



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



**Desenvolvimento de um sistema microfluídico alternativo à base de fios têxteis  
para aplicações eletroanalíticas**

Dissertação de Mestrado

**ANA CLARA MAIA OLIVEIRA**

**UBERLÂNDIA  
DEZEMBRO DE 2021**

**“Desenvolvimento de um sistema microfluídico alternativo à base de fios  
têxteis para aplicações eletroanalíticas”**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Candidata: **Ana Clara Maia Oliveira**

Orientador: Prof. Dr. André Luiz dos Santos

**UBERLÂNDIA  
DEZEMBRO DE 2021**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

O48  
2021

Oliveira, Ana Clara Maia, 1998-  
Desenvolvimento de um sistema microfluídico  
alternativo à base de fios têxteis para aplicações  
eletroanalíticas [recurso eletrônico] / Ana Clara Maia  
Oliveira. - 2021.

Orientador: André Luiz dos Santos.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de  
Uberlândia, Pós-graduação em Química.  
Modo de acesso: Internet.  
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.706>  
Inclui bibliografia.  
Inclui ilustrações.

1. Química. I. Santos, André Luiz dos, 1979-,  
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-  
graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



## UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química  
Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 51 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP  
38400-902  
Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br



### ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 334, PPGQUI				
Data:	Quatorze de dezembro de dois mil e vinte e um	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	16:25
Matrícula do Discente:	12012QMI001				
Nome do Discente:	Ana Clara Maia Oliveira				
Título do Trabalho:	Desenvolvimento de um sistema microfluídico alternativo à base de fios têxteis para aplicações eletroanalíticas				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Eletroquímica Aplicada				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para compostos de interesse ambiental, alimentício e farmacêutico				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma Teams, link <https://teams.microsoft.com/l/meetup-join/19%3aRzakq76v5JE85dXwrA9mrNnkSOKLPF6kb9442o67Ab01%40thread.tacv2/1635365303058?context=%7b%22Tid%22%3a%22cd5e6d23-cb99-4189-88ab-1a9021a0c451%22%2c%22Oid%22%3a%221efe4033-14e6-4704-9a55-0b1b285258b7%22%7d>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: João Flávio da Silveira Petrucci, da Universidade Federal de Uberlândia; Ronaldo Censi Faria, da Universidade Federal de São Carlos e André Luiz dos Santos, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. André Luiz dos Santos, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Andre Luiz dos Santos**, **Professor(a) do Magistério Superior**, em 15/12/2021, às 10:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Flávio da Silveira Petrucci, Professor(a) do Magistério Superior**, em 15/12/2021, às 13:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Ronaldo Censi Faria, Usuário Externo**, em 15/12/2021, às 16:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3177237** e o código CRC **9D232CEF**.

---

## DEDICATÓRIA

*Ao meu muito amado sobrinho, que  
 ainda está na barriga da mamãe:  
 esteja sempre atento ao que importa.*

## EPÍGRAFE

*“Dar tudo pelo Tudo.”*

**São João da Cruz**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua infinita misericórdia para comigo, por tudo o que me permite viver, pelas pessoas que coloca em meu caminho, por tudo que tem me dado e por tudo que tem me negado... por não deixar de me amar.

À Virgem Maria, por nos dar Seu Filho e nos ensinar a darmos passos até Ele.

À toda minha família, pela doação, paciência, todo amor, apoio, e por estarem sempre ao meu lado, mesmo com minhas limitações. Um “muito obrigada” especial aos meus pais e avó, por me ensinarem nas lutas do dia-a-dia que a felicidade verdadeira se alcança quando saímos de nós mesmos e vamos em direção ao outro. Eu os amo muito!

À minha irmã e cunhado, Laurinha e João, por me incentivarem, desejarem o meu bem, e por permanecerem ao meu lado. Ainda vamos comemorar muitas coisas juntos nessa vida!

Ao meu amado sobrinho, por ajudar a dilatar meu coração, mesmo que ainda nem tenha nascido. Prometo que me esforçarei para ser melhor e te ajudar a caminhar. Chega logo!

Aos meus orientadores, André e Regina, por terem me acolhido e me ensinado como uma filha. Que Deus lhes retribua por todo crescimento profissional e pessoal que me foi conduzido pelas mãos de vocês. Serei sempre grata e estarei aqui para o que precisarem!

Ao grupo de pesquisa GPMEI: Cynthia, Dayane, Diele, João Victor, Lauro, Letícia, Luiz André, Natália, Victória e Vinicius, por todo auxílio, apoio e amizade. Um agradecimento especial à Diele, pela paciência (muita paciência), amizade, por todo ensinamento, e por todas as vezes que me fez persistir dizendo: “vamosss, Aninha, vai dar tudo certo, vamos conseguir juntas!” Amo vocês!

Aos meus queridos amigos e professores do laboratório CT-infra III, e turma de graduação: Andressa, Anizio, Allanna, Allyson, Felipe, Giselle, Isabela, Jonathan, Laís, Marcos, Mateus, Mayara, Naiara, Poliana, Panatieri e Renata pela amizade, conversas, ensinamentos, apoio e paciência. Amo vocês e estarei sempre aqui!

À Paróquia São Benedito (pároco, amigos, afilhados), por todo apoio e amor gratuito... sou grata por tê-los em minha vida, por serem minha família. Amo muito vocês!

À Madre Teresa, por segurar em minha mão e me conduzir quando eu não consigo sozinha. Muito obrigada!

Ao ICENP/UFU pela infraestrutura concedida para a realização deste trabalho.

À CAPES pela bolsa de mestrado concedida.

À FAPEMIG (proc.: APQ-02905-15 e APQ-02078-15) pelos recursos financeiros concedidos ao grupo de pesquisa.

Aos membros da banca pelo aceite do convite, pelo tempo disponibilizado para a leitura deste trabalho e por todas as contribuições que serão de extrema importância.

Enfim, a todos os meus amigos e familiares que, de alguma forma, fizeram e fazem parte dessa história, deixo aqui o meu muito obrigada!

## RESUMO

A integração de sistemas microfluídicos baseados em fios têxteis com a detecção eletroquímica apresenta vantagens como simplicidade, facilidade de miniaturização, baixo consumo de amostra, baixo custo e inúmeras possibilidades de configurações. Entretanto, a evaporação dos fluídos e, conseqüentemente, a dificuldade em se manter a vazão constante são algumas das limitações destes sistemas. Outro fator importante está relacionado com a necessidade do descarte total destes sistemas após os estudos. Assim, neste trabalho é proposto o desenvolvimento de um sistema microfluídico alternativo à base de fios têxteis fabricado com materiais de baixo custo e acoplado à detecção amperométrica. Seringas foram empregadas como reservatórios de entrada e saída, os quais foram fixados em uma placa de polimetilmetacrilato. Fios têxteis foram inseridos em tubos de polietileno, trazendo benefícios como a diminuição da evaporação do solvente da solução transportadora e tornando o sistema mais robusto e menos susceptível a contaminações. Ao conjunto fio/tubo foram acoplados, perpendicularmente, três fios de platina, empregados como eletrodos de pseudo-referência, trabalho e auxiliar. Ao reservatório de saída foram adicionados algodões, o que favoreceu a capacidade absorvente do sistema, aumentando a capilaridade, além de permitir que, após as medidas, o dispositivo fosse reutilizado apenas com a troca do algodão. Estudos comparativos entre dois tipos de fios têxteis (gaze e barbante) foram realizados e, em seguida, ferrocianeto foi empregado para a otimização dos principais parâmetros do sistema: dimensões dos reservatórios de saída e entrada, distância entre injetor e detector, volume e número máximo de injeções e vazão. Para a avaliação da potencialidade analítica do dispositivo, dopamina, peróxido de hidrogênio e TBHQ foram empregados como analitos modelo, sendo obtidas linearidades adequadas ( $R^2 > 0,99$ ) e valores de limites de detecção compatíveis com os relatados na literatura. Na última etapa, o sistema microfluídico foi utilizado como uma alternativa para a determinação de nitrito em amostras de salivas artificiais. Estudos de adição e recuperação foram realizados para uma faixa de concentração de 30-100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , sendo obtidos valores de recuperação próximos à 100% (87,9-111%). Desta forma, este trabalho descreve uma ferramenta analítica promissora de baixo custo, que contorna algumas limitações indicadas na literatura, apresentando potencialidade para análises em campo, uma vez que descarta o uso de bombas externas, gera baixas quantidades de resíduos e apresenta um desempenho analítico satisfatório.

**Palavras-Chave:** miniaturização; fios têxteis; dispositivos microfluídicos; eletroquímica; nitrito.

## ABSTRACT

The integration of thread-based microfluidic devices with electrochemical detection shows advantages such as simplicity, ease of miniaturization, low sample consumption, low cost, and numerous possibilities of configurations. However, the fluid evaporation and difficulty in maintaining a constant flow are some limitations of these systems. In addition, many of these systems are completely disposable after studies. Thus, in this work, it is proposed the development of an alternative thread-based microfluidic device manufactured with low-cost materials and coupled to amperometric detection. Syringes were used as inlet and outlet reservoirs, which were fixed on a poly(methyl methacrylate) plate. The textile threads were inserted into polyethylene tubes, resulting in some advantages such as decreased evaporation of the solvent from carrier solution, making the system more robust and less susceptible to contamination. Three platinum wires were coupled to the thread/tube set, and they were used as pseudo-reference, work, and auxiliary electrodes. Cotton was added to the outlet reservoir, favoring the absorbing capacity of the system, increasing capillary strength, in addition to allowing, after the measurements, the device to be reused only by changing cotton at the outlet reservoir. Comparative studies between two types of textile thread (gauze and string) were carried out and the ferrocyanide was employed for the optimization of the main parameters of the system: dimensions of the inlet and outlet reservoirs, the distance between injection and detector, volume, and a maximum number of injections and flow rate. To evaluate the analytical potential of the device, dopamine, hydrogen peroxide, and TBHQ were used as model analytes, being obtained adequate linearities ( $R^2 > 0.99$ ) and values of detection limits compatible with those reported in the literature. In the last stage, the microfluidic system was used for the determination of nitrite in artificial saliva samples. Addition and recovery studies were conducted for a concentration range of 30-100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , and recovery values close to 100% (87.9-111%) were obtained. Thus, this work describes a promising, low-cost analytical tool that circumvents some limitations indicated in the literature, presenting the potential for analysis in the field, since it precludes the use of external pumps, drastically reducing the generation of waste, and has satisfactory analytical performance.

**Keywords:** miniaturization; textile threads; microfluidic devices; electrochemistry; nitrite.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Evolução do número de publicações relacionadas aos dispositivos miniaturizados entre 1990 e 2020. .... 20
- Figura 2.** Linha do tempo dos substratos utilizados na construção de sistemas microfluídicos. . 23
- Figura 3.** Dispositivo microfluídico à base de papel com detecção colorimétrica desenvolvido por Martinez, et al., 2007. .... 24
- Figura 4.** Evolução do número de publicações relacionadas aos dispositivos microfluídicos à base de fios têxteis entre 2010 e 2020. Pesquisa realizada através da base de dados da Web of Science, com as seguintes palavras-chave: thread microfluidic. .... 26
- Figura 5.** Dispositivo microfluídico à base de fios têxteis com detecção colorimétrica de nitrito e ácido úrico, desenvolvido por Li, et al., 2010. .... 27
- Figura 6.** **A)** Dispositivo microfluídico à base de fios têxteis empregado na determinação de acetaminofeno e diclofenaco desenvolvido por Augustini, et al., 2016. **B)** Amperogramas de múltiplos pulsos obtidos para as amostras dos fármacos. .... 28
- Figura 7.** **A)** Interruptores para controle de fluxo fabricado com um único filamento de fio têxtil. Adaptado de Ballerini, et al., 2011; **B)** Redes fabricadas com fios têxteis e nós para aplicação como um circuito microfluídico. Adaptado de Safavieh, et al., 2011; **C)** Dispositivo à base de fios têxteis com geometria Y utilizado para síntese química. Adaptado de Banerjee, et al., 2013; **D)** Dispositivo microfluídico à base de fios têxteis fabricado por meio de uma impressora 3D por Oliveira, et al., 2019. .... 29
- Figura 8.** Materiais utilizados para a fabricação do dispositivo microfluídico acoplado à detecção eletroquímica. (A-B) Seringas descartáveis; (C) Placa de PMMA; (D) Algodão; (E) Fios têxteis; (F) Tubo de polietileno; (G) Eletrodos de platina. .... 34
- Figura 9.** Representação esquemática do procedimento de montagem do sistema microfluídico. (1) Fixação dos reservatórios de entrada e saída na placa de PMMA; (2) Inserção do fio têxtil ao tubo

de polietileno, adição dos eletrodos ao conjunto tubo/fio e conexão do canal microfluídico entre os reservatórios de entrada e saída; (3) Adição de algodão ao reservatório de saída. .... 35

**Figura 10.** Imagem do sistema microfluídico confeccionado. A) Reservatório de Saída - 15 mm; B) Altura do Reservatório de Entrada; C) Distância entre injetor e detector (WE). .... 36

**Figura 11.** Imagens por microscopia ótica dos tubos de polietileno empregados para a construção do dispositivo microfluídico. A) Medida do diâmetro total; B) Tubo de polietileno preenchido com uma solução de corante alimentício azul para determinação do diâmetro interno. .... 38

**Figura 12.** Imagens por microscopia ótica do A) barbante de algodão inserido no tubo de polietileno; B) Fios de gaze inseridos no tubo de polietileno. .... 39

**Figura 13.** Arranjo experimental empregado para os estudos da elevação capilar contra a gravidade. .... 40

**Figura 14.** Valores de média e desvio padrão referentes à altura em função de  $t^{1/2}$  obtidos para um sistema composto por 10 fios de gaze. ■ fios inseridos no tubo de polietileno; ▲ fios sem o tubo de polietileno. .... 40

**Figura 15.** A) Sinais transientes obtidos para injeções consecutivas de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  1 mmol L<sup>-1</sup>. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>; Volume de amostra: 5 µL;  $E_{\text{detecção}} = + 0.6 \text{ V vs. Pt}$ ; Fio têxtil: barbante. (-) Sinais transientes referentes às injeções de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ; (-) Branco; Diâmetro do reservatório de saída: 10 mm. B) Ampliação dos sinais de ruído. .... 42

**Figura 16.** Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  1 mmol L<sup>-1</sup>. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>;  $E_{\text{detecção}}: + 0.6 \text{ V vs. Pt}$ ; Volume de injeção: 2 µL. A) Barbante; B) Gaze. R1 – Reservatório de saída 1; R2 – Reservatório de saída 2; R3 – Reservatório de saída 3; R4 – Reservatório de saída 4; R5 – Reservatório de saída 5. .... 43

**Figura 17.** Influência da massa de algodão no reservatório de saída sob a vazão. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>. .... 45

**Figura 18.** A) Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  1,0 mmol L<sup>-1</sup> para a otimização do suporte do reservatório de saída: a) S1; b) S2 e c) S3; B) Valores de média

e desvio padrão de  $I_p$  obtidos para as seis primeiras injeções em cada reservatório de saída. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>; Volume de amostra: 5 µL;  $E_{detecção} = + 0.6$  V vs. Pt. Suportes do reservatório de saída construídos com seringas de diferentes diâmetros: S1 – 10 mm; S2 – 12 mm e S3 – 14 mm. .... 46

**Figura 19.** **A)** Sinais transientes obtidos para injeções de  $[Fe(CN)_6]^{4-}$  1,0 mmol L<sup>-1</sup> com diferentes alturas do reservatório de entrada: **a) E1 = 2,5 mm; b) E2 = 5 mm; c) E3 = 7,5 mm.** **B)** Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de corrente obtidas para as seis primeiras injeções de  $[Fe(CN)_6]^{4-}$ . **C)** Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de pico e largura à meia altura obtidas para as seis primeiras injeções de  $[Fe(CN)_6]^{4-}$  empregando os diferentes reservatórios. Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>; Volume de amostra: 5 µL;  $E_{detecção} = + 0.6$  V vs. Pt; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. .... 47

**Figura 20.** **A)** Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de  $[Fe(CN)_6]^{4-}$  1,0 mmol L<sup>-1</sup> para a avaliação da distância entre o injetor e detector: **a) 10 mm; b) 15 mm; c) 20 mm; d) 25 mm.** **B)** Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de corrente obtidas para as seis primeiras injeções de  $[Fe(CN)_6]^{4-}$ . Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>; Volume de amostra: 5 µL;  $E_{detecção} = + 0.6$  V vs. Pt; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. .... 48

**Figura 21.** **A)** Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de  $[Fe(CN)_6]^{4-}$  1,0 mmol L<sup>-1</sup> a partir da variação do volume de injeção: **a) 3; b) 4; c) 5; d) 6; e) 7; f) 8 µL.** **B)** Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de corrente obtidas para cada volume de injeção estudado. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>; Volume de amostra: 5 µL;  $E_{detecção} = + 0.6$  V vs. Pt; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. .... 49

**Figura 22.** **A)** Sinais transientes referentes às 25 injeções do segundo sistema avaliado; **B)** Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de corrente de  $[Fe(CN)_6]^{4-}$  (N = 25). Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>; Volume de amostra: 5 µL;  $E_{detecção} = + 0.6$  V vs. Pt; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. .... 51

**Figura 23. A)** Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ . (-) Primeira injeção; (-) 25ª injeção; (--) Primeira Injeção do algodão seguinte. **B)** Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de corrente obtidas a partir de 25 injeções da sonda eletroquímica. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora:  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; Volume de amostra:  $5 \mu\text{L}$ ;  $E_{\text{deteção}} = + 0,6 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. .... 52

**Figura 24.** Volume de solução transportadora absorvida pelo algodão do reservatório de saída em função do tempo. Solução transportadora:  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ..... 53

**Figura 25. A)** Respostas amperométricas para diferentes concentrações de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ : a) 0,1; b) 0,25; c) 0,50; d) 0,75 e e)  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ . **B)** Curvas analíticas referentes a concentrações crescentes e decrescentes de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ . Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora:  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; Volume de amostra:  $5 \mu\text{L}$ ;  $E_{\text{deteção}} = + 0,6 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. .... 54

**Figura 26. A)** Respostas amperométricas referentes à primeira curva analítica para diferentes concentrações de dopamina: a) 10; b) 25; c) 50; d) 75; e) 100; f) 125 e g)  $150 \mu\text{mol L}^{-1}$ . **B)** Curvas analíticas para dopamina. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: Tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ( $\text{pH} = 7,0$ ); Volume de amostra:  $5 \mu\text{L}$ ;  $E_{\text{deteção}} = + 0,13 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. .... 56

**Figura 27. A)** Respostas amperométricas referentes à primeira curva analítica para diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio: a) 25; b) 50; c) 75; d) 100; e) 125; f) 150 e g)  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ . **B)** Curvas analíticas para  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: Tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ( $\text{pH} = 7,0$ ); Volume de amostra:  $5 \mu\text{L}$ ;  $E_{\text{deteção}} = + 0,1 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. .... 56

**Figura 28. A)** Respostas amperométricas referentes à primeira curva analítica para diferentes concentrações de TBHQ: a) 10; b) 25; c) 50; d) 75; e) 100; f) 150 e g)  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ . **B)** Curvas analíticas para TBHQ. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída:

14 mm; Solução transportadora: Ácido Perclórico 0,1 mol L<sup>-1</sup>; Volume de amostra: 5 µL; E<sub>detecção</sub> = + 0.2 V vs. Pt; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. .... 57

**Figura 29.** **A)** Respostas amperométricas referentes à primeira curva analítica para diferentes concentrações de nitrito: a) 20; b) 30; c) 40; d) 50; e) 75; f) 100; g) 150 µmol L<sup>-1</sup>. **B)** Curvas analíticas para nitrito. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: Tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH = 7,0); Volume de amostra: 5 µL; E<sub>detecção</sub> = + 0.7 V vs. Pt; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. .... 59

**Figura 30.** **A)** Respostas amperométricas para diferentes concentrações de nitrito em tampão fosfato e amostra (S1); **B)** Curva analítica para nitrito. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: Tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH = 7,0); Volume de amostra: 5 µL; E<sub>detecção</sub> = + 0.7 V vs. Pt; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. Equação da reta: I<sub>p</sub> (nA) = 0,42 C (µmol L<sup>-1</sup>) + 6,01, R<sup>2</sup> = 0,994. .... 60

**Figura 31.** **A)** Respostas amperométricas para diferentes concentrações de nitrito em tampão fosfato e amostra (S2). **B)** Curva analítica para nitrito. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: Tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH = 7,0); Volume de amostra: 5 µL; E<sub>detecção</sub> = + 0.7 V vs. Pt; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. Equação da reta: I<sub>p</sub> (nA) = 0,38 C (µmol L<sup>-1</sup>) + 4,24, R<sup>2</sup> = 0,993.60

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Principais dimensões da configuração inicial (não otimizada) do dispositivo microfluídico. ....	37
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros analíticos obtidos para analitos modelo. ....	57
<b>Tabela 3.</b> Valores de concentração e porcentagens de recuperação de nitrito em amostras de saliva artificial. Solução carregadora: tampão fosfato 0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH = 7; Volume de amostra: 5 µL; E <sub>detecção</sub> = + 0,7 V. ....	61

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	18
1.1 Sistemas miniaturizados .....	18
1.1.1 Sistemas microfluídicos .....	20
1.1.1.1 Dispositivos microfluídicos à base de papéis ( $\mu$ PADs) .....	23
1.1.1.2 Dispositivos microfluídicos à base de fios têxteis ( $\mu$ TADs) .....	25
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	31
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	32
3.1 Reagentes e soluções .....	32
3.2 Instrumentação .....	33
3.3 Fabricação do sistema microfluídico acoplado à detecção eletroquímica .....	33
3.4 Preparo das amostras de saliva .....	37
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38
4.1 Caracterizações físicas do dispositivo .....	38
4.2 Avaliação do sistema microfluídico acoplado à detecção eletroquímica e estudos de comparação entre fios têxteis .....	41
4.3 Otimização do sistema .....	44
4.3.1 Otimização do reservatório de saída (S) .....	44
4.3.2 Otimização do reservatório de entrada (E) .....	46
4.3.3 Otimização da distância entre injetor e detector .....	48
4.3.4 Otimização do volume de injeção .....	49
4.3.5 Número máximo de injeções .....	50
4.3.6 Estudo da vazão .....	53
4.4 Estudo em diferentes concentrações de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ .....	54
4.5 Estudo com analitos modelo .....	55

4.6 Determinação de nitrito em saliva artificial .....	58
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	63
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	65

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Sistemas miniaturizados

Nas últimas décadas, o termo “miniaturização” vem sendo cada vez mais discutido, empregado e almejado nas mais diversas áreas da indústria e pesquisa. A miniaturização começou a ganhar destaque a partir dos anos 60, uma vez que, neste período, começaram a ser produzidos dispositivos eletrônicos miniaturizados, o que influenciou diretamente na informática, indústrias automobilísticas, telecomunicações e medicina, favorecendo no desenvolvimento de seus produtos e equipamentos (EHRFELD, 2003). Com a miniaturização, almejava-se o aumento do desempenho destes dispositivos mais do que a diminuição do tamanho. No entanto, não só estas vantagens, mas outras também foram alcançadas: análises mais rápidas, menor custo de fabricação e diminuição da quantidade de resíduos gerados e de reagentes e amostras consumidos.

A utilização de tecnologias convencionais de microfabricação, como os diversos tipos de litografia (MADOU, 2002), e tecnologias alternativas, como a microfabricação por moldagem (BECKER & GÄRTNER, 2000), e processo de impressão direta (LAGO, *et al.*, 2003), propiciaram a fabricação de microestruturas com boas resoluções, permitindo, assim, o aumento de possibilidades e maior desenvolvimento de dispositivos miniaturizados, com um destaque para o surgimento de sistemas analíticos miniaturizados. A busca pela miniaturização dos sistemas analíticos também se deu em consequência da necessidade de análises que requeressem de pequenos volumes de amostras, produzissem menor quantidade de resíduos, fossem mais baratas, rápidas e utilizassem de instrumentos de fácil manuseio. Em diversas áreas da pesquisa, dispositivos analíticos miniaturizados têm sido aplicados e consolidados, possibilitando que estes benefícios antes almejados fossem alcançados (COLTRO, *et al.*, 2007). Uma das áreas influenciadas por esta nova tendência foi a química analítica, estendendo seus benefícios também para a chamada Química Verde (TÓTOLI & SALGADO, 2020; COLTRO, *et al.*, 2007).

A primeira proposta de um dispositivo analítico miniaturizado foi apresentada nos anos 70, sendo este um cromatógrafo de fase gasosa confeccionado em lâmina circular de silício, com diâmetro de 5 cm e um detector de condutividade térmica (TERRY, *et al.*, 1979). Neste sistema, foi introduzido uma válvula de injeção e uma coluna de separação de 1,5 m de comprimento. Porém, em consequência da falta de experiência tecnológica relacionada a métodos de separação,

este sistema não foi bem aceito por parte da comunidade científica, fazendo com que estudos posteriores relacionados à miniaturização fossem direcionados ao desenvolvimento de microválvulas, microbombas e sensores químicos (COLTRO, *et al.*, 2007).

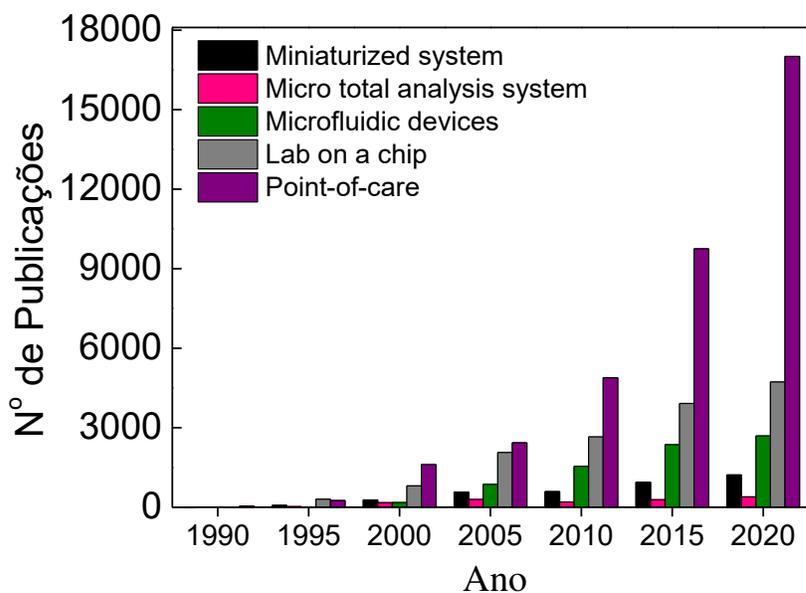
A miniaturização de sistemas analíticos ganhou um novo destaque no início dos anos 90, quando Manz *et al.* apresentaram um sistema miniaturizado para cromatografia em fase líquida (MANZ, *et al.*, 1990), o qual foi produzido usando substrato de silício com dimensões de 5 x 5 cm contendo uma coluna tubular aberta, sendo integrado a um detector condutométrico. A partir disso, diferentes técnicas instrumentais começaram a ser desenvolvidas em escalas reduzidas para as mais diversas aplicações, como a eletroforese capilar (DISPAS, *et al.*, 2021), cromatografia gasosa (TERRY, *et al.*; 1979; GRAS, *et al.*, 2018) e análise por injeção em fluxo (FIA) (GRANICA, *et al.*, 2018). A passagem da escala macro para a escala micro permitiu, em muitos casos, o aumento do desempenho destes dispositivos, possibilitando a realização de um maior número de etapas para a análise em um único sistema, e garantindo uma maior portabilidade dos mesmos (REYES, *et al.*, 2002; RÍOS, *et al.*, 2012).

Com a possibilidade de se integrar mais de uma etapa analítica em um único dispositivo, surgiu então o conceito de microssistemas de análises totais ( $\mu$ TASs), ou Lab-on-chip (LOC). Esta proposta permite a integração de etapas que normalmente são realizadas em laboratórios, como várias formas de pré-tratamento de amostras, reações químicas, separações analíticas e detecção (RÍOS, *et al.*, 2012), utilizando-se de um único dispositivo, tornando-se relevante para diversas áreas, tais como as de interesses ambientais e relacionadas com o campo clínico.

Neste sentido, outro conceito de dispositivos miniaturizados surgiu para atender as necessidades de análises em campo, ou seja, além do laboratório. Os “Point-of-Care” (POC) vem sendo utilizados, em sua maioria, para análises clínicas (TUDOS, *et al.*, 2001), uma vez que possibilitam diagnósticos mais rápidos e eficazes, contribuindo para o início precoce de tratamentos, diminuindo gastos e utilizando uma menor quantidade de amostra (MAHMOUDI, *et al.*, 2020). Como mencionado, todos estes fatores juntamente com a portabilidade, conduziram a um considerável desenvolvimento de sistemas analíticos na ordem de microescala nos últimos anos (COLTRO, *et al.*, 2007). A Figura 1 apresenta a evolução do número de publicações relacionadas ao desenvolvimento e aplicação de dispositivos analíticos miniaturizados no período de 1990 a 2020, de acordo com a base de dados da Web of Science, com as seguintes palavras-chave:

“miniaturized system, micro total analysis system, microfluidic devices, lab on a chip e point-of-care.”

**Figura 1.** Evolução do número de publicações relacionadas aos dispositivos miniaturizados entre 1990 e 2020.



Fonte: Própria.

De acordo com a Figura 1, é possível observar um crescimento exponencial de aplicações que se utilizam de dispositivos miniaturizados sob a forma de LOC e POC. Além destas possibilidades, a miniaturização de dispositivos possibilitou a difusão de um novo campo definido como microfluídica.

### 1.1.1 Sistemas microfluídicos

Como consequência da tendência de miniaturização, a microfluídica tem se destacado por ser uma importante ferramenta na diminuição da escala de dispositivos, uma vez que oferece possibilidades de diminuir o consumo de reagentes e amostra, integrar mais de uma etapa analítica em um mesmo dispositivo e tornar as análises mais rápidas. A microfluídica é caracterizada como a ciência e tecnologia de sistemas que permite a manipulação de pequenos volumes de fluídos em canais com dimensões na ordem de micrômetros (WHITESIDES, 2006), e as primeiras aplicações destes sistemas foram em análises.

Quatro fatores favoreceram a origem e desenvolvimento da microfluídica. O primeiro deles está relacionado com o início da confecção de sistemas de análise em microescala, como a cromatografia gasosa (CG), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e eletroforese capilar (CE), aumentando assim o interesse na busca por sistemas ainda mais compactos, eficientes e que se utilizassem de pequenas quantidades de amostras para as análises. O segundo fator surgiu após o fim da guerra fria, quando o Departamento de Defesa dos EUA (DARPA) apoiou programas que tinham como objetivo o desenvolvimento de sistemas microfluídicos para detecção de ameaças químicas e biológicas. O terceiro aspecto está relacionado com o campo da biologia molecular, uma vez que, o avanço desta área, como a evolução da genômica, requeria métodos analíticos que utilizassem pequenos volumes de amostras e obtivessem maior sensibilidade e resolução. Desta forma, a microfluídica se apresentou como uma possibilidade de obtenção de dispositivos que apresentassem estas características. O quarto fator está relacionado com a produção dos microeletrônicos, os quais, inicialmente, foram confeccionados por meio da fotolitografia. Assim, esta técnica também começou a ser utilizada para o desenvolvimento de sistemas microfluídicos (WHITESIDES, 2006). Outro benefício que possibilitou estas e outras aplicações iniciais da microfluídica está relacionado com o fluxo laminar das soluções com a passagem da escala “macro” para a “micro”, o qual permite um controle mais eficaz de alguns parâmetros, como a velocidade de mistura e concentração dos reagentes (DOU, *et al.*, 2017; SQUIRES & QUAKE, 2005).

Os dispositivos microfluídicos analíticos são normalmente constituídos de componentes como: reservatórios, canais microfluídicos e instrumentos para propulsão de fluidos (NGE, ROGERS, WOOLLEY, 2013). Além disso, sistemas microfluídicos podem ser integrados às diversas formas de detecção, como a colorimétrica, fluorimétrica e eletroquímica (FU & WANG, 2018). Dentre estas, os sensores eletroquímicos se destacam como detectores acoplados aos sistemas microfluídicos, uma vez que possibilitam o aumento da versatilidade destes sistemas. Além disso, a facilidade de miniaturização do sistema eletroquímico, sem a diminuição significativa da sensibilidade, contribui na integração dos eletrodos a estes dispositivos. Em razão destes benefícios, esta área compreende um amplo campo científico com crescimento expressivo nas últimas três décadas (FERNÁNDEZ, *et al.*, 2019).

Para a fabricação destes dispositivos, uma gama de materiais tem sido avaliada, dado que a escolha do material para a construção e aplicação destes sistemas é uma etapa importante no

processo. Nesta etapa, devem ser observadas algumas características como: biocompatibilidade, custo, propriedades ópticas e elétricas, facilidade de fabricação, flexibilidade e possibilidade de integração entre bombas e microválvulas, além dos detectores (CARVALHO, *et al.*, 2021).

Os primeiros sistemas microfluídicos utilizados foram construídos empregando materiais como silício e vidro (RAMSEY & RAMSEY, 1997; MARTYNOVA, *et al.*, 1997). Estes materiais foram amplamente empregados em função de características como a alta condutividade térmica do silício, e a eficiência na dissipação de calor, resistência química a solventes orgânicos e transparência óptica do vidro. Entretanto, estes materiais foram sendo gradativamente substituídos, uma vez que apresentam certas limitações associadas à construção dos microcanais e a necessidade de bombas externas para impulso de fluxo (OLIVEIRA, *et al.*, 2019). Outro fator que tem impulsionado estas substituições é o custo relativamente alto de fabricação, uma vez que necessitam de processos de confecção mais sofisticados e demorados.

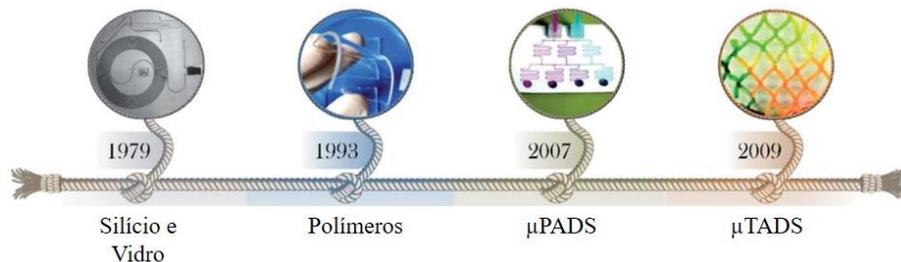
Os polímeros têm sido uma alternativa amplamente utilizada para a construção de sistemas microfluídicos, sendo estes relativamente baratos e facilmente modelados e modificados (BINYAMIN, *et al.*, 2003). Os primeiros relatos de fabricação de sistemas à base de polímeros para aplicações microfluídicas se deram em meados da década de 90. Estes sistemas foram patenteados, mas não foram inicialmente publicados abertamente na literatura (BECKER & LOCASCIO, 2002). Porém, em 1997, empresas iniciaram um maior investimento em tecnologias microfluídicas, fazendo com que se aumentasse a busca na utilização de polímeros como substratos para estes sistemas. Assim, o aumento das possibilidades de instrumentos e técnicas que permitissem a fabricação destes dispositivos, como a impressão, estampagem a quente, litografia, entre outros, possibilitou o aumento da aplicação dos mesmos (BECKER & LOCASCIO, 2002).

Nesta perspectiva, Dossi *et al.* desenvolveram um dispositivo eletroquímico utilizando-se de uma placa de PVC como substrato. Neste dispositivo, os eletrodos foram desenhados em moldes confeccionados através do desgaste da superfície e, por fim, o dispositivo foi integrado a canais microfluídicos com utilização de fitas. Conectores de HPLC foram integrados ao dispositivo para que pudessem ser utilizados como canais para uma bomba peristáltica e injetor. O fluxo de  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$  foi controlado por meio da bomba. O desempenho analítico do dispositivo foi avaliado através da quantificação de ácido ascórbico em fármacos, sendo obtidos  $3,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $10,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  como limites de detecção e quantificação, respectivamente (DOSSI, *et al.*, 2019). Além do PVC, outros polímeros como polimetilmetacrilato (PMMA) (ZHANG, *et al.*, 2009),

poli(tereftalato de etileno) (PET) (LIU, *et al.*, 2006) e poliestireno (PS) (ROBERTS, *et al.*, 1997) são bastante empregados em dispositivos microfluídicos devido ao seu baixo custo e propriedades mecânicas e elétricas compatíveis às aplicações.

Ainda que estes materiais ofereçam vantagens, os mesmos também requerem instrumentos externos para a propulsão dos fluidos, dificultando a portabilidade destes dispositivos, ou de estratégias como controle da hidrofiliicidade e geometria dos canais (KO, *et al.*, 2003), tornando-os mais complexos e caros. Desta forma, dispositivos à base de papeis ( $\mu$ PADs) e à base de fios têxteis ( $\mu$ TADs) têm surgido como alternativas interessantes (Figura 2), visto que dispensam a utilização de bombas externas, uma vez que os fluidos são transportados por capilaridade, aumentando a portabilidade. Além disso, esses materiais apresentam vantagens como baixo custo, diversas possibilidades de configurações, alta disponibilidade de matéria-prima, leveza e biocompatibilidade (WENG, *et al.*, 2019).

**Figura 2.** Linha do tempo dos substratos utilizados na construção de sistemas microfluídicos.



Fonte: Adaptado de AUGUSTINI, *et al.*, 2021.

### 1.1.1.1 Dispositivos microfluídicos à base de papeis ( $\mu$ PADs)

A utilização do papel como um material para substrato em análises é datada desde os anos de 1800, na utilização do papel tornassol (CATE, *et al.*, 2015). Este material apresenta diversas vantagens, sendo caracterizado por ser um material renovável, descartável, facilmente modificado, transportado e armazenado. Estas e outras características conduziram o emprego deste material para aplicações como os “*spot tests*” (WEST, 1945) e papeis cromatográficos na separação de aminoácidos (CONSDEN, *et al.*, 1944). Além destas aplicações, o papel foi utilizado, posteriormente, como uma alternativa para a construção de novos sistemas microfluídicos

(ATAIDE, *et al.*, 2020). Em 2007, Matinez *et al.* introduziram os chamados  $\mu$ PADs (do inglês Microfluidic Paper-based Analytical Devices) à microfluídica como uma alternativa na detecção de glicose e proteínas totais (MARTINEZ, *et al.*, 2007; MARTINEZ, *et al.*, 2008). O dispositivo desenvolvido, conforme apresentado na Figura 3, foi produzido utilizando-se da fotolitografia.

**Figura 3.** Dispositivo microfluídico à base de papel com detecção colorimétrica desenvolvido por Martinez, *et al.*, 2007.



Fonte: Adaptado de MARTINEZ, *et al.*, 2007.

Nestes dispositivos, foram construídas barreiras hidrofóbicas responsáveis por conter a solução dentro do canal hidrofílico, evitando vazamento das soluções e auxiliando o percurso das mesmas no papel. Seguindo a mesma linha, o autor descreve em outro trabalho de revisão as diversas vantagens relacionadas ao uso do papel em dispositivos que permitem a realização de análises de cunho clínico, como as análises colorimétricas, uma vez que a coloração do papel (geralmente de coloração branca) fornece um forte contraste com um substrato colorido. Além disso, visto que o papel é inflamável, após a realização de um diagnóstico, os mesmos podem ser facilmente descartados por incineração. Desta forma, estes dispositivos trazem benefícios para países em desenvolvimento, ou locais onde não há infraestrutura necessária para a obtenção de equipamentos convencionais de análises (MARTINEZ, *et al.*, 2010; CHENG, *et al.*, 2010).

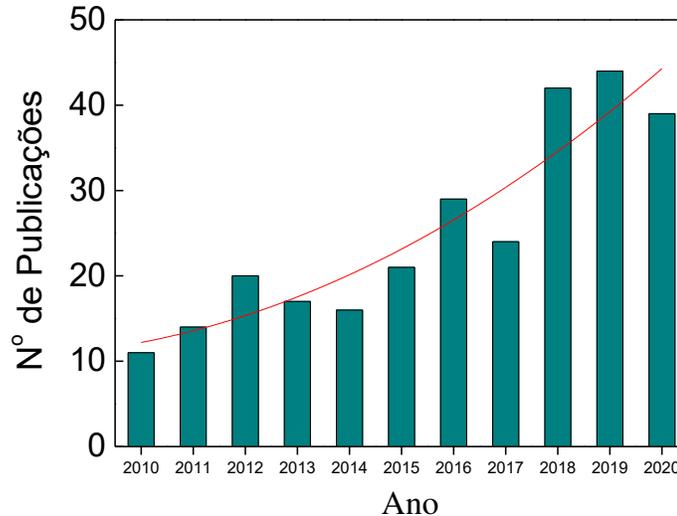
Para a construção dos dispositivos microfluídicos, os canais podem ser fabricados empregando-se diversas técnicas, como a fotolitografia (LI, *et al.*, 2003), utilização de tintas (CURTO, *et al.*, 2013), *screen-printing* (HUA, *et al.*, 2007; TROFIMCHUK, *et al.*, 2020) e impressão a cera (FAVA, *et al.*, 2019; SECHI, *et al.*, 2013). O processo de fabricação e padronização destes canais é de extrema importância, uma vez que as dimensões dos canais influenciam no espalhamento e taxa de absorção da solução.

Por outro lado, uma das principais limitações apresentadas pelos dispositivos à base de papel é a manutenção do fluxo constante durante o processo de análise. Tal limitação é ocasionada, muitas vezes, pela evaporação das soluções durante o processo de migração da solução (MALON, *et al.*, 2017). De acordo com a técnica de detecção empregada no sistema microfluídico, o fluxo constante durante toda a análise é um fator importante para obter respostas repetitivas e confiáveis. Algumas estratégias para superar esta limitação são demonstradas na literatura. Nesta perspectiva, Pradela *et al.* utilizaram fitas adesivas para selar o dispositivo microfluídico à base de papel acoplado à detecção eletroquímica com eletrodos termoplásticos. O sistema foi aplicado na quantificação de ácido cafeico em amostras de chá, sendo obtidos limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) de 2,5 e 8,3  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente (PRADELA-FILHO, *et al.*, 2020). Embora os  $\mu\text{PADs}$  apresentem inúmeras vantagens, a baixa resistência mecânica, flexibilidade limitada, necessidade de confecção de barreiras hidrofóbicas e necessidade de um novo dispositivo após saturação do reservatório de saída são algumas dificuldades frequentemente encontradas para aplicação destes dispositivos (AGUILAR, *et al.*, 2020; CARVALHO, *et al.*, 2021).

#### **1.1.1.2 Dispositivos microfluídicos à base de fios têxteis ( $\mu\text{TADs}$ )**

Embora os fios têxteis sejam materiais antigos na civilização, sua utilização em dispositivos microfluídicos é recente. Os substratos à base de fios têxteis têm sido estudados e utilizados como uma alternativa muito atrativa para aplicação em sensores, como a utilização de fios eletrônicos para o monitoramento da saúde humana (CARPI & ROSSI, 2005). Além destas aplicações, recentemente os fios têxteis vêm sendo utilizados na área microfluídica, conforme apresentado na Figura 4.

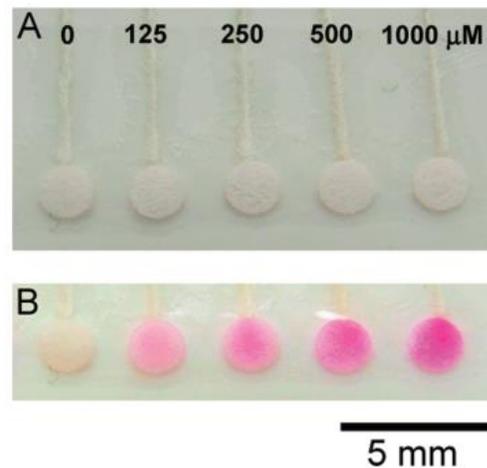
**Figura 4.** Evolução do número de publicações relacionadas aos dispositivos microfluídicos à base de fios têxteis entre 2010 e 2020. Pesquisa realizada através da base de dados da Web of Science, com as seguintes palavras-chave: thread microfluidic.



Fonte: Própria.

Os  $\mu$ TADs (do inglês thread-based microfluidic device) (SUAREZ, *et al.*, 2020) apresentam como principal característica a utilização de fios para a construção de microcanais, como algodão, nylon, lã, ou outras fibras que apresentem propriedades de absorção e facilitem o fluxo de fluidos. Estes fios podem ser divididos em dois grandes grupos: fios de obtenção natural, como algodão e lã, e fios sintéticos, como o nylon e poliéster. Os fios de obtenção natural apresentam morfologias superficiais irregulares, enquanto a superfície dos fios sintéticos é mais regular e lisa (AUGUSTINI, *et al.*, 2021). O primeiro relato da utilização dos fios têxteis na confecção de sistemas microfluídicos é datado no ano de 2010, quando Li *et al.* descreveram a utilização de fios de algodão para a determinação colorimétrica de biomarcadores (nitrito e ácido úrico), conforme apresentado na Figura 5 (LI, *et al.*, 2010).

**Figura 5.** Dispositivo microfluídico à base de fios têxteis com detecção colorimétrica de nitrito e ácido úrico, desenvolvido por Li, *et al.*, 2010.



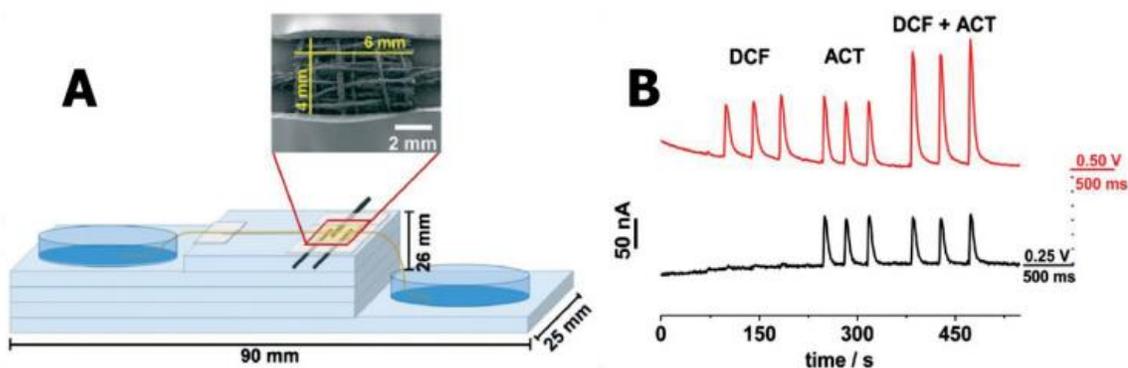
Fonte: LI, *et al.*, 2010.

Utilizado em muitas aplicações, o algodão é a fibra têxtil natural mais importante, tendo como função natural a proteção e promoção da dispersão de sementes (O'CONNOR, 1972). O algodão cru, matéria prima para barbantes, contém em sua composição principalmente celulose (95%), polímero linear (β-D-glicopirranose) e constituintes não celulósicos, incluindo proteínas, aminoácidos, polissacarídeos, ceras, entre outros (WAKELYN, 2006). Morfologicamente, as fibras de algodão apresentam fitas de aparência torcida, e sua resistência mecânica pode ser aumentada em um fator de 25% quando molhadas (HEARLE, 2006). Além disso, a presença de grupos hidroxila faz com que o algodão apresente uma alta hidrofiliçidade. Assim como os fios de algodão, os diversos tipos de fios têxteis são formados por combinações de um ou mais tipos de fibras, as quais são peças alongadas e arredondadas provenientes dos mais diversos materiais.

Outras características destes substratos são: alta disponibilidade, baixo custo, maior resistência mecânica do que o papel, ausência da necessidade de barreiras hidrofóbicas, possibilidade de modificação das propriedades das fibras, apresentam ação capilar, fazendo com que não sejam necessários instrumentos externos para o transporte de soluções e potencialidade para aplicação dos dispositivos construídos utilizando-se de diferentes detectores, como os eletroquímicos (WENG, *et al.*, 2019). Neste contexto, Augustini *et al.* reportaram a construção de um dispositivo microfluídico de baixo custo com detecção eletroquímica, no qual fios de algodão foram utilizados como canais microfluídicos. Este dispositivo foi aplicado para a determinação amperométrica de acetaminofeno (ACT) e diclofenaco (DCF), sendo obtidos limites de detecção

(LOD) e quantificação (LOQ) de 1,4 e 4,7  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente para ACT, e 2,5 e 8,3  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente para DCF. A Figura 6 ilustra o dispositivo confeccionado com alguns resultados apresentados pelos autores.

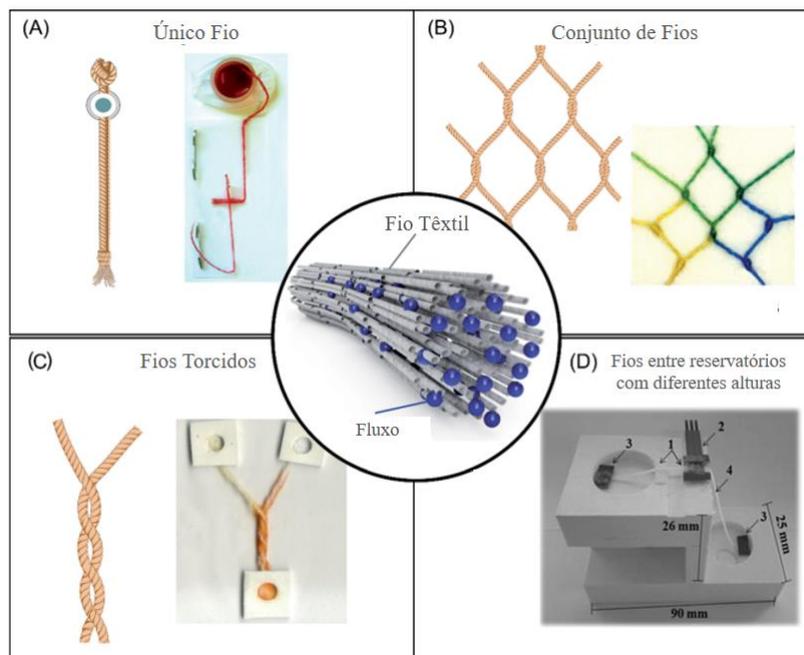
**Figura 6. A)** Dispositivo microfluídico à base de fios têxteis empregado na determinação de acetaminofeno e diclofenaco desenvolvido por Augustini, *et al.*, 2016. **B)** Amperogramas de múltiplos pulsos obtidos para as amostras dos fármacos.



Fonte: Adaptado de AUGUSTINI, *et al.*, 2016.

Além das vantagens mencionadas, a utilização de fios têxteis em dispositivos microfluídicos permite a fácil modificação do comportamento do fluxo com a variação de *designs*, como a criação de redes (tranças, tricô), nós, utilização de vários fios em paralelo, ou a utilização de fios em suportes com diferentes alturas entre os reservatórios (Figura 7).

**Figura 7.** **A)** Interruptores para controle de fluxo fabricado com um único filamento de fio têxtil. Adaptado de Ballerini, *et al.*, 2011; **B)** Redes fabricadas com fios têxteis e nós para aplicação como um circuito microfluídico. Adaptado de Safavieh, *et al.*, 2011; **C)** Dispositivo à base de fios têxteis com geometria Y utilizado para síntese química. Adaptado de Banerjee, *et al.*, 2013; **D)** Dispositivo microfluídico à base de fios têxteis fabricado por meio de uma impressora 3D por Oliveira, *et al.*, 2019.



Fonte: Adaptado de AUGUSTINI, *et al.*, 2021.

Neste contexto, Oliveira *et al.* desenvolveram um sistema microfluídico à base de fios têxteis para a determinação não enzimática de glucose, conforme apresentado na Figura 7D. A este dispositivo, eletrodos impressos modificados com nanotubos de carbono e NiOOH foram empregados para a detecção eletroquímica. O dispositivo foi fabricado por meio de uma impressora 3D e, para a construção dos canais hidrofílicos, foram utilizados fios de gaze. O método proposto foi empregado na determinação de glucose em soro de sangue humano comercial, sendo obtidos limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ) de 3,9 e 13  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente (OLIVEIRA, *et al.*, 2019). Como demonstrado, sistemas microfluídicos à base de fios têxteis têm sido aplicados para determinação de biomarcadores em amostras biológicas (ARROYO, *et al.*, 2020), inseticidas em alimentos (JING, *et al.*, 2021), metais (SUAREZ, *et al.*, 2020), entre outros. No âmbito de análises de interesse biológico, estes sistemas apresentam grande potencial para a realização de diagnósticos em diferentes fluidos corporais, como sangue, urina e saliva, os quais contém informações de relevância clínica.

Os  $\mu$ TADs apresentam algumas vantagens frente aos  $\mu$ PADs, como a ausência da etapa de construção de barreiras hidrofóbicas para direcionar o fluxo no sistema, uma vez que o fluxo é realizado apenas no fio. Entretanto, a evaporação das soluções durante os estudos, a dificuldade de se manter uma vazão constante e a necessidade de renovar todo o sistema após a saturação do reservatório de saída são ainda algumas limitações encontradas para ambos os substratos, papel e fios têxteis. Neste sentido, pesquisas estão sendo realizadas para superar tais limitações, a fim de permitir uma melhora no desempenho analítico dos sistemas microfluídicos fabricados com esses substratos, garantindo análises repetitivas e confiáveis, em conjunto com uma maior portabilidade, fazendo com que seja possível utilizá-los para diversas aplicações.

## 2. OBJETIVOS

Tendo em vista as potencialidades da utilização de fios têxteis para a construção de sistemas microfluídicos e, levando em consideração algumas limitações relacionadas a estes dispositivos, o objetivo geral deste trabalho foi desenvolver, otimizar e aplicar um sistema microfluídico alternativo à base de fios têxteis e algodão acoplado à detecção eletroquímica. Os objetivos específicos deste trabalho incluem: avaliar se a inserção dos fios têxteis em tubos de polietileno é vantajosa, avaliar o desempenho analítico deste dispositivo com detecção amperométrica para alguns analitos modelo e para a determinação de nitrito em amostras de saliva sintética.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi dividido em quatro etapas. A primeira consistiu na montagem do sistema microfluídico com detecção amperométrica e avaliação de seu funcionamento. Na segunda etapa, o íon ferrocianeto foi utilizado como sonda eletroquímica para a otimização de alguns parâmetros operacionais, tais como: dimensões dos reservatórios de saída e entrada, distância entre injetor e detector, volume e número máximo de injeções e vazão. Na terceira etapa, com o intuito de avaliar as potencialidades analíticas do sistema proposto, foram construídas curvas analíticas para diferentes analitos modelo: dopamina, peróxido de hidrogênio e TBHQ. Na quarta e última etapa, o sistema microfluídico foi aplicado para a determinação de nitrito em amostras de saliva sintética.

#### 3.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico e empregados sem qualquer etapa de purificação. Para o preparo das soluções aquosas foi utilizada água ultrapura proveniente de um ultrapurificador da marca Megapurity® (Billerica, USA) capaz de produzir água padrão ASTM tipo 1, com resistividade próxima a 18,3 MΩ cm.

A solução de cloreto de potássio na concentração de 0,1 mol L<sup>-1</sup>, utilizada como eletrólito suporte e solução transportadora, foi preparada a partir do sal de KCl (99%, Vetec®, Rio de Janeiro, Brasil). A solução tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> foi preparada a partir de fosfato de potássio monobásico e fosfato de potássio dibásico (98%, Vetec, Rio de Janeiro, Brasil). Para o preparo da solução de ferrocianeto de potássio em KCl, empregada como sonda eletroquímica nas etapas I, II e III, foi utilizado o sal K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] (99%, ECIBRA®). Ácido perclórico (72%, Isofar, Rio de Janeiro, Brasil) foi utilizado nas análises amperométricas realizadas em meio aquoso, nas quais o tert-butil hidroquinona (TBHQ, 98% Across, New Jersey, USA) foi empregado como um analito modelo. Dopamina (Sigma-Aldrich®, São Paulo, Brasil) e peróxido de hidrogênio (30%, Isofar, Rio de Janeiro, Brasil) também foram usados como analitos modelo, ambos preparados em tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Solução de ácido sulfúrico (95,98%, Impex, Brasil) 0,5 mol L<sup>-1</sup> foi utilizada para limpeza dos eletrodos. Para as análises de nitrito nas amostras de saliva sintética, foram preparados padrões de nitrito, a partir de nitrito de sódio (99%, Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) em tampão fosfato para construção das curvas analíticas. Foram avaliadas salivas sintéticas preparadas

em laboratório e obtida comercialmente. Para o preparo da saliva em laboratório foram utilizados os sais de cloreto de sódio (99,9%, LS Chemicals, Ribeirão Preto, Brasil), cloreto de potássio (99%, Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), cloreto de amônio (99,5%, Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e sulfato de sódio anidro (99%, Impex, Varginha, Brasil). Já a saliva artificial obtida comercialmente (Homeogarvil, Ituiutaba, Brasil) foi preparada a partir de carboximetilcelulose (CMC- 1%), cloreto de magnésio (0,005%), cloreto de potássio (0,149%) e benzoato de sódio (0,1%), em água ultrapura.

### **3.2 Instrumentação**

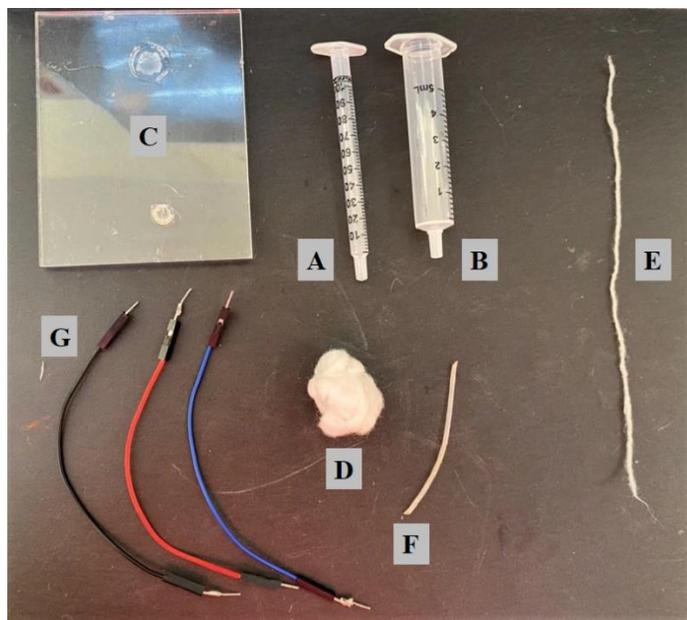
As medidas eletroquímicas foram realizadas empregando-se um potenciostato/galvanostato Autolab, modelo  $\mu$ Autolab tipo III interfaceado a um microcomputador e gerenciado pelo software NOVA versão 2.1.4. Para os estudos envolvendo o sistema microfluídico, a técnica adotada foi a amperometria. Para os estudos de determinação dos respectivos potenciais de oxidação dos analitos estudados, utilizando-se de uma célula eletroquímica convencional, a técnica adotada foi a voltametria cíclica.

Imagens de microscopia ótica foram obtidas a partir de um microscópio USB (Cooling Tech, China), modelo 1600. Para uma caracterização física dos canais microfluídicos, foram realizados cálculos dimensionais dos canais por meio das imagens obtidas, utilizando do software AxionVision® LE, versão 4.8.2.0 (Carl Zeiss MicroImaging, Jena, Alemanha).

### **3.3 Fabricação do sistema microfluídico acoplado à detecção eletroquímica**

O sistema microfluídico foi desenvolvido utilizando materiais alternativos, conforme apresentado na Figura 8.

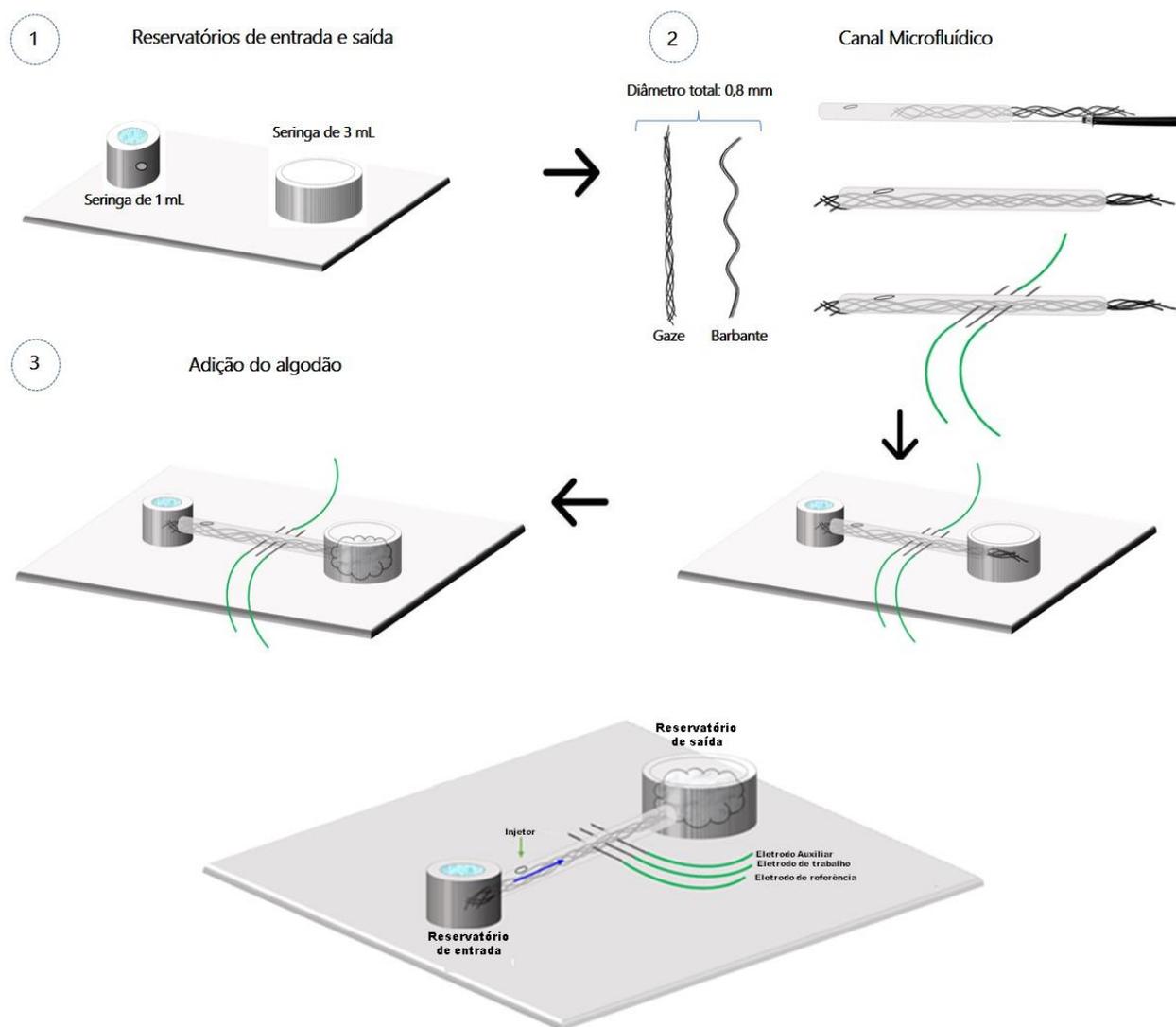
**Figura 8.** Materiais utilizados para a fabricação do dispositivo microfluídico acoplado à detecção eletroquímica. (A-B) Seringas descartáveis; (C) Placa de PMMA; (D) Algodão; (E) Fios têxteis; (F) Tubo de polietileno; (G) Eletrodos de platina.



Fonte: Própria.

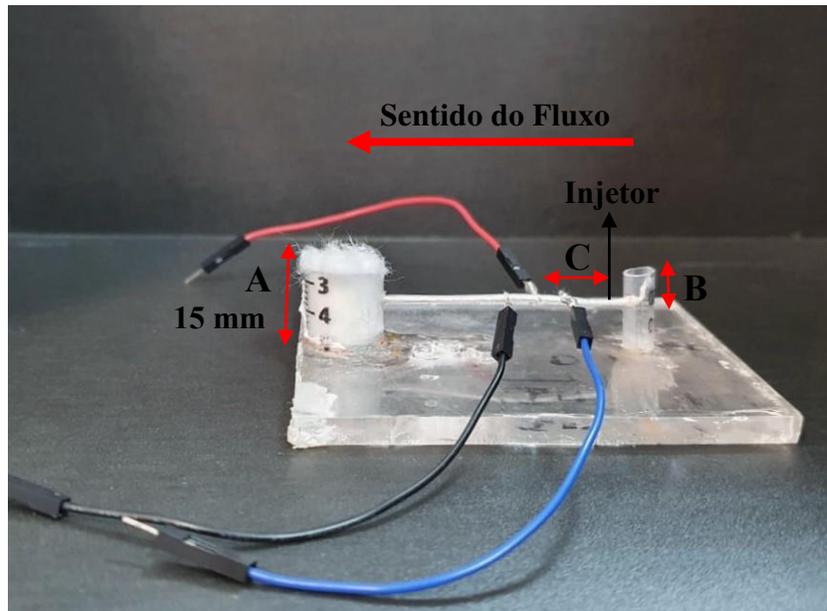
Com auxílio de cola epóxi (Araldite Profissional), seringas descartáveis de 1 (A) e 3 mL (B) (Descarpack, Brasil) foram fixadas em uma placa de polimetilmetacrilato (PMMA) (C) e empregadas como reservatórios de entrada e saída, respectivamente. Chumaços de algodão (Cremer S. A., Blumenau, Brasil) (D) foram adicionados ao reservatório de saída para o aumento da capacidade absorvente do sistema. O canal microfluídico construído a partir de fios têxteis (E) e tubo de polietileno (F) com tamanho de 5 cm foi conectado entre os reservatórios, mantidos a 1 cm de altura em relação à placa de PMMA. Um pequeno orifício (injeção) foi produzido neste tubo a uma distância de 1 cm do reservatório de entrada para que as injeções na ordem de microlitros fossem realizadas por meio de uma micropipeta convencional. Como sistema de detecção, três fios de platina de aproximadamente 2 cm (G), os quais foram utilizados como eletrodos de pseudo-referência, trabalho e auxiliar, foram conectados, perpendicularmente, ao canal microfluídico. Estes fios foram fixados a conexões maiores para facilitar a conexão ao potenciostato. A escolha dos fios de Pt para a detecção foi baseada em estudos prévios realizados pelo grupo de pesquisa (PAIOLA, *et al.*, 2017; OLIVEIRA, *et al.*, 2021). A Figura 9 esquematiza o procedimento de montagem do dispositivo, sendo uma imagem do dispositivo completo apresentado na Figura 10.

**Figura 9.** Representação esquemática do procedimento de montagem do sistema microfluídico. (1) Fixação dos reservatórios de entrada e saída na placa de PMMA; (2) Inserção do fio têxtil ao tubo de polietileno, adição dos eletrodos ao conjunto tubo/fio e conexão do canal microfluídico entre os reservatórios de entrada e saída; (3) Adição de algodão ao reservatório de saída.



Fonte: Própria.

**Figura 10.** Imagem do sistema microfluídico confeccionado. A) Reservatório de Saída - 15 mm; B) Altura do Reservatório de Entrada; C) Distância entre injetor e detector (WE).



Fonte: Própria.

Inicialmente, a o efeito de se utilizar o fio têxtil inserido em um do tubo de polietileno sobre o desempenho do sistema foi avaliado. Após estes estudos, diferentes fios têxteis, barbantes e gaze (Cremer, Blumenau, Santa Catarina), obtidos em comércio local, foram selecionados para a construção do canal microfluídico. Para isso, ambos os fios com diâmetros totais de 0,8 mm foram inicialmente lavados com água ultrapura a fim de eliminar possíveis impurezas que poderiam dificultar o transporte das soluções por capilaridade devido a diminuição da polaridade do mesmo (NILGHAZ, *et al.*, 2012). Posteriormente, foram mantidos à temperatura ambiente para secagem por aproximadamente 2 horas e, em seguida, inseridos no tubo. Após a fabricação do dispositivo, os principais parâmetros foram otimizados, sendo estes: massa de algodão no reservatório de saída, altura do reservatório de entrada, distância entre injetor e detector e volume máximo de injeção. Posteriormente à otimização do sistema, foram avaliados a vazão e o número máximo de injeções.

Os parâmetros utilizados para as análises iniciais estão apresentados na Tabela 1. Ao início de cada estudo com detecção amperométrica, o dispositivo era mantido por 500 segundos apenas com a passagem do eletrólito de suporte para garantir uma melhor homogeneização do sistema. Ao fim de cada análise, o sistema foi desmontado, desconectando os eletrodos, retirando o tubo e descartando o fio e algodão utilizados.

**Tabela 1.** Principais dimensões da configuração inicial (não otimizada) do dispositivo microfluídico.

Dimensão	Valor / cm
Distância Injetor – Reservatório de Entrada	1,0
Distância Injetor – Detector	1,5
Distância Entre os eletrodos	0,5
Comprimento total do percurso analítico	5,0
Diâmetro do Reservatório de Saída	1
Altura do Reservatório de Entrada	1,5

Para a avaliação da potencialidade analítica do dispositivo, dopamina, peróxido de hidrogênio e TBHQ foram empregados como analitos modelo. Para estes estudos, foram obtidos voltamogramas cíclicos para a identificação do potencial de detecção dos analitos, os quais foram utilizados posteriormente nas análises amperométricas. Os experimentos voltamétricos foram realizados em uma célula eletroquímica convencional contendo 10 mL de eletrólito suporte, utilizando-se de três eletrodos de platina, os quais foram empregados como eletrodos de trabalho, pseudo-referência e auxiliar. Em todos os estudos amperométricos, o reservatório de entrada foi mantido cheio para que a pressão hidrostática permanecesse aproximadamente constante. Após estes estudos, o sistema microfluídico foi utilizado na determinação de nitrito em amostras de salivas artificiais.

### 3.4 Preparo das amostras de saliva

O preparo da saliva sintética foi adaptado do procedimento descrito na literatura (BRITISH STANDARDS INSTITUTION, 1987) A amostra foi preparada a partir de 0,225 g de cloreto de sódio, 0,115 g de cloreto de potássio, 0,020 g de cloreto de amônio e 0,015 g de sulfato de sódio anidro, em um volume total de 50 mL de água ultrapura. Um volume de 2 mL da saliva sintética foi transferido para um balão volumétrico de 10 mL, o qual foi completado com tampão fosfato. As amostras originais (antes da diluição) foram enriquecidas com concentrações conhecidas de nitrito e analisadas a partir de estudos de adição e recuperação. Para as análises das amostras de saliva obtidas comercialmente, 500  $\mu$ L da saliva foram transferidos para um balão volumétrico de 10 mL, sendo completado com tampão fosfato. É importante destacar que a diluição foi necessária para ambas as amostras de saliva devido à elevada viscosidade inicial das soluções, o que influenciou diretamente a vazão no sistema.

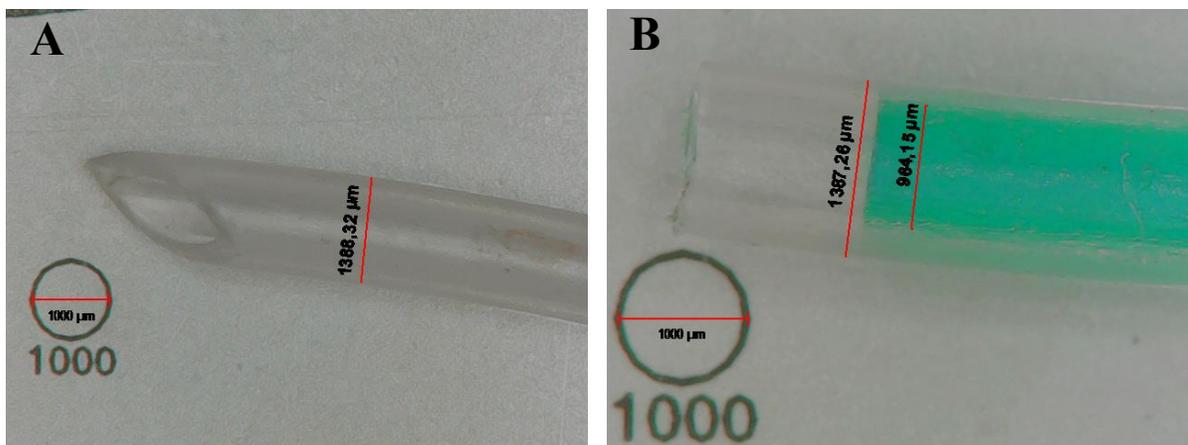
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterizações físicas do dispositivo

Um dos principais diferenciais do sistema microfluídico à base de fios têxteis proposto neste trabalho em relação aos disponíveis na literatura (CARNEIRO, *et al.*, 2018; AUGUSTINI, *et al.*, 2017; CAETANO, *et al.*, 2018) é o fato do fio têxtil estar inserido em um tubo de polietileno. A utilização deste tubo pode trazer algumas vantagens, como minimização da evaporação do solvente da solução transportadora, menor susceptibilidade à contaminação das soluções por vapores de espécies químicas eventualmente presentes no laboratório e tornar o sistema mais robusto. Além da proposta de contornar estas limitações, a possibilidade de renovação do sistema apenas com a troca do algodão que compõe o reservatório de saída traz uma grande praticidade para o dispositivo, sendo esta uma característica extremamente interessante em relação a outros sistemas que empregam papel ou fios têxteis como canais microfluídicos (SUAREZ, *et al.*, 2020; ZHANG, *et al.*, 2019).

Os primeiros estudos visaram avaliar o efeito do tubo de polietileno sobre as propriedades de transporte dos fios têxteis. Inicialmente, as dimensões do tubo foram obtidas por meio de imagens por microscopia ótica, as quais são apresentadas na Figura 11.

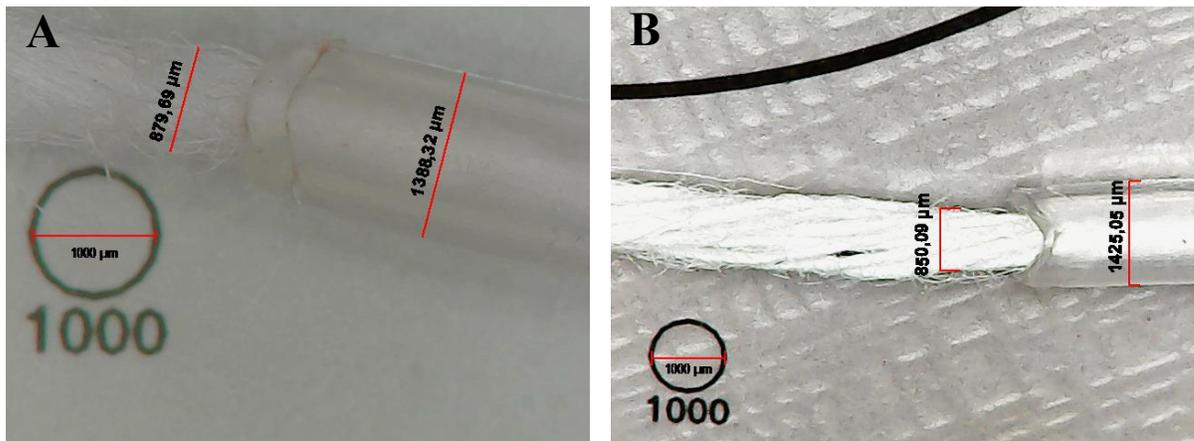
**Figura 11.** Imagens por microscopia ótica dos tubos de polietileno empregados para a construção do dispositivo microfluídico. **A)** Medida do diâmetro total; **B)** Tubo de polietileno preenchido com uma solução de corante alimentício azul para determinação do diâmetro interno.



Fonte: Própria.

Por meio das imagens, foi possível calcular os diâmetros total e interno do tubo de polietileno, sendo estes de  $1388 \pm 10 \mu\text{m}$  ( $N = 5$ ) e  $985 \pm 8 \mu\text{m}$  ( $N = 5$ ), respectivamente. Posteriormente, foram obtidas imagens que demonstram que os fios têxteis, quando inseridos no tubo, preenchem quase todo o espaço vazio do mesmo, como apresentado na Figura 12.

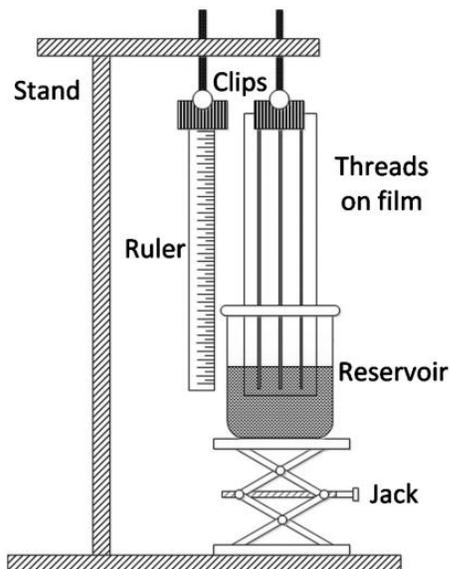
**Figura 12.** Imagens por microscopia ótica do **A)** barbante de algodão inserido no tubo de polietileno; **B)** Fios de gaze inseridos no tubo de polietileno.



Fonte: Própria.

Sequencialmente, foi estudada a distância de penetração de um fluido teste (solução aquosa de um corante alimentício) ao longo dos fios, a partir da observação da elevação capilar do fluido contra a força da gravidade. De acordo com Ballerini *et al.* (BALLERINI, *et al.*, 2011), a altura de uma coluna de um fio permeado por um líquido apresenta uma dependência linear com a raiz quadrada do tempo. Desta forma, para a realização destes estudos, foi adaptada uma instrumentação semelhante a apresentada pelos autores e indicada na Figura 13.

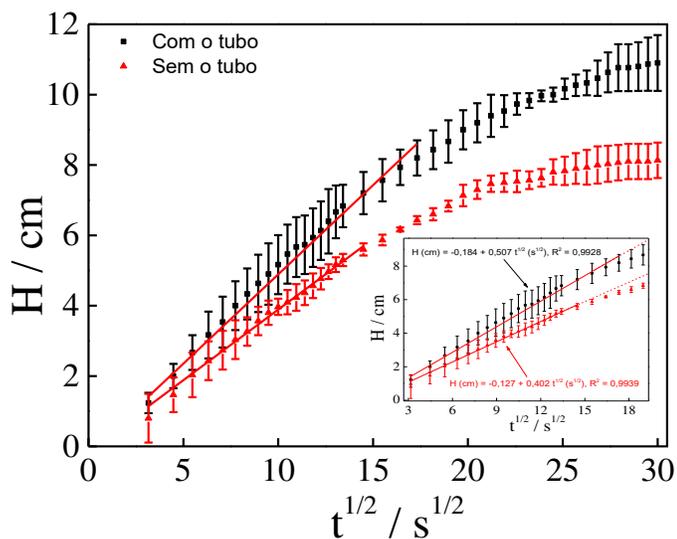
**Figura 13.** Arranjo experimental empregado para os estudos da elevação capilar contra a gravidade.



Fonte: BALLERINI, 2011.

Fios de gaze foram inseridos no tubo de polietileno e a dependência da altura de ascensão com o tempo foi comparada à de fios de gaze não inseridos no tubo. A Figura 14 apresenta o gráfico da altura em função da raiz quadrada do tempo para as duas condições estudadas.

**Figura 14.** Valores de média e desvio padrão referentes à altura em função de  $t^{1/2}$  obtidos para um sistema composto por 10 fios de gaze. ■ fios inseridos no tubo de polietileno; ▲ fios sem o tubo de polietileno.

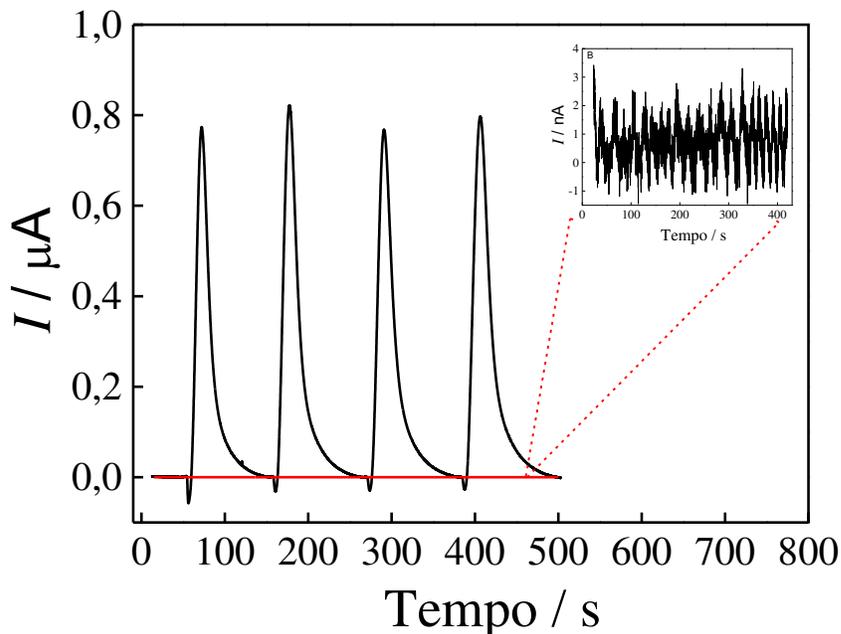


A partir dos resultados obtidos, observa-se uma relação linear no início do percurso do fluído nos fios têxteis. As equações da reta referentes às curvas na ausência e presença do tubo são:  $H \text{ (cm)} = -0,127 + 0,402 t^{1/2} \text{ (s}^{1/2}\text{)}$ ,  $R^2 = 0,9939$  e  $H \text{ (cm)} = -0,184 + 0,507 t^{1/2} \text{ (s}^{1/2}\text{)}$ ,  $R^2 = 0,99828$ , respectivamente. Um desvio gradual da linearidade é observado para maiores tempos, o que pode ser justificado pela perda parcial da força motriz em consequência do efeito da gravidade e também pelo efeito da evaporação das soluções ao longo do tempo. Por outro lado, velocidade e a distância percorrida pelo fluído aumentam quando os fios estão inseridos no tubo, indicando um favorecimento do fluxo quando este é empregado como suporte para os fios. Este efeito pode ser atribuído ao aumento da capilaridade devido aos espaços vazios entre o tubo e o fio e à diminuição da evaporação do fluído. Assim, a utilização do tubo de polietileno envolvendo os fios têxteis é uma estratégia bastante vantajosa, uma vez que além de contribuir para um aumento da capilaridade, também contorna limitações relacionadas à perda de solução e permite uma vazão mais constante, trazendo benefícios a este sistema frente aos apresentados na literatura. Além disso, o tubo de polietileno auxilia na estrutura do sistema, favorecendo a conexão dos eletrodos, atuando como suporte para os mesmos e facilitando sua fixação. Tendo em vista todas estas vantagens, após esta avaliação, o sistema foi acoplado à detecção eletroquímica.

#### **4.2 Avaliação do sistema microfluídico acoplado à detecção eletroquímica e estudos de comparação entre fios têxteis**

O sistema microfluídico confeccionado foi acoplado à detecção eletroquímica empregando três fios de platina como eletrodos, como indicado em 3.3. Desta forma, com o objetivo de avaliar o funcionamento do dispositivo a partir da estabilidade da resposta amperométrica, nível da linha de base e intensidade dos sinais transientes, foram realizadas injeções consecutivas da sonda eletroquímica no sistema. A Figura 15 apresenta os sinais transientes obtidos para injeções consecutivas de uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$   $1 \text{ mmol L}^{-1}$ .

**Figura 15.** A) Sinais transientes obtidos para injeções consecutivas de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$   $1 \text{ mmol L}^{-1}$ . Solução transportadora:  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; Volume de amostra:  $5 \mu\text{L}$ ;  $E_{\text{detecção}} = + 0,6 \text{ V vs. Pt}$ ; Fio têxtil: barbante. (-) Sinais transientes referentes às injeções de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ; (-) Branco; Diâmetro do reservatório de saída:  $10 \text{ mm}$ . B) Ampliação dos sinais de ruído.

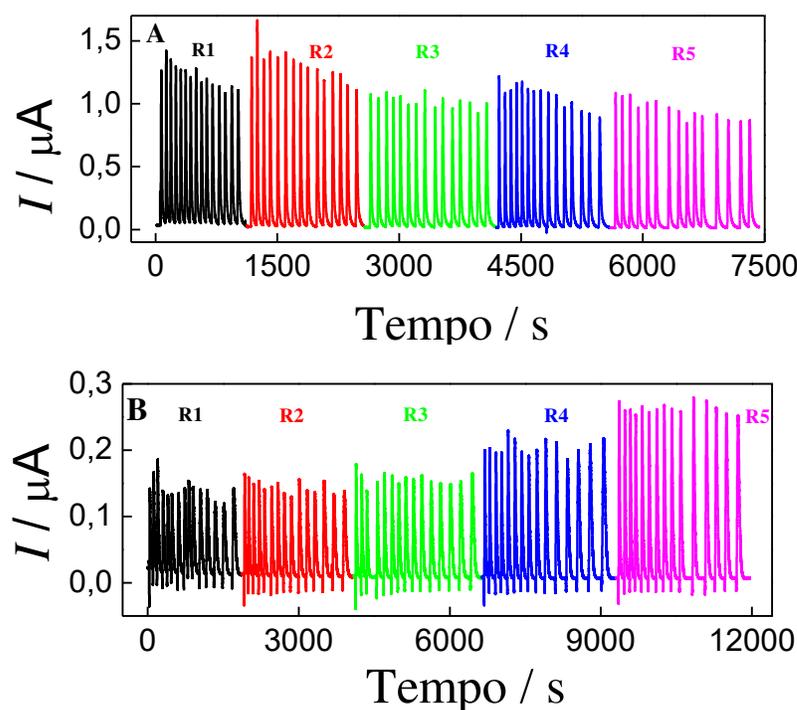


Conforme observado na Figura 15A, sinais transientes característicos de um sistema em fluxo correspondentes à oxidação da sonda eletroquímica foram obtidas, além de uma estabilidade na linha de base, demonstrando que o sistema microfluídico proposto acoplado à detecção eletroquímica é promissor para aplicações analíticas. Por meio do amperograma, o ruído foi caracterizado através da obtenção da média e do desvio padrão dos valores de corrente registrado por um período igual a duração de um pico referente a injeção da solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$   $1 \text{ mmol L}^{-1}$  (aproximadamente 65 segundos), sendo obtido um valor médio de  $1,42 \pm 0,4 \text{ nA}$ , demonstrado na Figura 15B. Este resultado indica que o sistema proposto apresenta baixas correntes de fundo e que, portanto, é capaz de fornecer elevadas razões sinal/ruído e, portanto, baixos limites de detecção

Foram avaliados dois tipos de fios têxteis para a montagem do sistema: gaze hidrofílico e barbante de algodão para artesanato. Para isso, 15 injeções consecutivas de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$   $1 \text{ mmol L}^{-1}$  foram realizadas e, após esta etapa, o reservatório de saída foi renovado para que a vazão inicial se mantivesse constante. A renovação do reservatório de saída foi realizada por 5 vezes para cada fio têxtil para que a avaliação da repetitividade com diferentes algodões no

reservatório de saída também pudesse ser avaliada. A Figura 16 apresenta as correntes transientes obtidas empregando os 5 chumaços de algodão adicionados ao reservatório de saída para o fio têxtil de barbante e gaze.

**Figura 16.** Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$   $1 \text{ mmol L}^{-1}$ . Solução transportadora:  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ;  $E_{\text{detecção}}: + 0,6 \text{ V vs. Pt}$ ; Volume de injeção:  $2 \mu\text{L}$ . **A)** Barbante; **B)** Gaze. **R1** – Reservatório de saída 1; **R2** – Reservatório de saída 2; **R3** – Reservatório de saída 3; **R4** – Reservatório de saída 4; **R5** – Reservatório de saída 5.



Para um mesmo algodão no reservatório de saída, os valores médios das intensidades de pico e RSD para o barbante e a gaze hidrofílica foram, respectivamente:  $1,22 \pm 0,09 \mu\text{A}$  (RSD = 7 %;  $N = 15$ ) e  $0,14 \pm 0,02 \mu\text{A}$  (RSD = 14 %;  $N = 15$ ). Quando diferentes algodões foram utilizados no reservatório de saída, as intensidades médias de corrente e os RSD foram:  $1,20 \pm 0,12 \mu\text{A}$  (RSD = 10 %) para o barbante e  $0,19 \pm 0,05 \mu\text{A}$  (RSD = 26 %) para a gaze hidrofílica. Assim, considerando os maiores valores das intensidades de corrente obtidas e repetitividade e, levando em consideração a maior facilidade para inserir o fio de barbante no tubo, uma vez que apenas um fio deste material é suficiente para preencher o espaço, o barbante foi selecionado como material para os estudos posteriores de otimização do sistema.

### 4.3 Otimização do sistema

As respostas amperométricas podem ser influenciadas pelas dimensões do dispositivo e do canal microfluídico, volume de injeção das soluções, posição dos eletrodos, entre outros. Alguns parâmetros, como capacidade absorvente do reservatório de saída, altura do reservatório de entrada, distância entre o injetor e detector e volume de injeção foram otimizados. Todos os estudos foram realizados com KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> como solução transportadora e eletrólito de suporte e 1 mmol L<sup>-1</sup> de [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> como sonda eletroquímica.

#### 4.3.1 Otimização do reservatório de saída (S)

De modo a avaliar o efeito da massa de algodão no reservatório de saída sobre a vazão do sistema, diferentes massas de algodão (entre 50 e 200 mg) foram inseridas em uma seringa de 3 mL com 10 mm de diâmetro e 1,5 cm de altura. O sistema foi abastecido com a solução transportadora por 150 s. A massa de solução transportadora transferida para o algodão durante esse tempo foi determinada pela diferença entre a massa do algodão após os 150 s e a massa do algodão seco. Para se determinar a vazão do sistema, a massa da solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de KCl absorvida pelo algodão foi convertida em volume usando-se a densidade desta solução que foi determinada como 1,007 g mL<sup>-1</sup>, conforme o exemplo demonstrado na Equação 1 referente à massa de solução absorvida utilizando-se de 50 mg de algodão. Finalmente, os volumes encontrados foram divididos por 150 s. Os resultados obtidos neste estudo são apresentados na Figura 17.

**Equação 1.** Cálculo empregado para a determinação da vazão do sistema.

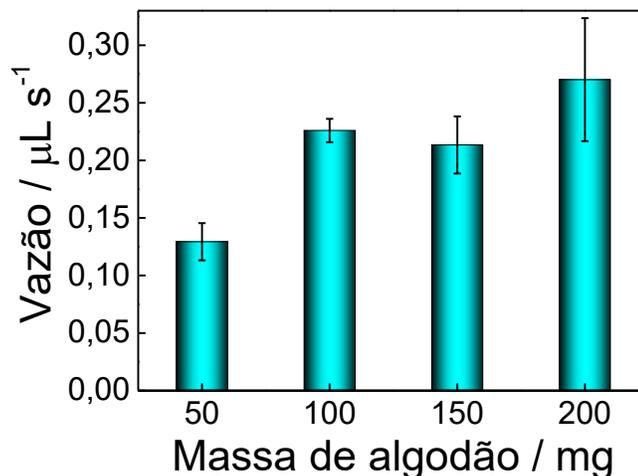
$$Densidade = \frac{Massa}{Volume}$$

$$1,007 \text{ g mL}^{-1} = \frac{0,02}{V}$$

$$V = \frac{19 \mu\text{L}}{150 \text{ segundos}}$$

$$Vazão = 0,13 \mu\text{L s}^{-1}$$

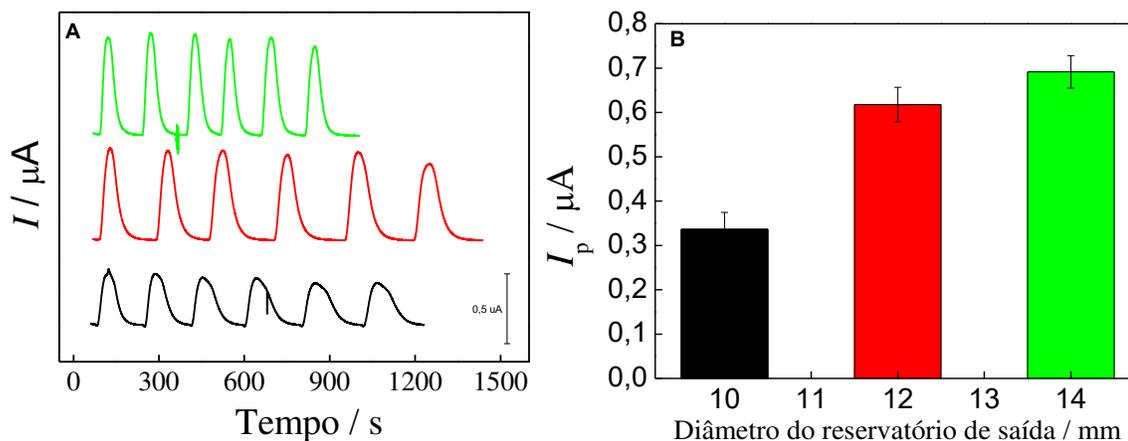
**Figura 17.** Influência da massa de algodão no reservatório de saída sob a vazão. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>.



A Figura 17 mostra que a vazão aumenta quando a massa de algodão é aumentada de 50 para 100 mg, tendendo a se estabilizar para maiores massas de algodão. Para as massas maiores foi observado um maior valor de RSD, sendo este de 19,8 % para 200 mg, em relação a 4,5 % para 100 mg. Esse aumento de RSD pode ser justificado por meio da dificuldade de inserir uma maior quantidade de algodão no suporte do reservatório de saída. Assim, para as maiores massas, o algodão ficaria mais comprimido dentro do suporte o que poderia dificultar a passagem do líquido entre fibras de algodão levando a vazões menos repetitivas do que o esperado para as massas maiores de algodão.

Na sequência, foram avaliados diferentes conjuntos suporte/algodão utilizando seringas de diferentes volumes, partindo da proporção definida de 100 mg de algodão para uma seringa de 10 mm de diâmetro (3 mL). Foram mantidos alguns parâmetros para todos os reservatórios estudados, sendo estes: altura total de 1,5 cm, altura de 1 cm para o orifício de encaixe do canal microfluídico e distância de 5 cm entre o reservatório de saída e entrada. As massas de algodão avaliadas para os reservatórios confeccionados a partir de seringas com diâmetros de 10, 12 e 14 mm foram de 100; 125 e 200 mg, respectivamente. Todos os estudos foram realizados em triplicata, uma vez que, para cada reservatório estudado, o algodão foi renovado 3 vezes após seis injeções consecutivas da sonda eletroquímica. A Figura 18 apresenta os amperogramas e o gráfico de  $I_p$  em função das diferentes dimensões avaliadas.

**Figura 18.** A) Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  para a otimização do suporte do reservatório de saída: a) S1; b) S2 e c) S3; B) Valores de média e desvio padrão de  $I_p$  obtidos para as seis primeiras injeções em cada reservatório de saída. Solução transportadora: KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; Volume de amostra:  $5 \mu\text{L}$ ;  $E_{\text{detecção}} = +0,6 \text{ V vs. Pt}$ . Suportes do reservatório de saída construídos com seringas de diferentes diâmetros: S1 – 10 mm; S2 – 12 mm e S3 – 14 mm.



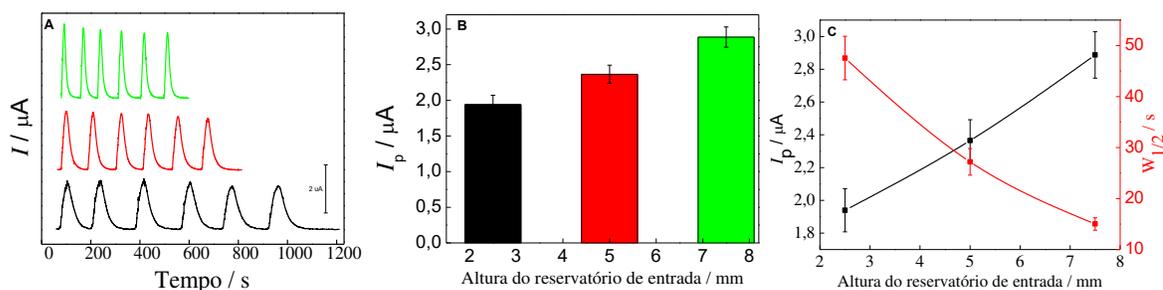
Como pode ser observado, a capacidade absorvente do reservatório de saída foi aumentada com o aumento da massa de algodão até o reservatório 3, produzindo picos mais estreitos e com intensidades maiores. Além disso, o reservatório 3 apresentou menores variações entre as medidas, sendo os valores de RSD de 2,1 % entre a primeira injeção de cada replicata ( $N = 3$ ), e 5,3 % entre as seis injeções para um mesmo algodão. Desta forma, para os estudos subsequentes foi fixado o reservatório de saída S3. Após a otimização do reservatório de saída, foi avaliado o efeito da variação da altura do reservatório de entrada nas respostas amperométricas para o  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ .

#### 4.3.2 Otimização do reservatório de entrada (E)

A altura do reservatório de entrada de eletrólito tem influência sobre o sinal analítico, uma vez que, com o aumento da altura há o aumento da pressão hidrostática, a qual influencia diretamente na vazão do sistema. Portanto, para a otimização deste reservatório, diferentes alturas (7,5; 5,0; 2,5 e 1,0 mm) a partir de uma seringa de 1 mL foram avaliadas. Alturas acima de 7,5 mm não foram avaliadas, pois causaram vazamentos nas conexões do canal microfluídico e eletrodos, devido a maior pressão exercida pela solução. Por outro lado, o reservatório de 1 mm de altura não forneceu pressão suficiente para produzir uma vazão constante no sistema. Para a realização dos estudos, o algodão do reservatório de saída foi renovado a cada seis injeções da sonda eletroquímica. Este mesmo procedimento foi repetido por três vezes para cada reservatório

estudado, sendo utilizado um único fio de barbante durante todo o estudo. A Figura 19 mostra a influência da altura do reservatório de entrada (E) sobre as respostas amperométricas.

**Figura 19.** A) Sinais transientes obtidos para injeções de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  com diferentes alturas do reservatório de entrada: a) **E1 = 2,5 mm**; b) **E2 = 5 mm**; c) **E3 = 7,5 mm**. B) Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de corrente obtidas para as seis primeiras injeções de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ . C) Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de pico e largura à meia altura obtidas para as seis primeiras injeções de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  empregando os diferentes reservatórios. Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; Volume de amostra:  $5 \mu\text{L}$ ;  $E_{\text{detecção}} = +0,6 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg.



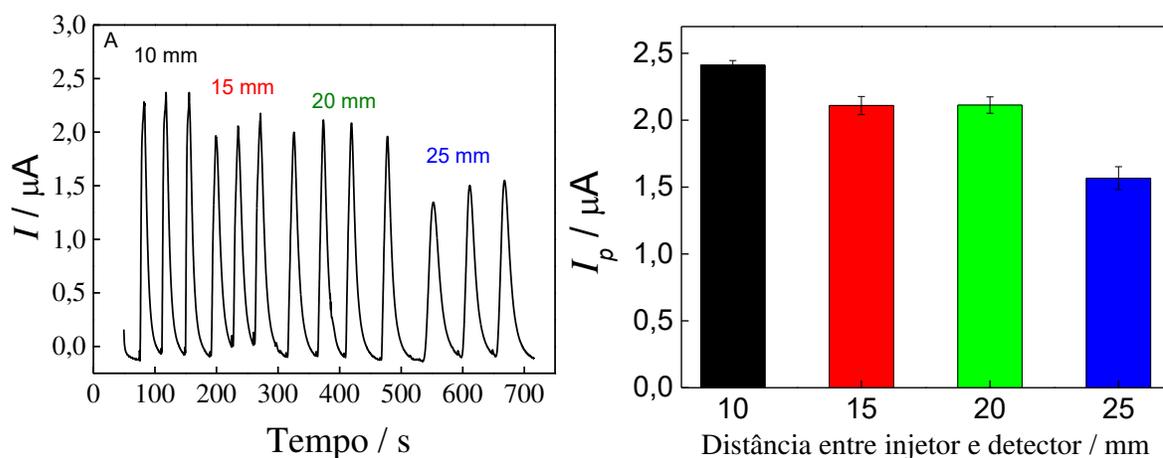
Como apresentado na Figura 19, há um aumento das intensidades dos sinais transientes e estes também se tornam mais estreitos com o aumento da altura do reservatório de entrada. Este parâmetro pode ser avaliado a partir de sua relação linear com a pressão hidrostática exercida pela solução sobre o canal microfluídico ( $P_h = \rho \cdot g \cdot h$ ,  $P_h$  = pressão hidrostática,  $\rho$  = densidade do fluido,  $g$  = aceleração da gravidade,  $h$  = diferença de altura entre a superfície dentro do reservatório e o canal microfluídico). Portanto, a altura do reservatório afeta a velocidade da solução carregadora dentro do tubo. Este comportamento apresentado na Figura 19 é justificado pela redução da dispersão da zona de amostra provocado pelo aumento da vazão, o que é característico de sistemas convencionais de análise por injeção em fluxo.

Para os estudos com o reservatório E1, foi necessário um maior período para a realização das medidas, uma vez que a pressão exercida pela solução é menor. Além disso, os sinais transientes obtidos apresentaram menores valores de intensidade de corrente. Por outro lado, durante os estudos com o reservatório E3, foram observados vazamentos. Em contrapartida, o reservatório E2 apresentou menores valores de RSD, sendo estes de 2,9% entre a primeira injeção de cada replicata ( $N = 3$ ), e 5,4% entre as seis injeções para um mesmo algodão, sendo considerado, assim, a melhor condição para a construção do dispositivo.

### 4.3.3 Otimização da distância entre injetor e detector

Para a otimização deste parâmetro, foram confeccionados 4 orifícios em um único tubo de polietileno com diferentes distâncias em relação ao detector para serem utilizados como injetores, sendo estas de 10, 15, 20 e 25 mm. Para isso, a posição dos eletrodos foi mantida fixa no tubo, sendo variada a distância entre os injetores e o reservatório de entrada. Para cada distância foram realizadas três injeções consecutivas. A Figura 20 apresenta a influência da distância entre o injetor e o sistema de detecção sobre o sinal eletroquímico.

**Figura 20.** A) Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  para a avaliação da distância entre o injetor e detector: a) 10 mm; b) 15 mm; c) 20 mm; d) 25 mm. B) Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de corrente obtidas para as seis primeiras injeções de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ . Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; Volume de amostra:  $5 \mu\text{L}$ ;  $E_{\text{detecção}} = +0,6 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg.

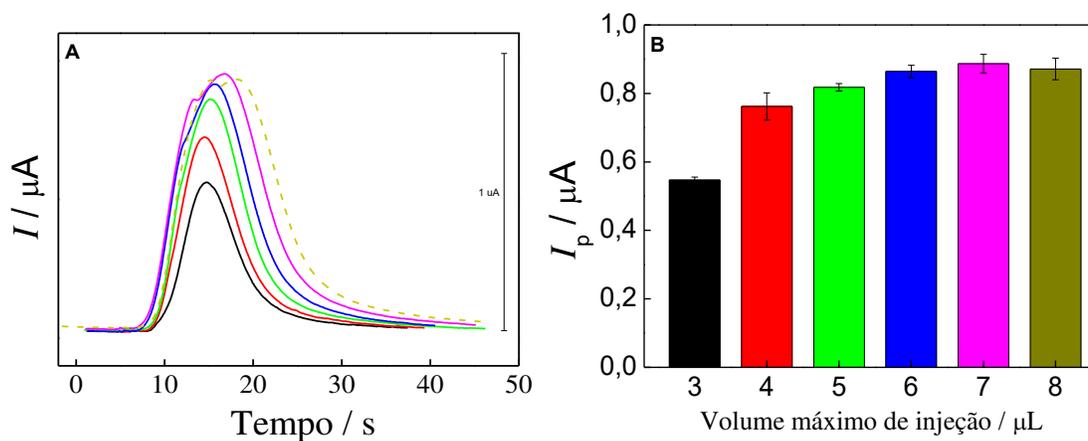


A Figura 20 mostra que há uma diminuição e alargamento dos picos com o aumento da distância de 10 a 25 mm. Estes comportamentos observados são coerentes com resultados obtidos por meio do emprego de sistemas em fluxo convencionais (GRANICA, *et al.*, 2018), sendo consequência do aumento da dispersão da zona de amostra, considerando o aumento da distância entre injetor e detector, uma vez que assim o percurso analítico é aumentado. Diante dos resultados, foram registrados maiores valores de intensidades de pico para 10 mm de distância, e menores valores de RSD foram obtidos, sendo 0,03% (N=3) entre as medidas. Desta forma, fixou-se 10 mm como distância entre o injetor e detector para os estudos seguintes.

#### 4.3.4 Otimização do volume de injeção

Com o intuito de alcançar uma melhora no sinal analítico, os volumes de injeção da amostra no canal microfluídico foram avaliados (3-8  $\mu\text{L}$ ). Para cada volume estudado, o reservatório de saída foi renovado pela troca do algodão, garantindo que o fluxo permanecesse constante durante toda medida. A Figura 21 apresenta os amperogramas obtidos para a primeira injeção de cada volume injetado, bem como o gráfico de intensidade de pico em função do volume de injeção.

**Figura 21.** A) Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  1,0 mmol  $\text{L}^{-1}$  a partir da variação do volume de injeção: a) 3; b) 4; c) 5; d) 6; e) 7; f) 8  $\mu\text{L}$ . B) Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de corrente obtidas para cada volume de injeção estudado. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: KCl 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ ; Volume de amostra: 5  $\mu\text{L}$ ;  $E_{\text{detecção}} = +0.6 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg.



De acordo com os resultados obtidos, um ganho na intensidade do sinal analítico é observado quando o volume de injeção é aumentado até 5  $\mu\text{L}$ , seguindo uma tendência de estabilização para volumes superiores. Este comportamento pode ser observado em sistemas em fluxo convencionais (RUZICKA & STEWART, 1975) e em dispositivos microfluídicos à base de fios têxteis (OLIVEIRA, *et al.*, 2019). O aumento dos sinais analíticos ocorre em consequência da menor dispersão da zona central da amostra à medida que é injetado um volume maior, sendo esta dispersão determinada pelo movimento da solução ao detector (convecção) e pelo processo de difusão. Estes fatores são mais atuantes nas fronteiras entre a zona de amostra e a solução transportadora. Portanto, com o aumento do volume de injeção, há o aumento da região central da amostra e a dispersão é então diminuída (MOREIRA, *et al.*, 2014). Porém, a maior quantidade de

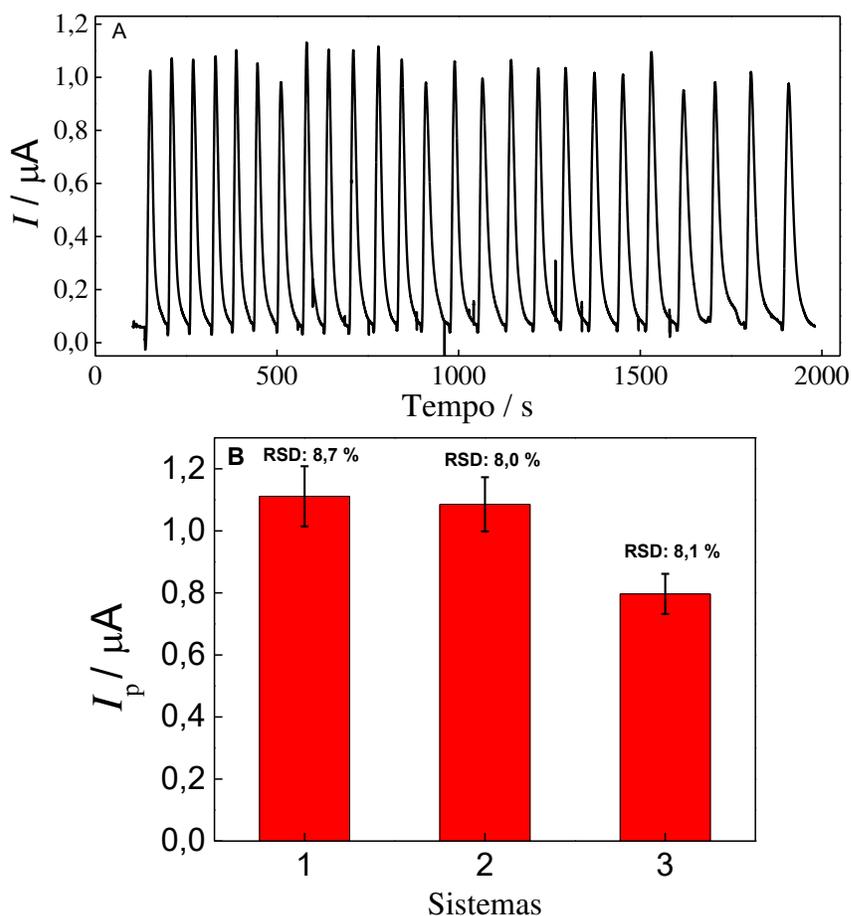
amostra causa alargamento dos picos, o que pode trazer algumas desvantagens, como o maior tempo de análise. Além disso, foram observados vazamentos de uma parte da solução injetada para volumes de 7 e 8  $\mu\text{L}$ , o que se deve à incapacidade do canal em receber injeções de amostras superiores a 6  $\mu\text{L}$ .

Levando em consideração as intensidades dos sinais para as adições de 5  $\mu\text{L}$  e o valor de  $\text{RSD} = 1,3\%$  ( $N=6$ ), os estudos subsequentes foram realizados mantendo-se este volume de amostra. Vale ressaltar que, a adição de baixos volumes de injeção neste sistema traz vantagens no menor consumo de reagentes e amostra, reduzindo assim a geração de resíduos. Além disso, o volume de injeção necessário para a realização das análises neste dispositivo é menor quando comparado a outros métodos de análise, como o FIA (PROMSUWAN, *et al.*, 2017; PASQUALI, *et al.*, 2007) e a trabalhos com sistemas microfluídicos à base de fios têxteis relatados na literatura (WENG & NEETHIRAJAN, 2018; SWINER, *et al.*, 2019; YAN, *et al.*, 2015). O próximo parâmetro avaliado foi o número máximo de injeções possíveis para cada algodão e fio.

#### **4.3.5 Número máximo de injeções**

O número máximo de injeções possíveis utilizando-se de um único algodão no reservatório de saída foi avaliado. Para estes estudos, foram feitas injeções sucessivas até que alargamentos e deformações significativas fossem observadas no perfil amperométrico da sonda eletroquímica, momento em que as injeções foram cessadas. Estes estudos foram realizados em triplicata, sendo renovado todo o sistema (fio têxtil e algodão) para a posterior replicata, após a obtenção do número máximo de injeções. A Figura 22 apresenta os sinais transientes e valores de média e desvio padrão obtidos.

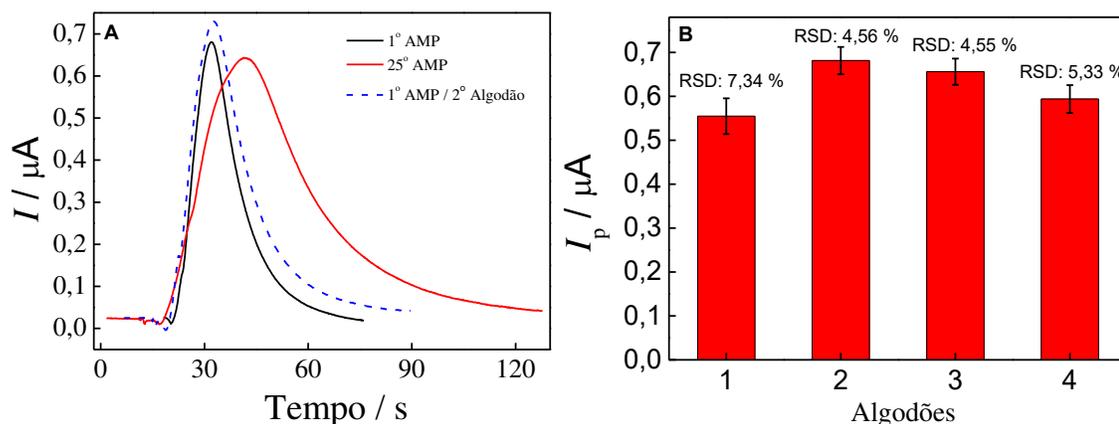
**Figura 22.** **A)** Sinais transientes referentes às 25 injeções do segundo sistema avaliado; **B)** Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de corrente de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  ( $N = 25$ ). Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora:  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; Volume de amostra:  $5 \mu\text{L}$ ;  $E_{\text{detecc\c{a}o}} = + 0,6 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg.



De acordo com os resultados obtidos, foi observada uma variação menor que 10% entre os sinais analíticos de um mesmo sistema quando são realizadas 25 injeções, indicando que não ocorre alterações significativas nas intensidades dos picos amperométricos, conforme apresentado na Figura 22A e 22B. Após as 25 injeções, os sinais transientes apresentaram alterações como alargamento expressivo dos picos e diminuição das intensidades de corrente. Os resultados apresentados na Figura 22B apontam que há uma variação significativa nos valores de corrente obtidos entre os três sistemas ( $\text{RSD} = 17,5 \%$ ), podendo ser uma consequência da utilização de fios de barbante distintos para cada um. Desta forma, fixou-se 25 injeções como o número máximo de injeções para cada algodão empregado como substrato no reservatório de saída.

Na sequência, foi avaliada a durabilidade do fio de barbante empregado como canal microfluídico. Para estes estudos, foram realizadas 25 injeções utilizando um mesmo algodão no reservatório de saída e, em seguida, o algodão foi renovado, sendo realizadas outras 25 injeções. Este procedimento foi repetido até que fossem observadas alterações consideráveis nos perfis das respostas eletroquímicas. A Figura 23 apresenta os resultados obtidos.

**Figura 23.** **A)** Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ . (-) Primeira injeção; (-) 25ª injeção; (--) Primeira Injeção do algodão seguinte. **B)** Valores de média e desvio padrão referentes às intensidades de corrente obtidas a partir de 25 injeções da sonda eletroquímica. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; Volume de amostra:  $5 \mu\text{L}$ ;  $E_{\text{detecção}} = +0,6 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg.



Os resultados apresentados na Figura 23A comprovam uma das principais vantagens deste dispositivo, pois demonstram que, apenas com a troca do algodão do reservatório de saída, há a possibilidade de se renovar o sistema. Como observado, aumentando o número de injeções no sistema, há um alargamento dos picos. Este fator pode ser relacionado com a diminuição da capacidade absorvente do algodão em consequência da absorção da solução ao longo dos estudos, fazendo com que o efeito da capilaridade seja diminuído, diminuindo a vazão. Porém, as intensidades dos picos se mantêm praticamente constantes e, apenas com a renovação do reservatório de saída, os sinais retornam aos perfis iniciais, podendo as intensidades de corrente serem utilizadas como sinais analíticos.

Para o mesmo fio de barbante, foi possível realizar 100 injeções sem alterações significativas nas intensidades dos picos, trocando sempre o substrato do reservatório de saída a cada 25 injeções. A Figura 23B apresenta os valores de média e desvio padrão referentes a 25

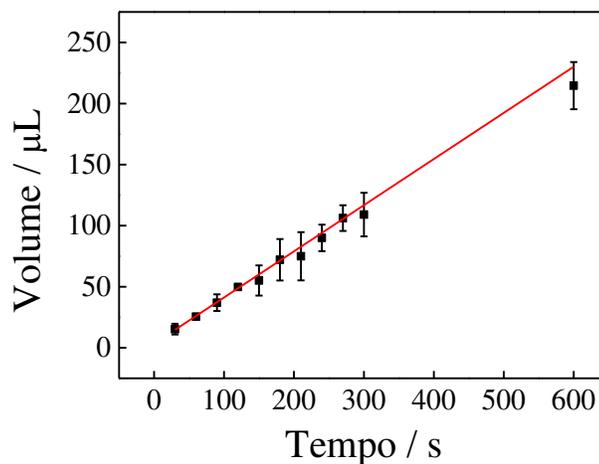
injeções para cada reservatório de saída utilizado e, os valores de RSD menores que 10% indicam boa repetitividade entre as injeções com um mesmo reservatório de saída, bem como entre a primeira injeção a partir da renovação reservatório (RSD= 8,4 %) (N=4).

Desta forma, com a possibilidade de troca do reservatório de saída, o cordão pode ser utilizado para a realização de aproximadamente 100 injeções.

#### 4.3.6 Estudo da vazão

Após a otimização do sistema, a vazão média foi estimada através da obtenção indireta do volume de solução absorvida pelo reservatório de saída em intervalos de tempo predeterminados. Para estes estudos, o reservatório de entrada foi constantemente reabastecido com eletrólito suporte a fim de proporcionar um fluxo constante de solução. As massas dos algodões foram medidas antes e após a cronometragem dos tempos, os quais foram divididos em intervalos de 30 segundos até completar 5 minutos e, posteriormente, intervalos de 5 minutos até completar 10 minutos, resultando em 30 minutos de avaliação. O volume de solução transportadora foi determinado usando o mesmo procedimento descrito anteriormente (Figura 17). Para cada intervalo de tempo, um novo algodão foi adicionado ao reservatório de saída. Este procedimento foi realizado em triplicata, sendo renovado totalmente o sistema após os 30 minutos totais. Para a obtenção da vazão, foi construída uma curva com os valores de volume em função do tempo, a qual é apresentada na Figura 24.

**Figura 24.** Volume de solução transportadora absorvida pelo algodão do reservatório de saída em função do tempo. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

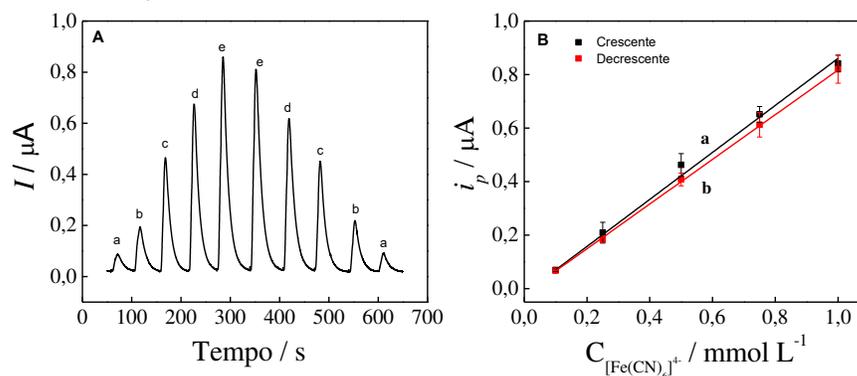


A Figura 24 demonstra que os valores de volume obtidos variaram linearmente em função do tempo, de acordo com a equação:  $V (\mu\text{L}) = 3,39 + 0,38 t(\text{s})$ ,  $R^2 = 0,993$ . Uma vez que a vazão é a razão entre o volume e o tempo, pode-se determiná-la por meio do coeficiente angular da equação da reta obtida e, portanto, a vazão média calculada foi de  $(0,38 \pm 0,09) \mu\text{L s}^{-1}$  ( $N = 3$ ). Vazão próxima ao valor estimado foi relatada para um sistema microfluídico construído com fios de gaze acoplado a uma estrutura com diferença de altura entre os reservatórios ( $0,44 \mu\text{L s}^{-1}$ ), sendo esta obtida pela somatória da força capilar e hidrostática (CAETANO, *et al.*, 2018; OLIVEIRA, *et al.*, 2019), e uma vazão de aproximadamente  $0,13 \mu\text{L s}^{-1}$  foi obtida para sistemas confeccionados empregando papel (NOVIANA, *et al.*, 2019), demonstrando que o dispositivo proposto é promissor, uma vez que valores de vazão próximos aos reportados na literatura foram alcançados com um sistema que apresenta uma configuração mais simples e de menor custo.

#### 4.4 Estudo em diferentes concentrações de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$

Visando verificar o comportamento do sistema proposto em uma situação típica de análise, foram construídas três curvas de calibração nas ordens crescente e decrescente de concentração do íon  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ . A Figura 25 apresenta os sinais transientes registrados para diferentes concentrações da sonda eletroquímica e o gráfico de intensidade de corrente de pico em função da concentração de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  referentes à primeira curva construída.

**Figura 25.** **A)** Respostas amperométricas para diferentes concentrações de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ : a) 0,1; b) 0,25; c) 0,50; d) 0,75 e e) 1,0  $\text{mmol L}^{-1}$ . **B)** Curvas analíticas referentes a concentrações crescentes e decrescentes de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ . Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora:  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; Volume de amostra:  $5 \mu\text{L}$ ;  $E_{\text{detecção}} = +0,6 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg.



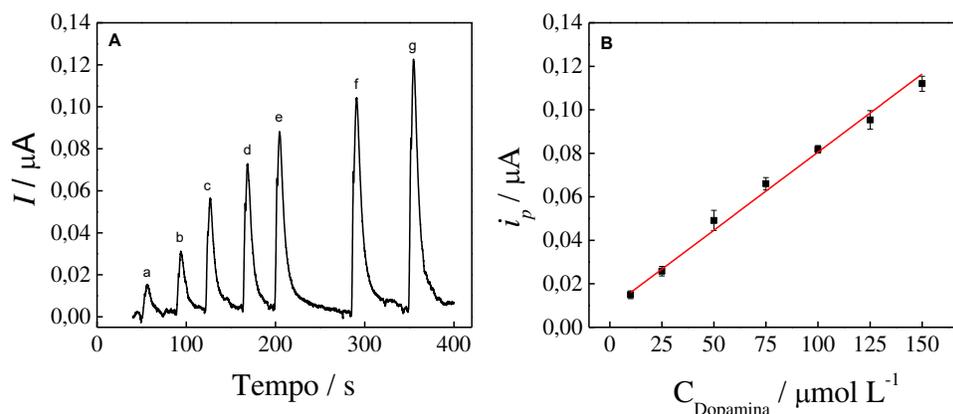
Conforme demonstrado na Figura 25, pode-se verificar que não há processos de desativação ou efeito de memória operando na superfície do eletrodo nesta faixa estudada, uma vez que a diferença entre os coeficientes angulares das curvas de calibração apresentadas na Figura 25B (0,88 e 0,83  $\mu\text{A mmol}^{-1} \text{L}$ ) foi de 5,7 %, indicando que as respostas nos sentidos crescente e decrescente de concentração são praticamente as mesmas. Além disso, uma correlação linear entre  $I_p$  e a concentração de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  foi obtida nos sentidos crescente e decrescente de concentração, de acordo com as equações:  $I_p (\mu\text{A}) = -0,01747 + 0,87792 C_{\text{ferrocianeto}} (\text{mmol L}^{-1})$ ,  $R^2 = 0,99801$  e  $I_p (\mu\text{A}) = -0,01733 + 0,83429 C_{\text{ferrocianeto}} (\text{mmol L}^{-1})$ ,  $R^2 = 0,9986$ , respectivamente. As curvas apresentaram coeficientes lineares próximos a 0 e  $R^2$  próximos a 1, indicando linearidades satisfatórias. Assim, verifica-se que o dispositivo proposto fornece respostas estáveis na escala de tempo requerida para a construção de uma curva de calibração.

#### 4.5 Estudo com analitos modelo

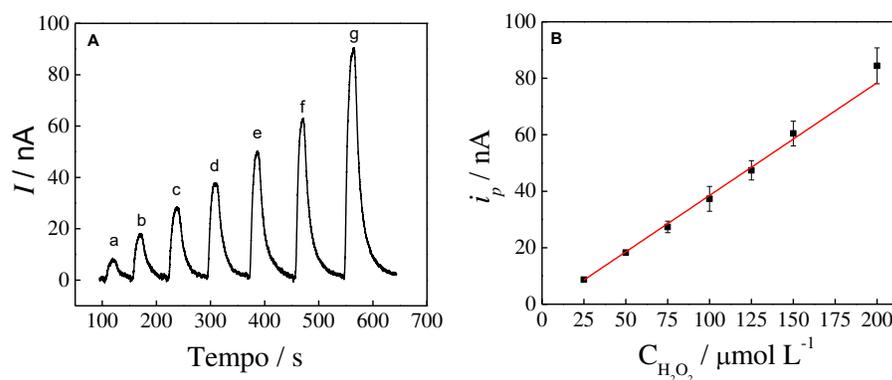
O desempenho analítico do dispositivo foi avaliado por meio da construção de curvas analíticas para algumas espécies eletroativas comumente utilizadas como analitos modelo. Estes analitos foram selecionados seguindo alguns critérios, como apresentar um comportamento eletroquímico bem estabelecido e conter estudos recentes descritos na literatura para a determinação destes empregando eletrodos de platina. Assim sendo, foram selecionados a dopamina (OLIVEIRA, *et al.*, 2020), peróxido de hidrogênio (AGRISUELAS, *et al.*, 2017) e TBHQ (ZIYATDINOVA, *et al.*, 2020).

Dopamina e peróxido de hidrogênio são amplamente determinados em estudos no âmbito biológico (JACKOWSKA & KRYSINSKI, 2012; HUSMANN, *et al.*, 2014). Já o TBHQ, sendo um antioxidante, é comumente utilizado como conservante em alimentos (FARAJMAND, *et al.*, 2020), podendo este ser prejudicial à saúde humana quando em concentrações elevadas. Desta forma, é de fundamental importância a determinação destes analitos de forma simples, rápida e com pequenos volumes de amostra. Tendo em vista tais necessidades, sistemas microfluídicos com detecção eletroquímica podem ser utilizados para estas aplicações. Para a avaliação destes analitos, foram construídas curvas de calibração de acordo com os procedimentos descritos em 3.1 e 3.3. Para cada analito foram construídas três curvas analíticas. Os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 26-28.

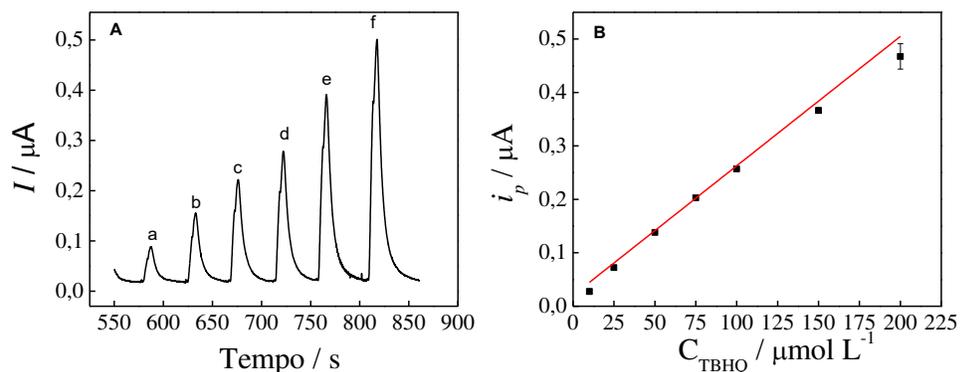
**Figura 26.** **A)** Respostas amperométricas referentes à primeira curva analítica para diferentes concentrações de dopamina: a) 10; b) 25; c) 50; d) 75; e) 100; f) 125 e g) 150  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . **B)** Curvas analíticas para dopamina. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: Tampão fosfato 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  (pH = 7,0); Volume de amostra: 5  $\mu\text{L}$ ;  $E_{\text{deteção}} = + 0.13 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg.



**Figura 27.** **A)** Respostas amperométricas referentes à primeira curva analítica para diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio: a) 25; b) 50; c) 75; d) 100; e) 125; f) 150 e g) 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . **B)** Curvas analíticas para  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: Tampão fosfato 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  (pH = 7,0); Volume de amostra: 5  $\mu\text{L}$ ;  $E_{\text{deteção}} = + 0.1 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg.



**Figura 28.** **A)** Respostas amperométricas referentes à primeira curva analítica para diferentes concentrações de TBHQ: a) 10; b) 25; c) 50; d) 75; e) 100; f) 150 e g) 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . **B)** Curvas analíticas para TBHQ. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: Ácido Perclórico 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ ; Volume de amostra: 5  $\mu\text{L}$ ;  $E_{\text{detecção}} = +0.2 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg.



Como indicado nas Figuras 26-28, há uma relação linear entre os valores de  $I_p$  e as concentrações dos analitos. Os parâmetros analíticos obtidos por meio das figuras são mostrados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Parâmetros analíticos obtidos para analitos modelo.

Analito	Intervalo Linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	$R^2$	LOD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	LOQ / $\mu\text{mol L}^{-1}$
Dopamina	10-150	0,995	6,8	22,7
$\text{H}_2\text{O}_2$	25-200	0,996	3,3	10,9
TBHQ	10-200	0,991	9,0	30,1

A Tabela 2 mostra que foram obtidas linearidades satisfatórias para todos os analitos ( $R^2 > 0,99$ ). Valores de limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram estimados utilizando-se das equações  $\text{LOD} = 3s_{\text{dB}}/S$  e  $\text{LOQ} = 10s_{\text{dB}}/S$ , sendo  $S$  o coeficiente angular obtidos por meio da equação da reta referente às curvas analíticas, e  $s_{\text{dB}}$  o desvio padrão do branco estimado por meio do desvio padrão do coeficiente linear obtido pelas equações das retas. Para a dopamina, alguns trabalhos encontrados na literatura empregando sistemas microfluídicos apresentam menores limites de detecção (0,01-0,37  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) (MANBOHI & AHMADI, 2019; LIU, *et al.*, 2018; LIU, *et al.*, 2019), o que indica que a detectabilidade não é a principal vantagem do sistema proposto neste trabalho. Porém, o dispositivo proposto apresenta vantagens como simplicidade, baixo custo

e facilidade de fabricação, o que viabiliza a utilização do sistema em laboratórios de pesquisa com recursos financeiros limitados. Além disso, são necessários menores volumes de amostras para a realização das análises quando comparado aos trabalhos apresentados na literatura. Por outro lado, intervalos lineares e valores de LOD obtidos são compatíveis com os relatados na literatura para peróxido de hidrogênio ( $6 - 215 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $1,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente) (AGRISUELAS, *et al.*, 2017) e TBHQ ( $1,2 - 8,9 \text{ mmol L}^{-1}$  e  $212 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente) (ROCHA, *et al.*, 2017), demonstrando que o sistema proposto fornece desempenho analítico competitivo para estes analitos.

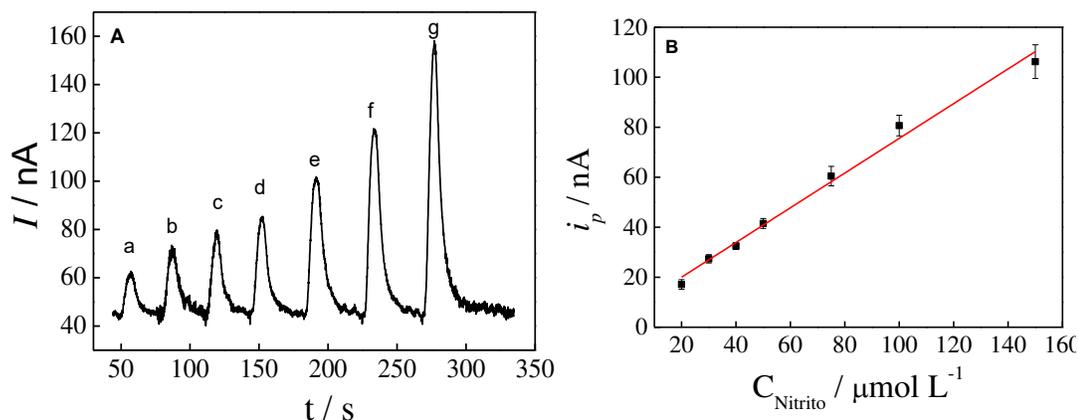
Com base nos resultados obtidos, o sistema microfluídico proposto pode ser considerado um dispositivo versátil, uma vez que pode ser aplicado na determinação de diferentes analitos, apresentando potencialidade para ser utilizado em uma ampla gama de análises. Além disso, alguns resultados apresentados para estes analitos, como limites de detecção e intervalos lineares foram próximos aos relatados na literatura para alguns analitos.

#### **4.6 Determinação de nitrito em saliva artificial**

O avanço da área de microfluídica tem contribuído para o desenvolvimento de métodos analíticos com a finalidade de quantificar espécies químicas em matrizes biológicas, em conjunto com interesses clínicos e ambientais. Dentre estas aplicações, a análise de nitrito é importante, pois quantidades elevadas deste analito podem trazer malefícios à saúde humana. O nitrito pode ser altamente tóxico no organismo devido aos seus possíveis efeitos cancerígenos. Esta espécie pode se combinar com aminas e amidas, produzindo nitrosaminas, as quais são altamente cancerígenas (SINGHAPAN & UNOB, 2021). Quantidades variáveis de nitrito podem estar presentes na saliva, sendo que este composto pode ser utilizado também como um indicador de algumas doenças, como doenças periodontais (FERREIRA, *et al.*, 2020; SANCHÉZ, *et al.*, 2014). Com o intuito de utilizar o sistema microfluídico proposto para aplicações analíticas, o nitrito foi determinado em amostras de saliva sintética.

Inicialmente, três curvas de calibração foram construídas em tampão fosfato (pH 7) (CASTRO, *et al.*, 2019) para avaliar o desempenho do dispositivo frente a este analito. Os resultados obtidos nesse estudo são mostrados na Figura 29.

**Figura 29.** **A)** Respostas amperométricas referentes à primeira curva analítica para diferentes concentrações de nitrito: a) 20; b) 30; c) 40; d) 50; e) 75; f) 100; g) 150  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . **B)** Curvas analíticas para nitrito. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: Tampão fosfato 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  (pH = 7,0); Volume de amostra: 5  $\mu\text{L}$ ;  $E_{\text{detecção}} = +0.7 \text{ V vs. Pt}$ ; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg.

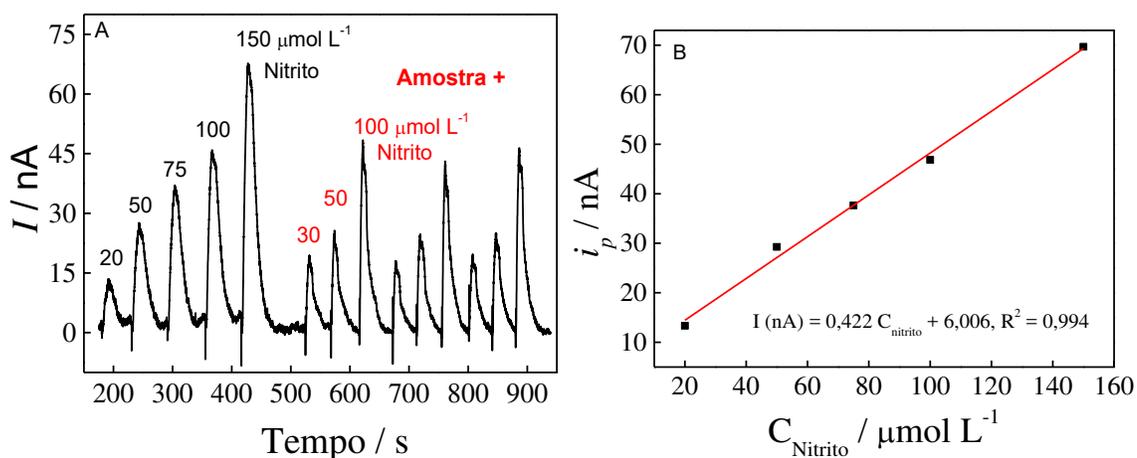


A Figura 29 mostra que a corrente de pico varia linearmente com a concentração de nitrito no intervalo de 20 a 150  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , de acordo com a equação:  $I_p \text{ (nA)} = 6,14 + 0,694 C_{\text{nitrito}} \text{ (}\mu\text{mol L}^{-1}\text{)}$ , com  $R^2 = 0,988$ . Assim, o sistema proposto apresentou uma faixa linear e linearidade satisfatórias. O LOD obtido para o nitrito foi de 6,3  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , o qual é consistente com o fornecido por um dispositivo microfluídico a base de papel com detecção colorimétrica de nitrito (10  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) (BHAKTA, *et al.*, 2014).

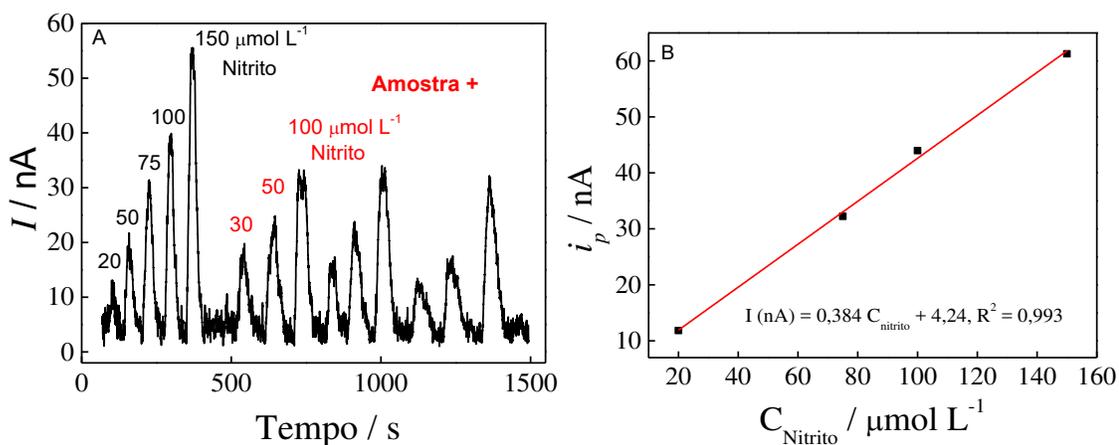
Após a construção da curva analítica, duas amostras de saliva artificial foram analisadas, sendo estas denominadas como S1 e S2. A primeira amostra analisada (S1) foi produzida no local de análise seguindo os procedimentos descritos em 3.4. Desta forma, uma curva analítica foi construída utilizando-se de padrões de nitrito preparados em tampão fosfato, sendo as concentrações predefinidas baseadas na literatura (CASTRO, *et al.*, 2019). Após a construção da curva, foram injetadas no sistema alíquotas da amostra de saliva enriquecidas com concentrações conhecidas de nitrito. A título de comparação, a aplicabilidade do dispositivo também foi avaliada em amostras de saliva artificial obtidas comercialmente (S2), seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente. Após a primeira amostra ser analisada em triplicata, o canal microfluídico e reservatório de saída foram renovados para a análise da segunda amostra. As Figuras 30A e 31A apresentam os sinais amperométricos obtidos para os padrões de nitrito e amostras. As curvas

analíticas, as quais foram construídas separadamente, e as equações de reta correspondentes estão indicadas nas Figuras 30B e 31B.

**Figura 30.** **A)** Respostas amperométricas para diferentes concentrações de nitrito em tampão fosfato e amostra (S1); **B)** Curva analítica para nitrito. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: Tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH = 7,0); Volume de amostra: 5 µL; E<sub>detecção</sub> = + 0.7 V vs. Pt; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. Equação da reta:  $I_p \text{ (nA)} = 0,42 C \text{ (}\mu\text{mol L}^{-1}\text{)} + 6,01$ ,  $R^2 = 0,994$ .



**Figura 31.** **A)** Respostas amperométricas para diferentes concentrações de nitrito em tampão fosfato e amostra (S2). **B)** Curva analítica para nitrito. Altura do reservatório de entrada: 5 mm; Diâmetro do reservatório de saída: 14 mm; Solução transportadora: Tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH = 7,0); Volume de amostra: 5 µL; E<sub>detecção</sub> = + 0.7 V vs. Pt; Massa média de algodão no reservatório de saída: 200 mg. Equação da reta:  $I_p \text{ (nA)} = 0,38 C \text{ (}\mu\text{mol L}^{-1}\text{)} + 4,24$ ,  $R^2 = 0,993$ .



Por meio das correlações lineares demonstradas através das equações, foram calculadas as porcentagens de recuperação de nitrito nas amostras de saliva artificial analisadas. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Valores de concentração e porcentagens de recuperação de nitrito em amostras de saliva artificial. Solução carregadora: tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH = 7; Volume de amostra: 5 µL; E<sub>detecção</sub> = + 0.7 V vs. Pt.

	Nitrito adicionado / µmol L <sup>-1</sup>	Nitrito encontrado / µmol L <sup>-1</sup>	% Recuperação*	t <sub>calculado</sub>
Amostra 1	30	30,6 ± 1,7	101 ± 5,5	0,61
	50	43,9 ± 2,8	87,9 ± 5,6	3,77
	100	94,8 ± 5,6	94,5 ± 5,6	1,61
Amostra 2	30	33,1 ± 4,6	110 ± 15	3,16
	50	55,6 ± 2,8	111 ± 5	3,48
	100	105,2 ± 5,3	104 ± 6	1,69

Valores expressos como valor médio ± Sd (N=3)

\*Recuperação: (Nitrito encontrado \*100) / Nitrito adicionado

As porcentagens de recuperação, conforme apresentado na Tabela 3, foram próximas a 100%, sugerindo que o método fornece exatidão satisfatória e que nenhuma espécie presente na matriz da amostra interferiu significativamente na determinação do nitrito. Além disso, valores de RSD relativamente baixos foram obtidos, indicando uma precisão satisfatória do método. Para todos os níveis de enriquecimento, os valores de t<sub>calculado</sub> foram menores que o valor de t<sub>tabelado</sub> (4,30 – 95%) (SKOOG, *et al.*, 2005), indicando que não há diferença estatística entre a quantidade de nitrito adicionada e a determinada. Por meio dos resultados obtidos, foi também calculada a frequência de amostragem do dispositivo proposto, a qual indica a quantidade de injeções possíveis em um determinado intervalo de tempo. Desta forma, a frequência de amostragem do dispositivo microfluídico confeccionado foi de aproximadamente 54 injeções h<sup>-1</sup>, sendo necessários aproximadamente 1,1 minutos para a realização de uma única medida, demonstrando que as análises com o sistema apresentado neste trabalho são mais rápidas comparadas à outros sistemas apresentados na literatura confeccionados com papel (3,5 minutos para uma única medida) (LANKELMA, *et al.*, 2012), e apresentam maior ou igual frequência de amostragem de dispositivos mais complexos confeccionados com fios têxteis (54 e 43 injeções h<sup>-1</sup>) (CARNEIRO, *et al.*, 2018; CAETANO, *et al.*, 2018).

Os níveis de nitrito em saliva de adultos saudáveis podem variar de 22 a 130  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Por outro lado, nitrito pode ser encontrado em saliva humana em níveis anormais entre 1,3 a 22  $\text{mmol L}^{-1}$  (PEREIRA, *et al.*, 2021). Considerando o valor de LOD e obtido e a faixa linear avaliada, o dispositivo proposto pode ser utilizado para detectar níveis anormais de nitrito em saliva humana. Sendo assim, os resultados mostraram que o sistema microfluídico à base de fios têxteis acoplado à detecção eletroquímica é promissor para a determinação de nitrito em amostras de saliva, sendo esta uma proposta não invasiva, utilizando-se de um dispositivo de baixo custo e que requer baixíssimos volumes de amostra.

## 5. CONCLUSÕES

A proposta deste trabalho foi a fabricação de um sistema microfluídico à base de fios têxteis com detecção amperométrica construído a partir de materiais comercialmente disponíveis à baixo custo, visando uma melhora no desempenho analítico e superação de algumas limitações apresentadas na literatura para estes sistemas, como evaporação de solução, necessidade de renovação de todo o dispositivo após as medidas e obtenção de uma vazão constante. Seringas descartáveis, placas de PMMA, tubos de polietileno, algodão e fios de barbante foram utilizados na construção do dispositivo. A utilização do tubo de polietileno como suporte para os fios foi uma das principais vantagens apresentadas, uma vez que tornou o sistema mais robusto, diminuiu a possibilidade de evaporação dos fluídos e permitiu uma vazão mais constante, além de evitar a contaminação do canal microfluídico. Desta forma, a partir da utilização de fios em conjunto com o tubo de polietileno como canal microfluídico, o transporte da solução foi promovido através das forças hidrostática e capilar, tornando dispensável instrumentos externos para a propulsão da solução transportadora. O emprego de algodão no reservatório de saída também contribuiu para a manutenção da vazão no sistema, além de possibilitar que o mesmo fosse renovado apenas com a troca do algodão.

O sistema fabricado forneceu respostas eletroquímicas referentes ao processo de oxidação de diferentes espécies. Assim, através dos estudos de otimização do sistema, pôde-se observar comportamentos similares ao de um sistema FIA convencional. Dopamina, peróxido de hidrogênio e TBHQ foram utilizados como analitos modelo para avaliar o desempenho analítico e aplicabilidade do sistema através da técnica de amperometria. Os resultados obtidos para estas espécies foram compatíveis aos reportados na literatura, apresentando limites de detecção e intervalos lineares próximos aos obtidos com outros sistemas. Após os estudos de otimização e obtenção de respostas para os analitos modelo, o sistema foi utilizado para determinação de nitrito em amostras de saliva sintética. Os resultados obtidos por meio dos estudos de adição e recuperação foram satisfatórios, apresentando percentuais de recuperação próximos à 100%, sugerindo que o dispositivo proposto apresenta exatidão satisfatória. Além disso, a frequência de amostragem do dispositivo proposto demonstrou que as análises são mais rápidas quando comparadas a outros dispositivos indicados na literatura.

Portanto, como demonstrado, o sistema microfluídico alternativo à base de fios têxteis com detecção amperométrica apresenta potencialidade para ser aplicado na determinação de espécies nos âmbitos biológico e ambiental. Além disso, o sistema permite alterações em sua configuração, como a troca do fio têxtil utilizado, a utilização de outros eletrodos e emprego de outras formas de detecção, aumentando assim as possibilidades de aplicação do sistema.

## 6. REFERÊNCIAS

AGRISUELAS, J.; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, M. I.; VALERO, E. Hydrogen peroxide sensor based on *in situ* grown Pt nanoparticles from waste screen-printed electrodes. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 249, p. 499-505, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.04.136>

AGUILAR, L. G.; PETRONI, J. M.; FERREIRA, V. S.; LUCCA, B. G. Easy and rapid pen-on-paper protocol for fabrication of paper analytical devices using inexpensive acrylate-based plastic welding repair kit. **Talanta**, v. 219, p. 121246, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121246>

ARROYO, M. J.; ERENAS, M. M.; ORBE-PAYÁ, I.; CANTRELL, K.; DOBADO, J. A.; BALLESTER, P.; BLONDEAU, P.; SALINAS-CASTILLO, A.; CAPITÁN-VALLVEY. Thread based microfluidic platform for urinary creatinine analysis. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 305, 127407, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127407>

ATAIDE, V. N.; MENDES, L. F.; GAMA, L. I. L. M.; ARAUJO, W. R.; PAIXÃO, T. R. L. C. Electrochemical paper-based analytical devices: ten years of development. **Analytical Methods**, v. 12, p. 1007-1140, 2020. <https://doi.org/10.1039/C9AY02350J>

AUGUSTINI, D.; BERGAMINI, R. F.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H. Low cost microfluidic device based on cotton threads for electroanalytical application. **Lab on a Chip**, v. 16, p. 345-352, 2016. <https://doi.org/10.1039/C5LC01348H>

AUGUSTINI, D.; BERGAMINI, R. F.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H. Tear glucose detection combining microfluidic thread based device, amperometric biosensor and microflow injection analysis. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 98, p. 161-167, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.06.035>

AUGUSTINI, D. CAETANO, F. R.; QUERO, F. R.; SILVA, J. A. F.; BERGAMINI, M. F.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; de JESUS, D. P. Microfluidic devices based on textile threads for analytical applications: state of the art and prospects. **Analytical Methods**, 2021. <https://doi.org/10.1039/D1AY01337H>

BALLERINI, D. R.; LI, X.; SHEN, W. Flow control concepts for thread-based microfluidic device. **Biomicrofluidics**, v. 5, 014105, 2011. <https://doi.org/10.1063/1.3567094>

BANERJEE, S. S.; ROYCHOWDHURY, A.; TANEJA, N.; JANRAO, R.; KHANDARE, J.; PAUL, D. Chemical synthesis and sensing in inexpensive thread-based microdevices. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 186, p. 439-445, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.06.036>

BECKER, H.; GÄRTNER, C. Polymer microfabrication methods for microfluidic analytical applications. **Electrophoresis**, v. 21, p. 12-26, 2000. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-2683\(20000101\)21:1<12::AID-ELPS12>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-2683(20000101)21:1<12::AID-ELPS12>3.0.CO;2-7)

BECKER, H.; LOCASCIO, L. E. Polymer microfluidic device. **Talanta**, v. 56, p. 267-287, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00594-X](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00594-X)

BHAKTA, S. A.; BORBA, S.; JUNIOR, M. T.; GARCIA, C. D.; CARRILHO, E. Determination of nitrite in saliva using microfluidic paper-based analytical devices. **Analytica Chimica Acta**, v. 809, p. 117-122, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.11.044>

BINYAMIN, G.; BOONE, T. D.; LACKRITZ, H. S.; RICCO, A. J.; SASSI, A. P.; WILLIAMS S. J. Plastic microfluidic devices: electrokinetic manipulations, life science applications, and production technologies. **Lab-on-a-Chip**, p. 83-112, 2003. <https://doi.org/10.1016/B978-044451100-3/50005-X>

BRITISH STANDARDS INSTITUTION, British standards specification for safety harnesses, BS6684, p. 18, Londres, 1987.

CAETANO, F. R.; CARNEIRO, E. A.; AUGUSTINI, D.; FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; BANKS, C. E.; BERGAMINI, M. F.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H. Combination of electrochemical biosensors and textile threads: A microfluidic device for phenol determination in tap water. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 99, p. 382-388, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.07.070>

CARNEIRO, E. A.; AUGUSTINI, D.; FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; BANKS, C. E.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; BERGAMINI, M. F. 3-D printed microfluidic device based on cotton threads for amperometric estimation of antioxidants in wine samples. **Electroanalysis**, v. 30, p. 101-108, 2018. <https://doi.org/10.1002/elan.201700579>

CARPI, F.; ROSSI, D.; Electroactive polymer-based devices for e-textiles in biomedicine. **IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine**, v. 9, p. 295-318, 2005. <https://doi.org/10.1109/TITB.2005.854514>

CARVALHO, R. M.; FERREIRA, V. S.; LUCCA, B. G. A novel all 3D-printed thread-based microfluidic device with an embedded electrochemical detector: first application in environmental analysis of nitrite. **Analytical Methods**, v. 13, p. 1349-1357, 2021. <https://doi.org/10.1039/D1AY00070E>

CASTRO, L. F.; FREITAS, S. V.; DUARTE, L. C.; SOUZA, J. A. C.; PAIXÃO, T. R. L. C.; COLTRO, W. K. T. Salivary diagnostics on paper microfluidic devices and their use as a wearable sensors for glucose monitoring. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, p. 4919-4928, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-01788-0>

CATE, D. M.; ADKINS, J. A.; METTAKOONPITAK, J.; HENRY, C. S. Recent developments in paper-based microfluidic device. **Analytical Chemistry**, v. 87, p. 19-41, 2015. <https://doi.org/10.1021/ac503968p>

CHENG, C-M.; MARTINEZ, A. W.; GONG, J.; MACE, C. R.; PHILLIPS, S. T.; CARRILHO, E. MIRICA, K. A.; WHITESIDES, G. M. Paper-based ELISA. **Angew. Chem.** v. 122, p. 4881-4884, 2010. <https://doi.org/10.1002/ange.201001005>

COLTRO, W. K. T.; PICCIN, E.; CARRILHO, E.; JESUS, D. P.; SILVA, J. A. F.; SILVA, H. D. T.; LAGO, C. L. Microsistemas de análises químicas. Introdução, tecnologias de fabricação, instrumentação e aplicações. **Química Nova**, v. 30, p. 1986-2000, 2007.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000800034>

CONSDEN, R.; GORDON, A. H.; MARTIN, J. P. Qualitative analysis of proteins: a partition chromatographic method using paper. **Biochemical Journal**, v. 38, p. 224-232, 1944.

<https://doi.org/10.1042/bj0380224>

CURTO, V. F.; LOPEZ-RUIZ, N.; CAPITAN-VALLVEY, L. F.; PALMA, A. J.; BENITO-LOPEZ, F.; DIAMOND, D. Fast prototyping of paper-based microfluidic devices by contact stamping using indelible ink. **RSC Adv.**, v. 3, p. 18811-18816, 2013.

<https://doi.org/10.1039/c3ra43825b>

DISPAS, A.; EMONTS, P.; FILLET, M. Microchip electrophoresis: A suitable analytical technique for pharmaceuticals quality controls? A critical review. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 139, p. 1-10, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116266>

DOSSI, N.; PETRAZZI, S.; TERZI, F.; TONIOLO, R.; BONTEMPELLI, G. Electroanalytical cells pencil drawn on PVC supports and their use for the detection in flexible microfluidic device. **Talanta**, v. 199, p. 14-20, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.01.126>

DOU, Y.; WANG, B.; JIN, M.; YU, Y.; ZHOU, G.; SHUI, L. A review of self-assembly in microfluidic devices. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, v. 27, 113002, 2017.

<https://doi.org/10.1088/1361-6439/aa84db>

FARAJMAND, B.; KAMYABI, M. A.; SORKHANI, F. Y.; JAM, H. S.; BAHRAMI, H. Combination of micro liquid-liquid extraction with differential pulse voltammetry for determination of TBHQ in edible oil sample by pre-anozide glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 861, p. 113966, 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.113966>

FAVA, E. L.; SILVA, T. A.; PRADO, T. M.; MORAES, F. C.; FARIA, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Electrochemical paper-based microfluidic device for high throughput multiplex analysis. **Talanta**, v. 203, p. 280-286, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.081>

FERNÁNDEZ-la-VILLA, A. POSO-AYUSO, D. F.; CASTAÑO-ÁLVAREZ, M. Microfluidics and electrochemistry: an emerging tandem for next-generation analytical microsystems. **Current opinion in electrochemistry**, v. 15, p. 175-185, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2019.05.014>

FERREIRA, F. T. S. M.; MESQUITA, R. B. R.; RANGEL, A. O. S. S. Novel microfluidic paper-based analytical device ( $\mu$ PADs) for the determination of nitrate and nitrite in human saliva. **Talanta**, v. 219, 121183, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121183>

FU, L. M.; WANG, Y. N. Detection methods and applications of microfluidic paper-based analytical devices. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 107, p. 196-211, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.018>

- GRANICA, M.; FIEDORUK-POGREBNIAK, M.; KONCKI, R.; TYMECKI, L. Flow injection analysis in lab-on-paper format. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 257, p. 16-22, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.10.088>
- GRAS, R.; LUONG, J.; SHELLIE, R. A. Miniaturized micromachined gas chromatography with universal and selective detectors for targeted volatile compounds analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1573, p. 151-155, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.08.064>
- HEARLE, J. W. S. Cotton: Science and technology, England, p. 35-67, 2006. <https://doi.org/10.1533/9781845692483.1.35>
- HUA, D.; LI, C-M.; ZHANG, Y-F.; CAO, X-G.; GAN, Y. Screen-printed microfluidic device for electrochemical immunoassay. **Lab-on-a-Chip**, v. 7, p. 1752-1758, 2007. <https://doi.org/10.1039/b712394a>
- HUSMANN, S.; NOSSOL, E.; ZARBIN, A. J. G. Carbon nanotube/Prussian blue paste electrodes: Characterization and study of key parameters for application as sensors for determination of low concentration of hydrogen peroxide. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 192, p. 782-790, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.10.074>
- JACKOWSKA, K.; KRYSINSKI, P. New trends in the electrochemical sensing of dopamine. **Anal Bioanal Chem**, v. 405, p. 3753-3771, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6578-2>
- JING, X.; WANG, H.; HUANG, X.; CHEN, Z.; ZHU, J.; WANG, X. Digital image colorimetry detection of carbaryl in food samples based on liquid phase microextraction coupled with a microfluidic thread-based analytical device. **Food Chemistry**, v. 337, 127971, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127971>
- KO, J. S.; YOON, H. C.; YANG, H.; PYO, H-B.; CHUNG, K. H.; KIM, S. J.; KIM, Y. T. A polymer-based microfluidic device for immunosensing biochips. **Lab on a chip**, v. 3, p. 106-113, 2003. <https://doi.org/10.1039/b301794j>
- LAGO, C. L.; SILVA, H. D. T.; NEVES, C. A.; BRITO-NETO, J. G. A. A dry process for production of microfluidic devices based on the lamination of laser-print polyester films. **Analytical Chemistry**, v. 75, p. 3853-3858, 2003. <https://doi.org/10.1021/ac034437b>
- LANKELMA, J.; NIE, Z.; CARRILHO, E.; WHITESIDES, G. M. Paper-based analytical device for electrochemical flow-injection analysis of glucose in urine. **Analytical Chemistry**, v. 84, p. 4147-4152, 2012. <https://doi.org/10.1021/ac3003648>
- LI, C. W.; CHEUNG, C. N.; YANG, J.; TZANG, C. H.; YANG, M. PDMS-based microfluidic device with multi-height structures fabricated by single-step photolithography using printed circuit board master. **Analyst**, v. 128, p. 1137-1142, 2003. <https://doi.org/10.1039/b304354a>
- LIU, A-L.; HE, F-Y.; HU, Y-L.; XIA, X-H. Plastified poly(ethylene terephthalate) (PET)-toner microfluidic chip by direct-printing integrated with electrochemical detection for pharmaceutical analysis. **Talanta**, v. 68, p. 1303-1308, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.07.043>

- LIU, C.; GOMEZ, F.; MIAO, Y.; CUI, P.; LEE, W. A colorimetric assay system for dopamine using microfluidic paper-based analytical device. **Talanta**, v. 194, p. 171-176, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.039>
- LIU, Z.; JIN, M.; CAO, J.; NIU, R.; LI, P.; ZHOU, G.; YU, Y.; BERG, A. V. D.; SHUI, L. Electrochemical sensor integrated microfluidic device for sensitive and simultaneous quantification of dopamine and 5-hydroxytryptamine. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 273, p. 873-883, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.06.123>
- MADOU, M. J. Fundamentals of microfabrication: the science of miniaturization. 2<sup>nd</sup> ed., CRC Press: New York, 2002.
- MAHMOUD, T.; GUARDIA, M.; BARADARAN, B. Lateral flow assays toward point-of-care cancer detection: A review of current progress and future trends. **Trend in Analytical Chemistry**, v. 125, p. 115842, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115842>
- MALON, R. S. P.; HENG, L. Y.; CÓRCOLES, E. P. Recent developments in microfluidic paper, cloth, and thread-based electrochemical devices for analytical chemistry. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 36, p. 1-19, 2017. <https://doi.org/10.1515/revac-2016-0018>
- MANBOHI, A.; AHMADI, S. H. Sensitive and selective detection of dopamine using electrochemical microfluidic paper-based analytical nanosensor. **Sensing and Bio-Sensing Research**, v. 23, 100270, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2019.100270>
- MANZ, A.; MIYAHARA, Y.; MIURA, J.; WATANABE, Y.; MIYAGE, H.; SATO, K. Design of an open-tubular column liquid chromatograph using silicon chip technology. **Sensors and Actuators B**, v. 1, p. 249-255, 1990. [https://doi.org/10.1016/0925-4005\(90\)80210-Q](https://doi.org/10.1016/0925-4005(90)80210-Q)
- MARTINEZ, A. W.; PHILLIPS, S. T.; BUTTE, M. J.; WHITESIDES, G. M. Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays. **Angew. Chem.**, v. 119, p. 1340-1342, 2007. <https://doi.org/10.1002/ange.200603817>
- MARTINEZ, A. W.; PHILLIPS, S. T.; CARRILHO, E.; THOMAS III, S. W.; SINDI, H.; WHITESIDES, G. M. Simple telemedicine for developing regions: camera phones and paper-based microfluidic devices for real-time, off site diagnostics. **Analytical Chemistry**, v. 80, p. 3699-3707, 2008. <https://doi.org/10.1021/ac800112r>
- MARTINEZ, A. W.; PHILLIPS, S. T.; WHITESIDES, G. M. Diagnostics for the developing world: microfluidic paper-based analytical devices. **Analytical Chemistry**, v. 82, p. 3-10, 2010. <https://doi.org/10.1021/ac9013989>
- MARTYNOVA, L.; LOCASCIO, L.; GAITAN, M.; KRAMER, G. W.; CHRISTENSEN, R. G.; MACECREHAN, W. Fabrication of plastic microfluidic channels by imprinting methods. **Anal. Chem.**, v. 69, p. 4783-4789, 1997. <https://doi.org/10.1021/ac970558y>
- MOREIRA, B. C. S.; TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, RICHTER, E. M.; SANTOS, A. L. Desenvolvimento de um sistema de análise por injeção em fluxo utilizando materiais alternativos de baixo custo para fins didáticos. **Química Nova**, v. 37, p. 1566-1572, 2014.

NGE, P. N.; ROGERS, C. I.; WOOLLEY, A. T. Advances in microfluidic materials, functions, integrations, and applications. **Chemical Reviews**, v. 113, n. 4, p. 2550-2583, 2013.

<https://doi.org/10.1021/cr300337x>

NILGHAZ, A.; WICAKSONO, D. H. B.; GUSTIONO, D.; MAJID, F. A. A.; SUPRIYANTO, E.; KADIR, M. R. A. Flexible microfluidic cloth-based analytical devices using a low-cost wax patterning technique. **Lab on a Chip**, v. 12, p. 209-218, 2012.

<https://doi.org/10.1039/C1LC20764D>

NOVIANA, E.; KLUNDER, K. J.; CHANNON, R. B.; HENRY, C. S. Thermoplastic electrode arrays in electrochemical paper-based analytical device. **Analytical Chemistry**, v. 91, p. 2431-2438, 2019.

<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b05218>

O'CONNOR, R. T. Instrumental analysis of cotton cellulose and modified cotton cellulose. Dekker M., New York, 2006.

OLIVEIRA, A. C. M.; ARAÚJO, D. A. G.; PRADELA-FILHO, L. A.; TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L. A robust and versatile micropipette tip-based miniaturized electrochemical cell for determination of carbendazim. **Sensors and Actuators B. Chemical**, v. 327, 128880, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128880>

OLIVEIRA, G. C. M.; CARVALHO, J. H. S.; BRAZACA, L. C.; VIEIRA, N. C. S.; JANEGITZ, B. C. Flexible platinum electrodes as electrochemical sensor and immunosensor for Parkinson's disease biomarkers. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 152, 112016, 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112016>

OLIVEIRA, M. C.; WATANABE, E. Y.; AUGUSTINI, D.; BANKS, C. E.; MARCOLINO-JÚNIOR, L. H.; BERGAMINI, M. F. Nonenzymatic sensor for determination of glucose in blood plasma based on nickel oxyhydroxide in a microfluidic system of cotton thread. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 840, p. 153-159, 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.03.038>

PAIOLA, I. F.; FARIA, A. C. A.; ARAÚJO, D. A. G.; TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L. Miniaturização de uma célula eletroquímica em um experimento didático de voltametria cíclica: economizando reagentes e minimizando a geração de resíduos. **Revista Virtual de Química**, v. 9, 2017.

PASQUALI, C. E. L.; HERNANDO, P. F.; ALEGRÍA, J. S. D. Spectrophotometric simultaneous determination of nitrite, nitrate and ammonium in soils by flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 600, p. 177-182, 2007.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.03.015>

PEREIRA, J. F. S.; ROCHA, R. G.; CASTRO, S. V. F.; JOÃO, A. F.; BORGES, P. H. S.; ROCHA, D. P.; SIERVO, A.; RICHTER, E. M.; NOSSOL, E.; GELAMO, R. V.; MUÑOZ, R. A. A. Reactive oxygen plasma treatment of 3d-printed carbon electrodes towards high-performance electrochemical sensors. **Sensors and Actuators: B. Chemical**, v. 347, 130651, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130651>

PRADELA-FILHO, L. A.; NOVIANNA, E.; ARAÚJO, D. A. G.; TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L.; HENRY, C. S. Rapid Analysis in continuous-flow electrochemical paper-based analytical devices. **ACS Sens.** v. 5, p. 274-281, 2020. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b02298>

PROMSUWAN, K.; THAVARUNGKUL, P.; KANATHARANA, P.; LIMBUT, W. Flow injection amperometric nitrite sensor based on silver microcubics-poly (acrylic acid)/poly (vinyl alcohol) modified screen printed carbon electrode. **Electrochimica Acta**, v. 232, p. 357-369, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.02.138>

RAMSEY, R. S.; RAMSEY, J. M. Generating electrospray from microchip devices using electroosmotic pumping. **Analytical Chemistry**, v. 69, p. 1174-1178, 1997. <https://doi.org/10.1021/ac9610671>

REYES, D. R.; LOSSIFIDIS, D.; AUROUX, P.; MANZ, A. Micro Total Analysis Systems. 1. Introduction, Theory, and Technology. **Analytica Chimica Acta**, v. 74, p. 2623-2636, 2002. <https://doi.org/10.1021/ac0202435>

RÍOS, Á.; ZOUGAGH, M.; AVILA, M. Miniaturization through lab-on-a-chip: Utopia or reality for routine laboratories? A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 740, p. 1-11, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.06.024>

ROBERTS, M. A.; ROSSIER, J. S.; BERCIER, P.; GIRAULT, H. UV laser machined polymer substrates for the development of microdiagnostics systems. **Analytical Chemistry**, v. 69, p. 2035-2042, 1997. <https://doi.org/10.1021/ac961038q>

ROCHA, A. A. H.; CASAGRANDE, M.; SCHAUMLÖFFEL, L. S.; SILVA, Y. P.; PIATNICKI, C. M. S. Simultaneous voltammetric determination of tert-butylhydroquinone and propyl gallate in biodiesel-ethanol at a Pt ultramicroelectrode. **Energy Fuels**, v. 31, p. 7076-7081, 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b00204>

RŮŽIČKA, J.; STEWART, J. W. B. Flow injection analysis - Part II. **Analytica Chimica Acta**, v. 79, p. 79-91, 1975. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)89421-0](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)89421-0)

SAFAVIEH, R.; ZHOU, G. Z.; JUNCKER, D. Microfluidics made of yarns and knots: from fundamental properties to simple networks and operations. **Lab on a Chip**, v. 11, p. 2618-2624, 2011. <https://doi.org/10.1039/c1lc20336c>

SÁNCHEZ, G. A.; MIOZZA, V. A.; DELGADO, A.; BUSCH, L. Total salivary nitrates and nitrites in oral health and periodontal disease. **Nitric Oxide**, v. 36, p. 31-35, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2013.10.012>

SECHI, D.; GREER, B.; JOHNSON, J.; HASHEMI, N. Three-dimensional paper-based microfluidic device for assays of protein na glucose urine. **Analytical Chemistry**, v. 85, p. 10733-10737, 2013. <https://doi.org/10.1021/ac4014868>

SINGHAPHAN, P.; UNOB, F. Thread-based platform for nitrite detection based on modified Griess assay. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 327, 128938, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128938>

SKOOG, A. G.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2005.

SQUIRES, T. M.; QUAKE, S. R. Microfluidics: fluid physics at the nanoliter scale. **Reviews of modern Physics**, v. 77, p. 977-1026, 2005. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.77.977>

SUAREZ, W. T.; FRANCO, M. O. K.; CAPITÁN-VALLVEY, L. F.; ERENAS, M.M. Chitosan-modified cotton thread for the preconcentration and colorimetric trace determination of Co (II). **Microchemical Journal**, v. 158, p. 105137, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105137>

SWINER, D. J.; JACKSON, S.; DURISEK III, G. R.; WALSH, B. K.; KOUATLI, Y.; Microsampling with cotton thread: storage and ultra-sensitive analysis by thread spray mass Spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 1082, p. 98-105, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.07.015>

TERRY, S. C.; JERMAN, J. H.; ANGELL, J. B. A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer. **Talanta**, v. 26, p. 1880-1886, 1979. <https://doi.org/10.1109/T-ED.1979.19791>

TÓTOLI, E.G.; SALGADO, H. R. N. Miniaturized turbidimetric assay: A green option for the analysis of besifloxacin in ophthalmic suspension. **Talanta**, v. 209, p. 1-8, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120532>

TROFIMCHUK, E.; HU, Y.; NILGHAZ, A.; HUA, M. Z.; SUN, S.; LU, X. Development of paper-based microfluidic device for the determination of nitrite in meat. **Food Chemistry**, v. 316, 126396, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126396>

TUDOS, A. J.; BESSELINK, G. A. J.; SCHASFOORT. Trends in miniaturized total analysis systems for point-of-care testing in clinical chemistry. **Lab on a Chip**, v. 1, p. 83-95, 2001. <https://doi.org/10.1039/B106958F>

WAKELYN, P. J. Cotton fiber chemistry and technology. **International fiber Science and Technology**, 2006. <https://doi.org/10.1201/9781420045888>

WENG, X.; KANG, Y.; GUO, Q.; PENG, B.; JIANG, H. Recent advances in thread-based microfluidics for diagnostic applications. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 132, p. 171-185, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.03.009>

WENG, X.; NEETHIRAJAN. Immunosensor based on antibody-functionalized MoS<sub>2</sub> for rapid detection of Avian coronavirus on cotton thread. **IEE Sensors Journal**, v. 18, p. 4358-4363, 2018. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2018.2829084>

WEST, P. W. A selective spot test for copper. **Analytical Edition**, v. 17, p. 740-741, 1945. <https://doi.org/10.1021/i560147a024>

WHITESIDES, G. M. The origins and the future of microfluidics. **Nature**, v. 442, p. 368- 373, 2006. <https://doi.org/10.1038/nature05058>

YAN, Y.; KOU, B.; YAN, L. Thread-based microfluidic three channel device in combination with thermal lens detection for the determination of copper and zinc. **Analytical Methods**, v. 7, p. 8757-8762, 2015. <https://doi.org/10.1039/C5AY01458A>

ZHANG, J.; YANG, Z.; LIU, Q.; LIANG, H. Electrochemical biotoxicity detection on a microfluidic paper-based analytical device via cellular respiratory inhibition. **Talanta**, v. 202, p. 384-391, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.031>

ZHANG, W.; LIN, S.; WANG, C.; HU, J.; LI, C.; ZHUANG, Z.; ZHOU, Y.; MATHIES, R. A.; YANG, C. J. PMMA/PDMS valves and pumps for disposable microfluidics. **Lab on a chip**, v. 9, p. 3088-3094, 2009. <https://doi.org/10.1039/b907254c>

ZIYATDINOVA, G.; GUSS, E.; BUDNIKOV, H. Amperometric sensor based on MWNT and electropolymerized carminic acid for the simultaneous quantification of TBHQ and BHA. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 859, 113885, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.113885>