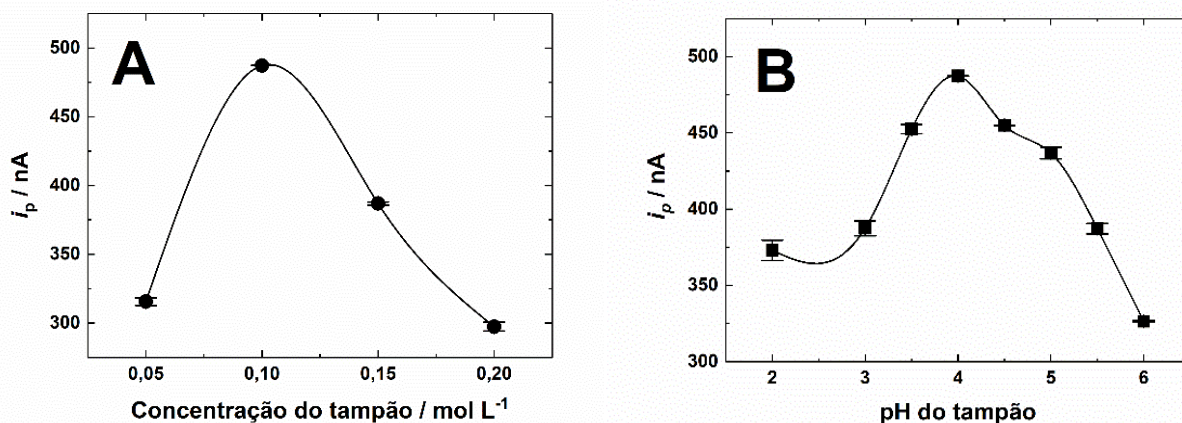


Figura 25. Efeito da concentração do tampão (A) e do pH do tampão (B) na resposta amperométrica de 100 μ mol L⁻¹ de íon ferroso. Potencial de detecção: 0,50 V; pH do tampão BR em (A): 5,0; concentração do tampão BR em (B): 0,10 mol L⁻¹. Resultados para $n = 3$ medidas.

Subsequentemente, foi realizado um estudo do potencial de detecção de Fe^{2+} aplicado ao sensor CB/PLA. Como mostrado na Figura 26, o potencial de detecção foi avaliado na faixa de + 0,20 a + 1,0 V, se baseando na faixa de potencial de pico anódico obtida no voltamograma cíclico do analito apresentado na Figura 24, no qual a corrente de pico atingiu seu máximo em + 0,70 V, permanecendo praticamente constante até + 0,85 V e depois decaindo. Este perfil está de acordo com o observado no voltamograma cíclico obtido (Figura 24). Levando em consideração a intensidade do sinal e a seletividade, + 0,70 V foi selecionado como o potencial ótimo, sendo o menor valor de potencial que proporcionou a maior corrente de pico entre os valores estudados.

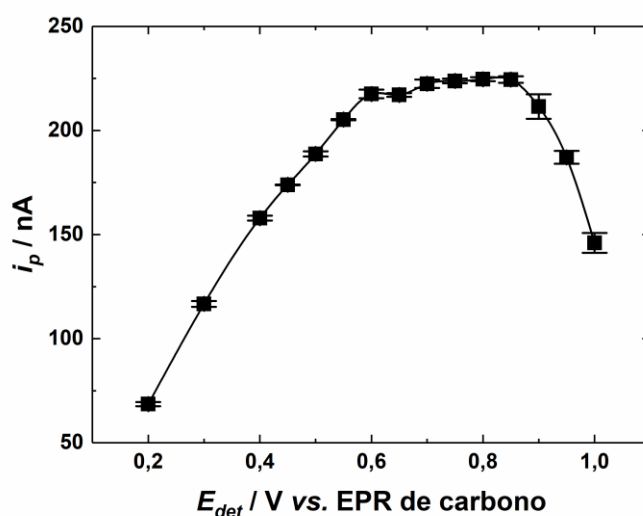


Figura 26. Dependência da resposta amperométrica de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso em relação ao potencial de detecção. Eletrólito de suporte: tampão BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0). Resultados para $n = 3$ medidas.

Em seguida, dois parâmetros relacionados à taxa de fluxo passivo do dispositivo foram estudados: número de fios de algodão e diferença de altura entre os reservatórios de entrada e saída. O número de fios de algodão agrupados no dispositivo para formar o canal microfluídico variou de 1 a 9, sendo que a corrente de pico máxima foi atingida quando 6 fios foram utilizados, conforme apresentado na Figura 27A. Os valores mais baixos de corrente de pico obtidos com diferentes números de fios podem ser causados pela menor eficiência de diluição do analito quando injetado no canal, devido à variação da largura desse canal. Isso ocorre por uma menor ou maior quantidade de fios que não seja o ideal, o que faz com que a taxa de fluxo não consiga compensar a diluição do analito

[25]. A taxa de fluxo do μ TED também é fortemente influenciada pela diferença de altura entre os reservatórios de entrada e saída, uma vez que essa diferença auxilia no efeito de capilaridade do fio causado pela ação da gravidade [46,47]. Como a plataforma microfluídica desenvolvida permite um ajuste fácil do reservatório de saída ao desapertar os parafusos usados para sua fixação, foi necessário apenas um dispositivo para estudar esse parâmetro, que variou de 25 a 115 mm, como mostrado na Figura 27B. Como pode ser observado, a diferença de altura de 55 mm proporcionou um aumento significativo no sinal, indicando que essa é a altura que mais favorece o desempenho analítico de acordo com a taxa de fluxo passivo desenvolvida pelo sistema. Portanto, 55 mm foi o valor selecionado como ideal para os experimentos subsequentes.

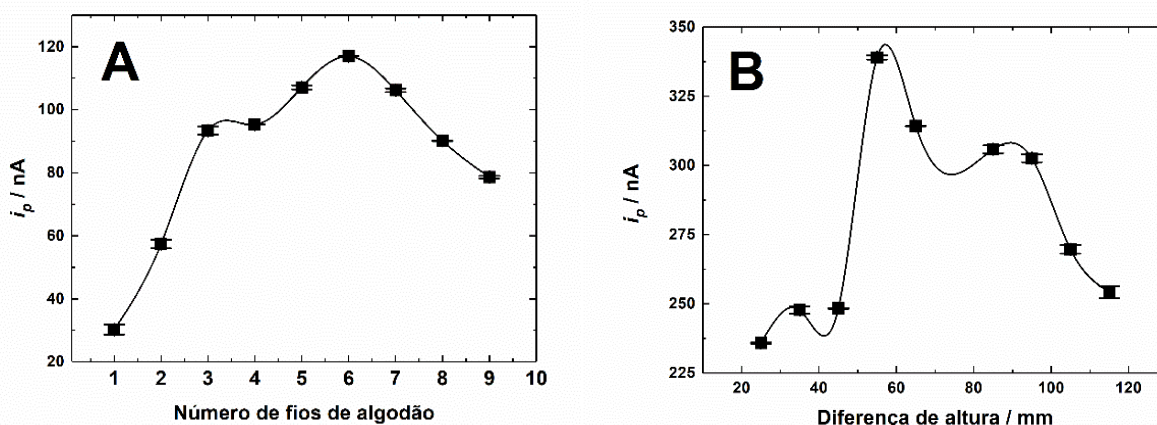


Figura 27. Efeito do número de fios de algodão (A) e da diferença de altura entre os reservatórios de entrada e saída (B) na resposta amperométrica do μ TED. As medidas foram realizadas na presença de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso. Eletrólito de suporte: tampão BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0). Resultados para $n = 3$ medidas.

Na sequência, foram investigados os parâmetros relacionados à injeção no μ TED. O volume de analito injetado variou de 1 a $8 \mu\text{L}$, conforme mostrado na Figura 28A. De acordo com os dados obtidos, a corrente de pico aumenta significativamente até $4 \mu\text{L}$ e depois se mantém praticamente constante, com uma pequena queda em seu valor, obtendo-se correntes de pico mais baixas em volumes de injeção maiores. Essa queda de pico deve-se provavelmente ao fato de que os fios de algodão são canais com diâmetros muito pequenos, de modo que não suportam grandes volumes de analito. Isso sugere que

4 μL é o volume de injeção ideal, pois esse valor permite um fluxo adequado do analito através da zona de detecção sem causar saturação nos canais. A distância de injeção foi investigada de 0 a 8 mm, no qual 0 mm representa a zona imediatamente antes do detector de três eletrodos e 8 mm é a distância máxima do ponto de detecção, próxima ao reservatório de entrada do dispositivo. Como pode ser visto na Figura 28B, as correntes de pico foram inversamente proporcionais à distância, sendo a corrente de pico máxima alcançada a uma distância de 0 mm, que foi escolhida como ideal. Esse comportamento pode ser explicado pelo fato de que, quanto maior o caminho que o analito precisa percorrer para alcançar o detector, maior é a sua dispersão ao longo desse trajeto. As Figuras 28C e 28D mostram os amperogramas referentes aos estudos de volume e distância de injeção, respectivamente. Nelas, pode ser observado o alargamento dos picos dos demais valores, que não os ótimos, para ambos os estudos, devido à maior dispersão do analito.

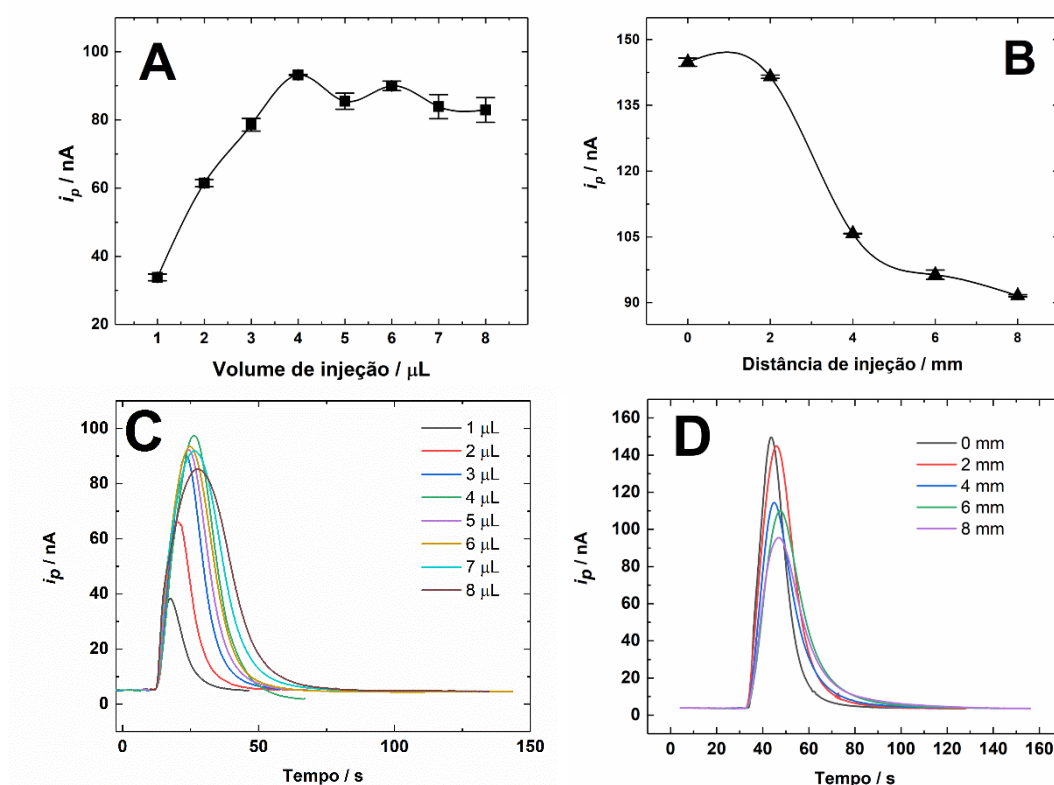


Figura 28. Dependência das correntes de pico de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso em relação ao volume de injeção (A) e à distância de injeção do detector (B) e os referentes amperogramas do estudo de volume de injeção (C) e de distância de injeção (D). Eletrólito

de suporte: tampão BR 0,10 mol L⁻¹ (pH = 4,0). Resultados de (A) e (B) para $n = 3$ medidas.

Por fim, dois novos parâmetros de injeção explorados pela primeira vez em conjunto com μ TEDs foram estudados: velocidade de injeção e altura de injeção. A Figura 29A mostra a influência da velocidade de injeção da micropipeta eletrônica, que variou de 0,12 a 1,0 $\mu\text{L s}^{-1}$, na corrente de pico. De acordo com os resultados, a corrente de pico aumentou até 0,18 $\mu\text{L s}^{-1}$, seguida de uma diminuição no sinal e o aumento dos desvios padrões em taxas mais altas. Uma possível razão para isso é que, quando o analito é dispensado muito rapidamente, pode saturar a capacidade de fluxo dos canais de algodão e causar uma maior dispersão do analito antes de alcançar o detector, prejudicando a sensibilidade e a reprodutibilidade das medidas. Essa descoberta destaca uma vantagem da injeção eletrônica em relação à injeção convencional, pois a primeira proporciona uma velocidade de injeção constante e eletronicamente controlada, evitando problemas de reprodutibilidade e sensibilidade que podem ocorrer com a injeção manual ao usar micropipetas convencionais. Assim, 0,18 $\mu\text{L s}^{-1}$ foi definido como a melhor velocidade de injeção. A altura da micropipeta eletrônica durante a injeção foi estudada ajustando-se sua ponta em diferentes posições em relação aos fios de algodão, utilizando o suporte de pipeta de 3 eixos desenvolvido neste trabalho. Como apresentado na Figura 29B, a altura ideal para realizar as injeções foi de aproximadamente 0,20 mm, valor equivalente à espessura de duas folhas de papel A4 sobrepostas. Alturas maiores causaram uma diminuição no sinal devido ao fato de que o analito é injetado muito longe dos canais de algodão e não é transportado adequadamente pelo fluxo passivo. Em distâncias menores que 0,20 mm, o analito se dispersa de forma aleatória, gerando medidas instáveis, uma vez que é necessário um espaço mínimo para que o volume injetado saia corretamente da ponta da pipeta e seja transportado pelo fluxo passivo dos fios de algodão. Além disso, se a ponta da pipeta tocar o canal de algodão durante a injeção (distância de 0 mm), ocorre uma vibração nos fios, causando ruídos que comprometem a medida. Todos os parâmetros investigados, faixas e valores ótimos estão resumidos na Tabela 14 abaixo.

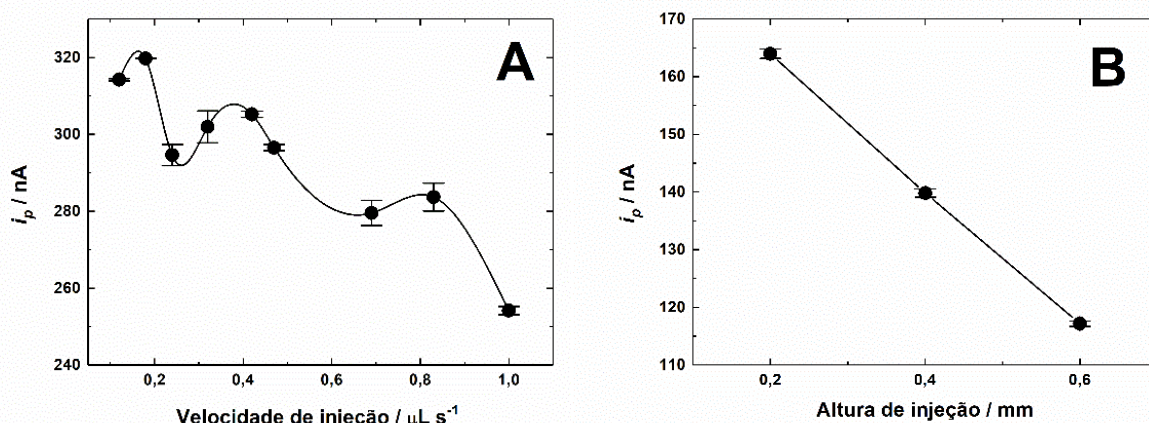


Figura 29. Dependência das correntes de pico de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso em relação à velocidade de injeção (A) e à altura de injeção referente aos fios de algodão (B). Eletrólito de suporte: tampão BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0). Resultados para $n = 3$ medidas.

Tabela 14. Parâmetros instrumentais e experimentais otimizados para a medida do íon ferroso usando a plataforma CB/PLA- μTED com injeção automatizada e tampão BR como eletrólito.

Parâmetro	Faixa investigada	Valor ótimo
Concentração do tampão	0,05 a $0,20 \text{ mol.L}^{-1}$	$0,10 \text{ mol.L}^{-1}$
pH	2,0 a 6,0	4,0
Potencial de detecção	0,20 a 1,0 V	+ 0,70 V
Número de fios de algodão	1 a 9	6
Diferença de altura	25 a 115 mm	55 mm
Volume de injeção	1 a $8 \mu\text{L}$	$4 \mu\text{L}$
Distância de injeção	0 a 8 mm	0 mm (logo antes do detector)
Velocidade de injeção	$0,12$ a $1,0 \mu\text{L s}^{-1}$	$0,18 \mu\text{L s}^{-1}$
Altura de injeção	$0,20$ a $0,60 \text{ mm}$	$0,20$ (ponteira quase encostando no fio)

3.4.2.3. Estudos de repetibilidade, reprodutibilidade, frequência analítica e estabilidade

Sob condições otimizadas, a confiabilidade das medidas utilizando a plataforma μTED foi testada. Uma série de injeções consecutivas ($n = 15$) foi realizada para investigar a repetibilidade, obtendo-se um DPR de 1,81%, como mostrado na Figura 30A.

Esse resultado indica uma excelente replicabilidade das injeções automatizadas e uma resposta negligenciável a possíveis contaminações causadas por efeitos como passivação e envenenamento. Esse resultado destaca as vantagens dos sistemas microfluídicos que, em comparação aos sistemas estacionários, proporcionam um tempo de contato mais curto entre o analito e o eletrodo de trabalho, melhorando a limpeza da superfície do eletrodo e, conseqüentemente, sua vida útil. Para comparação, também foi realizada uma série de quinze injeções nas mesmas condições com injeção manual, conforme mostrado na Figura 30B. Nesse caso, o DPR obtido foi mais de quatro vezes maior do que o da injeção automatizada (7,99%). Esses resultados confirmam que a injeção com pipeta eletrônica é eficiente e melhora significativamente a estabilidade e a precisão das medidas do μ TED. Essa melhoria pode ser atribuída ao fato de que, ao contrário da injeção manual, a injeção automatizada permite manter a altura, o ângulo e a posição da pipeta, bem como a velocidade e os volumes de injeção, sempre constantes.

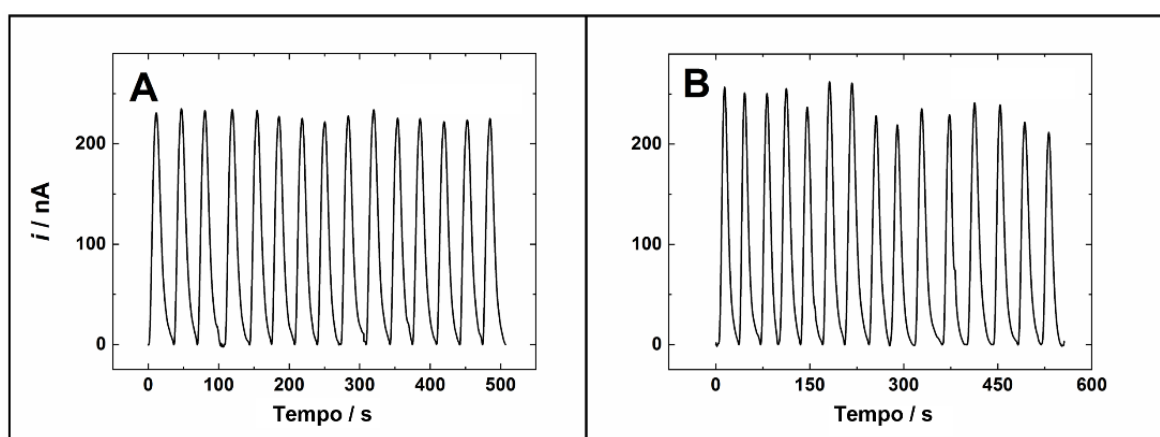


Figura 30. Medidas amperométricas obtidas para injeções sucessivas ($n = 15$) de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso utilizando injeção automatizada (A) e manual (B). Condições experimentais: vide Tabela 14.

Também é importante discutir o avanço em termos de velocidade de análise. O uso de injeção eletrônica resultou em uma frequência analítica aproximadamente 12% maior do que a obtida com a injeção convencional (112 vs. $93 \text{ injeções h}^{-1}$). Esse aumento é atribuído ao fato de que, ao contrário das pipetas manuais, a pipeta eletrônica permite realizar múltiplas injeções com apenas um passo de aspiração, economizando tempo durante as medidas consecutivas. Esse recurso é particularmente importante ao realizar experimentos que envolvem a injeção repetida da mesma solução padrão em replicatas (n

≥ 3), como no desenvolvimento de métodos analíticos e na otimização de parâmetros instrumentais/experimentais.

A reprodutibilidade foi verificada realizando-se medidas com diferentes dispositivos CB/PLA- μ TED ($n = 5$). Como mostrado na Figura 31A, foi obtido um valor de DPR de 4,19%, indicando que, mesmo utilizando protocolos de produção simples e de baixo custo, o dispositivo é confiável e reprodutível. A estabilidade do sistema foi avaliada por meio de medidas realizadas ao longo de quinze dias usando o mesmo dispositivo, no qual o sensor de três eletrodos foi ativado apenas no primeiro dia. Como pode ser visto na Figura 31B, as correntes de pico não apresentaram variação significativa ao longo desse período, proporcionando um DPR de 1,94%. Esse baixo valor indica uma vida útil relativamente longa, com uma perda mínima de sensibilidade, permitindo a reutilização do mesmo sensor por mais de duas semanas.

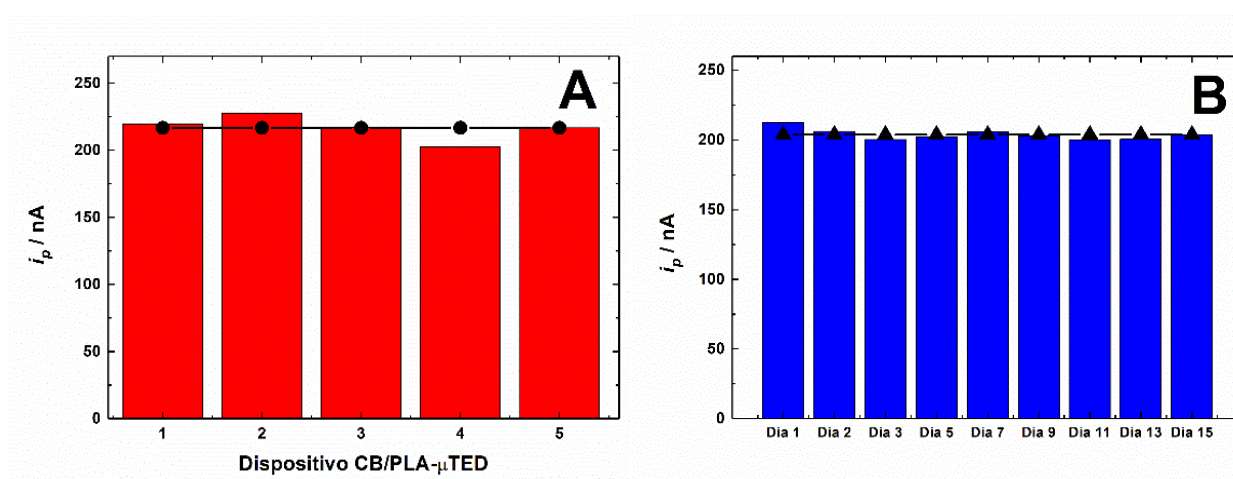


Figura 31. Gráficos obtidos durante os estudos de reprodutibilidade intereletrodo (A) e estabilidade interdias (B). Todas as medidas foram realizadas na presença de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso utilizando injeção automatizada. Condições experimentais: vide Tabela 14.

Sob condições otimizadas, a taxa de fluxo fornecida pelo sistema foi investigada, obtendo-se um valor de aproximadamente $0,34 \mu\text{L s}^{-1}$. Essa taxa foi calculada a partir da passagem de água do reservatório de entrada para o de saída, através dos fios de algodão fixados no μ TED. Após 30 minutos da passagem, a água que chegou ao reservatório de saída foi pesada e, considerando sua densidade, foi transformada em volume, para que

sua vazão no canal de algodão fosse calculada. O fluxo obtido é similar aos valores reportados na literatura para dispositivos microfluídicos baseados em fios [30,48]. Esses resultados validam a confiabilidade da plataforma desenvolvida. O custo de produção de cada dispositivo completamente montado (plataforma μ TED e detector de três eletrodos) foi estimado em cerca de R\$ 33,76, o que pode ser considerado um valor baixo, uma vez que a plataforma pode ser reutilizada múltiplas vezes.

3.4.2.4. Figuras de mérito e aplicação a amostras reais

Uma curva de calibração foi construída a partir de injeções em triplicata (no modo automatizado) de padrão de íon ferroso em diferentes concentrações (0,70 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Conforme mostrado na Figura 32, as equações lineares obtidas foram i_p (nA) = $(1,22 \pm 0,03) + (1,68 \pm 0,05) \times C_{\text{Fe}^{2+}}$ (μM) para a curva ascendente e i_p (nA) = $(1,08 \pm 0,04) + (1,84 \pm 0,01) \times C_{\text{Fe}^{2+}}$ (μM) para a curva descendente. As inclinações obtidas apresentaram valores semelhantes (1,68 e 1,84 $\text{nA L } \mu\text{mol}^{-1}$), indicando efeitos de memória insignificantes. Os sinais analíticos obtidos em ambas as direções apresentaram uma boa dependência linear com a concentração, com coeficientes de determinação (R^2) de 0,997 e 0,999 nas direções ascendente e descendente, respectivamente. O limite de detecção (LD) foi calculado pela relação $\text{LD} = 3 \times \text{DP}_a / b$, onde DP_a é o desvio padrão do coeficiente linear e b é a inclinação da curva de calibração. O limite de quantificação (LQ) foi calculado usando a relação $\text{LQ} = 10 \times \text{DP}_a / b$ [42]. Os valores obtidos para o LD e LQ foram 0,21 e 0,70 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Essa detectabilidade permite a quantificação de ferro em produtos alimentícios e suplementos vitamínicos. Além disso, esse LQ está bem abaixo do valor máximo permitido (VMP) de ferro como contaminante em água para consumo humano estabelecido pelo Governo Brasileiro e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*), que é 0,3 mg L^{-1} (ou 5,37 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em ambos os casos [49,50]. Isso torna essa nova abordagem útil também para a quantificação de ferro em amostras ambientais. Para fins de comparação, o LD também foi obtido pelo mesmo protocolo, mas usando injeção manual. Nesse caso, o valor foi quase cinco vezes maior (0,96 $\mu\text{mol L}^{-1}$), confirmando que a injeção automatizada também melhora significativamente a sensibilidade das plataformas eletroanalíticas baseadas em fios.

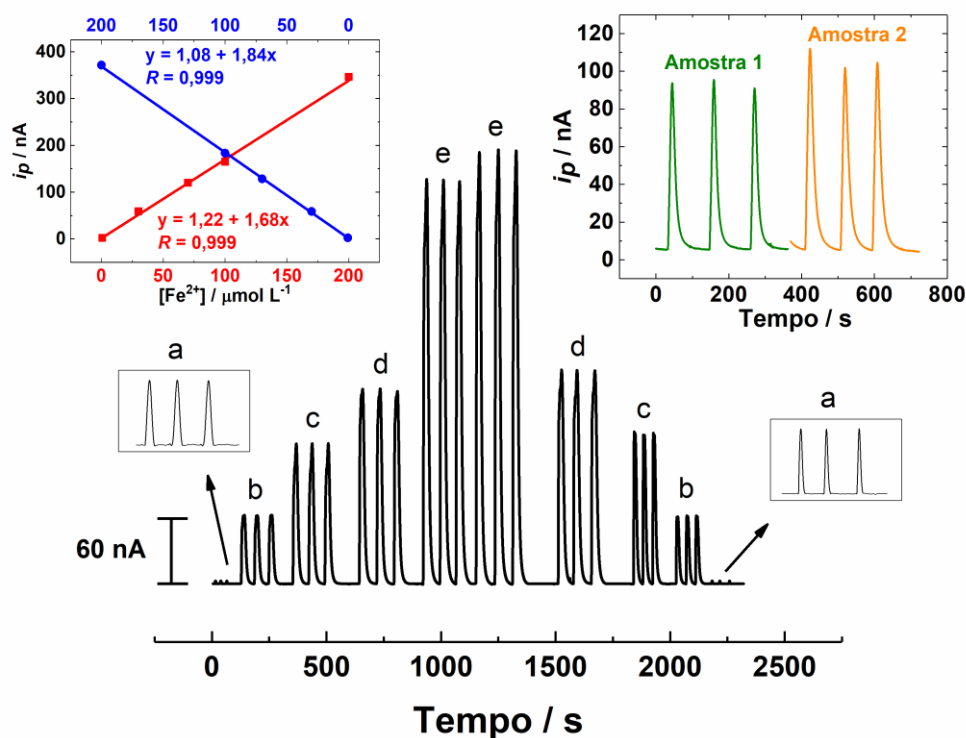


Figura 32. Amperograma do íon ferroso na concentração de 0,70, 30,0, 70,0, 100,0 e 200,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a-e) registrado com a plataforma CB/PLA- μTED usando injeção automatizada. Os gráficos inseridos mostram as curvas de calibração nas direções ascendente (vermelha) e descendente (azul) (resultados para $n = 3$ medidas) e os amperogramas obtidos durante uma das replicatas da análise das amostras. Condições experimentais: vide Tabela 14.

O método baseado em μTED desenvolvido aqui foi empregado para a análise de íon ferroso em dois suplementos farmacêuticos (inserção da Figura 32). As amostras foram medidas em triplicata e, devido à baixa complexidade da matriz, o método de padronização externa foi utilizado. Para fins de comparação, as amostras também foram analisadas por espectrofotometria UV-Vis. Conforme mostrado na Tabela 15, os valores encontrados com o μTED variaram entre 91 e 98 % dos valores declarados nas bulas e mostraram excelente concordância com os resultados espectrofotométricos (o erro relativo foi < 4 % para todas as medidas), sugerindo boa exatidão. Além disso, os DPRs observados durante as medidas das amostras foram < 2 %, indicando excelente precisão. Não foram observadas interferências durante as determinações.

Tabela 15. Resultados obtidos para a determinação de íon ferroso em amostras farmacêuticas usando a plataforma CB/PLA- μ TED acoplada à detecção amperométrica (DA) e a técnica de espectrofotometria UV-Vis.

Amostra	Dosagem rotulada ^a	Resultados do CB/PLA- μ TED $\pm$ DP ^b	Resultados de UV-Vis $\pm$ DP ^b	Erro relativo ^c
Marca 1	40 mg/pílula	36,3 mg $\pm$ 0,5/pílula	35,9 mg $\pm$ 0,1/pílula	1,1 %
Marca 2	40 mg/pílula	39,3 mg $\pm$ 0,7/pílula	40,9 mg $\pm$ 0,2/pílula	- 3,9 %

^a Conteúdo de Fe²⁺ informado na bula do medicamento;

^b Média de $n = 3$ determinações;

^c $[(\text{Resultado da DA em CB/PLA-}\mu\text{TED}) - (\text{Resultado de UV-Vis})] / (\text{Resultado de UV-Vis}) \times 100\%$.

Testes estatísticos (teste t pareado e teste F) foram utilizados para comparar os dados obtidos durante a análise de amostras (Tabela 15) com um nível de confiança de 95% [51,52]. O valor t obtido foi menor que o valor crítico ($t_{\text{calculado}} = 0,28 < t_{\text{crítico}} = 2,57$; $n = 6$). Da mesma forma, o valor F obtido também foi menor que o valor crítico ($F_{\text{calculado}} = 2,81 < F_{\text{crítico}} = 5,05$; $n = 6$). Esses resultados indicam que não há diferença estatística apreciável em termos de precisão e exatidão entre o método baseado em μ TED e o método espectrofotométrico, tornando a abordagem proposta uma ferramenta adequada e eficiente para a análise rápida de íon ferroso. Sendo assim, esta plataforma consiste em um sistema eletroanalítico acessível, confiável, simples de construir e fácil de implementar, que demonstra enorme potencial para a detecção eletroquímica de diversos outros analitos.

3.4.2.5. Ensaio de recuperação

Adicionalmente, a exatidão do método foi avaliada por meio de estudos de recuperação realizados em água da torneira e água de poço de diferentes fontes. Como pode ser observado na Tabela 16, não foram encontrados níveis detectáveis de Fe²⁺ nas amostras de água utilizadas, portanto, as matrizes foram fortalecidas com diferentes concentrações de íon ferroso e as medidas foram realizadas utilizando o método de adição de padrão. Os valores recuperados variaram de 96,4 a 101,9 %, indicando boa exatidão. Além disso, os valores de DPR foram $\leq 3,3$ %, sugerindo boa precisão. Isso confirma a utilidade dessa abordagem para o monitoramento ambiental.

Tabela 16. Resultados do ensaio de recuperação realizado em amostras de água usando a plataforma CB/PLA- μ TED.

Amostra	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$) $\pm \text{DP}^a$	Recuperação (%)	DPR (%)
Água de torneira	0,0	< LQ	-	-
	5,0	$4,8 \pm 0,1$	96,4	2,9
	10,0	$10,3 \pm 0,3$	103,0	3,3
Água de poço	0,0	< LQ	-	-
	5,0	$5,0 \pm 0,06$	100,6	1,1
	10,0	$10,2 \pm 0,2$	101,9	1,9

^a Média de $n = 3$ determinações.

3.4.2.6. Estudos de seletividade e efeito de memória

A seletividade do método foi avaliada através de medidas do íon ferroso na presença de outras substâncias frequentemente presentes em amostras de água que poderiam se tornar possíveis interferentes. Alguns desses compostos, como o paracetamol e o glifosato, não são naturalmente encontrados em água, porém, com o aumento do uso, acabam sendo despejados em águas naturais. As medidas amperométricas foram realizadas na ausência e na presença de vários íons inorgânicos (Ca^{2+} , Al^{3+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Mn^{2+} , Fe^{3+} , F^- , Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , NO_3^-) e compostos orgânicos (glifosato, benzeno, tolueno e paracetamol) em uma proporção de massa entre 1:1 e 1:378 (analito: interferente). A concentração do analito foi fixada em $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ ($25 \mu\text{mol L}^{-1}$), enquanto as concentrações dos interferentes variaram entre 1,4 e 529 mg L^{-1} . A concentração utilizada para cada interferente foi baseada na quantidade tipicamente encontrada em águas naturais, conforme mostrado na Tabela 17. Como apresentado na Figura 33, apenas o paracetamol apresentou interferência significativa, causando um aumento na corrente de pico de cerca de 2,8 vezes. Este resultado deve-se provavelmente à oxidação concomitante do paracetamol, que geralmente ocorre abaixo de 0,70 V (valor usado para a detecção de íon ferroso) na superfície de eletrodos à base de carbono [53,54]. Algumas possíveis soluções para superar essa interferência incluem o uso de métodos de pré-tratamento de amostras baseados na exclusão por tamanho do interferente ou o uso de modificadores na superfície do eletrodo de trabalho para suprimir a resposta do paracetamol, como fenóis oxidados e membranas compósitas de acetato de celulose e Nafion [55–58]. Para as outras espécies investigadas, não foram observadas interferências

significativas, com DPRs inferiores a 4% (usando como referência a corrente de pico do íon ferroso na ausência de interferentes). Esses resultados demonstram uma seletividade aceitável para o método, permitindo sua aplicação na análise de matrizes ambientais.

Tabela 17. Compostos inorgânicos e orgânicos geralmente encontrados em águas naturais e utilizados no estudo de interferentes.

Interferentes	Concentração típica		Concentrações usadas no estudo de seletividade (mg L ⁻¹)	Razão em massa entre o analito e o interferente
	em águas naturais (mg L ⁻¹)	Referência		
Ca ²⁺	74,0	[59]	74,0	1:53
Al ³⁺	2,6	[59]	2,6	1:2
Mg ²⁺	33,0	[59]	33,0	1:24
K ⁺	14,0	[59]	14,0	1:10
Na ⁺	108,0	[59]	108,0	1:77
Mn ²⁺	4,4	[59]	4,4	1:3
Fe ³⁺	12,6	[60]	12,6	1:9
F ⁻	9,2	[61]	9,2	1:7
Cl ⁻	67,0	[59]	67,0	1:48
SO ₄ ²⁻	529,0	[62]	529,0	1:378
PO ₄ ³⁻	5,1	[62]	5,1	1:4
CO ₃ ²⁻	300,0	[63]	300,0	1:214
NO ₃ ⁻	8,7	[62]	8,7	1:6
Glifosato *	0,0097	[64]	1,4	1:1
Benzeno *	0,00056	[65]	1,4	1:1
Tolueno *	0,01	[65]	1,4	1:1
Paracetamol *	0,4	[66]	1,4	1:1

* Para esses compostos, as concentrações utilizadas foram superiores aos valores típicos encontrados em águas naturais para manter uma razão em massa com o analito de pelo menos 1:1 para todas as espécies investigadas.

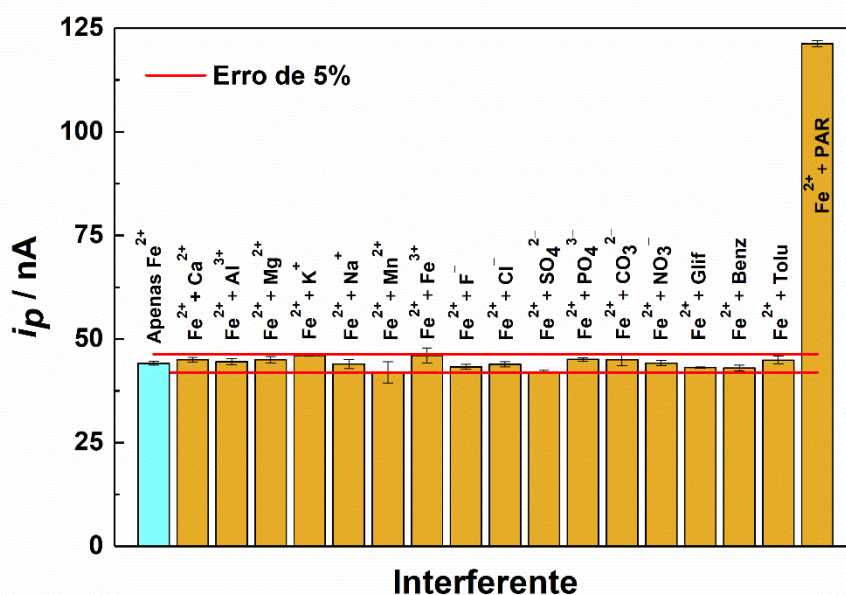


Figura 33. Correntes de pico amperométricas do íon ferroso obtidas na ausência e presença de possíveis interferentes: Ca^{2+} , Al^{3+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Mn^{2+} , Fe^{3+} , F^- , Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , NO_3^- , glifosato (Glif), benzeno (Benz), tolueno (Tolu) e paracetamol (PAR). A concentração do analito foi fixada em $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ (ou $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$), enquanto a concentração utilizada para cada interferente é dada na Tabela 17. As linhas vermelhas representam um erro de $\pm 5\%$ usando como referência o valor da corrente de pico obtido para Fe^{2+} na ausência de qualquer interferente. Resultados para $n = 3$ medidas.

Um estudo mais detalhado foi realizado para avaliar a existência de possíveis efeitos de memória causados por fatores como passivação e envenenamento do sensor eletroquímico. Conforme mostrado na Figura 34, concentrações de 50 e $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso foram injetadas alternadamente em triplicata. Pode-se observar que as correntes de pico para cada concentração permaneceram estáveis. Os valores de DPR entre as correntes de pico foram inferiores a 2% para injeções de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e inferiores a 3% para injeções de $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, indicando que o efeito de memória é irrisório e não afeta significativamente as medidas. Esse efeito de memória mínimo pode ser atribuído ao uso de um sistema de fluxo, que limpa constantemente o eletrodo de trabalho e aumenta sua vida útil.

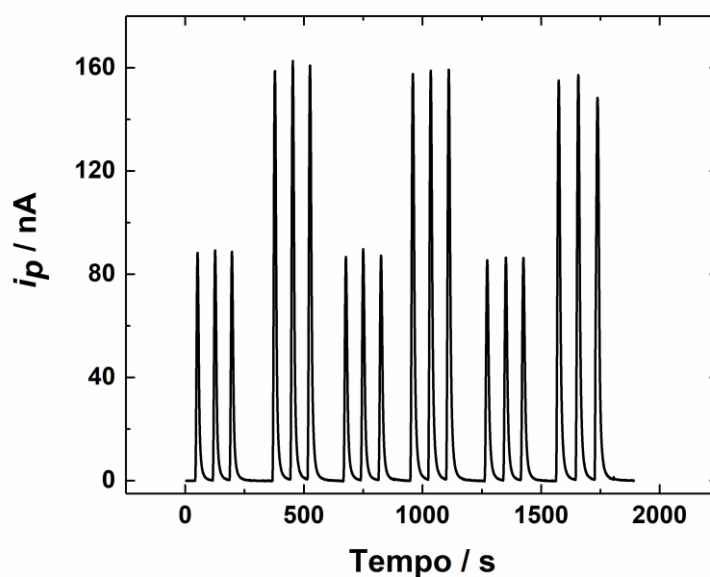


Figura 34. Amperograma obtido para injeções alternadas de 50 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de íon ferroso. Condições experimentais: vide Tabela 14.

3.4.2.7. Eco-escala

O procedimento sugerido por Gałuszka *et al.* [67] foi utilizado para determinar a Eco-escala analítica do sistema aqui proposto. Essa métrica, que se baseia no cálculo de pontos de penalidade (PPs), avalia se um procedimento analítico pode ser categorizado como verde. Esses PPs estão relacionados, entre outros aspectos, aos reagentes utilizados, ao desperdício gerado e às necessidades de energia. Um método perfeitamente ecológico é aquele que recebe uma pontuação de 100 na Eco-escala. A pontuação de um método é calculada subtraindo o número total de PPs do valor ideal (pontuação da Eco-escala = $100 - \text{PPs}$). De acordo com essa medida, uma pontuação de 84 foi calculada para o método baseado em CB/PLA- μTED descrito aqui (Tabela 18), indicando excelente sustentabilidade [68].

Tabela 18. Pontos de penalidade estimados para avaliar a sustentabilidade da abordagem eletroanalítica proposta.

Reagente/material	Número de pictogramas	Palavra sinalizada	Pontos de penalização (PPs)
Ácido acético (0,10 mol L ⁻¹)	2	Perigo (<i>Danger</i>)	4
Ácido fosfórico (0,10 mol L ⁻¹)	2	Perigo (<i>Danger</i>)	4
Ácido bórico (0,10 mol L ⁻¹)	1	Perigo (<i>Danger</i>)	2
Hidróxido de sódio (50% m/v)	1	Perigo (<i>Danger</i>)	2
Íon ferroso	0	Nenhuma	0
Instrumentos/técnica	Energia usada	Pontos de penalização (PPs)	
Detecção amperométrica	< 0,1 kWh por amostra	0	
Pipeta eletrônica para injeção da amostra	< 0,1 kWh por amostra	0	
Impressora 3D para a produção do detector CB/PLA-μTED	< 0,1 kWh por amostra	0	
Geladeira para armazenar as soluções	≤ 1,5 kWh por amostra	1	
Outras condições	Condição	Pontos de penalização (PPs)	
Resíduo	1 - 10 mL	3	
Perigo ocupacional	Processo de hermetização	0	
Pontos de penalização total			16
Pontuação da Eco-escala analítica (100 – PPs)			84

Para comparação, as pontuações de sustentabilidade para dois outros métodos analíticos amplamente empregados na análise do íon ferroso, que são baseados em espectrofotometria UV-Vis e espectrometria de absorção atômica (EAA), também foram calculadas [41,69]. De acordo com as Tabelas 19 e 20, as pontuações obtidas para esses

métodos foram de 68 para UV-Vis e 58 para EAA, o que, embora aceitáveis, são inferiores àquela obtida para a abordagem eletroanalítica. Isso indica que a abordagem proposta aqui é mais sustentável do que os métodos clássicos frequentemente empregados na determinação desse analito. Tal fato pode ser atribuído ao tamanho compacto, baixo consumo de amostras/reagentes e à reduzida produção de resíduos da plataforma analítica microfluídica apresentada.

Tabela 19. Pontos de penalidade estimados para avaliar a sustentabilidade do método UV-Vis utilizado na análise de Fe²⁺.

Reagente/material	Número de pictogramas	Palavra sinalizada	Pontos de penalização (PPs)
Ácido acético (0,10 mol L ⁻¹)	2	Perigo (<i>Danger</i>)	4
Ácido fosfórico (0,10 mol L ⁻¹)	2	Perigo (<i>Danger</i>)	4
Ácido bórico (0,10 mol L ⁻¹)	1	Perigo (<i>Danger</i>)	2
Hidróxido de sódio (50% m/v)	1	Perigo (<i>Danger</i>)	2
Íon ferroso	0	Nenhuma	0
Hidroxilamina (10% m/v)	5	Perigo (<i>Danger</i>)	10
Orto-fenantrolina (0,1% m/v)	2	Perigo (<i>Danger</i>)	4
Instrumentos/técnica	Energia usada	Pontos de penalização (PPs)	
Espectrofotômetro UV-Vis	< 0,1 kWh por amostra	0	
Geladeira para armazenar as soluções	≤ 1,5 kWh por amostra	1	
Outras condições	Condição	Pontos de penalização (PPs)	
Resíduo	> 10 mL	5	
Perigo ocupacional	Processo de hermetização	0	
Pontos de penalização total			32
Pontuação da Eco-escala analítica (100 – PPs)			68

Tabela 20. Pontos de penalidade estimados para avaliar a sustentabilidade do método baseado em espectrometria de absorção atômica proposto para a determinação de Fe^{2+} em amostras de água.

Reagente/material	Número de pictogramas	Palavra sinalizada	Pontos de penalização (PPs)
Ferrozina (10% v/v)	1	Atenção (<i>Warning</i>)	1
Ácido clorídrico (30%)	4	Perigo (<i>Danger</i>)	8
Ácido nítrico (1%)	2	Perigo (<i>Danger</i>)	4
Metanol (20%)	3	Perigo (<i>Danger</i>)	6
Limalha de ferro	2	Perigo (<i>Danger</i>)	4
Hidroxilamina	5	Perigo (<i>Danger</i>)	10
Instrumentos/técnica	Energia usada		Pontos de penalização (PPs)
Espectrômetro de absorção atômica	$\leq 1,5$ kWh por amostra		1
Geladeira para armazenar as soluções	$\leq 1,5$ kWh por amostra		1
Aquecedor	$\leq 1,5$ kWh por amostra		1
Outras condições	Condição		Pontos de penalização (PPs)
Resíduo	1 - 10 mL		3
Perigo ocupacional	Emissão de vapores e gases		3
Pontos de penalização total			42
Pontuação da Eco-escala analítica (100 – PPs)			58

3.5. CONCLUSÃO

As vantagens do uso de pipetas eletrônicas para injeção de amostras em dispositivos microfluídicos baseados em fios foram demonstradas neste trabalho. Ao abordar as principais deficiências da injeção manual, esse método inovador aumenta significativamente a estabilidade e a repetibilidade das medidas. A estratégia de injeção automatizada, embora não seja totalmente automática, reduz consideravelmente o erro humano, o esforço e a dependência das habilidades do usuário. O arranjo analítico utilizado aqui ainda permite aplicações POC e medidas em campo, mesmo com a adição da pipeta eletrônica, pois todos os instrumentos necessários (notebook, μ TED, potenciostato e pipeta eletrônica) são alimentados por bateria e portáteis. O suporte de 3 eixos para pipetas impresso em 3D neste trabalho pode ser convenientemente modificado para funcionar com pipetas eletrônicas de qualquer modelo. A perspectiva para essa estratégia é criar um sistema de injeção totalmente automático, programável por *software* e capaz de realizar cada etapa sem a necessidade de intervenção humana.

A adequação analítica dessa abordagem foi testada através da quantificação de íon ferroso em amostras farmacêuticas e ambientais. Os resultados mostraram boa precisão e exatidão. Sob condições otimizadas, a injeção automatizada proporcionou melhorias significativas em comparação com a injeção manual, como maior frequência analítica e menor limite de detecção. Portanto, de acordo com o que é apresentado aqui, a injeção automatizada representa um grande avanço no campo dos dispositivos eletroanalíticos baseados em fios, permitindo aplicações em diversas áreas, como clínica, forense e ambiental.

3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] G.M. Whitesides, The origins and the future of microfluidics, *Nature* 442 (2006) 368–373. <https://doi.org/10.1038/nature05058>.
- [2] E. Natiele Tiago da Silva, J. Marques Petroni, B. Gabriel Lucca, V. Souza Ferreira, Pencil graphite leads as simple amperometric sensors for microchip electrophoresis, *Electrophoresis* 38 (2017) 2733–2740. <https://doi.org/10.1002/elps.201700160>.
- [3] M.L. Mekonnen, Y.A. Workie, W.-N. Su, B.J. Hwang, Plasmonic paper substrates for point-of-need applications: Recent developments and fabrication methods, *Sens Actuators B Chem* 345 (2021) 130401. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130401>.
- [4] K.L. Wlodarczyk, D.P. Hand, M.M. Maroto-Valer, Maskless, rapid manufacturing of glass microfluidic devices using a picosecond pulsed laser, *Sci Rep* 9 (2019) 20215. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56711-5>.
- [5] S. Torino, B. Corrado, M. Iodice, G. Coppola, PDMS-Based Microfluidic Devices for Cell Culture, *Inventions* 3 (2018) 65. <https://doi.org/10.3390/inventions3030065>.
- [6] B.G. Lucca, S.M. Lunte, W.K. Tomazelli Coltro, V.S. Ferreira, Separation of natural antioxidants using PDMS electrophoresis microchips coupled with amperometric detection and reverse polarity, *Electrophoresis* 35 (2014) 3363–3370. <https://doi.org/10.1002/elps.201400359>.
- [7] A. Siddique, T. Meckel, R.W. Stark, S. Narayan, Improved cell adhesion under shear stress in PDMS microfluidic devices, *Colloids Surf B Biointerfaces* 150 (2017) 456–464. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.11.011>.
- [8] C.A. Baker, R. Bulloch, M.G. Roper, Comparison of separation performance of laser-ablated and wet-etched microfluidic devices, *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2011) 1473–1479.
- [9] L. Zhang, W. Wang, X.-J. Ju, R. Xie, Z. Liu, L.-Y. Chu, Fabrication of glass-based microfluidic devices with dry film photoresists as pattern transfer masks for wet etching, *RSC Adv* 5 (2015) 5638–5646.
- [10] B.K. Gale, A.R. Jafek, C.J. Lambert, B.L. Goenner, H. Moghimifam, U.C. Nze, S.K. Kamarapu, A Review of Current Methods in Microfluidic Device Fabrication and Future Commercialization Prospects, *Inventions* 3 (2018).
- [11] R.S.P. Malon, L.Y. Heng, E.P. Córcoles, Recent developments in microfluidic paper-, cloth-, and thread-based electrochemical devices for analytical chemistry, *Rev Anal Chem* 36 (2017) 1–19. <https://doi.org/10.1515/revac-2016-0018>.

- [12] W. Dungchai, O. Chailapakul, C.S. Henry, Electrochemical Detection for Paper-Based Microfluidics, *Anal. Chem.* 81 (2009) 5821–5826. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.11.002>.
- [13] L.-X. Feng, C. Tang, X.-X. Han, H.-C. Zhang, F.-N. Guo, T. Yang, J.-H. Wang, Simultaneous and sensitive detection of multiple small biological molecules by microfluidic paper-based analytical device integrated with zinc oxide nanorods, *Talanta* 232 (2021) 122499. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122499>.
- [14] Y. Yan, B. Kou, L. Yan, Thread-based microfluidic three channel device in combination with thermal lens detection for the determination of copper and zinc, *Analytical Methods* 7 (2015) 8757–8762. <https://doi.org/10.1039/c5ay01458a>.
- [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] G.W. Bishop, J.E. Satterwhite, S. Bhakta, K. Kadimisetty, K.M. Gillette, E. Chen, J.F. Rusling, 3D-Printed Fluidic Devices for Nanoparticle Preparation and Flow-Injection Amperometry Using Integrated Prussian Blue Nanoparticle-Modified Electrodes, *Anal. Chem.* 87 (2015) 5437–5443.
- [17] 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>.
- [18] 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>.
- [19] X. Jing, H. Wang, X. Huang, Z. Chen, J. Zhu, X. Wang, Digital image colorimetry detection of carbaryl in food samples based on liquid phase microextraction coupled with a microfluidic thread-based analytical device, *Food Chem* 337 (2021) 127971. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127971>.
- [20] M. Rumaner, L. Horowitz, A. Ovadya, A. Folch, Thread as a low-cost material for microfluidic assays on intact tumor slices, *Micromachines (Basel)* 10 (2019). <https://doi.org/10.3390/mi10070481>.
- [21] F.R. Caetano, E.A. Carneiro, D. Agustini, L.C.S. Figueiredo-Filho, C.E. Banks, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, Combination of electrochemical biosensor and textile

- threads: A microfluidic device for phenol determination in tap water, *Biosens Bioelectron* 99 (2018) 382–388. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.07.070>.
- [22] W. Tan, E. Powles, L. Zhang, W. Shen, Go with the capillary flow. Simple thread-based microfluidics, *Sens Actuators B Chem* 334 (2021) 129670. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.129670>.
- [23] A.C.M. Oliveira, D.A.G. Araújo, L.A. Pradela-Filho, R.M. Takeuchi, M.A.G. Trindade, A.L. dos Santos, Threads in tubing: an innovative approach towards improved electrochemical thread-based microfluidic devices, *Lab Chip* 22 (2022) 3045–3054.
- [24] 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>.
- [25] 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>.
- [26] 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, *Analytical Methods* 13 (2021) 1349–1357. <https://doi.org/10.1039/d1ay00070e>.
- [27] D. Agustini, L. Fedalto, D. Agustini, L.G. de M. dos Santos, C.E. Banks, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, A low cost, versatile and chromatographic device for microfluidic amperometric analyses, *Sens Actuators B Chem* 304 (2020) 127117. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127117>.
- [28] 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, *Sens Actuators B Chem* 241 (2017) 978–984. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.10.150>.
- [29] 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>.
- [30] R. Akemi Yamashita, R. Marcel Carvalho, J. Marques Petroni, E. Rodrigo Pedão, F. Mesquita Roesse Guerbis, M. Porto Tronchini, V. Souza Ferreira, E. Isaias de Melo, R.

- Amorim Bezerra da Silva, B. Gabriel Lucca, 3D-printed microfluidic thread device with integrated detector: A green and portable tool for amperometric detection of fungicide benzovindiflupyr in forensic samples, *Microchemical Journal* 182 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107853>.
- [31] G. Lippi, G. Lima-Oliveira, G. Brocco, A. Bassi, G.L. Salvagno, Estimating the intra- and inter-individual imprecision of manual pipetting, *Clin Chem Lab Med* 55 (2017) 962–966. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0810>.
- [32] K. Pandya, C.A. Ray, L. Brunner, J. Wang, J.W. Lee, B. DeSilva, Strategies to minimize variability and bias associated with manual pipetting in ligand binding assays to assure data quality of protein therapeutic quantification, *J Pharm Biomed Anal* 53 (2010) 623–630. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.04.025>.
- [33] E. Kim, F. Aqlan, A. Freivalds, Development of an ergonomic four-finger-push manual pipette design, *Appl Ergon* 85 (2020) 103045.
- [34] K.R. Asundi, J.M. Bach, D.M. Rempel, Thumb Force and Muscle Loads Are Influenced by the Design of a Mechanical Pipette and by Pipetting Tasks, *Hum Factors* 47 (2005) 67–76.
- [35] X. Sun, J. Zhang, X. Wang, J. Zhao, W. Pan, G. Yu, Y. Qu, J. Wang, Colorimetric and fluorimetric dual mode detection of Fe²⁺ in aqueous solution based on a carbon dots/phenanthroline system, *Arabian Journal of Chemistry* 13 (2020) 5075–5083. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.02.007>.
- [36] X. Yang, Y. Wang, R. Liu, Y. Zhang, J. Tang, E. Bing Yang, D. Zhang, Y. Zhao, Y. Ye, A novel ICT-based two photon and NIR fluorescent probe for labile Fe²⁺ detection and cell imaging in living cells, *Sens Actuators B Chem* 288 (2019) 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.02.123>.
- [37] S.J. Stohs, D. Bagchi, Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions, *Free Radic Biol Med* 18 (1995) 321–336. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)00159-H](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)00159-H).
- [38] J.R. Burdo, J.R. Connor, Brain iron uptake and homeostatic mechanisms: An overview, *BioMetals* 16 (2003) 63–75. <https://doi.org/10.1023/A:1020718718550>.
- [39] Y. Ke, Z.M. Qian, Iron misregulation in the brain: A primary cause of neurodegenerative disorders, *Lancet Neurology* 2 (2003) 246–253. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00353-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00353-3).

- [40] M. Rehan, M.E. El-Naggar, H.M. Mashaly, R. Wilken, Nanocomposites based on chitosan/silver/clay for durable multi-functional properties of cotton fabrics, *Carbohydr Polym* 182 (2018) 29–41. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.007>.
- [41] G.V. de M. Gabriel, L.M. Pitombo, L.M.T. Rosa, A.A. Navarrete, W.G. Botero, J.B. do Carmo, L.C. de Oliveira, The environmental importance of iron speciation in soils: evaluation of classic methodologies, *Environ Monit Assess* 193 (2021). <https://doi.org/10.1007/s10661-021-08874-w>.
- [42] 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 and Applied Chemistry* 69 (1997) 297–328. <https://doi.org/10.1351/pac199769020297>.
- [43] T.A. de Araujo, N.C. de Moraes, J.M. Petroni, V.S. Ferreira, B.G. Lucca, Simple, fast, and instrumentless fabrication of paper analytical devices by novel contact stamping method based on acrylic varnish and 3D printing, *Microchimica Acta* 188 (2021) 1–12. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-05102-7>.
- [44] P.A. Ferreira, F.M. de Oliveira, E.I. de Melo, A.E. de Carvalho, B.G. Lucca, V.S. Ferreira, R.A.B. da Silva, Multi sensor compatible 3D-printed electrochemical cell for voltammetric drug screening, *Anal Chim Acta* 1169 (2021) 338568. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338568>.
- [45] J.M. Petroni, M.M. Neves, N.C. de Moraes, R.A. Bezerra da Silva, V.S. Ferreira, B.G. Lucca, Development of highly sensitive electrochemical sensor using new graphite/acrylonitrile butadiene styrene conductive composite and 3D printing-based alternative fabrication protocol, *Anal Chim Acta* 1167 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338566>.
- [46] E.M. Richter, D.P. Rocha, R.M. Cardoso, E.M. Keefe, C.W. Foster, R.A.A. Munoz, C.E. Banks, A complete additively manufactured (3Dprinted) electrochemical sensing platform, *Anal Chem* 91 (2019) 12844–12851. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02573>.
- [47] 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, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 840 (2019) 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.03.038>.

- [48] 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>.
- [49] Ministério da Saúde Brasileiro, PORTARIA GM/MS Nº 888, DE 4 DE MAIO DE 2021 - procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade., *Diário Oficial da União, Brazil*, 2021.
- [50] United States Environmental Protection Agency, *Drinking Water Regulations and Contaminants*, United States, 2024.
- [51] N.C. de Moraes, J.M. Petroni, F. de Lima, V.S. Ferreira, B.G. Lucca, Paper-based electrochemical platform modified with graphene nanoribbons: A new and affordable approach for analysis of 5-hydroxy-L-tryptophan, *Microchemical Journal* 183 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.108030>.
- [52] M.E. da S. Ferreira, N.C. de Moraes, V.S. Ferreira, R.A.B. da Silva, J.M. Petroni, B.G. Lucca, A novel 3D-printed batch injection analysis (BIA) cell coupled to paper-based electrochemical devices: A cheap and reliable analytical system for fast on-site analysis, *Microchemical Journal* 179 (2022) 107663. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107663>.
- [53] S. Weheabby, Z. Wu, A. Al-hamry, I.A. Pa, A. Anurag, D. Dentel, C. Tegenkamp, O. Kanoun, Paracetamol detection in environmental and pharmaceutical samples using multi-walled carbon nanotubes decorated with silver nanoparticles, *Microchemical Journal* 193 (2023) 109192. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.109192>.
- [54] N.C. de 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>.
- [55] I.M. Christie, P. Vadgama, S. Lloyd, Modification of electrode surfaces with oxidised phenols to confer selectivity to amperometric biosensors for glucose determination, *Anal Chim Acta* 274 (1993) 191–199. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(93\)80465-W](https://doi.org/10.1016/0003-2670(93)80465-W).
- [56] D. Moatti-Sirat, V. Poitout, V. Thomé, M.N. Gangnerau, Y. Zhang, Y. Hu, G.S. Wilson, F. Lemonnier, J.C. Klein, G. Reach, Reduction of acetaminophen interference in glucose sensors by a composite Nafion membrane: demonstration in rats and man, *Diabetologia* 37 (1994) 610–616. <https://doi.org/10.1007/BF00403381>.

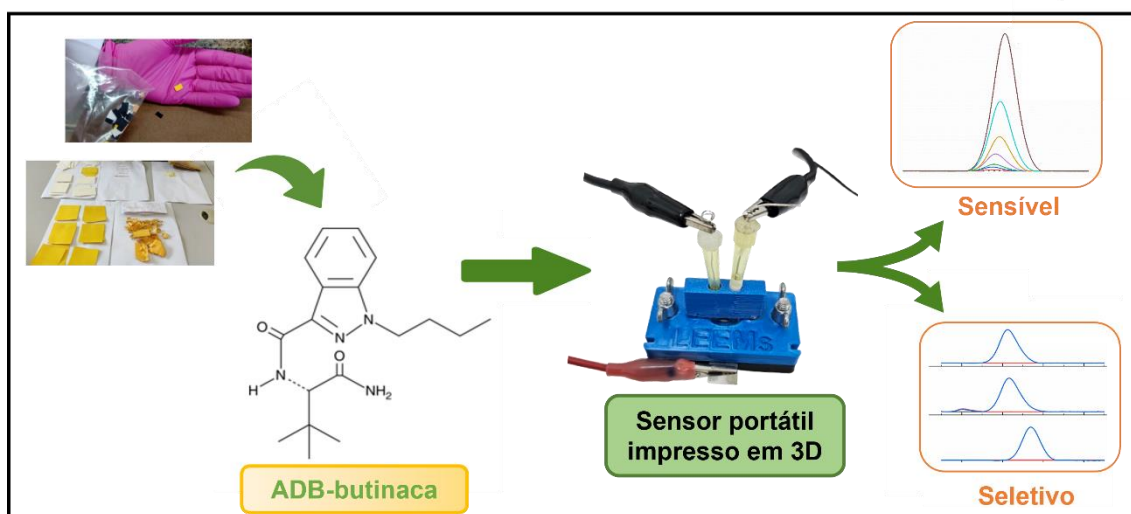
- [57] R. Maidan, A. Heller, Elimination of Electrooxidizable Interferants in Glucose Electrodes, *J. Am. Chem. Soc.* 113 (1991) 9003–9004. <https://doi.org/10.1021/ja00023a091>.
- [58] Y. Zhang, Y. Hu, G.S. Wilson, D. Moatti-Sirat, V. Poitout, G. Reach, Elimination of the Acetaminophen Interference in an Implantable Glucose Sensor, *Anal. Chem* 66 (1994) 1183–1188. <https://doi.org/10.1021/ac00079a038>.
- [59] C.M.C. de Meyer, I. Wahnfried, J.M.R. Rodriguez, R. Kipfer, P.A.G. Avelino, E.A.C. Deza, M. Berg, Hotspots of geogenic arsenic and manganese contamination in groundwater of the floodplains in lowland Amazonia (South America), *Science of the Total Environment* 860 (2023) 160407. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160407>.
- [60] M.B. Campos, H. de Azevedo, M.R.L. Nascimento, C.V. Roque, S. Rodgher, Environmental assessment of water from a uranium mine (Caldas, Minas Gerais State, Brazil) in a decommissioning operation, *Environ Earth Sci* 62 (2011) 857–863. <https://doi.org/10.1007/s12665-010-0572-9>.
- [61] M.V.P. Gonçalves, R.A. Santos, C.A.M. Coutinho, M.J.M. Cruz, Fluoride Levels in the Groundwater and Prevalence of Dental Fluorosis in the Municipality of Santana, in Region Karstic of West Bahia, Brazil, in: *Groundwater Hydrology*, 2020: pp. 1–24. www.intechopen.com.
- [62] J.B. Mattos, M.J.M. Cruz, F.C.F. De Paula, E.F. Sales, Natural and anthropic processes controlling groundwater hydrogeochemistry in a tourist destination in northeastern Brazil, *Environ Monit Assess* 190 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6765-5>.
- [63] C.E. Boyd, Total Hardness, in: *Water Quality*, 2015: pp. 179–187.
- [64] N.L. Pires, C.J.S. Passos, M.G.A. Morgado, D.C. Mello, C.M.C. Infante, E.D. Caldas, Determination of glyphosate, AMPA and glufosinate by high performance liquid chromatography with fluorescence detection in waters of the Santarém Plateau, Brazilian Amazon, *J Environ Sci Health B* 55 (2020) 794–802. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1784668>.
- [65] K.J.M. Gomes, P.A.C. Oliva, H.O. da Rocha, R. de A. Mendes, A.C.G. da Costa, C. dos S. Miranda, N. de O. Almeida, Evaluation of the contamination of the subsurface and groundwater by monoaromatic hydrocarbons in an eastern Amazonian town in northern Brazil, *Environ Earth Sci* 82 (2023). <https://doi.org/10.1007/s12665-022-10680-7>.

- [66] R.F. do Nascimento, J.A.A. de Carvalho Filho, D.C. Napoleão, B.G. Ribeiro, J.J. da S.P. Cabral, A.L.R. de Paiva, Presence Of Non-Steroidal Anti-Inflammatories In Brazilian Semiarid Waters, *Water Air Soil Pollut* 234 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06239-2>.
- [67] A. Gałuszka, P. Konieczka, Z.M. Migaszewski, J. Namieśnik, Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 37 (2012) 61–72. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.013>.
- [68] K. Van Aken, L. Strekowski, L. Patiny, EcoScale, a semi-quantitative tool to select an organic preparation based on economical and ecological parameters, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 2 (2006) 1–7. <https://doi.org/10.1186/1860-5397-2-3>.
- [69] A.M. Sofikitis, J.L. Colin, K. V. Desboeufs, R. Losno, Iron analysis in atmospheric water samples by atomic absorption spectroscopy (AAS) in water-methanol, *Anal Bioanal Chem* 378 (2004) 460–464. <https://doi.org/10.1007/s00216-003-2282-6>.

CAPÍTULO 4

Detecção eletroquímica do canabinoide sintético ADB-butinaca utilizando eletrodo de diamante dopado com boro: uma nova ferramenta analítica forense

RESUMO GRÁFICO DO CAPÍTULO



4.1. INTRODUÇÃO

Novas substâncias psicoativas (NSP) vêm surgindo cada vez mais no mercado do tráfico ilegal de drogas. De 2008 a 2019, quase 900 diferentes NSP foram relatadas em escala global, dos quais os canabinoides sintéticos (CS) representaram a maior porção, e mais de 250 deles já foram relatados ao Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC) [1,2]. Canabinoide sintético é um termo utilizado para se referir a um diverso grupo de substâncias psicoativas produzidas em laboratório para imitar os efeitos dos canabinoides naturais, como o Δ -9-tetrahydrocannabinol (THC) - principal substância psicoativa presente na planta *cannabis sativa* -, ligando-se aos receptores canabinoides tipo 1 e tipo 2 (CB1 e CB2) do sistema nervoso central [2–7].

Enquanto o THC age como um agonista parcial dos receptores CB1 e CB2, grande parte dos CS são agonistas totais desses receptores, sendo muito mais potentes que o canabinoide natural. Assim, pequenas doses, geralmente < 1 mg, já são suficientes para causar algum efeito no usuário. Com a alta potência dessas substâncias, as chances de envenenamento e outros efeitos colaterais (como agitação, ansiedade, hipertensão, psicose, taquicardia, epilepsia, infarto do miocárdio e disfunção renal) também são bastante aumentados, podendo, inclusive, levar à morte do consumidor [2,7–9]. Inicialmente, os CS eram utilizados tanto para estudar os canabinoides endógenos quanto para explorar seus potenciais como medicamentos terapêuticos, porém, no início dos anos 2000 eles apareceram no mercado ilícito como uma forma de uso recreativo após laboratórios clandestinos explorarem as informações disponíveis publicamente para desenvolver novas variantes dos CS [1,4]. Assim, esses compostos começaram a ser consumidos em variados tipos de amostra, como pó, misturados em chocolates, biscoitos, tabaco, entre outros [4].

Apesar dessa comercialização ter se iniciado pela internet por volta de 2004, apenas em 2008 os CS foram detectados pela primeira vez por investigadores forenses na Alemanha e Áustria, no qual tratava-se da substância JWH-018, encontrada em uma amostra de erva [1,6,9–12]. No Brasil, a primeira identificação de um CS pela Polícia Federal ocorreu em 2009, e sua apreensão vem aumentando gradativamente, como mostrou a Polícia Científica do Estado de São Paulo, avaliando que, dentre todas as NSP identificadas, os CS foram o grupo mais detectado entre os anos de 2020 e 2022 [10].

Devido aos problemas de saúde citados acima, causados pelo uso de CS, e à maior ameaça à segurança pública, muitos países vêm regulando legislativamente os CS,

inclusive o Brasil. Porém, como forma de burlar a legislação, os distribuidores dessa classe de substâncias estão frequentemente modificando estruturas de CS já existentes, mantendo ou até mesmo aumentando seus efeitos psicoativos, como forma de continuarem no mercado ilegal de comercialização de substâncias proibidas [3–5,9,11,13].

A ADB-butinaca (ADB-B) é um CS, cujo nome científico proposto pela IUPAC é N-[1-(aminocarbonil)-2,2-dimetilpropil]-1-butil-1H-indazol-3-carboxamida (Figura 35), pertencente à classe de compostos conhecidos como indazol carboxamidas. Desde sua primeira identificação em uma apreensão na Suécia em 2019, em formato de pó, ela se popularizou em diversos locais, tendo sido relatada em um número crescente de países [13–15]. Em maior parte, a identificação da ADB-B tem sido feita em amostras de flores de *cannabis*, haxixe, comprimidos, pó, mistura de ervas para fumar (como o tabaco) e embebidas em papel [7,9]. Em 2021, houve um aumento significativo de apreensões da ADB-B em amostras de papel em alguns estados do Brasil [16].

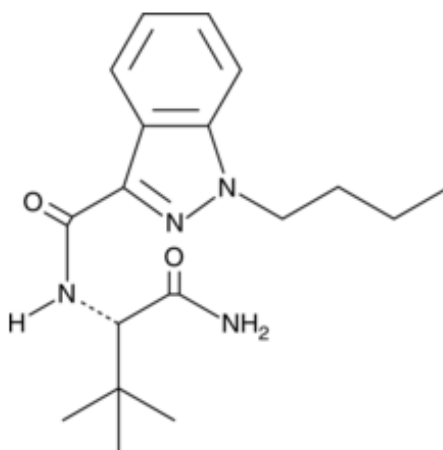


Figura 35. Estrutura química da ADB-butinaca.

Dados os riscos e aumento progressivo de comercialização ilícita dos CS, é de grande importância sua detecção e identificação na toxicologia forense. Porém, como constantemente surgem novas substâncias no mercado com uma ampla diversidade estrutural, as ações necessárias para a apreensão dessas substâncias se tornam um desafio para os legisladores.

O surgimento constante de novos CS no mercado e sua diversidade estrutural, com muitos deles diferindo-se uns dos outros por apenas uma pequena modificação em suas estruturas químicas, representa um desafio significativo para sua detecção [9,11]. A técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas é considerada padrão-ouro para a análise de CS [5,7,17], porém outras técnicas convencionais têm sido relatadas para esse fim, como cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas [3,18], cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectroscopia ultravioleta [19] e ressonância magnética nuclear [20]. Embora esses métodos sejam capazes de detectar canabinoides, eles apresentam algumas desvantagens, como pré-tratamentos complexos de amostras, necessidade de pessoal treinado, uso de instrumentação volumosa, o que impede uma análise em campo ou triagem rápida, e ensaios demorados, favorecendo o acúmulo de casos a serem elucidados pelos cientistas forenses [4,5].

Dessa forma, há uma necessidade urgente de novas metodologias de análise simples e rápidas para combater o tráfico de canabinoides sintéticos. Os métodos de análise baseados em eletroquímica, ou métodos eletroanalíticos, são uma alternativa interessante nesse cenário, por apresentarem instrumentação simples e mais acessível, com uma maior facilidade de uso, necessidade de pré-tratamento mínimo de amostra na maioria dos casos, alta sensibilidade e seletividade, curto tempo de análise e possibilidade de portabilidade de todo o sistema utilizado [5,7].

Exposto isso, o objetivo deste trabalho foi caracterizar e identificar o analito ADB-butinaca em amostras forenses apreendidas pela Polícia Civil de Mato Grosso do Sul através de medidas realizadas utilizando uma célula eletroquímica portátil impressa em 3D e um sistema miniaturizado composto por três eletrodos. A fim de investigar a seletividade do método proposto, foram realizados estudos envolvendo outras substâncias sintéticas apreendidas. Esses experimentos comprovaram a satisfatória capacidade do sistema em detectar o analito ADB-B, distinguindo-o de diversas outras substâncias encontradas no mesmo tipo de amostra (embebidos em papel), inclusive outros CS. Juntamente a esses resultados, as dimensões reduzidas do sistema possibilitam uma triagem rápida de amostras fora do laboratório, permitindo a identificação da ADB-B em campo, podendo, assim, auxiliar na apreensão de drogas de abuso sintéticas encontradas em amostras de papel.

4.2. OBJETIVOS

4.2.1. Objetivo geral

Fabricar um dispositivo eletroquímico impresso em 3D acoplado com eletrodo de diamante dopado com boro para análise do canabinoide sintético ADB-butinaca.

4.2.2. Objetivos específicos

- Projetar, em *software* apropriado, o dispositivo analítico para comportar os eletrodos utilizados como sensor;
- Imprimir as partes através da impressão 3D;
- Montar o sistema eletroquímico com a inserção dos eletrodos nos sítios apropriados;
- Caracterizar eletroquimicamente a substância psicoativa utilizando o dispositivo desenvolvido;
- Otimizar parâmetros e condições analíticas para a aplicação da metodologia proposta na análise da substância de interesse;
- Realizar a aplicação analítica do sensor desenvolvido para a determinação de ADB-butinaca em amostras reais apreendidas pela Polícia Civil de Mato Grosso do Sul.

4.3. METODOLOGIA

4.3.1. Reagentes e soluções

Todos os produtos químicos e materiais utilizados são de grau analítico: hidróxido de sódio (pureza $\geq 98,0\%$) foi distribuído pela Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA); ácido fosfórico (pureza $\geq 85,0\%$) foi obtido pela Acros Organics (Geel, Bélgica); Merck (White-house Station, NJ, EUA) forneceu ácido bórico (pureza $\geq 99,8\%$); ácido acético (pureza $\geq 99,7\%$), éter etílico (pureza $\geq 98,0\%$) e metanol (pureza $\geq 99,5\%$) foram adquiridos da Dinâmica (Indaiatuba, SP, Brasil); ácido sulfúrico (pureza $\geq 95,0\%$) foi fornecido pela Neon (Suzano, SP, Brasil); ADB-butinaca foi cedida pelo Instituto de Análises Laboratoriais Forenses da Polícia Civil de Mato Grosso do Sul; filamento de acrilonitrila butadieno estireno (ABS, diâmetro de 1,75 mm) foi fornecido pela 3DFila (Belo Horizonte, MG, Brasil); parafusos M5 com suas respectivas porcas borboletas e papel adesivo A4 foram adquiridos em lojas locais. As soluções de ADB-butinaca (ADB-B) foram preparadas em metanol. As demais soluções usadas foram preparadas em água deionizada (resistividade $\geq 18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) proporcionada por um sistema de purificador de água por osmose reversa Permution RO0310 (Permution, Curitiba, PR, Brasil). As soluções estoque foram preparadas semanalmente e diluídas diariamente para as soluções de trabalho utilizadas nos experimentos.

4.3.2. Instrumentação

As técnicas de voltametria de onda quadrada (VOQ), voltametria de pulso diferencial (VPD), voltametria cíclica (VC) e cronopotenciometria (CP) foram realizadas através de um potenciostato/galvanostato Autolab modelo PGSTAT 128N (Ecochemie, Utrecht, Holanda) conectado a um computador executando o *software* Metrohm Autolab Nova 2.1. Ambas as partes da célula eletroquímica foram impressas utilizando o termoplástico ABS e uma impressora 3D FDM Ender 3 (Creality, Shenzhen, Guangdong, China) equipada com um bico extrusor de metal de diâmetro de 0,4 mm. O sensor da célula eletroquímica que foi utilizado para as análises consistiu de uma fina película de diamante dopado com boro (DDB, espessura de 1,2 μm , 8000 ppm de nível de dopagem de boro) depositada em uma pastilha condutora de silício (10 $\times$ 10 mm de tamanho com 1,0 mm de espessura) adquirida da NeoCoat SA (La Chaux-de-Fonds, Suíça), de um eletrodo miniaturizado de Ag/AgCl (KCl saturado) e de um fio de platina utilizados como

eletrodo de trabalho (ET), eletrodo de referência (ER) e contra-eletrodo (CE), respectivamente.

4.3.3. Fabricação e montagem da célula eletroquímica

A plataforma desenvolvida para ser utilizada como célula eletroquímica foi desenhada no *software* gratuito de design 3D CAD/CAM Fusion 360 (Autodesk, CA, EUA), obtendo-se arquivos CAD que foram convertidos para o formato STL e, então, processados utilizando o *software* Ultimaker Cura 5.0 (Geldermalsen, Holanda), adquirindo, assim, os arquivos GCODE para impressão em 3D do objeto desenhado. Todas as partes da célula foram fabricadas utilizando filamento ABS como insumo, em uma resolução de camada de 0,20 mm, 100% de preenchimento e velocidade de 40 mm/s.

Como pode ser observado na Figura 36, a célula foi impressa em 3 partes: a primeira (A) é sua base, medindo 30 mm de largura $\times$ 60 mm de comprimento $\times$ 7 mm de espessura, onde, em seu centro há uma cavidade (A1) para ser posicionada uma placa de aço de 35 mm de comprimento $\times$ 15 mm de largura $\times$ 0,5 mm de espessura (I), para dar contato ao eletrodo de trabalho, e, por cima dessa, é colocado o eletrodo de DDB (II); a segunda parte (B) é a porção superior da célula, apresentando as mesmas medidas da base e contendo um orifício oval na parte de cima (B1), com 13 mm de comprimento $\times$ 15 mm de largura, para inserção tanto da solução a ser analisada (volume máximo de 800 μ L) quanto dos eletrodos de referência (III) e contra (IV), e um orifício circular na parte baixo (B2), onde é posicionado um *O-ring* ($\varnothing = 4$ mm) (V) para vedação, com diâmetro de 4 mm, para que a solução seja exposta ao eletrodo de trabalho de DDB que se situa na base da célula; e a terceira parte (C), um anexo vertical de 15 mm de altura $\times$ 30 mm de comprimento $\times$ 7 mm de largura utilizado para posicionar os eletrodos de referência e contra através de sua acomodação nos orifícios (C1) de 5 mm de diâmetro contidos nesse anexo. As partes (A) e (B) são fixadas com o uso de parafusos e suas respectivas porcas (VI), enquanto as partes (B) e (C) são conectadas através de ímãs (VII) posicionados em orifícios de 6 mm cada de ambas as partes. Após a montagem, a célula eletroquímica está pronta para uso com suas conexões feitas diretamente nos eletrodos de referência e contra e indiretamente através da placa de aço para conexão ao eletrodo de trabalho de DDB, como apresentado na Figura 37.

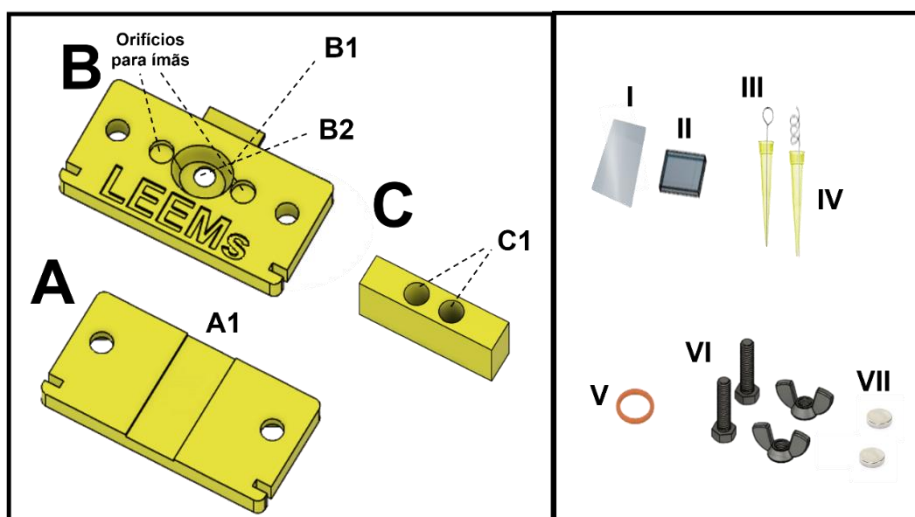


Figura 36. Imagens de CAD dos componentes da célula impressa em 3D: base (A), contendo uma cavidade (A1) para posicionar a placa de metal (I) para dar contato ao eletrodo de trabalho (II); porção superior (B), contendo um orifício maior (B1), para inserção da solução de trabalho e os eletrodos de referência (III) e contra (IV), e um orifício menor (B2), para posicionar um O-ring (V) a fim de expor a solução ao ET; e o anexo (C) utilizado para acomodar o ER e o CE, com os respectivos parafusos, porcas e ímãs (VI e VII) usados para a fixação de todos os componentes.

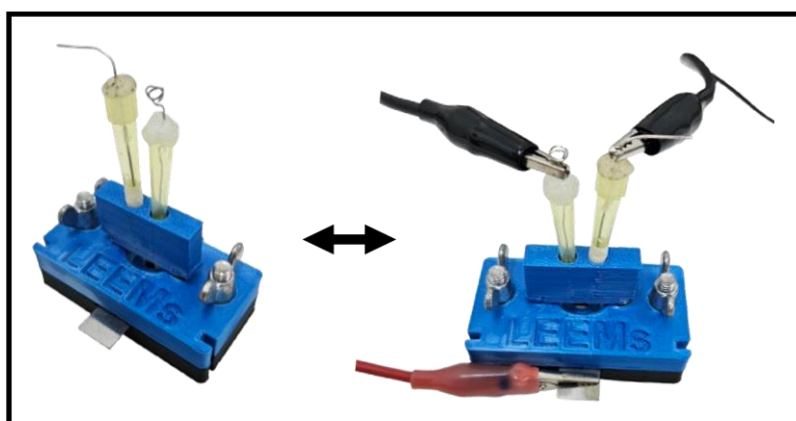


Figura 37. Célula eletroquímica montada e pronta para ser utilizada com as conexões ligadas diretamente nos ER e CE e indiretamente no eletrodo de DDB através da placa de aço.

4.3.4. Estudo de recuperação em amostras de soro sanguíneo

As amostras de soro sanguíneo humano foram cedidas pelo Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (HU - UFMS, Campo Grande - MS). A análise de recuperação do analito foi realizada através da técnica de adição de padrão por se tratar de uma matriz complexa. A amostra foi fortificada com diferentes concentrações de ADB-B e diluída 20 vezes em H_2SO_4 0,15 mol L^{-1} para posteriores análises.

4.3.5. Análise qualitativa e estudo de interferentes

A fim de comprovar a seletividade do método para o analito estudado, foram feitos estudos de análise qualitativa e de interferentes utilizando amostras contidas em selos apreendidos pela Polícia Civil de MS (PC-MS). O primeiro estudo foi realizado às cegas, no qual amostras de ADB-B e de outros compostos, todos infundidos em papel e sem identificação, foram lidas com o objetivo de identificar o analito de interesse entre outros utilizados como drogas de abuso. Nesse experimento, todas as amostras foram diluídas 50 vezes com H_2SO_4 0,15 mol L^{-1} , após a extração de seu selo com 1 mL de metanol. Após a leitura das amostras na ausência do padrão de ADB-B, foi adicionado o analito de interesse e feita nova leitura para comparação dos sinais obtidos.

No segundo estudo, de interferentes, foram realizadas leituras de uma quantidade maior de amostras de drogas de abuso apreendidas pela PC-MS, também infundidas em papel, no qual todas foram previamente extraídas com 1 mL de metanol - com exceção da *cannabis*, que foi apreendida em forma de planta e primeiramente foi extraída com éter etílico para depois ser ressolubilizada em metanol - e diluídas 10 vezes em H_2SO_4 0,15 mol L^{-1} . Após, foi adicionado o padrão de ADB-B a elas para análise eletroanalítica.

4.3.6. Análises cromatográficas

As substâncias utilizadas para estudar a seletividade do método aqui proposto foram detectadas primeiramente por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) pelo Instituto de Análises Laboratoriais Forenses PC-MS. Assim, os resultados obtidos nessas análises foram posteriormente utilizados como referência para os estudos de interferentes e análise qualitativa realizados neste trabalho.

Nas detecções realizadas pela PC-MS, primeiramente as amostras em selo foram extraídas utilizando 1 mL de metanol e, então, foi usado um cromatógrafo a gás modelo 7890A acoplado a um espectrômetro de massas modelo 5975C inert XL MSD com

detector triple-axis da Agilent Technologies® (Santa Clara, Estados Unidos) para as análises qualitativas. A coluna capilar foi uma HP-5ms (5% difenil, 95% dimetilpolisiloxano), também da Agilent, com medidas de 30 m de comprimento, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,25 μm . As condições para as análises foram 3 injeções automáticas de cada amostra no modo splitless, com volume de injeção da amostra de 1 μL e tempo de duração do método de 53 min. A temperatura do injetor foi de 280°C, utilizando hélio (99,999999% de pureza) como gás de arraste, com uma vazão do gás de 1,0 mL min^{-1} , com pressão de 9,3021 psi e duração de 1,3391 min. Quanto à programação de temperatura do forno da coluna do cromatógrafo, inicialmente se encontrava a 80 °C e, em seguida, foi levado a 160 °C, com uma razão de aquecimento de 10 °C/min, se mantendo nesta temperatura por 5 min. Então, foi elevado de 160 °C a 240 °C, com uma razão de aquecimento de 3 °C/min. Por fim, foi elevado de 240 °C a 300 °C, com uma razão de aquecimento de 25 °C/min, se mantendo nesta temperatura por aproximadamente 10 min.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1. Comportamento eletroquímico da ADB-butinaca

Primeiramente, o comportamento eletroquímico da ADB-B foi avaliado através da técnica de VC em um meio composto por ácido sulfúrico 0,10 mol L⁻¹, no qual um voltamograma cíclico apresentando apenas um pico de oxidação (i_{pa}) em $E_{pa} = + 1,50$ V (vs Ag/AgCl) foi obtido. Como pode ser visto na Figura 38, não foi observado nenhum pico de redução (i_{pc}), sugerindo que o processo de oxidação ocorrido na superfície do eletrodo pode ser classificado como sendo irreversível.

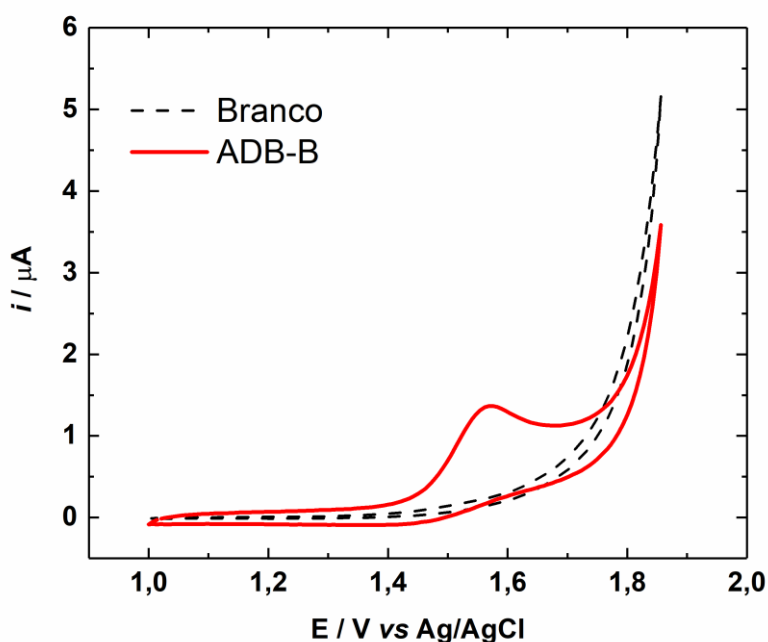


Figura 38. Voltamogramas cíclicos na presença (linha sólida) e na ausência (linha tracejada) de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B. Eletrólito de suporte: H_2SO_4 0,10 mol L⁻¹; velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.

Também foi realizado um estudo com diferentes eletrólitos suporte, em diferentes pHs e concentrações, utilizando tampão BR e H_2SO_4 , através da técnica de VC. Como pode ser visto na Figura 39A, a maior corrente de pico (i_p) foi obtida no menor pH atingido pelo H_2SO_4 0,10 mol L⁻¹, que seria em torno de 0,73. Porém, em relação ao potencial de pico (E_p), como mostra a Figura 39B, pode ser observado que mesmo em outros pHs (estudados na faixa de 2,0 a 10,0 usando tampão BR 0,10 mol L⁻¹), os potenciais de pico

não mostraram uma variação significativa, sendo, então, o pico de oxidação do analito independente do pH para o sistema estudado. Após a otimização do eletrólito, sendo o melhor o H_2SO_4 (pH $\sim 0,73$), foi feito o estudo de concentração do eletrólito, como observado na Figura 39C. Nela, é apresentada a correlação entre os potenciais de pico obtidos em cada concentração do H_2SO_4 , e nota-se que a corrente de pico aumenta até a concentração de $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ e depois decai, sendo, então, $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ a concentração do eletrólito escolhida como ótima.

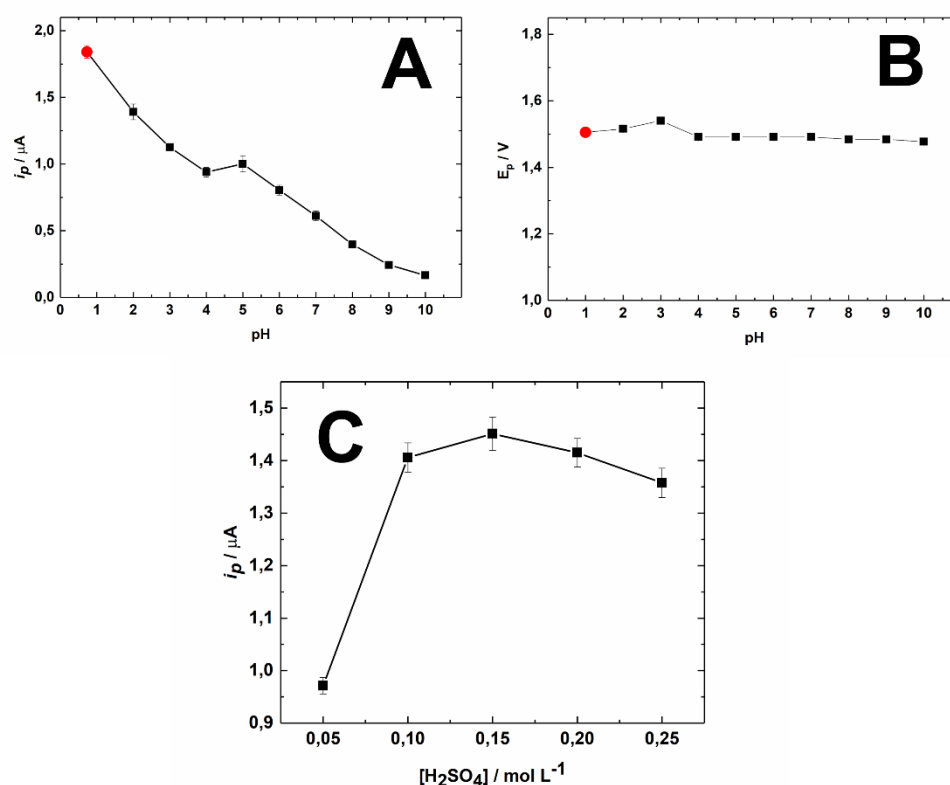


Figura 39. (A) Correlação entre diferentes eletrólitos em diferentes pHs e as correntes de pico alcançadas em cada um dos meios utilizando $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B, sendo o primeiro ponto (vermelho) H_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em seu pH não modificado, e os demais pHs referentes ao tampão BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$; (B) dependência dos potenciais de pico obtidos em função dos diferentes meios; (C) dependência das correntes de pico em função da variação da concentração de H_2SO_4 (eletrólito otimizado). Técnica utilizada: VC; velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} . Resultados para $n = 3$ medidas.

Além disso, foram feitos estudos referentes ao tipo de transporte de massa da reação obtida pela ADB-B no eletrodo de DDB. Assim, o analito foi estudado em diferentes velocidades de varredura (v) utilizando a técnica de VC, como mostrado na Figura 40A. Na Figura 40B pode ser observada uma dependência linear ($R^2 = 0,997$) entre as correntes de pico obtidas em cada velocidade de varredura e a raiz quadrada dessas velocidades, obtendo-se a equação $i_{pa}/\mu A = (0,46 \pm 0,0058) + (0,85 \pm 0,016) \times v^{1/2}/V^{1/2} s^{-1/2}$ sugerindo que o transporte de massa do analito ocorrido na interface eletrodo-solução é controlado pelo processo de difusão [21]. Também foi plotado o gráfico de $\log i_p$ vs $\log v$ (Figura 40C), no qual foi observada uma relação linear ($\log (i_{pa}/A) = (-5,97 \pm 0,0048) + (0,16 \pm 0,0051) \times \log (v/Vs^{-1})$, com $R^2 = 0,993$) entre os eixos, com um valor de coeficiente angular de 0,16, um valor significativamente menor que o valor teórico de 0,5 para um processo totalmente controlado puramente por difusão. Esse resultado sugere que o sistema é influenciado por outros processos, como uma contribuição parcial de adsorção e uma limitação cinética (transferência lenta de elétrons), se desviando do comportamento ideal controlado por difusão [22,23].

Após, foi construído o gráfico de E_p vs $\log v$ (Figura 40D), promovendo a equação $E_{pa}/V = (1,60 \pm 0,00039) + (0,036 \pm 0,00033) \times \log (v/Vs^{-1})$, com uma correlação linear $R^2 = 0,999$. Essa dependência linear é uma forte evidência que indica uma reação irreversível [22], como observado na Figura 38, onde nenhum pico catódico é observado. Ademais, de acordo com a teoria de Laviron [22,24], para um processo eletroquímico irreversível no qual há uma dependência entre a velocidade de varredura e os potenciais de pico em cada uma dessas velocidades, o coeficiente angular dessa relação é igual a $2,3RT/\alpha nF$, onde R é a constante dos gases ($8,314 J K^{-1} mol^{-1}$), T é a temperatura ($298,15 K$), α é o coeficiente de transferência, n é o número de elétrons envolvidos na reação e F é a constante de Faraday ($96.485 C mol^{-1}$) [22]. O valor de α foi deduzido experimentalmente através da equação de Tafel [25,26], obtida com a elaboração do gráfico $\log i_p$ vs E_p (Figura 40E). A regressão linear dessa curva forneceu a equação $\log (i_{pa}/A) = (-12,80 \pm 0,11) + (4,27 \pm 0,069) \times E_{pa}/V$, ($R^2 = 0,998$), no qual o coeficiente angular é igual a $(1 - \alpha)F/2,3RT$. Com esse cálculo obteve-se α igual a 0,75. Utilizando as correlações apresentadas, n foi calculado em 2,2, assumindo ser 2 para a reação de oxidação da ADB-B. [27]

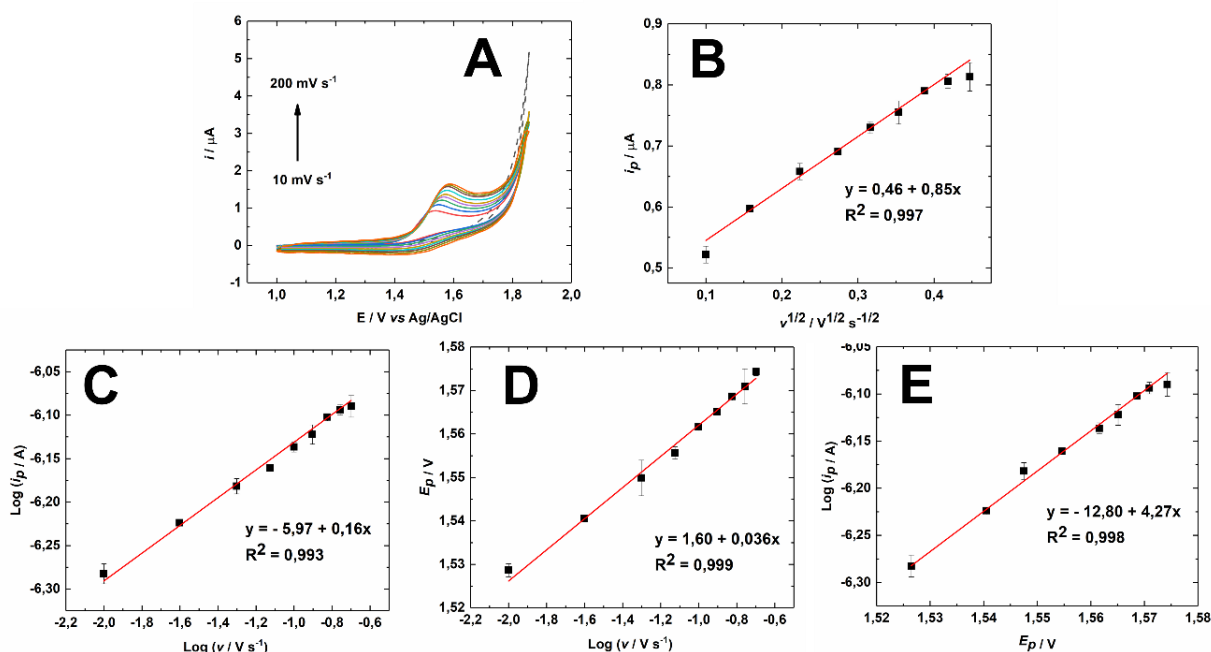


Figura 40. (A) Estudo de velocidade utilizando $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B em H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ e os respectivos gráficos descrevendo a dependência entre (B) as correntes de pico e a raiz quadrada das velocidades de varredura, (C) o logaritmo das correntes de pico e o logaritmo das velocidades, (D) os potenciais de pico e o logaritmo das velocidades e (E) o logaritmo das correntes de pico e os potenciais de pico obtidos na faixa de velocidade de varredura investigada. Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} . Resultados para $n = 3$ medidas.

4.4.2. Pré-tratamento do DDB

Com o objetivo de melhorar a resposta eletroquímica do sistema, foi feito um estudo de pré-tratamento da superfície do eletrodo de trabalho de DDB. Os pré-tratamentos de DDB - baseados em métodos como polarização anódica e catódica do eletrodo através da aplicação de uma densidade de corrente fixa, a inversão dessa corrente e a combinação de ambos os métodos - já se provaram eficazes na melhora da resposta eletroquímica desse eletrodo através da inserção de terminações de oxigênio e hidrogênio em sua superfície [28–31]. Porém, por serem tratamentos agressivos, esses métodos podem degradar o DDB, além de demandarem um certo tempo para serem realizados antes das leituras do analito de interesse [29,32]. Por isso, os estudos aqui realizados

foram baseados em quatro diferentes abordagens reportadas previamente na literatura por Araújo *et al.* [32], no qual foram testados pré-tratamentos rápidos na superfície de um eletrodo de DDB para aplicação em um canabinoide sintético. Assim, as metodologias utilizadas estão descritas na Tabela 21, considerando a área de aplicação dos pré-tratamentos do DDB de 0,126 cm², utilizando H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ como solvente e aplicando as correntes requeridas através da técnica voltamétrica de CP.

Tabela 21. Pré-tratamentos aplicados na superfície do eletrodo de DDB.

Pré-tratamento	<i>i</i> (mA)	Tempo
Catódico (cat)	– 22,5	50 s
Anódico (an)	+ 4,5	50 s
Anódico-catódico (an-cat)	+ 4,5 e – 22,5	50 s e 50 s = 100 s
Catódico-anódico (cat-an)	– 22,5 e + 4,5	50 s e 50 s = 100 s

Como pode ser visto na Figura 41, o tratamento em que se alcançou as maiores correntes de pico na análise da ADB-B (utilizando a técnica de VC) foi a aplicação do potencial catódico por 50 s seguido do potencial anódico pelo mesmo tempo, obtendo-se mais terminações superficiais de oxigênio no eletrodo. Sendo assim, esse pré-tratamento foi escolhido como ótimo e aplicado para posterior uso do eletrodo de DDB na análise da ADB-B.

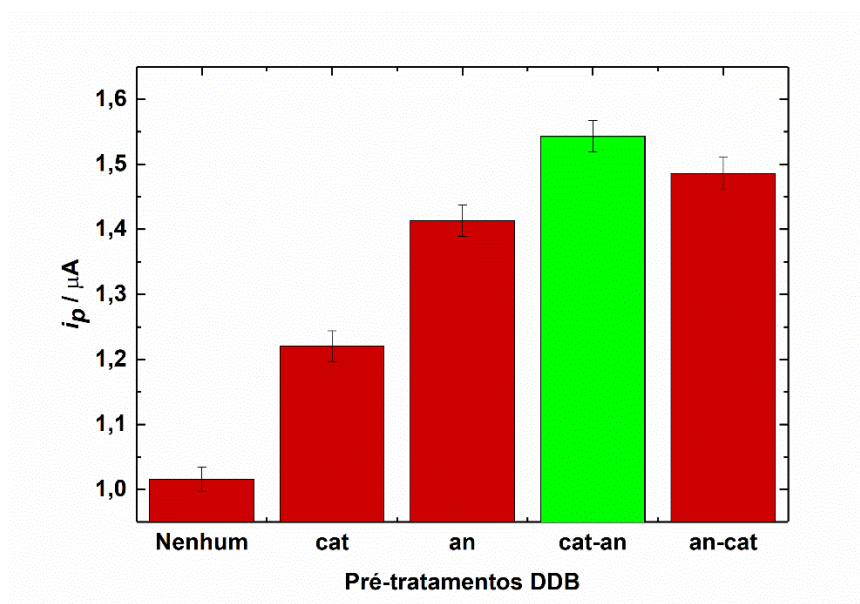


Figura 41. Gráfico de barras da relação entre os pré-tratamentos realizados na superfície do eletrodo de DDB utilizando $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 e as correntes de pico atingidas na ausência de qualquer tratamento e na presença de cada um deles, descritos na Tabela 21. As medidas de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B foram realizadas através da técnica de VC. Eletrólito de suporte: H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$; velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} . Resultados para $n = 3$ medidas.

4.4.3. Comparação de técnicas e otimização de parâmetros

Para os experimentos analíticos, foram comparadas as técnicas de VOQ e VPD a fim de investigar qual seria a mais sensível para a análise da ADB-B. A faixa de trabalho utilizada foi escolhida com base na corrente de pico obtida pelo voltamograma cíclico do analito (Figura 38). Como mostrado na Figura 42, ao comparar as técnicas utilizando os mesmos parâmetros em ambas, observa-se que a VOQ apresenta um pico bem definido e com um valor de corrente mais que duas vezes maior que a corrente obtida com a VPD, sendo, então, a VOQ escolhida para dar continuidade aos experimentos.

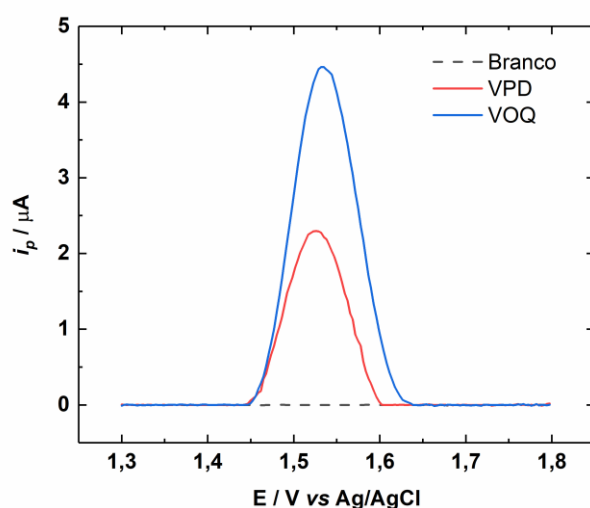


Figura 42. Comparação entre VOQ (linha azul) e VPD (linha vermelha) na ausência (linhas tracejadas) e na presença (linhas sólidas) de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B. Condições: incremento de potencial foi de 3 mV, amplitude do pulso foi de 20 mV e a velocidade de varredura foi ajustada para 30 mV s^{-1} . Frequência de 10 Hz para VOQ e intervalo de tempo de 0,1 s para VPD. Eletrólito de suporte: H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$.

Após a comparação, foi realizada a otimização dos parâmetros da VOQ: frequência, estudada na faixa de 2 a 100 Hz, incremento de potencial, na faixa de 1 a 10 mV e amplitude, de 10 a 150 mV. Para que essas investigações fossem feitas, ao otimizar um parâmetro, todos os outros foram mantidos constantes durante todo o estudo (modo univariado). Como pode ser observado na Figura 43A, no estudo de frequência, a maior corrente de pico foi obtida em 100 Hz, porém, o valor escolhido como ótimo foi 60 Hz, pois, após esse valor, os voltamogramas passaram a ficar muito ruidosos, prejudicando o resultado das medidas. No incremento de potencial (Figura 43B), apesar da corrente de pico ser diretamente proporcional aos seus valores, aumentando conforme o incremento aumenta, o valor escolhido como ótimo foi 5 mV, já que após esse valor, os gráficos apresentam pontos bem afastados, prejudicando a resolução dos picos. Já a amplitude do pulso (Figura 43C) atingiu a maior corrente de pico no valor de 90 mV, apresentando correntes menores nas medidas subsequentes. Logo, 90 mV foi escolhido como ótimo para a amplitude. Para melhor compreensão, os valores otimizados de cada parâmetro estão dispostos na Tabela 22.

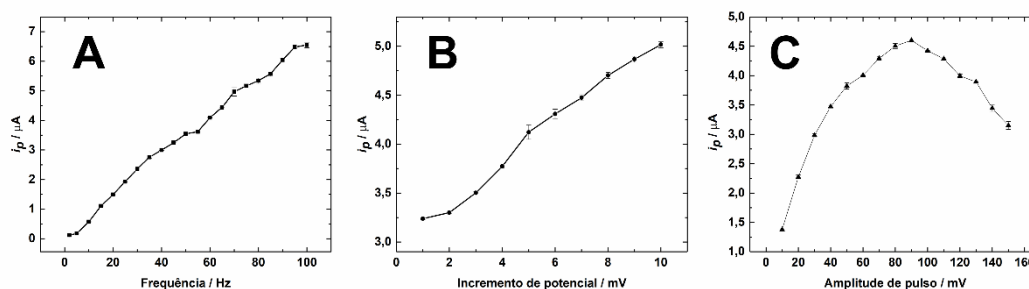


Figura 43. Gráficos da correlação entre (A) frequência, (B) incremento de potencial e (C) amplitude de pulso e as correntes de pico obtidas na variação de cada parâmetro utilizando a técnica de VOQ. Em todas as otimizações, foi utilizado $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B em H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$. Resultados para $n = 3$ medidas.

Tabela 22. Parâmetros estudados e otimizados para a determinação de ADB-B usando a célula eletroquímica impressa em 3D.

Parâmetro	Faixa avaliada	Valor ótimo
Frequência	2 a 100 Hz	60 Hz
Incremento de potencial	1 a 10 mV	5 mV
Amplitude de pulso	10 a 150 mV	90 mV

4.4.4. Estabilidade da ADB-butinaca

A metodologia desenvolvida para o analito no sistema proposto foi testada por meio de estudos de repetibilidade intra-dispositivo, reprodutibilidade inter-eletrodo e estabilidade inter-dias. A repetibilidade foi avaliada através de medidas consecutivas ($n = 20$) do analito em um único dispositivo, apresentando um desvio padrão relativo (DPR) de 1,62% em relação às correntes de pico obtidas em cada medida (Figura 44A) e de 0,17% em relação aos potenciais de pico. Esses baixos valores de DPR sugere uma ótima replicabilidade das respostas e uma resposta analítica praticamente constante mesmo após várias medidas.

A reprodutibilidade foi estudada efetuando medidas em diferentes dispositivos impressos em 3D e utilizando diferentes eletrodos de DDB ($n = 3$). Tanto os valores de i_p Figura 44B quanto os de E_p obtidos em cada sistema foram próximos, com DPRs de

2,23% e 0,95%, respectivamente, mostrando que, mesmo utilizando um sistema portátil e impresso em 3D para acomodar os eletrodos e fazendo uso de um eletrodo de referência miniaturizado, o dispositivo apresenta uma alta confiabilidade em suas medidas.

A estabilidade foi analisada ao executar medidas ao longo de onze dias utilizando o mesmo sistema, no qual o eletrodo de DDB foi pré-tratado apenas uma vez. As correntes de pico apresentaram uma variação ínfima ao longo desses dias (Figura 44C), com DPR de 1,75%, assim como os potenciais de pico, apresentando DPR de 0,16%. Esses resultados indicam que durante esse período, o mesmo sistema pode ser utilizado para análises forenses de ADB-B com uma perda insignificante de sensibilidade.

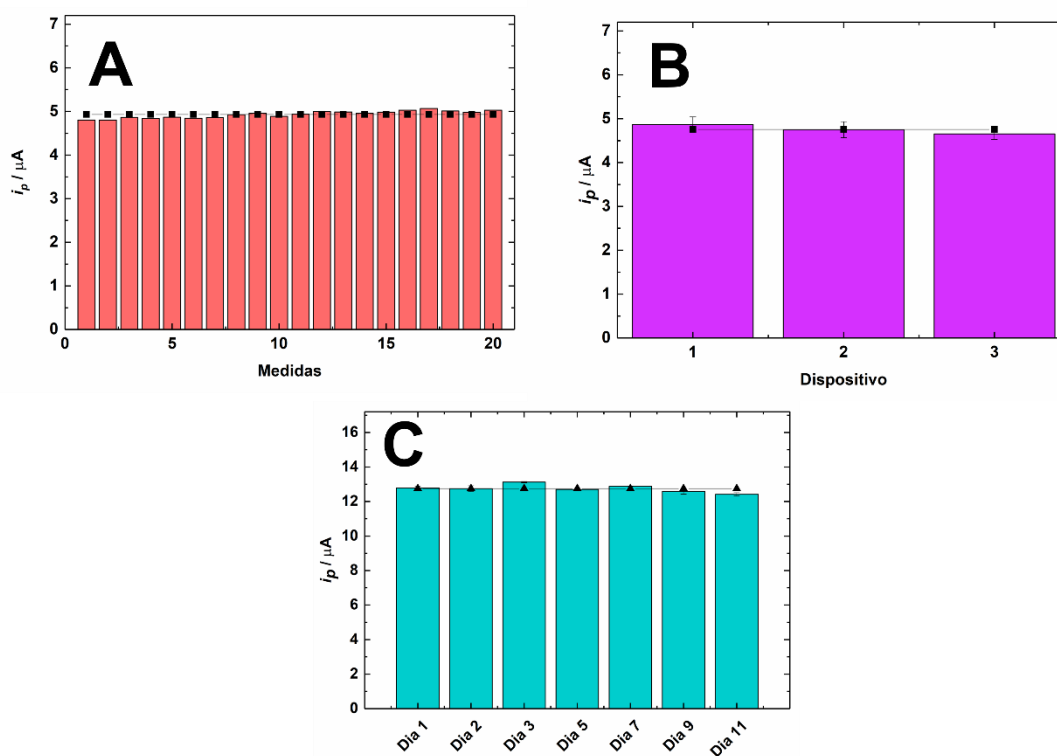


Figura 44. Gráficos obtidos durante os estudos de repetibilidade intra-dispositivo (A), reprodutibilidade inter-eletrodo (B) e estabilidade inter-dias (C). Todas as medidas foram realizadas utilizando o analito ADB-B, no qual em (A) e (B) sua concentração foi de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e em (C) foi de 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito: H_2SO_4 0,15 mol L^{-1} ; Técnica utilizada: VOQ; parâmetros: vide Tabela 22. Resultados para $n = 3$ medidas em (B) e (C).

4.4.5. Figuras de mérito analíticas e estudo de recuperação

Uma curva de calibração foi construída a fim de analisar a dependência entre as correntes de pico obtidas pela oxidação da ADB-B e sua concentração, como visto na Figura 45. Pode ser observado no gráfico que uma dependência linear entre as grandezas representadas em cada eixo foi obtida numa faixa de concentração de 1,0 a 200,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, apresentando uma equação de $i_p (\mu\text{A}) = (0,112 \pm 0,014) + (0,149 \pm 0,00070) \times [\text{ADB-B}] (\mu\text{M})$ e um coeficiente de determinação (R^2) de 0,999. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados a partir das equações descritas por Mocak *et al.* [33], no qual $\text{LD} = 3 \times \text{DP}_a / b$ e $\text{LQ} = 10 \times \text{DP}_a / b$, sendo DP_a o desvio padrão da interseção (coeficiente linear) e b a inclinação (coeficiente angular) da curva analítica. A partir dessas equações, foram obtidos os valores de 0,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,94 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para LD e LQ, respectivamente. Considerando que os valores reportados na literatura para as concentrações geralmente encontradas de canabinoides sintéticos em papel variam em torno de 0,05 a 1,17 mg/cm^2 [16] e sabendo-se que o método proposto se baseia na extração de CS embebido em um papel de 0,125 cm^2 utilizando 1 mL de metanol, seguido de uma diluição de 50 vezes no eletrólito (descrito na seção 4.3.5.), estima-se que a concentração mínima de ADB-B no papel é de 0,38 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Logo, como o LD calculado é menor que esse valor, a metodologia proposta para a análise de ADB-B em amostras apreendidas em papel é viável e tem grande potencial para auxiliar nas detecções forenses desse CS. Ademais, em um prévio trabalho reportado na literatura [7], o LD calculado para a ADB-B foi de 0,83 $\mu\text{mol L}^{-1}$, no qual o analito é determinado em eletrodo de DDB utilizando uma célula convencional de três eletrodos. Esse valor é mais do que duas vezes maior que o LD calculado no trabalho aqui apresentado, mostrando que, mesmo utilizando um sistema de menor custo e miniaturizado, o sensor aqui desenvolvido alcança um limite de detecção mais baixo do que o obtido em uma célula convencional. Isso mostra o grande potencial do dispositivo na detecção de ADB-B em amostras forenses.

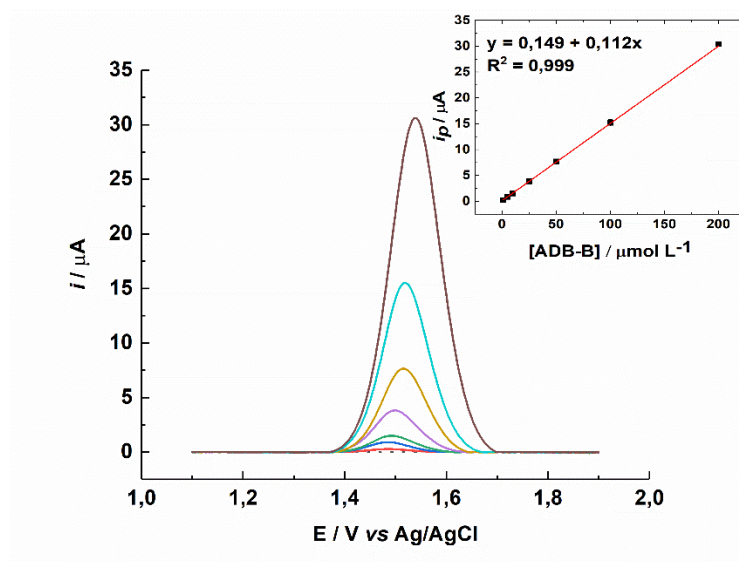


Figura 45. Voltamogramas de onda quadrada registrados utilizando o dispositivo desenvolvido para análise de ADB-B em diferentes concentrações (1,0, 5,0, 10,0, 25,0, 50,0, 100,0 e 200,0 $\mu mol L^{-1}$) em meio de H_2SO_4 0,15 $mol L^{-1}$ e sua respectiva curva de calibração inserida. Condições experimentais: vide Tabela 22. Resultados para $n = 3$ medidas.

Para investigar a exatidão da metodologia proposta, foi realizado um estudo de recuperação utilizando plasma sanguíneo, que foi preparado conforme descrito na seção 4.3.4. Essa matriz foi escolhida baseando-se em estudos anteriores [13,14], no qual foi constatada a presença de ADB-B em sua forma não metabolizada no sangue. Como mostrado na Tabela 23, a amostra foi fortificada com duas concentrações diferentes da ADB-B que, por sua vez, foi determinada através do método de adição de padrão. Os valores recuperados foram em torno de 107 a 108 %, com DPRs entre as medidas de cada fortificação sendo menores que 1,5 %, indicando que o método proposto é confiável também para determinações do analito em amostras biológicas, apresentando exatidão e precisão satisfatórias.

Tabela 23. Ensaio de recuperação de ADB-B em amostras de plasma sanguíneo fortificadas utilizando a metodologia e sistema propostos.

Amostra de plasma sanguíneo	Adicionado / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Encontrado / $\mu\text{mol L}^{-1} \pm \text{DP}^a$	Recuperação / %	DPR / %
1	5,0	$5,4 \pm 0,03$	108,0	0,5
2	10,0	$10,7 \pm 0,2$	107,2	1,4

^a Média de $n = 3$ determinações.

4.4.6. Análise qualitativa em amostras reais

Como forma de avaliar quão seletivo o método desenvolvido seria para o analito de interesse, uma análise qualitativa foi realizada utilizando as amostras apreendidas pela PC-MS (detalhado na seção 4.3.5.), que consistiram em diferentes compostos sintéticos, incluindo a ADB-B, utilizados como drogas de abuso embebidos em tiras de papel. Para que o teste não fosse tendencioso, todas as amostras foram preparadas e lidas sem identificação dos reais compostos ali contidos. Após a leitura delas, foi adicionado, então, o padrão interno de ADB-B em cada solução para serem lidas novamente e os picos serem analisados, a fim de concluir se a substância presente em cada um dos papéis sugeriria ser o analito de interesse ou não. Como visto na Figura 46, das seis amostras em que o experimento foi realizado, três apontaram a presença de alguma substância na faixa de potencial em que a ADB-B foi oxidada em medidas anteriores (Figuras 46A, 46B e 46C), o que foi confirmado pela adição do padrão do analito, sugerindo, então, que nessas três amostras, o composto ali contido seria a ADB-B. Porém, ao serem revelados os nomes das substâncias presentes em cada amostra de papel (informação cedida pela Polícia Civil de MS), observou-se que, das três amostras em que apareceram picos de oxidação semelhantes aos da ADB-B, apenas duas eram de fato o analito de interesse, sendo a terceira, um outro canabinoide sintético que se diferencia do composto principal por apenas alguns carbonos que formam um anel benzênico, possuindo semelhança com a ADB-B na maior parte de sua molécula (Figuras 47A e 47B). Em uma outra amostra, representada pela Figura 46E, descrita como a mistura de outros dois CS, ADB-fubiata e BZO-hexoxizid, um pico, além do da substância de interesse, foi detectado em um valor de potencial por volta de + 1,2 V, porém, esse novo pico não mascarou o pico de oxidação da ADB-B, não influenciando significativamente em sua medida. Ainda, o resultado foi bastante satisfatório, pois das seis amostras analisadas, apenas em uma foi apontado um

resultado falso-positivo, totalizando uma determinação qualitativa de forma correta em mais de 80 % das amostras lidas. Para melhor entendimento, os resultados das análises tanto por cromatografia, realizado pela PC-MS (detalhado na seção 4.3.6.), quanto por voltametria de onda quadrada, foi descrito na Tabela 24.

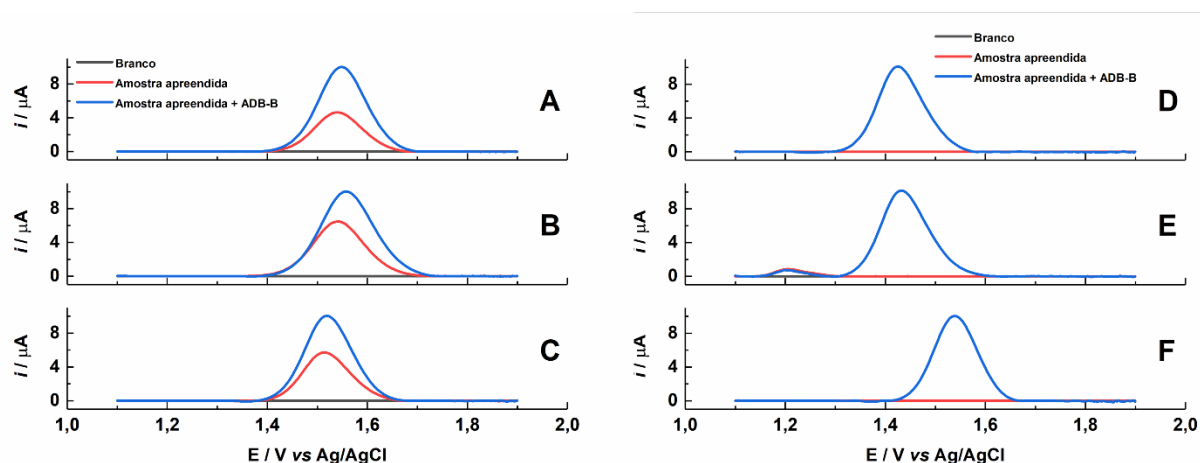


Figura 46. Voltamogramas de onda quadrada referentes ao estudo qualitativo da ADB-B em amostras apreendidas, no qual (A) e (B) se referem a amostras de ADB-B, (C) à ADB-binaca, (D) à 5-fluoro-BZO-poxizid, (E) à mistura de ADB-fubiata com BZO-hexoxizid e (F) à cetamina. Todos estão representados na ausência e na presença de $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ do padrão de ADB-B. Eletrólito: H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$; parâmetros: vide Tabela 22. Resultados para $n = 3$ medidas.

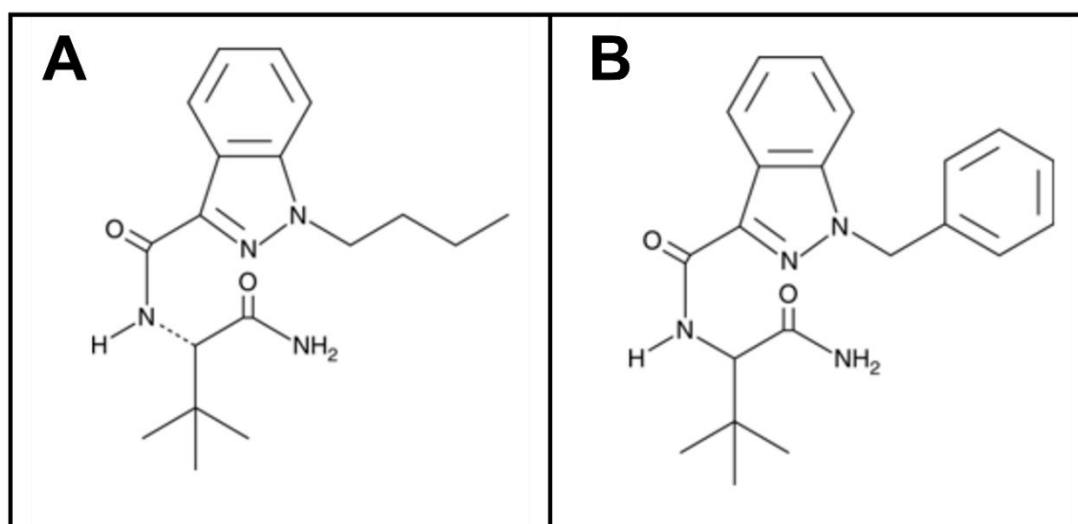


Figura 47. Comparação das estruturas químicas da (A) ADB-butinaca e da (B) ADB-binaca.

Tabela 24. Comparação do resultado qualitativo das amostras utilizando cromatografia e VOQ.

Código da amostra	Resultado por cromatografia	Resultado por VOQ
1	ADB-butinaca	ADB-butinaca
2	ADB-butinaca	ADB-butinaca
3	ADB-binaca	ADB-butinaca
4	5-fluoro-BZO-poxizid	Negativo para ADB-butinaca
5	ADB-fubiata + BZO-hexoxizid	Negativo para ADB-butinaca
6	Cetamina	Negativo para ADB-butinaca

4.4.7. Estudo de interferentes em amostras reais

Uma outra maneira de investigar a seletividade da metodologia desenvolvida foi através de um estudo de interferentes, no qual, além das amostras já utilizadas no experimento citado acima (com exceção das que se referiam à ADB-B), mais cinco amostras de substâncias apreendidas pela PC-MS embebidas em papel foram analisadas (com exceção da *cannabis*, como citado na seção 4.3.5.). Nesse caso, o padrão de ADB-B foi adicionado a todas as substâncias, separadamente, a fim de se detectar diferenças significativas entre os picos do analito de interesse obtidos na presença e na ausência desses possíveis interferentes. Como observado na Figura 48, apenas a ADB-binaca (já mostrada no estudo anterior), a MDMB-4en-pinaca e a *cannabis* alteraram de forma significativa a intensidade do pico. Nos primeiros dois casos, o aumento da corrente de pico pode ser justificado pela semelhança das moléculas de cada um desses CS com a ADB-B, assim, ambos os interferentes provavelmente oxidam em potenciais próximos ao potencial de oxidação da substância de interesse desse trabalho, resultando na soma da oxidação de cada interferente com a da ADB-B e, conseqüentemente, em correntes de pico maiores do que as obtidas pela ADB-B na ausência desse interferentes. Já no caso da *cannabis*, ocorre o contrário, a i_p da ADB-B é diminuída significativamente na sua presença. Talvez isso ocorra pela presença de impurezas ou de outros compostos que não sejam eletroativos (ao menos na janela estudada) na amostra da planta, que podem ter

bloqueado os sítios ativos na superfície do eletrodo de trabalho, prejudicando a sensibilidade do sinal e fazendo com que a corrente obtida fosse menor do que a esperada.

Com essas informações, infere-se que o método aplicado nesse trabalho pode ser considerado confiável para distinguir a ADB-B da grande maioria de outras substâncias psicoativas apreendidas pela PC-MS, sendo o sistema aqui desenvolvido adequado para a análise de amostras forenses. Junto a isso, o fato do dispositivo desenvolvido ser miniaturizado permite a leitura das amostras em campo, facilitando ainda mais a identificação preliminar da ADB-B.

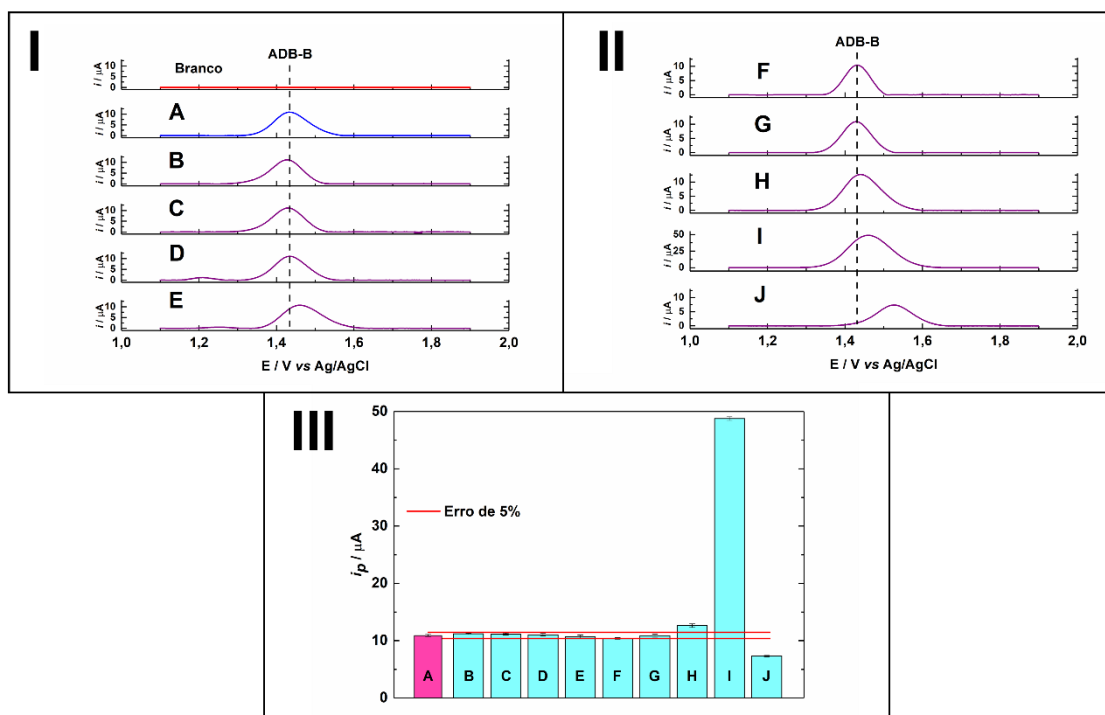


Figura 48. Voltamogramas de onda quadrada (I e II) e o respectivo gráfico de barras (III) das correntes de pico referentes ao estudo de $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ADB-B na ausência (A) e na presença de possíveis interferentes, sendo eles (B) a mistura de 25B-NBOH e 25E-NBOH, (C) 25B-NBOH, (D) 5-fluoro-BZO-poxizid, (E) a mistura de ADB-fubiata e BZO-hexoxizid, (F) fentanil, (G) cetamina, (H) MDMB-4en-pinaca, (I) ADB-binaca e (J) *cannabis*. Eletrólito: H_2SO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$; parâmetros: vide Tabela 22. Resultados para $n = 3$ medidas.

4.5. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi apresentada a caracterização eletroquímica e detecção da ADB-butinaca utilizando uma célula eletroquímica portátil e simples de ser construída, baseada em impressão 3D. A metodologia apresentada, juntamente com o dispositivo fabricado, promoveu um sistema robusto, com excelente precisão e exatidão, para a determinação do analito de interesse. Ademais, estudos qualitativos se mostraram eficientes na determinação da ADB-B, distinguindo-a de grande parte de outras drogas de abuso apreendidas que se utilizam da mesma matriz para serem distribuídas (papel). Somando esses resultados à miniaturização do dispositivo utilizado, o sistema aqui desenvolvido possui grande potencial para análises forenses em campo, não dependendo de laboratórios centralizados, o que facilita sua identificação preliminar nas apreensões cotidianas da polícia.

Embora tenham sido utilizados eletrodos convencionais, ainda que miniaturizados, os estudos aqui realizados fornecem possibilidades para o desenvolvimento de uma nova metodologia que envolva o uso de eletrodos mais acessíveis, além da célula eletroquímica construída que já tem um custo abaixo do convencional e é fabricada de maneira automatizada por meio de impressão 3D. Essa iniciativa pode baratear ainda mais o custo das análises, proporcionando um meio mais econômico para a identificação de canabinoides sintéticos em campo.

4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] V.L. Alves, J.L. Gonçalves, J. Aguiar, H.M. Teixeira, J.S. Câmara, The synthetic cannabinoids phenomenon: from structure to toxicological properties. A review, *Crit Rev Toxicol* 50 (2020) 359–382. <https://doi.org/10.1080/10408444.2020.1762539>.
- [2] Z. Liying, S. Min, S. Baohua, C. Hang, W. Xin, D. Hongxiao, X. Ping, S. Yan, Application of a UPLC-MS/MS method for quantitative analysis of 29 synthetic cannabinoids and their metabolites, such as ADB-BUTINACA and MDMB-4en-PINACA in human hair in real cases, *Forensic Sci Int* 331 (2022) 111139. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.111139>.
- [3] Y. Du, S. Ma, D. Chen, R. Wang, X. Wang, C. Wen, X. Shen, Determination of ADB-BUTINACA in rat plasma by UPLC-MS/MS and its application, *Acta Chromatogr* (2024). <https://doi.org/10.1556/1326.2024.01223>.
- [4] Q. Dou, W. Liu, P. Xiang, J. Zhao, Quantitative Analysis of Three Synthetic Cannabinoids MDMB-4en-PINACA, ADB-BUTINACA, and ADB-4en-PINACA by Thermal-Assisted Carbon Fiber Ionization Mass Spectrometry, *J Am Soc Mass Spectrom* 34 (2023) 2316–2322. <https://doi.org/10.1021/jasms.3c00229>.
- [5] M. Dronova, E. Smolianitski, O. Lev, Electrooxidation of New Synthetic Cannabinoids: Voltammetric Determination of Drugs in Seized Street Samples and Artificial Saliva, *Anal Chem* 88 (2016) 4487–4494. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b00368>.
- [6] S. Balaban, E. Man, C. Durmus, G. Bor, A.E. Ceylan, Z. Pinar Gumus, S. Evran, H. Coskunol, S. Timur, Sensor Platform with a Custom-tailored Aptamer for Diagnosis of Synthetic Cannabinoids, *Electroanalysis* 32 (2020) 656–665. <https://doi.org/10.1002/elan.201900670>.
- [7] I.N. Jovanović, A simple electrochemical approach for the rapid determination of cannabinoid designer drug ADB-BUTINACA, *Electroanalysis* 37 (2025) e202400186. <https://doi.org/10.1002/elan.202400186>.
- [8] B. Tokarczyk, M. Suchan, P. Adamowicz, New Synthetic Cannabinoid ADB-BUTINACA-Related Death of a Police Dog, *J Anal Toxicol* 47 (2023) e23–e28. <https://doi.org/10.1093/jat/bkac097>.
- [9] P. Kavanagh, A. Pechnikov, I. Nikolaev, G. Dowling, M. Kolosova, A. Grigoryev, Detection of ADB-BUTINACA Metabolites in Human Urine, Blood, Kidney and Liver, *J Anal Toxicol* 46 (2022) 641–650. <https://doi.org/10.1093/jat/bkab088>.

- [10] G.B. de Luca, Canabinoides sintéticos: estratégias globais de prevenção e ação, Centro de Estudos sobre Drogas e Desenvolvimento Social Comunitário (Cdesc), Brasília, 2024.
- [11] A. Caninaert, F. Franz, V. Auwärter, C.P. Stove, Activity-Based Detection of Consumption of Synthetic Cannabinoids in Authentic Urine Samples Using a Stable Cannabinoid Reporter System, *Anal Chem* 89 (2017) 9527–9536. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b02552>.
- [12] C.H. Sia, Z. Wang, E.M.L. Goh, Y.L. Tan, C.Y. Fong, H.Y. Moy, E.C.Y. Chan, Urinary Metabolite Biomarkers for the Detection of Synthetic Cannabinoid ADB-BUTINACA Abuse, *Clin Chem* 67 (2021) 1534–1544. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvab134>.
- [13] A. King, S.L. Hill, M. Pucci, G. Bailey, L. Keating, R. Macfarlane, F. Cantle, S. Hudson, S.H.L. Thomas, Clinical features associated with ADB-BUTINACA exposure in patients attending emergency departments in England, *Clin Toxicol* 60 (2022) 1094–1098. <https://doi.org/10.1080/15563650.2022.2101469>.
- [14] R. Kronstrand, C. Norman, S. Vikingsson, A. Biemans, B. Valencia Crespo, D. Edwards, D. Fletcher, N. Gilbert, M. Persson, R. Reid, O. Semenova, F. Al Teneiji, X. Wu, J. Dahlén, N. NicDaéid, F. Tarbah, O.B. Sutcliffe, C. McKenzie, H. Gréen, The metabolism of the synthetic cannabinoids ADB-BUTINACA and ADB-4en-PINACA and their detection in forensic toxicology casework and infused papers seized in prisons, *Drug Test Anal* 14 (2022) 634–652. <https://doi.org/10.1002/dta.3203>.
- [15] Y. Wang, Y. Pan, H. Yang, J. Liu, A. Wurita, K. Hasegawa, Quantification of MDMB-4en-PINACA and ADB-BUTINACA in human hair by gas chromatography–tandem mass spectrometry, *Forensic Toxicol* 40 (2022) 340–348. <https://doi.org/10.1007/s11419-022-00615-z>.
- [16] P.A. Marinho, C.R. Ricoy, L.C. Arantes, E.B. Gomes, CANABINOIDES SINTÉTICOS EM PAPÉIS, *Revista Criminalística e Medicina Legal* 6 (2021) 65. <https://doi.org/10.51147/rcml057.2021>.
- [17] United Nations Office on Drugs and Crime, Recommended methods for the Identification and Analysis of Synthetic Cannabinoid Receptor Agonists in Seized Materials (Revised and updated), Vienna, 2020.
- [18] M. Protti, J. Rudge, A.E. Sberna, G. Gerra, L. Mercolini, Dried haematic microsamples and LC–MS/MS for the analysis of natural and synthetic cannabinoids, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 1044–1045 (2017) 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.12.038>.

- [19] V. Brighenti, M. Marani, C. Caroli, L. Bertarini, A. Gaggiotti, F. Pollastro, C. Durante, G. Cannazza, F. Pellati, A new HPLC method with multiple detection systems for impurity analysis and discrimination of natural versus synthetic cannabidiol, *Anal Bioanal Chem* 416 (2024) 4555–4569. <https://doi.org/10.1007/s00216-024-05396-5>.
- [20] N. Wu, S. Danoun, S. Balayssac, M. Malet-Martino, C. Lamoureux, V. Gilard, Synthetic cannabinoids in e-liquids: A proton and fluorine NMR analysis from a conventional spectrometer to a compact one, *Forensic Sci Int* 324 (2021) 110813. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.110813>.
- [21] D.K.G. Jr, *Cyclic Voltammetry - Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*, VCH Publishers, Inc., New York, 1993. <https://doi.org/10.1080/00945719408001398>.
- [22] L.R. Bard, A. J., Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2^a, Wiley-VCH, New York, 2001.
- [23] C.M.A. Brett, A.M.O. Brett, *Electrochemistry - Principles, Methods and Applications*, Oxford University Press Inc, New York, 1994.
- [24] E. Laviron, GENERAL EXPRESSION OF THE LINEAR POTENTIAL SWEEP VOLTAMMOGRAM IN THE CASE OF DIFFUSIONLESS ELECTROCHEMICAL SYSTEMS, *J. Electroanal. Chem.* 101 (1979) 19–28.
- [25] R.M. Carvalho, E.R. Pedão, F.M.R. Guerbis, M.P. Tronchini, V.S. Ferreira, J.M. Petroni, B.G. Lucca, Electrochemical study and forensic electroanalysis of fungicide benzovindiflupyr using disposable graphite pencil electrode, *Talanta* 252 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123873>.
- [26] H. Muhammad, I.A. Tahiri, M. Muhammad, Z. Masood, M.A. Versiani, O. Khaliq, M. Latif, M. Hanif, A comprehensive heterogeneous electron transfer rate constant evaluation of dissolved oxygen in DMSO at glassy carbon electrode measured by different electrochemical methods, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 775 (2016) 157–162. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.05.049>.
- [27] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 3^a, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey, 2006.
- [28] A. Medel, E. Bustos, L.M. Apátiga, Y. Meas, Surface Activation of C-sp³ in Boron-Doped Diamond Electrode, *Electrocatalysis* 4 (2013) 189–195. <https://doi.org/10.1007/s12678-013-0158-x>.
- [29] G.R. Salazar-Banda, A.E. De Carvalho, L.S. Andrade, R.C. Rocha-Filho, L.A. Avaca, On the activation and physical degradation of boron-doped diamond surfaces brought on by

- cathodic pretreatments, *J Appl Electrochem* 40 (2010) 1817–1827. <https://doi.org/10.1007/s10800-010-0139-1>.
- [30] G.R. Salazar-Banda, L.S. Andrade, P.A.P. Nascente, P.S. Pizani, R.C. Rocha-Filho, L.A. Avaca, On the changing electrochemical behaviour of boron-doped diamond surfaces with time after cathodic pre-treatments, *Electrochim Acta* 51 (2006) 4612–4619. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2005.12.039>.
- [31] H. Notsu, I. Yagi, T. Tatsuma, D.A. Tryk, A. Fujishima, Introduction of Oxygen-Containing Functional Groups onto Diamond Electrode Surfaces by Oxygen Plasma and Anodic Polarization, *Electrochemical and Solid-State Letters* 2 (1999) 522–524. <https://doi.org/10.1149/1.1390890>.
- [32] D.S. Araújo, L.C. Arantes, L. V. Faria, K.A.O. Souza, D.M. Pimentel, S.L. Barbosa, E.M. Richter, R.A.A. Muñoz, W.T.P. dos Santos, Electrochemistry of 5F-MDMB-PICA synthetic cannabinoid using a boron-doped diamond electrode with short anodic-cathodic pretreatment: A simple screening method for application in forensic analysis, *Electrochim Acta* 454 (2023) 142356. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2023.142356>.
- [33] 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 and Applied Chemistry* 69 (1997) 297–328. <https://doi.org/10.1351/pac199769020297>.

ANEXO I - TRABALHOS PRODUZIDOS DURANTE O DOUTORADO

SPRINGER LINK

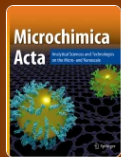
Find a journal Publish with us Track your research Search

Home > [Microchimica Acta](#) > Article

Simple, fast, and instrumentless fabrication of paper analytical devices by novel contact stamping method based on acrylic varnish and 3D printing

Original Paper | Published: 27 November 2021
Volume 188, article number 437, (2021) [Cite this article](#)

[Download PDF](#) Access provided by Fundacao Univ Fed Mato Grosso do Sul UFMS

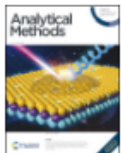


Microchimica Acta
[Aims and scope](#) →
[Submit manuscript](#) →

Disponível online em <https://doi.org/10.1007/s00604-021-05102-7>

Issue 34, 2022

[Previous Article](#) [Next Article](#)



From the journal:
Analytical Methods

Exploring the coating of 3D-printed insulating substrates with conductive composites: a simple, cheap and versatile strategy to prepare customized high-performance electrochemical sensors



[Fabiano Mendonça de Oliveira](#),^a [Maria Zizi Martins Mendonça](#), ^a [Natália Canhete de Moraes](#),^b
[Jacqueline Marques Petroni](#),^b [Matheus Meneguel Neves](#),^b [Edmar Isaías de Melo](#),^a [Bruno Gabriel](#)
[Lucca](#) ^b and [Rodrigo Amorim Bezerra da Silva](#) ^{*a}

Disponível online em <https://doi.org/10.1039/D2AY00803C>

A novel 3D-printed batch injection analysis (BIA) cell coupled to paper-based electrochemical devices: A cheap and reliable analytical system for fast on-site analysis

Marcos Eduardo da Silva Ferreira ^a, Natália Canhete de Moraes ^a, Valdir Souza Ferreira ^a,
Rodrigo Amorim Bezerra da Silva ^b, Jacqueline Marques Petroni ^a  ,
Bruno Gabriel Lucca ^a  

Disponível online em <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107663>

Paper-based electrochemical platform modified with graphene nanoribbons: A new and affordable approach for analysis of 5-hydroxy-L-tryptophan

Natália Canhete de Moraes ^a, Jacqueline Marques Petroni ^a, Fábio de Lima ^b,
Valdir Souza Ferreira ^a, Bruno Gabriel Lucca ^a  

Disponível online em <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.108030>

Home > Microchimica Acta > Article

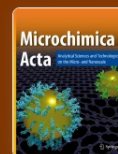
Electrochemical sensor based on 3D-printed substrate by masked stereolithography (MSLA): a new, cheap, robust and sustainable approach for simple production of analytical platforms

Original Paper | Published: 20 July 2023

Volume 190, article number 312, (2023) [Cite this article](#)

Download PDF

Access provided by Fundacao Univ Fed Mato Grosso do Sul UFMS



Microchimica Acta

[Aims and scope](#) →

[Submit manuscript](#) →

Disponível online em <https://doi.org/10.1007/s00604-023-05912-x>

Home > Microchimica Acta > Article

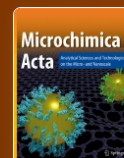
Improving the performance and versatility of microfluidic thread electroanalytical devices by automated injection with electronic pipettes: a new and powerful 3D-printed analytical platform

Short Communication | Published: 06 November 2023

Volume 190, article number 461, (2023) [Cite this article](#)

Download PDF

Access provided by Fundacao Univ Fed Mato Grosso do Sul UFMS



Microchimica Acta

[Aims and scope](#) →

[Submit manuscript](#) →

Disponível online em <https://doi.org/10.1007/s00604-023-06026-0>

A novel paper-based electrochemical device modified with Ni-doped TiO₂ nanocrystals-decorated graphene oxide for ascorbic acid detection

Eliete A. Alvin ^{a b c 1}, Natália Canhete de Moraes ^d, Ygor M. de Oliveira ^c,
Denisson G.P. da Silva ^a, Amanda I.dos S. Barbosa ^a, Wesley Silva Marques Ribeiro ^a,
Marcos V.D. Vermelho ^e, Jeniffer M.D. de Freitas ^f, Johnnatan D. de Freitas ^f,
Noelio Oliveira Dantas ^a, Diógenes Meneses ^c, Bruno G. Lucca ^d, Fabiane C. de Abreu ^{b c},
Anielle Christine A. Silva ^{a b}  

Disponível online em <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2023.128786>

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de DISPOSITIVO ANALÍTICO DE MICROFLUXO COM INJEÇÃO

Utilidade (54): AUTOMATIZADA

Resumo: DISPOSITIVO ANALÍTICO DE MICROFLUXO COM INJEÇÃO AUTOMATIZADA

A presente invenção se trata de um dispositivo analítico microfluídico baseado em fios de algodão, desenvolvido com características técnicas específicas para compreender uma injeção automatizada através de uma micropipeta eletrônica apoiada em uma plataforma, de forma a permitir que a micropipeta realize injeções em uma posição fixa, em que a plataforma ainda é apoiada e encaixada no dispositivo analítico para que a micropipeta dispense o analito em um local específico desse dispositivo.

Autoria: Bruno Gabriel Lucca, Natália Canhete de Moraes e Jacqueline Marques Petroni;

Data de depósito: 07/05/2024;

Nº: BR 10 2024 009034 9.

Innovative microfluidic thread electroanalytical device with automated injector: A simple, green and upgraded analytical platform for the fast and sensitive analysis of ferrous ions

Natália Canhete de Moraes ^a, Rayan Marcel Carvalho ^a, Valdir Souza Ferreira ^a,
Rodrigo Amorim Bezerra da Silva ^b, Edmar Isaias de Melo ^c, Jacqueline Marques Petroni ^a,
Bruno Gabriel Lucca ^a  

Disponível online em <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.111016>



Apresentação de trabalho em formato de banner no VII Encontro Nacional da SBQ/Centro-Oeste de 2024.



Apresentação de trabalho em formato de banner no 9º Encontro Nacional de Química Forense – ENQFor, 6º Encontro da Sociedade Brasileira de Ciências Forenses – SBCF e 19º Congresso Regional Latino-Americano de Toxicologia Forense – TIAFT de 2024.



Apresentação de trabalho em formato de banner no 9º Encontro Nacional de Química Forense – ENQFor, 6º Encontro da Sociedade Brasileira de Ciências Forenses – SBCF e 19º Congresso Regional Latino-Americano de Toxicologia Forense – TIAFT de 2024.