



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

DIELE APARECIDA GOUVEIA ARAÚJO

**OS PRINCÍPIOS DA SUSTENTABILIDADE APLICADOS NO
DESENVOLVIMENTO DE DISPOSITIVOS ELETROANALÍTICOS
MINIATURIZADOS PARA ANÁLISES EM MICROVOLUMES DE
AMOSTRAS DE BEBIDAS**

Uberlândia

2022

DIELE APARECIDA GOUVEIA ARAÚJO

**OS PRINCÍPIOS DA SUSTENTABILIDADE APLICADOS NO
DESENVOLVIMENTO DE DISPOSITIVOS ELETROANALÍTICOS
MINIATURIZADOS PARA ANÁLISES EM MICROVOLUMES DE
AMOSTRAS DE BEBIDAS**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Doutora em Química.

Orientador: Prof. Dr. André Luiz dos Santos

**Uberlândia
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

A659p
2022

Araújo, Diele Aparecida Gouveia, 1993-

Os princípios da sustentabilidade aplicados no desenvolvimento de dispositivos eletroanalíticos miniaturizados para análises em microvolumes de amostras de bebidas [recurso eletrônico] / Diele Aparecida Gouveia Araújo. - 2022.

Orientador: André Luiz dos Santos.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2022.5315>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

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

CDU: 54

Glória Aparecida
Bibliotecária - CRB-6/2047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química
Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 5I - 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:	Tese de Doutorado Acadêmico, 130, PPGQUI				
Data:	Vinte e dois de julho de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	09:00	Hora de encerramento:	15:05
Matrícula do Discente:	11813QMI005				
Nome do Discente:	Diele Aparecida Gouveia Araujo				
Título do Trabalho:	Os princípios da sustentabilidade aplicados no desenvolvimento de dispositivos eletroanalíticos miniaturizados para análises em microvolumes de amostras de bebidas				
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 no Auditório 1 do Bloco B do Campus do Pontal em Ituiutaba, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: João Flávio da Silveira Petrucci e Eduardo Mathias Richter, da Universidade Federal de Uberlândia; Wallans Torres Pio dos Santos, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; Vanessa Nunes Alves, da Universidade Federal de Catalão 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 Doutor.

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 22/07/2022, às 15:06, 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 22/07/2022, às 15:07, 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 **Eduardo Mathias Richter, Professor(a) do Magistério Superior**, em 23/07/2022, às 10:38, 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 **Wallans Torres Pio dos Santos, Usuário Externo**, em 25/07/2022, às 19:47, 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 **Vanessa Nunes Alves, Usuário Externo**, em 26/07/2022, às 10:26, 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, informando o código verificador **3704093** e o código CRC **B9484649**.

DIELE APARECIDA GOUVEIA ARAÚJO

**OS PRINCÍPIOS DA SUSTENTABILIDADE APLICADOS NO
DESENVOLVIMENTO DE DISPOSITIVOS ELETROANALÍTICOS
MINIATURIZADOS PARA ANÁLISES EM MICROVOLUMES DE
AMOSTRAS DE BEBIDAS**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Doutora em Química.

DATA DA APROVAÇÃO

COMISSÃO AVALIADORA:

Profa. Dra. Vanessa Nunes Alves
IQ-UFCAT

Prof. Dr. Wallans Torres Pio dos Santos
UFVJM

Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter
IQ – UFU

Prof. Dr. João Flávio da Silveira Petrucci
IQ – UFU

Prof. Dr. André Luiz dos Santos (orientador)
ICENP – UFU

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho...

*A todos os Pesquisadores do Ensino Público Superior que lutam bravamente, todos os dias,
para vencer o obscurantismo científico no Brasil*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por guiar sempre os meus caminhos.

À minha Mãe, fonte inspiradora de garra e de coragem, que sempre me ensinou que “*o estudo era a nossa única chance de ter uma vida melhor*”. Obrigada por toda educação e por sempre lutar pelo nosso futuro, mesmo nas maiores adversidades da vida, te amo!

Ao meu Pai, a pessoa que mais acredita em mim e, meu maior “*promotor*”. Obrigada por viver comigo todos os meus sonhos e “*mover céus e terras*” para realizá-los. Você é fantástico!

Ao meu companheiro de vida e grande incentivador, Guilherme. Obrigada por me apresentar à Universidade e me mostrar que eu seria capaz de conseguir fazer um Doutorado, sem você isso não seria possível, serei sempre grata. Amo você!

Ao meu irmão, pelo apoio e por sempre vibrar com as minhas conquistas.

Aos meus orientadores André Luiz dos Santos e Regina Massako Takeuchi, duas pessoas que levarei para sempre comigo. Vocês são muito importantes na minha formação profissional e pessoal. Obrigada por todo conhecimento apresentado e experiências compartilhadas durante esses anos, hoje é impossível imaginar “*Diele*” sem Regina e André. Contem sempre comigo, vocês são muito especiais para mim!

Aos meus amigos do Grupo de Pesquisa em Métodos Eletroanalíticos (GPMEI) que acompanharam o desenvolvimento desse projeto: Letícia, Vinicius, João Vitor, Dayane, Victória, Natália e Luiz André. Um agradecimento especial ao Lauro e a Ana Clara. Laurinho, “*irmão que a química me deu*”, obrigada por todo apoio e paciência, com certeza seu companheirismo e incentivo tornou mais leve essa etapa do DOC, somos uma “*dupla imbatível*”. Aninha, sempre muito racional, obrigada por sempre me acalmar e ajudar a manter meu “*pé no chão*”, você é luz e sinal de Deus onde estiver. Amo todos vocês!

Aos meus amigos do *Labs*: Allyson “*com seu bom dia super animado*”, Marcos “*nosso amigo bilíngue*”, Leticia, Nayara, Mayara, Giselle, Matheus, Andressa, Poliana, Cynthia “*anjoooo*”, Isabela, Lais, Rosana, Rodrigo, Renata e Anízio, obrigada por toda a amizade e convívio, levarei comigo todas as nossas experiências e histórias divididas durante nossos cafezinhos e confraternizações.

Não poderia deixar de agradecer ao curso de Química do Campus do Pontal, por fornecer as condições para a execução desse trabalho. É impossível não me emocionar ao lembrar tudo que vivi nesse Campus, foi aqui que aprendi e me transformei. Vou lutar para que outras pessoas possam ter a mesma oportunidade que tive.

Ao Instituto Federal do Triângulo Mineiro – IFTM campus Ituiutaba, onde atuei como professora substituta durante seis meses, um período muito importante para minha formação profissional. Obrigada a todas as pessoas que colaboraram comigo, atuar dentro de uma Instituição Federal de ensino me fez admirar ainda mais a carreira acadêmica.

Um agradecimento muito especial aos meus amigos da vida: Gustavo, Sabrina, Jacson, Flávio, Marcela e Carol, que estavam sempre dispostos para ouvir todas as alegrias, conquistas e angústias da vida do pós-graduando, vocês são especiais e me ajudaram a vencer essa etapa.

Agradeço ao “*Clubinho*”: Weida, Debóra, Diandra, Marília, Raul, Tiara, Gabriel e Diego, uma “*galera massa*” que encontrei aqui em Uberlândia que ajudou muito na minha adaptação na cidade grande (“*deve ser ruim não gostar da gente kkkkkk*”), vocês são legais demais!

Ao Laboratório de Sensores, Nanomedicina e Materiais Nanoestruturados – LSNano (UFSCar); Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica – NuPE (UFU) pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Laboratório de Miniaturização e Sensores – LaMinS (UFU), pela receptividade em Uberlândia e por abrir as portas do Laboratório para que eu conseguisse finalizar essa etapa.

À FAPEMIG (Processo: (APQ-02905-15 e APQ-02078-15)), CAPES (Código de Financiamento 001), CNPq (Proc.: 447668/2014-5 e 443315/2014-0) e Finep pelos recursos concedidos ao grupo de pesquisa.

Aos membros da Banca Examinadora, Prof. Dr. Wallans, Prof. Dra. Vanessa; Prof. Dr. Eduardo e Prof. Dr. João Flávio, pela disponibilidade em realizar essa banca de defesa presencialmente, mesmo em um cenário ainda pandêmico, e pelo empenho na leitura e por todas as discussões e sugestões que serão importantes para o aprimoramento desse trabalho.

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

Muito Obrigada!

EPÍGRAFE

*“Dá de ti. Dá de ti quanto puderes:
o talento, a energia, o coração.”.*

Giuseppe Ghiaroni.

RESUMO

O desenvolvimento de dispositivos miniaturizados é uma atual tendência na área da química analítica, uma vez que contribui diretamente com a redução do impacto da atividade química ao meio ambiente. Neste sentido, este trabalho apresenta estratégias de fabricação de dispositivos eletroanalíticos miniaturizados duráveis e de baixo custo empregando como diretrizes os princípios da sustentabilidade tais como: reduzir, reutilizar e reciclar. O primeiro dispositivo foi construído a partir técnica *screen-printing* empregando folhas de retroprojeto como substrato e uma tinta condutora preparada com esmalte incolor de unha e pó de grafite. O eletrodo de trabalho deste dispositivo foi modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs), sendo avaliado o efeito do tamanho e da funcionalização dos nanotubos sobre o desempenho analítico. O sensor modificado com MWCNTs funcionalizados de maior diâmetro foi aplicado para a determinação de ácido cafeico em amostras de chás. O segundo dispositivo foi baseado em ponteiros de micropipetas e fios metálicos reutilizados de eletrodos para medidas de pH danificados. Este dispositivo apresentou algumas vantagens em relação a outros dispositivos eletroquímicos baseados em ponteiros de micropipetas, entre elas destacam-se a robustez e o controle efetivo do potencial do eletrodo de trabalho. A aplicabilidade foi demonstrada usando TBHQ, ácido ascórbico, peróxido de hidrogênio e dopamina como analitos modelo. A modificação do eletrodo de trabalho com nanotubos de carbono permitiu a determinação do agrotóxico carbendazim em amostras de água e suco de laranja. O último dispositivo proposto foi construído utilizando uma seringa de insulina como plataforma para os eletrodos. Um fio de cobre, empregado em instalações elétricas, foi utilizado como eletrodo de trabalho, um fio de Ag recoberto com AgCl e um fio de platina, recuperados de eletrodos de vidro e de uma célula de condutância, foram empregados como eletrodo de pseudo-referência e auxiliar, respectivamente. O desempenho analítico do dispositivo miniaturizado para determinação de sulfito foi consideravelmente melhorado a partir da integração com uma etapa de extração por volatilização, uma vez que o baixo volume de solução necessário (500 µL) para as análises eletroquímicas promoveu um efeito de pré-concentração do analito. O dispositivo miniaturizado integrado à extração por volatilização permitiu desenvolver um método analítico sensível e seletivo para determinação de sulfito em amostras de bebidas. Portanto, estes resultados demonstram que as estratégias adotadas para a construção dos dispositivos eletroanalíticos miniaturizados e de baixo custo são promissoras para análises de diferentes analitos em microvolumes de solução com possibilidades de portabilidade.

Palavras-chaves: miniaturização, dispositivos eletroanalíticos, microvolumes, antioxidantes.

ABSTRACT

The miniaturization of analytical devices is an ultimate trend in analytical chemistry since it directly contributes to reducing the side effects of chemical activities on the environment. Thus, in this study, we presented approaches to fabricate inexpensive and durable miniaturized electrochemical sensors by using the principles of sustainability such as: reducing, reusing, and recycling as guidelines. The first device was produced by using the *screen-printing* technique with overhead projector sheets as the substrate and a conductive ink prepared by mixing graphite powder and colorless nail polish. The working electrode of these sensors was chemically modified with multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) and the effects of the acidic functionalization and the size of the MWCNTs on the analytical performance were evaluated. The sensor modified with the larger diameter acidic-functionalized MWCNTs was applied to determine caffeic acid in tea samples. The second device was based on micropipette tips and metallic wires recovered from a damaged combined glass electrode and a conductance cell. This device offered some advantages compared with other micropipette tip-based electrochemical devices: it is more robust and provided effective control of the working electrode potential. The analytical performance of this device was evaluated for TBHQ, ascorbic acid, hydrogen peroxide, and dopamine used as model analytes. The working electrode was modified with carbon nanotubes and the miniaturized device was used to determine the fungicide carbendazim in water and orange juice samples. Finally, the last proposed device was fabricated with an insulin syringe as the holder for the electrodes. A copper wire used in electrical home installations was used as the working electrode. A platinum plate, recovered from a broken conductance cell, and an Ag/AgCl wire, recovered from a damaged pH glass electrode, were used as the auxiliary and pseudo-reference electrode, respectively. The good analytical performance was ascribed to the low volume of the acceptor solution (500 μ L) which allowed both the SO₂ extraction and its preconcentration. The miniaturized device integrated with membraneless volatilization extraction enabled the development of a sensitive and selective analytical method to determine sulfite in beverage samples. Therefore, the approaches described to fabricate low-cost miniaturized electroanalytical devices are promising to perform electrochemical measurements in microvolumes and with portability capacity.

Keywords: miniaturization, electroanalytical devices, microvolumes, antioxidant.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Representação esquemática do processo de fabricação de um dispositivo screen-printed. Reproduzido de (Metters et al. 2011) com permissão. Copyright© 2011 Royal Society of Chemistry. 26
- Figura 2** - Representação esquemática do processo de obtenção de uma tinta condutora preparada com materiais alternativos e da fabricação de um dispositivo screen-printed a partir deste material. 1) Dispersão do pó de grafite no esmalte; 2) dispersão misturada em uma centrífuga SpeedMixer; 3) Aplicação da tinta condutora sobre o substrato contendo os moldes e 4) dispositivo preparado e pronto para uso. Reproduzido de (Camargo et al. 2020) com permissão. Copyright© 2020 ELSEVIER BV. 29
- Figura 3** - Representação esquemática do processo de fabricação do dispositivo miniaturizado utilizando ponteiros de micropipetas como suporte. A) Ponteira de micropipeta; B) Inserção do fio de cobre empregado como contato elétrico do eletrodo de trabalho; C) Fixação de dois fios de cobre no lado externo da ponteira utilizados como contatos elétricos dos eletrodos de referência e auxiliar; D) Compósito de grafite inserido na ponteira (eletrodo de trabalho), compósito de grafite colocado sobre um fio de cobre de um lado externo e compósito de prata posicionado sobre o outro fio de cobre (eletrodo de referência); E) Dispositivo pronto para uso. Reproduzido de (Silva et al. 2010) com permissão. Copyright© 2010 WILEY - V C H VERLAG GMBH & CO. KGAA..... 31
- Figura 4** - Imagem do sistema miniaturizado: WE) Eletrodo de trabalho; RE) eletrodo de referência e AE) eletrodo auxiliar. Reproduzido de (Hájková et al. 2016) com permissão. Copyright© 2016 ELSEVIER S.A. 32
- Figura 5** - Imagem de um sistema eletroquímico baseado em ponteira de micropipeta. Reproduzido de (González-López et al. 2021) com permissão. Copyright© 2021 ELSEVIER B.V..... 33
- Figura 6** - Imagem de uma plataforma microfluídica integrada a detecção eletroquímica. Reproduzido de (Maximiano et al. 2021) com permissão. Copyright© 2021 ELSEVIER B.V. 35
- Figura 7** - Representação esquemática de um sistema Lab-on-a-tip. Reproduzido de (Cinti et al. 2018) com permissão. Copyright© 2018 ELSEVIER B.V. 36
- Figura 8** - Representação esquemática do processo de fabricação dos SPE/MWCNT: 1- colagem da máscara para deli; 2- aplicação da tinta condutora; 3- tinta condutora aplicada sobre o dispositivo; 4- Retirada da máscara delimitadora; 5- colagem do adesivo delimitador da área

geométrica e do volume para análises; 6- modificação da superfície do eletrodo de trabalho; 7- dispositivo pronto. B) Imagem do SPE/MWCNT. C) Imagem do SPE/MWCNT conectado ao potenciostato.....	42
Figura 9 - A) Montagem dos eletrodos de trabalho e auxiliar. B) Dispositivo contendo o compartimento para o eletrodo de referência. C) Eletrodo referência. D) Dispositivo miniaturizado completo. E) Imagem do dispositivo miniaturizado montado. F) Imagem de microscopia digital da parte inferior do dispositivo miniaturizado. G) Representação esquemática e imagem do dispositivo montado para os experimentos em fluxo.....	46
Figura 10 - Representação esquemática do sistema FIA empregado: A) bomba peristáltica; B) injetor comutador; C) detector; D) potenciostato e E) gerenciador de dados.	47
Figura 11 - A) Representação esquemática da fabricação do dispositivo integrado: I) Visão interna do eletrodo de trabalho inserido na seringa; II) Posicionamento do eletrodo auxiliar e pseudo-referência; III) Dispositivo completo inserido na célula eletroquímica contendo 500 µL de eletrólito de suporte. B) Imagem da parte inferior do dispositivo. C) Imagem do sistema eletroanalítico completo.	49
Figura 12 - A) Representação esquemática do sistema miniaturizado integrado as etapas de extração gasosa sem membrana e pré-concentração. B) Imagem do sistema completo.....	50
Figura 13 - Representação esquemática do sistema empregado para calcular a vazão de argônio durante os procedimentos de extração de sulfito.....	51
Figura 14 - Voltamogramas cíclicos registrados em uma solução de KCl 0,1 mol L ⁻¹ na a) ausência e b) presença de 1,0 mmol L ⁻¹ de [Fe(CN) ₆] ^{4-/3-} empregando o SPE construído. v = 50 mV s ⁻¹ . Inserido: Imagem do dispositivo conectado ao potenciostato.	55
Figura 15 - Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 0,1 mol L ⁻¹ na presença de 1 mmol L ⁻¹ [Fe(CN) ₆] ^{4-/3-} empregando diferentes sensores: (a) SPE não modificado, (b) FLD-MWCNT/SPE, (c) FSD-MWCNT/SPE, (d) LD-MWCNT/SPE, (e) SD-MWCNT/SPE. v= 50 mV s ⁻¹	56
Figura 16 - A) Voltamogramas cíclicos empregando FLD-MWCNT/SPE registrados em KCl 0,1 mol L ⁻¹ na presença de 1 mmol L ⁻¹ [Fe(CN) ₆] ^{4-/3-} em diferentes velocidades de varredura: a) 10, b) 50, c) 100, d) 150 e) 200 mV s ⁻¹ . B) Gráfico de I _{pa} vs. v ^{1/2} para os diferentes SPE: (■) SPE não modificado; (●) FLD-MWCNT/SPE e (▼) FSD-MWCNT/SPE.	58
Figura 17 - Imagens de AFM dos eletrodos de trabalho modificados dos seguintes dispositivos: A) FLD-MWCNT/SPE e B) FSD-MWCNT/SPE.....	59

Figura 18- Imagens de MEV dos eletrodos de trabalho dos dispositivos preparados: A) FSD-MWCNT/SPE; B) FLD-MWCNT/SPE; C) SPE não modificado e D) SPE completo (ampliação de 28 vezes).....	61
Figura 19 - Gráficos de Nyquist obtidos por espectroscopia de impedância eletroquímica em 100 µL de KCl 0,1 mol L ⁻¹ na presença 1 mmol L ⁻¹ [Fe(CN) ₆] ^{4-/3-} com diferentes dispositivos: (■) SPE não modificado; (●) FSD-MWCNT/SPE e (▲) FLD-MWCNT/SPE. Frequência = 0,1 a 1 x 10 ⁵ Hz, E = +0 V e amplitude = 10 mV.	62
Figura 20 – A) Imagem do eletrodo de referência externo conectado ao SPE. Voltamogramas cíclicos registrados em 100 µL de KCl 0,1 mol L ⁻¹ na presença de 1 mmol L ⁻¹ de [Fe(CN) ₆] ^{4-/3-} com diferentes SPE: B) SPE não modificado, C) FLD-MWCNT/SPE e D) FSD-MWCNT/SPE: (—) Eletrodo pseudo-referência e (- -) Eletrodo de referência Ag/AgCl _{sat} . v = 50 mV s ⁻¹	63
Figura 21 - Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 0,1 mol L ⁻¹ na presença de 1 mmol L ⁻¹ de [Fe(CN) ₆] ^{4-/3-} utilizando 3 diferentes dispositivos preparados separadamente: A) FLD-MWCNT/SPE e B) FSD-MWCNT/SPE. v = 50 mV s ⁻¹	64
Figura 22 – Estrutura química do ácido gálico.....	65
Figura 23 – A) Voltamogramas cíclicos registrados com FLD-MWCNT/SPE em uma solução de HClO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ : (—) ausência de AG e (—) presença de 1,0 mmol L ⁻¹ de AG. v = 50 mV s ⁻¹ . B) Voltamogramas cíclicos registrados na presença de 1,0 mmol L ⁻¹ de AG empregando diferentes dispositivos: (—) SPE não modificado; (—) FLD-MWCNT/SPE e (—) FSD-MWCNT/SPE. C) Voltamogramas de pulso diferencial com linha de base corrigida registrados empregando o FLD-MWCNT/SPE em diferentes concentrações de AG: a) 1, b) 5, c) 10, d) 15, e) 20, f) 30, g) 50, h) 100, i) 150 µmol L ⁻¹ AC. D) Curvas analíticas para AG empregando diferentes sensores: (—) SPE não modificado; (—) FLD-MWCNT/SPE e (—) FSD-MWCNT/SPE.....	66
Figura 24 – Estrutura química do ácido cafeíco.....	69
Figura 25 - A) Voltamogramas cíclicos registrados com FLD-MWCNT/SPE SPE em uma solução de HClO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ : (—) ausência de AC e (—) presença de 1,0 mmol L ⁻¹ de AC. v = 50 mV s ⁻¹ . B) Voltamogramas cíclicos registrados na presença de 1,0 mmol L ⁻¹ de AC empregando diferentes dispositivos: (—) SPE não modificado; (—) FLD-MWCNT/SPE e (—) FSD-MWCNT/SPE. C) Voltamogramas de pulso diferencial com linha de base corrigida registrados empregando o FLD-MWCNT/SPE em diferentes concentrações de AC: a) 2, b) 4, c) 6, d) 8, e) 10, f) 12,5, g) 15, h) 17,5, i) 20, j) 30 e k) 50 µmol L ⁻¹ AC. D) Curvas analíticas para AC empregando diferentes sensores: (—) SPE não modificado; (—) FLD-MWCNT/SPE e (—) FSD-MWCNT/SPE.....	69

Figura 26 – Efeito no sinal voltamétrico de 3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AC na presença de diferentes razões molares de potenciais espécies interferentes: A) 1:1; B) 1:5 e C) 1:10 (AC:interferente). As linhas pontilhadas representam o limite entre 95% e 105% do sinal.....	73
Figura 27 – Voltamogramas cíclicos registrados em 500 μL de uma solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} utilizando o dispositivo miniaturizado: (--) 1º ciclo e (–) 30º ciclo. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	74
Figura 28 – Voltamogramas cíclicos registrados em uma solução de KCl 0,1 mol L^{-1} empregando o dispositivo miniaturizado: a) ausência de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$; b) 1,04; c) 2,07; d) 3,08; e) 4,08; f) 5,06; g) 6,02; h)6,97; i) 7,91; j) 8,84 e k) 9,74 mmol L^{-1} . Inserido: Curvas analíticas construídas a partir da I_{pa} e I_{pc} . $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	75
Figura 29 - Voltamogramas cíclicos registrados com o dispositivo miniaturizado em uma solução de KCl 0,1 mol L^{-1} na presença de 10,0 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ em diferentes velocidades de varredura: a) 10, b) 20, c)30, d)40, e) 50, f)75, g)100, h)125, i)150 e j)200 mV s^{-1} . Inserido: Gráfico da I_{pa} (■) e I_{pc} (■) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.	76
Figura 30 – Voltamogramas cíclicos registrados em 0,1 mol L^{-1} de KCl na presença de 5,0 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ empregando três sistemas diferentes. $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$	77
Figura 31 –A) Sinais transientes obtidos para injeções de soluções de diferentes concentrações de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$: a) 0,10; b) 0,25; c) 0,50; d) 0,75 e) 1,00 mmol L^{-1} . Solução carregadora: KCl 0,1 mol L^{-1} , vazão: 3 mL min^{-1} , volume de injeção: 100 μL , $E_{\text{detecção}} = +0,6 \text{ V}$. B) Curvas analíticas construídas injetando concentrações de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ em ordem crescente (■) e decrescente (★).	78
Figura 32 - A) Voltamogramas de pulso diferencial com a linha de base corrigida registrados em etanol: 1,0 mol L^{-1} HClO_4 (90:10; v:v) em diferentes concentrações de TBHQ: a) branco; b) 24,9; c) 40,5; d) 73,7; e) 97,5; f) 145,1; g) 191,9; h) 238,2; i) 283,7; j) 375,4; k) 465,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$. B) Curva analítica para TBHQ.	80
Figura 33 - A) Voltamogramas de onda quadrada com a linha de base corrigida registrados em 0,1 mol L^{-1} de tampão fosfato $\text{pH} = 6,8$ em diferentes concentrações de dopamina: a) branco; b) 10,9; c) 16,4; d) 21,8; e) 27,2; f) 32,5; g) 53,9; h) 75,1; i) 96,2; j) 118,1; k) 158,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. B) Curva analítica para dopamina.	81
Figura 34 – A) Sinais amperométricos registrados em 0,1 mol L^{-1} de tampão fosfato $\text{pH} = 6,8$ na presença de diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio. $E_{\text{detecção}} = 0,7 \text{ V}$. B) Curva analítica construída para peróxido de hidrogênio.	82

Figura 35 - A) Sinais amperométricos registrados em 0,1 mol L ⁻¹ de NaOH na presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico. E _{detecção} = 0,155 V. B) Curva analítica construída para ácido ascórbico.....	83
Figura 36 – Estrutura química do carbendazim.....	86
Figura 37 – Voltamogramas de pulso diferencial com linha de base corrigida registrados em uma solução de tampão B.R. 0,04 mol L ⁻¹ pH = 2 registrados com dispositivo miniaturizado: (—) ausência de CBZ e (—) presença de 50 μmol L ⁻¹ de CBZ. Condições voltamétricas: Amplitude de pulso = 80 mV, tempo de pulso = 30 ms, incremento de potencial = 5 mV e v = 10 mV s ⁻¹	87
Figura 38 - Voltamogramas de pulso diferencial com linha de base corrigida registrados em uma solução de tampão B.R. 0,04 mol L ⁻¹ pH = 2 registrados com dispositivo miniaturizado modificado com SD-MWCNT: (—) ausência de CBZ e (—) presença de 50 μmol L ⁻¹ de CBZ. Condições voltamétricas: Amplitude de pulso = 80 mV, tempo de pulso = 30 ms, incremento de potencial = 5 mV e v = 10 mV s ⁻¹	88
Figura 39 – Influência do tempo de pré-concentração em OCP na resposta voltamétrica de 2 μmol L ⁻¹ de CBZ. Condições voltamétricas: Amplitude de pulso = 80 mV, tempo de pulso = 30 ms, incremento de potencial = 5 mV e v = 10 mV s ⁻¹ . Barras de erro indicam o desvio padrão de I _{pa} para n = 3.....	89
Figura 40 – A) Voltamogramas de redissolução adsortiva por pulso diferencial com linha de base corrigida registrados com o dispositivo miniaturizado modificado com SD-MWCNT em 0,04 mol L ⁻¹ de tampão B.R. na presença 1,5 μmol L ⁻¹ de CBZ em diferentes valores de pH: (—) 2, (—) 4, (—) 6 e (—) 8. B) Influência do pH na i _p (■) e no E _p (●). Condições voltamétricas: Amplitude de pulso = 75 mV, tempo de pulso = 30 ms, incremento de potencial = 7,5 mV, v = 15 mV s ⁻¹ e t _{pré-conc} = 150 s em OCP.	90
Figura 41 – Voltamogramas de redissolução adsortiva por pulso diferencial com linha de base corrigida registrados em 0,04 mol L ⁻¹ de tampão B.R. pH = 4 com o dispositivo miniaturizado modificado com (A) FSD-MWCNT e (B) SD-MWCNT em diferentes concentrações de CBZ: a) branco, b) 0,25, c) 0,50, d) 0,75, e) 1,0, f) 1,5, g) 2,0 e h) 2,5 μmol L ⁻¹ . C) Curva analítica construída para CBZ empregando dispositivos miniaturizados modificados com diferentes nanotubos de carbono (■) FSD-MWCNT e (■) SD-MWCNT. Condições voltamétricas: Amplitude de pulso = 75 mV, tempo de pulso = 30 ms, incremento de potencial = 7,5 mV, v = 15 mV s ⁻¹ e t _{pré-conc} = 150 s em OCP.	91

Figura 42 – Voltamogramas cíclicos registrados em 500 μL de 0,1 mol L^{-1} NaOH empregando o dispositivo miniaturizado: (—) ausência de sulfito e (—) presença de 3 mmol L^{-1} de sulfito. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	95
Figura 43 – A) Voltamogramas cíclicos registrados com o dispositivo miniaturizado em 500 μL de 0,1 mol L^{-1} de NaOH na presença de 3,0 mmol L^{-1} de sulfito em diferentes velocidades de varredura: a) 10, b) 20, c) 30, d) 40, e) 50, f) 75, g) 100, h) 125, i) 150 e j) 200 mV s^{-1} . B) Gráfico da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.	96
Figura 44 – Voltamogramas registrados com o dispositivo miniaturizado em 500 μL de NaOH 0,1 mol L^{-1} na presença de 3 mmol L^{-1} de sulfito empregando diferentes técnicas voltamétricas: (—) DPV e (—) SWV. Condições voltamétricas DPV) $\Delta E = 20 \text{ mV}$, $t_p = 25 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$; SWV) $\Delta E = 20 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$	97
Figura 45 – Voltamogramas de onda quadrada sucessivos registrados em 500 μL de NaOH 0,1 mol L^{-1} na presença de 3 mmol L^{-1} de sulfito empregando o dispositivo miniaturizado. Condições voltamétricas: SWV) $\Delta E = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$	98
Figura 46 - A) Voltamogramas de onda quadrada com a linha de base corrigida registrados em NaOH 0,1 mol L^{-1} em diferentes concentrações de sulfito: a) 0,6; b) 0,7; c) 0,8; d) 1,0; e) 2,0; f) 3,0; g) 4,0; h) 5,0; i) 6,0; j)7,0; k) 8,0; l) 9,0 e m) 10,0 mmol L^{-1} . B) Curva analítica para sulfito intradia. Barras de erro indicam o desvio padrão de i_p para $n = 3$. Condições voltamétricas: SWV) $\Delta E = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$	99
Figura 47 – Voltamogramas de onda quadrada registrados em 500 μL de NaOH 0,1 mol L^{-1} após 3 min de extração a partir de 15 mL de uma solução contendo 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito em 1,0 mol L^{-1} de H_2SO_4 : (—) com fluxo de argônio e (—) sem fluxo de argônio. Condições voltamétricas: SWV) $\Delta E = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$	101
Figura 48 - A) Voltamogramas de onda quadrada com a linha de base corrigida registrados em NaOH 0,1 mol L^{-1} para diferentes tempos de extração: a) 0; b) 1; c) 3; d) 5; e) 8; f) 10; g) 15 e h) 20 min. B) Curva de extração para sulfito. Condições da extração: Solução doadora: 15 mL de uma solução de 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito preparada em 1,0 mol L^{-1} de H_2SO_4 ; Solução receptora: 500 μL de 0,1 mol L^{-1} de NaOH. Barras de erro indicam o desvio padrão de i_p para 3 extrações realizadas em dias diferentes. Condições voltamétricas: SWV) $\Delta E = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$	102
Figura 49 - Voltamogramas de onda quadrada com a linha de base corrigida registrados em NaOH 0,1 mol L^{-1} após 10 min de extração de diferentes concentrações de sulfito: a) branco; b) 25,0; c) 35,0; d) 45,0; e) 65,0; f) 85,0 e g) 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. B) Curva analítica para sulfito.	

Barras de erro indicam o desvio padrão de i_p para 3 diferentes superfícies eletródicas. Condições voltamétricas: SWV) $\Delta E = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ 103

Figura 50 – Voltamogramas de onda quadrada registrados em 500 μL de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$:

a) ausência de sulfito e etanol na solução doadora; b) presença de 10% de etanol e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito na solução doadora, c) Ausência de etanol e presença de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito na solução doadora. Condições da extração: Solução doadora: 15 mL de H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$; Solução receptora: 500 μL de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $t_{\text{extração}} = 10 \text{ min}$. Condições voltamétricas: SWV) $\Delta E = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ 108

LISTA DE ABREVIATURAS

- MWCNT** – Nanotubos de carbono de paredes múltiplas;
LD-MWCNT – Nanotubos de carbono de paredes múltiplas de maior diâmetro;
SD-MWCNT – Nanotubos de carbono de paredes múltiplas de menor diâmetro;
FLD-MWCNT – Nanotubos de carbono de paredes múltiplas de maior diâmetro funcionalizados;
FSD-MWCNT – Nanotubos de carbono de paredes múltiplas de menor diâmetro funcionalizados;
SPE – Eletrodos impressos;
TBHQ – terc-butil-hidroquinona;
CBZ – Carbendazim;
TPC – Quantidade de compostos fenólicos totais;
FC – Reagente de Reagente Folin-Ciocalteu;
AG – Ácido Gálico;
AC – Ácido Cafeico;
FIA – Sistema de Injeção em Fluxo;
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura;

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	20
1.1	Motivação	20
1.2	Sensores eletroquímicos – Evolução	20
1.3	Estratégias para a obtenção de dispositivos eletroanalíticos miniaturizados 23	
1.3.1	Eletrodos impressos	25
1.3.2	Dispositivos eletroanalíticos miniaturizados baseados em ponteiros de micropipetas	29
1.4	Dispositivos eletroanalíticos miniaturizados acoplados a etapas de preparo de amostras	34
2-	OBJETIVO GERAL	38
3-	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	39
3.1	Reagentes e soluções	39
3.2	Instrumentação	40
3.3	Funcionalização do MWCNTs	41
3.3	Fabricação dos dispositivos miniaturizados	41
3.3.1	<i>Dispositivo 1: Eletrodo impresso descartável baseado em folhas de retroprojeter e tinta condutora</i>	42
3.3.1.1	<i>Procedimento analítico e preparo das amostras de chás</i>	43
3.3.2	<i>Dispositivo 2: Sistema eletroquímico baseado em ponteiros de micropipetas</i>	44
3.3.2.1	<i>Procedimento analítico e preparo das amostras</i>	47
3.3.3	<i>Dispositivo 3: Sistema eletroanalítico a base de seringa para insulina e fios metálicos</i>	48
3.3.3.1	<i>Dispositivo miniaturizado acoplado a extração gasosa de sulfito</i>	49
3.3.3.2	<i>Procedimento analítico e preparo das amostras</i>	52
4 -	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1	Dispositivo 1: Eletrodo impresso descartável baseado em folhas de retroprojeter e tinta condutora	54

4.1.1 Modificação dos sensores eletroquímicos descartáveis com MWCNTs	55
4.1.2 Caracterização dos FMWCNT/SPE.....	58
4.1.3. Desempenho analítico dos SPEs para determinação de compostos fenólicos	64
4.1.3.1 Ácido Gálico	65
4.1.3.2 Ácido Cafeico.....	68
4.1.3.3 Análises das amostras de chá.....	70
4.2 - Dispositivo 2: Sistema eletroquímico miniaturizado baseado em ponteiros de micropipetas e fios metálicos.....	74
4.2.1 Caracterização eletroquímica do dispositivo miniaturizado	75
4.2.2 Desempenho analítico	79
4.2.3 Modificação do eletrodo de trabalho com SD-MWCNT e determinação de CBZ.....	86
4.3 Dispositivo 3: Sistema eletroquímico miniaturizado baseado em seringa descartável e fios metálicos acoplado a extração por volatilização.	93
4.3.1 Caracterização do dispositivo eletroquímico miniaturizado	94
4.3.2 Integração do dispositivo a um sistema de extração por volatilização de sulfito	99
5- CONCLUSÕES.....	110
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113

1. INTRODUÇÃO

1.1 Motivação

Nos últimos anos, cresceu consideravelmente a busca por sistemas analíticos portáteis para análises em tempo real. É de conhecimento que a possibilidade de portabilidade está diretamente atrelada ao tamanho dos equipamentos usados na análise [1]. O emprego de técnicas eletroanalíticas é uma estratégia atrativa para o desenvolvimento destes sistemas, visto que a redução do tamanho dos sistemas não ocasiona diminuição da detectabilidade, uma vez que os processos eletródicos ocorrem na interface eletrodo-solução [2]. No entanto, a maioria das técnicas de microfabricação, entre elas a litografia e ablação a laser, requerem equipamentos de alto custo, o que inviabiliza a aplicação em laboratórios de pesquisa localizados em regiões com recursos financeiros limitados. Portanto, o desenvolvimento de dispositivos eletroanalíticos miniaturizados baseados em materiais alternativos, de baixo custo e que apresentem relativa simplicidade experimental é um tema importante e tem chamado a atenção de muitos pesquisadores.

Neste contexto, foram utilizados os princípios da sustentabilidade tais como: reduzir, reutilizar e reciclar, como diretrizes para o desenvolvimento de dispositivos eletroanalíticos miniaturizados, visando reduzir o gasto de materiais, de reagentes químicos e de amostras, resultando na diminuição do custo de fabricação do dispositivo e da quantidade de resíduos gerados. Para a fabricação dos dispositivos, foram utilizadas ponteiras de micropipetas, folhas de retroprojeto, seringas para insulina, fios de cobre utilizados em instalações elétricas residenciais, fios de prata e placas de platina reutilizados de eletrodos de vidro de pH e de células de condutância danificadas. Dessa forma, essa abordagem está diretamente alinhada aos Objetivos para o Desenvolvimento Sustentável da agenda 2030 estabelecidos pela Organização das Nações Unidas – ONU, pois além de minimizar os impactos ambientais associados à fabricação e utilização dos dispositivos eletroanalíticos, os custos dos dispositivos finais são significativamente menores, visto que a maioria dos materiais utilizados na construção dos sensores são reutilizados e/ou reciclados [3].

1.2 Sensores eletroquímicos – Evolução

A química eletroanalítica engloba um grupo de técnicas analíticas qualitativas e quantitativas baseadas nas propriedades elétricas de uma solução contendo o analito. Tais técnicas são muito atrativas por fornecerem respostas rápidas e com alta sensibilidade, combinadas com um custo instrumental relativamente baixo. Além disso, são compatíveis com soluções coloridas e suspensões, minimizando requisitos quanto aos procedimentos de preparo de amostras [4,5], características interessantes no desenvolvimento de métodos para análises rotineiras.

Dentre as técnicas eletroanalíticas disponíveis, as voltamétricas atualmente são as mais utilizadas para o estudo de muitos compostos nas mais diversas áreas da ciência [6]. Os primeiros experimentos voltamétricos foram realizados no início de 1920 por Jaroslav Heyrovsky, utilizando um sistema composto por um eletrodo gotejante de mercúrio (eletrodo de trabalho) e um eletrodo de calomelano saturado (eletrodo referência). Anos depois, um terceiro eletrodo foi adicionado neste sistema com a finalidade de solucionar algumas variações de potencial observadas no eletrodo de referência quando uma corrente fluía pela célula eletroquímica [7]. Desde então, sistemas eletroquímicos de três eletrodos são amplamente utilizados no desenvolvimento de métodos eletroanalíticos aplicados para o monitoramento ambiental, controle de qualidade de produtos, processos industriais e bioquímicos [5].

Apesar do bom desempenho do eletrodo gotejante de mercúrio, a alta toxicidade do mercúrio impulsionou a busca por novos materiais capazes de substituí-lo. Deste modo, a substituição do eletrodo gotejante por eletrodos sólidos com menor toxicidade que oferecessem resultados semelhantes ganhou destaque no campo da eletroanalítica. A partir disso, vários materiais vêm sendo empregados como eletrodos de trabalho, como materiais à base de carbono, platina, ouro, diamante dopado com boro, entre outros [1].

O desenvolvimento dos eletrodos quimicamente modificados trouxe um ganho expressivo na seletividade e sensibilidade dos métodos eletroanalíticos. De modo geral, a modificação tem como objetivo transferir para o eletrodo de trabalho as propriedades químicas do modificador, estabelecendo interações específicas entre eletrodo-analito, aumentando assim o desempenho do sensor [8,9]. A modificação do eletrodo também possibilitou a aplicação de sensores eletroquímicos em bioanálises, uma vez que a incorporação de moléculas com atividades biológicas específicas permitiu a determinação de analitos presentes em amostras biológicas, garantindo uma alta seletividade, precisão e exatidão, além de baixo custo quando comparado aos métodos oficiais para a análise de amostras biológicas [10].

Uma classe particularmente atrativa de eletrodo de trabalho, são os eletrodos de pasta de carbono (EPC), introduzidos por Ralph Adams em 1958 [8,11]. Os EPCs combinam

simplicidade e baixo custo, porém, a característica mais vantajosa deste eletrodo é a facilidade com que podem ser quimicamente modificados, bastando, para isso, adicionar o modificador à mistura pó de grafite com o aglutinante.

Também na década de 50, o aperfeiçoamento das técnicas voltamétricas devido ao desenvolvimento de instrumentos com tecnologia avançada interfaceados aos sistemas de controle operacional ultrarrápidos e com menor nível de ruído, resultou em um significativo ganho de detectabilidade para os métodos eletroanalíticos, permitindo níveis de detecção comparáveis a métodos analíticos desenvolvidos a partir de técnicas cromatográficas e espectroscópicas [5]. De modo geral, as técnicas eletroanalíticas têm sido amplamente empregadas no desenvolvimento de métodos analíticos, pois os recursos tecnológicos disponíveis têm permitido o melhoramento da instrumentação analítica, além da fabricação de novos sensores eletroquímicos com diferentes *designs* e materiais [12].

A introdução dos SPEs (SPE, do inglês “*screen-printed electrodes*”) marcou um grande avanço na eletroanalítica nos anos 90. A partir disso, eletrodos impressos começaram a ser fabricados em grande escala, com boa confiabilidade, reprodutibilidade, baixo custo, com desempenho similar ou superior ao de eletrodos sólidos convencionais e projetados para uso descartável [13,14]. A possibilidade de uso único chamou a atenção de muitos pesquisadores e a fabricação de sensores eletroquímicos descartáveis tornou-se, nos últimos anos, uma linha de pesquisa muito relevante no campo da eletroanalítica. Além disso, a fabricação de eletrodos em substratos planos permite a produção de dispositivos com variadas formas e tamanhos, facilitando a integração da detecção eletroquímica com outras plataformas de análise [15–17].

Outra linha de pesquisa da eletroquímica/eletroanalítica que também ganhou destaque após os anos 90 foi o desenvolvimento de dispositivos e células eletroquímicas miniaturizadas, os quais possibilitaram a realização de experimentos com baixos volumes de solução. Esse destaque é comprovado por um aumento considerável de publicações envolvendo eletrodos miniaturizados nos últimos 20 anos¹. Embora, tais publicações não se limitem a aplicações analíticas específicas, ainda assim, pode-se concluir que o desenvolvimento de dispositivos e plataformas eletroquímicas em tamanhos miniaturizados tem ganhado destaque dentro da comunidade científica, tornando, de fato, uma das grandes tendências de pesquisa.

¹Nota: Dados retirados da base do Web of Science, 2021.

1.3 Estratégias para a obtenção de dispositivos eletroanalíticos miniaturizados

O desenvolvimento de métodos analíticos ambientalmente mais seguros, ou seja, que não utilizem ou minimizem a quantidade de reagentes com alta toxicidade gerando poucos resíduos, tem sido cada vez mais almejado no ramo científico e industrial. Nesta perspectiva, a “*química verde*” surgiu com a proposta de minimizar a produção de resíduos a fim de reduzir o impacto da atividade química ao meio ambiente. Os princípios da química verde são divididos em três grandes categorias: I- O uso de fontes renováveis ou recicladas de matérias primas; II- aumento da eficiência de energia e III- evitar o uso de substâncias persistentes, bioacumulativas e tóxicas [18].

Como resultado dessa maior preocupação ambiental, a Organização das Nações Unidas – ONU, lançou um plano de ação global, chamado agenda 2030, com instruções para alcançar um mundo mais sustentável. Esta agenda reúne dezessete objetivos para o desenvolvimento sustentável envolvendo as áreas econômicas, ambientais e sociais no âmbito social [19].

A miniaturização de sistemas analíticos e procedimentos de pré-tratamento de amostras que utilizam microvolumes têm se tornado uma forte tendência dentro da química analítica, uma vez que contribui diretamente na redução de resíduos gerados, diminuindo o impacto ambiental causado pelo descarte desses produtos [20,21]. A mudança da escala macro para a escala micro permite, em muitos casos, o aumento do desempenho analítico, como a realização de etapas de pré-concentração em volume reduzido, e, ainda possibilita a realização de um maior número de etapas de análise em uma única plataforma. Além disso, a capacidade de portabilidade e a probabilidade de obtenção dos resultados mais rápidos são algumas das vantagens adicionais da miniaturização [17,20,22–24].

A tendência de miniaturização na química analítica deu-se início na década de 70 quando um cromatógrafo gasoso em tamanho reduzido foi desenvolvido [20]. Apesar deste sistema apresentar boa eficiência, a dificuldade de compreensão dos processos de separação e as limitações tecnológicas da época impediram o avanço neste campo da pesquisa. A busca por sistemas analíticos miniaturizados só ganhou destaque novamente depois de quase 20 anos, por meio de um cromatógrafo líquido construído em tamanho reduzido [20]. Desde então, sistemas analíticos e dispositivos miniaturizados têm sido amplamente desenvolvidos, e atualmente é uma forte tendência de pesquisa dentro da química analítica, além de ser uma estratégia para colaborar com desenvolvimento de métodos analíticos mais sustentáveis.

Diferentes tecnologias podem ser empregadas para a fabricação de dispositivos analíticos em tamanhos reduzidos. A litografia é o processo mais utilizado para a obtenção

destes sistemas. Nesta técnica, uma fonte energética é empregada para obtenção dos microcanais, como por exemplo a litografia por raios-X, litografia por feixe de elétrons ou a litografia com radiação ultravioleta [20]. Embora, tal técnica seja a mais utilizada para obtenção de sistemas analíticos miniaturizados, o alto custo, tanto instrumental quanto do material de consumo, limita a aplicação deste processo no desenvolvimento de novos dispositivos miniaturizados, principalmente, em laboratórios com poucos recursos financeiros.

Para superar este desafio, técnicas alternativas de microfabricação com custo relativamente menor têm sido desenvolvidas e empregadas para a fabricação de microssistemas de análise. A técnica de impressão por moldagem e impressão direta, são alternativas amplamente utilizadas e reproduzíveis para obtenção de sistemas miniaturizados de análise [20]. A impressão 3D é outra estratégia muito interessante para a construção de plataformas analíticas miniaturizadas mais robustas e com custo consideravelmente menor, em relação a outras técnicas de fabricação convencionais e, nos últimos anos, tem sido bastante explorada pela comunidade científica [25].

A detecção é um ponto importante para o desenvolvimento de plataformas miniaturizadas, sensíveis e economicamente viáveis. Nesta perspectiva, as técnicas eletroquímicas são técnicas de detecção atrativas para serem empregadas em sistemas miniaturizados, uma vez que é possível realizar análises utilizando volumes de amostras e reagentes na ordem de microlitros, sem o aumento do ruído e com limites de detecção/quantificação significativamente baixos [26–29]. Outra característica que contribui fortemente para a aplicação das técnicas eletroanalíticas em sistemas portáteis de análise é a possibilidade de construção do potenciostatos em tamanho miniaturizado, que podem ser operados por *laptops* e até por *smartphones* [30,31]. Nesta perspectiva, Barragan e Kubota [32] desenvolveram um minipotenciostato em uma placa Arduino, controlado através de um smartphone via *Bluetooth wireless*. Potenciostatos miniaturizados também são disponíveis comercialmente, os quais podem ser alimentados por uma bateria como fonte de energia externa ou conectados diretamente a um *laptop*, contribuindo para que a eletroanalítica se torne uma via promissora para o desenvolvimento de sistemas analíticos mais robustos, rápidos, simples de operar e potencialmente portáteis [33].

Várias abordagens para alcançar a miniaturização de sensores eletroquímicos são descritas na literatura [34–36]. A escolha do material do sensor e *design* do sistema miniaturizado depende diretamente da aplicação destinada e, principalmente, da tecnologia disponível para a fabricação. A fabricação de microeletrodos é uma das estratégias mais consolidadas para a obtenção de sensores eletroquímicos com alto grau de miniaturização, os

quais são capazes de realizar medidas em ambientes microscópicos, tais como sistemas biológicos, células únicas e em tecidos intactos [37]. Além de realizar análises em pequenos volumes, a melhora na razão sinal/ruído ocasionada pelas medidas em estado estacionário, o aumento do transporte de massa relacionado a difusão radial e a possibilidade de análises na ausência de eletrólitos de suporte devido à baixa queda ôhmica, são vantagens atrativas oferecidas pelos microeletrodos [4]. Diferentes materiais são empregados para obtenção destes dispositivos, entre eles destacam-se fibras de carbono e metais, como por exemplo ouro, cobre e platina [37].

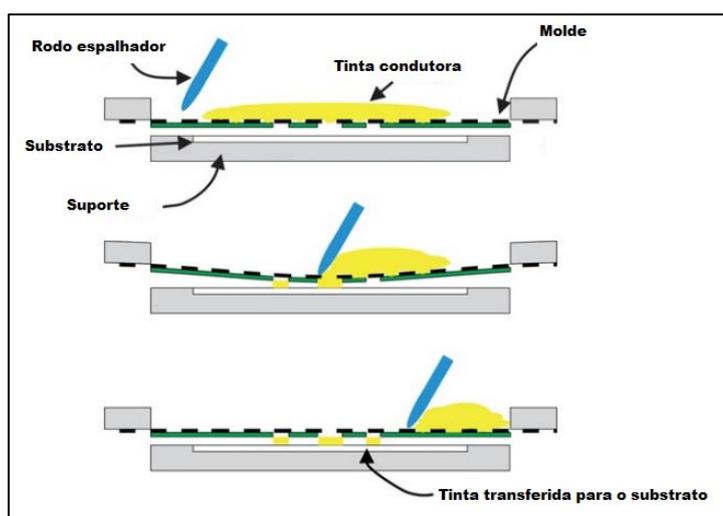
Apesar das vantagens dos microeletrodos, a fabricação destes dispositivos normalmente depende de tecnologias altamente sofisticadas que normalmente são obtidas com instrumentos de custo elevado [29]. Além disso, a dificuldade de manusear sensores com dimensões micrométricas dificulta a aplicação em análises rotineiras. Em alguns casos, as dimensões dos eletrodos são tão pequenas ($\leq 25 \mu\text{m}$) que, para auxiliar no manuseio e permitir que análises em ambientes microscópicos sejam realizadas, são necessários equipamentos de alta complexidade [38]. Por esses motivos, a aplicação desses microsensores é dificultada na maioria dos laboratórios de pesquisa do país, os quais apresentam poucos recursos financeiros e infraestrutura limitada. Por isso, a discussão deste trabalho será restrita a metodologias e estratégias de miniaturização de sistemas eletroquímicos envolvendo técnicas simples e economicamente mais viáveis que utilizem, preferencialmente, materiais de fácil acesso.

1.3.1 Eletrodos impressos

A tecnologia “*screen-printing*” é, atualmente, a técnica mais consolidada para o preparo de sensores/biossensores impressos descartáveis, portáteis e que requeiram baixos volumes de amostra [14]. Esta técnica consiste, basicamente, em espalhar uma tinta condutora sobre um suporte inerte de forma uniforme e homogênea. A geometria e as dimensões dos eletrodos são definidas a partir moldes, telas e/ou máscaras adesivas, as quais delimitam a área de aplicação da parte condutora. Normalmente, no final desse processo, um material isolante é utilizado para definir a área de trabalho dos eletrodos e o contato elétrico [39]. Devido a facilidade de fabricação destes dispositivos, diferentes formatos podem ser obtidos permitindo que os três eletrodos sejam projetados em uma única plataforma. A Figura 1 apresenta uma representação esquemática de fabricação de um eletrodo *screen-printed*. Os sensores de glicose, um dos primeiros SPEs disponíveis comercialmente aplicados para medir os níveis de glicose a partir

de uma gota de sangue, é uma comprovação do sucesso da técnica de *screen printing* para a produção de sensores comerciais. Atualmente, a indústria desses dispositivos movimentava bilhões de dólares por ano no mercado econômico global, mostrando que esta técnica foi importante tanto no desenvolvimento de sensores que permitiram análises rápidas quanto para o desenvolvimento econômico [14].

Figura 1 - Representação esquemática do processo de fabricação de um dispositivo *screen-printed*. Reproduzido de (Mettters *et al.* 2011) com permissão. Copyright© 2011 Royal Society of Chemistry.



Além da técnica utilizada para a fabricação dos SPEs, a escolha do substrato é extremamente importante e pode influenciar diretamente nas propriedades mecânicas e eletroquímicas dos sensores. A cerâmica e o PVC são frequentemente utilizados como substratos na produção de eletrodos impressos devido às suas propriedades, tais como: inércia química, elevada resistência mecânica e alta resistência térmica, sendo esta última relevante quando são necessárias altas temperaturas para o processo de cura da tinta condutora [40,41]. Entretanto, nos últimos anos, observa-se uma crescente busca por novos substratos mais acessíveis para a fabricação de SPEs descartáveis.

O papel apresenta algumas características inerentes que justificam a sua utilização no preparo destes sensores. Entre elas, destacam-se, o baixo custo e a facilidade de aquisição, além de ser biodegradável, biocompatível e reciclável. Em 2009, Dungchai *et al* [42] introduziram o primeiro SPE produzido com substrato de papel e aplicado na determinação de glicose, lactato e ácido úrico. O papel mostrou-se promissor para a construção de dispositivos eletroquímicos impressos e miniaturizados, uma vez que excelentes resultados foram obtidos empregando alguns microlitros de solução e de amostra. Desde então, SPEs a base de papel têm sido

aplicados para diferentes fins, desde o controle ambiental e alimentício, até análises de interesse biológico [43].

Embora muitas vantagens sejam oferecidas pelo papel, a baixa resistência mecânica e a infiltração do eletrólito de suporte por ação capilar são algumas limitações apresentadas por este substrato [14]. A infiltração do eletrólito de suporte pode interferir significativamente na repetitividade das respostas eletroquímicas, uma vez que a área eletroativa do dispositivo pode ser alterada durante as medidas [44]. A fim de contornar tais limitações e obter dispositivos impressos mais robustos, os substratos plásticos têm se mostrado uma excelente alternativa. A biocompatibilidade, flexibilidade, hidrofobicidade, transparência e leveza apresentada por esses substratos são propriedades atrativas para a produção dos SPEs [45].

O poliéster é um material plástico amplamente utilizado na construção de plataformas de eletrodos impressos descartáveis [46–48]. Neste sentido, as folhas de transparências utilizadas em retroprojeto, um produto plástico composto por um filme de álcool polivinílico poliéster com espessura de aproximadamente 100 μm e adquiridas por um custo baixo, [49], têm sido bastante empregadas no desenvolvimento de SPEs.

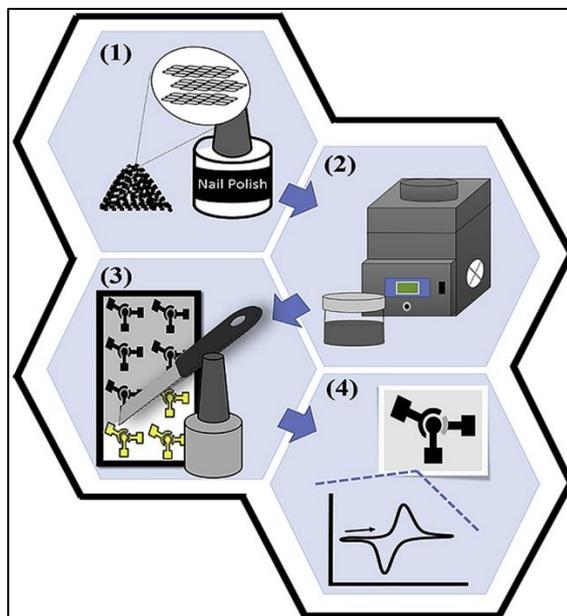
Martin-Yerga *et al.* [50] compararam o desempenho analítico de vários eletrodos impressos fabricados a partir de diferentes substratos: folhas de transparências, papel cromatográfico, papel vegetal e papel sulfite. Os resultados obtidos demonstraram que as folhas de transparência produziram os dispositivos mais robustos e com melhor desempenho para a quantificação de Pb e Cd em águas de rio, em relação aos outros substratos estudados. Os autores ainda relataram que os SPEs fabricados com papel sulfite apresentaram baixa resistência mecânica em medidas eletroquímicas que envolvam processos de redissolução. Em outro trabalho [51], sensores impressos construídos a partir de folhas de transparências para retroprojeto foram aplicados no desenvolvimento de um sistema miniaturizado para a determinação de biomarcadores de bactérias relacionadas à contaminação fecal em águas. Outras aplicações dos SPEs preparados com substratos plásticos incluem a determinação de biomarcadores de doenças cardiovasculares [52], quantificação de Co e Ni em aerossóis [53] e a quantificação de citrato de sildenafil em medicamentos [54].

Além do substrato interferir significativamente nas propriedades eletroquímicas do SPE, a fase condutora empregada pode afetar consideravelmente o desempenho analítico do SPE fabricado. As tintas condutoras utilizadas na fabricação de dispositivos impressos são compostas por materiais condutores, agentes aglutinantes responsáveis por agregar as partículas condutoras e um solvente capaz de suspender o material condutor e o aglutinante, conferindo à tinta a viscosidade necessária para aplicação sobre o substrato selecionado [55]. As tintas

condutoras comerciais são amplamente utilizadas na fabricação dos dispositivos impressos [56]. Apesar da alta eficiência dessas tintas, incluindo alta condutividade e boa estabilidade química, o custo de aquisição relativamente alto é uma limitação para o desenvolvimento de dispositivos impressos de baixo custo e descartáveis [57]. Assim, a comunidade científica, incluindo nosso grupo de pesquisa, tem realizado esforços a fim de produzir tintas condutoras mais acessíveis, com boa condutividade e fácil preparo, contribuindo significativamente para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos descartáveis de baixo custo.

Diversos materiais alternativos para o preparo das tintas condutoras têm sido propostos na literatura, entre eles destacam-se o grafite [58], resinas alquídicas [59], esmalte incolor para unha [60] e verniz automotivo [61]. Nesta perspectiva, Pradela-Filho *et al.* [58] desenvolveram uma tinta condutora utilizando pó de grafite como material condutor e esmalte incolor de unha como aglutinante. Estes materiais foram misturados, suspensos em uma pequena quantidade de acetona e depositados sobre um substrato de papel. Os eletrodos impressos descartáveis apresentaram boa estabilidade química em diferentes eletrólitos de suporte. O desempenho analítico desses dispositivos foi avaliado a partir da curva de calibração para dopamina, substância frequentemente utilizada como analito modelo. Este trabalho demonstrou que a tinta condutora produzida de forma mais econômica que tintas comerciais, permitiu a fabricação de eletrodos impressos com resultados comparáveis a eletrodos convencionais. Em outro trabalho [59], uma resina alquídica empregada em artesanatos foi utilizada como aglutinante alternativo no preparo de uma tinta condutora. Os sensores miniaturizados foram preparados e aplicados na determinação eletroquímica em microvolumes de estriol em água e formulações farmacêuticas. Além do baixo custo dos materiais e da simplicidade de preparo, as tintas condutoras alternativas têm se mostrado uma estratégia promissora para fabricação de SPE. A representação esquemática de um método empregado para a obtenção da tinta condutora preparada com materiais alternativos e a fabricação de um sensor a partir deste material é apresentada na Figura 2.

Figura 2 - Representação esquemática do processo de obtenção de uma tinta condutora preparada com materiais alternativos e da fabricação de um dispositivo screen-printed a partir deste material. 1) Dispersão do pó de grafite no esmalte; 2) dispersão misturada em uma centrífuga SpeedMixer; 3) Aplicação da tinta condutora sobre o substrato contendo os moldes e 4) dispositivo preparado e pronto para uso. Reproduzido de (Camargo *et al.* 2020) com permissão. Copyright© 2020 ELSEVIER BV.



Como abordado nesta seção, os sensores eletroquímicos impressos preparados com materiais alternativos têm apresentado resultados satisfatórios no desenvolvimento de métodos analíticos aplicados na quantificação de diferentes analitos. Além disso, a maioria dos SPEs aqui mencionados permitem que análises utilizando microvolumes de solução/amostra sejam realizadas com precisão e exatidão comparáveis aos sistemas convencionais, os quais empregam maiores volumes de solução.

1.3.2 Dispositivos eletroanalíticos miniaturizados baseados em ponteiros de micropipetas

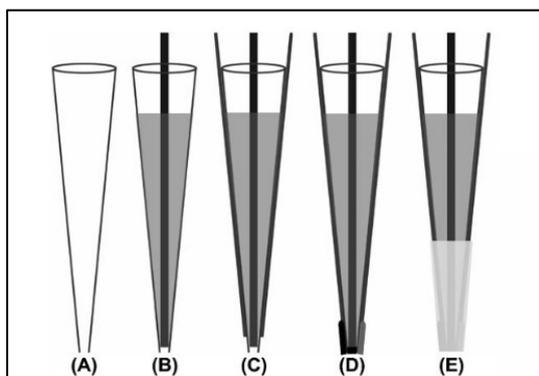
Os SPEs constituem uma abordagem bem estabelecida para o desenvolvimento de dispositivos eletroanalíticos integrados, os quais permitem análises em microvolumes de solução, ampliando assim a possibilidade de portabilidade. Entretanto, na maioria das vezes, eletrodos impressos são projetados para uso único, o que contribui com o aumento da geração de resíduos, mesmo que em pequena escala [28]. Em contrapartida, dispositivos eletroquímicos integrados não descartáveis e de baixo custo que permitam análises em microvolumes com desempenho analítico semelhante aos SPEs é uma estratégia atrativa para desenvolver métodos

eletroanalíticos com possibilidades de portabilidade, e tem sido assunto de alguns trabalhos publicados recentemente [28].

As ponteiros de micropipetas apresentam grande versatilidade e são interessantes para a fabricação de dispositivos eletroanalíticos integrados não descartáveis, miniaturizados e de baixo custo [29]. Em 1991, Fernandez *et al.* [62] empregaram, pela primeira vez, as ponteiros de micropipetas como plataforma para microeletrodos. Os dispositivos fabricados apresentaram resultados compatíveis com microeletrodos produzidos com materiais e técnicas de alto custo.

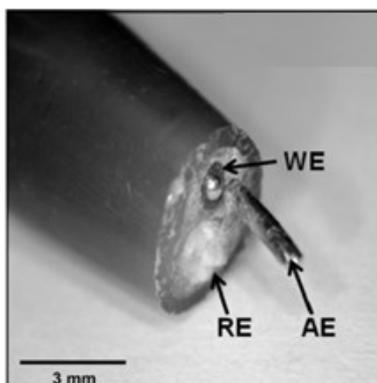
Apesar da possibilidade de utilização de ponteiros de micropipetas para a fabricação de eletrodos de trabalho em tamanhos diminuídos [63,64], as medidas eletroquímicas só passaram ser realizadas em microvolumes de solução quando os eletrodos de referência e auxiliar foram acoplados às ponteiros, surgindo os primeiros dispositivos eletroquímicos integrados construídos a partir de ponteiros de micropipetas [65]. Desde então, as ponteiros de micropipetas têm sido empregadas tanto como plataforma de eletrodos na construção de dispositivos eletroquímicos [66–68], quanto como recipientes para microvolumes de eletrólito de suporte durante as medidas eletroquímicas [36]. Silva *et al.* [65] utilizaram uma ponteira de micropipeta como célula eletroquímica para análises em microvolumes (10 microlitros) empregando um dispositivo eletroquímico miniaturizado também fabricado com materiais alternativos. Neste trabalho, o compósito foi introduzido na ponteira e os eletrodos de referência e auxiliar foram posicionados em lados opostos na parte externa da mesma ponteira, Figura 3. O dispositivo integrado foi avaliado em modo estático, utilizando baixos volumes de eletrólito de suporte, e hidrodinâmico como detector de sistema FIA (do inglês “*flow injection analysis*”).

Figura 3 - Representação esquemática do processo de fabricação do dispositivo miniaturizado utilizando ponteiros de micropipetas como suporte. A) Ponteira de micropipeta; B) Inserção do fio de cobre empregado como contato elétrico do eletrodo de trabalho; C) Fixação de dois fios de cobre no lado externo da ponteira utilizados como contatos elétricos dos eletrodos de referência e auxiliar; D) Compósito de grafite inserido na ponteira (eletrodo de trabalho), composto de grafite colocado sobre um fio de cobre de um lado externo e composto de prata posicionado sobre o outro fio de cobre (eletrodo de referência); E) Dispositivo pronto para uso. Reproduzido de (Silva *et al.* 2010) com permissão. Copyright© 2010 WILEY - V C H VERLAG GMBH & CO. KGAA.



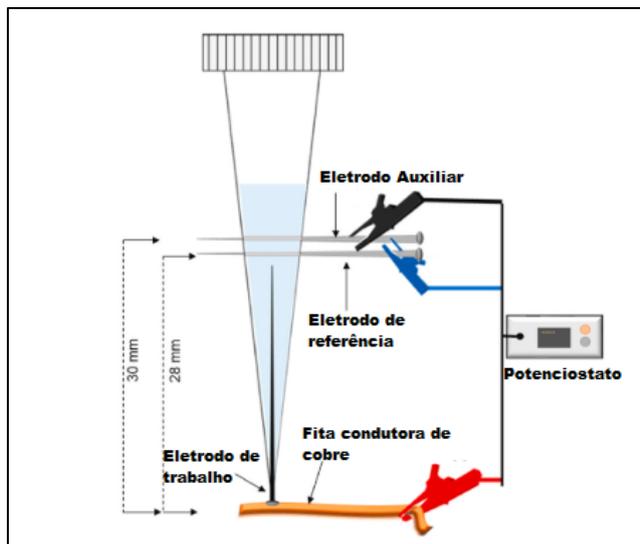
A fim de manter o baixo custo dos dispositivos integrados, sistemas eletroquímicos miniaturizados baseados em ponteiros de micropipetas têm sido desenvolvidos com eletrodos mais baratos, de maior dimensão do que os microeletrodos e fácil aquisição, facilitando consideravelmente o processo de fabricação e o manuseio dos dispositivos. Nesta perspectiva, Hajkova e colaboradores [69] desenvolveram um sistema eletroquímico miniaturizado baseado em ponteiros de micropipetas. Neste trabalho, os eletrodos de trabalho (amalgama), referência ($\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$) e auxiliar (platina), foram introduzidos na ponteira e isolados com auxílio de resina epóxi, Figura 4. Sequencialmente, uma solução saturada de KCl foi adicionada ao interior da ponteira para garantir o potencial constante do eletrodo de referência. Essa foi uma das grandes vantagens apresentadas nesse trabalho, uma vez que a maioria dos sensores integrados baseados em ponteiros utilizam eletrodos pseudo-referência em sua fabricação. O sistema eletroquímico miniaturizado apresentou excelente desempenho analítico para a determinação de contaminantes ambientais derivados de hidrocarbonetos policíclicos que apresentam efeitos genotóxicos.

Figura 4 - Imagem do sistema miniaturizado: WE) Eletrodo de trabalho; RE) eletrodo de referência e AE) eletrodo auxiliar. Reproduzido de (Hájková *et al.* 2016) com permissão. Copyright© 2016 ELSEVIER S.A.



A miniaturização de sistemas eletroquímicos integrados baseados em ponteiros de micropipetas também foi utilizada por González-López *et al.* [67]. Neste trabalho, os autores empregaram a ponteira de micropipeta tanto como plataforma para os eletrodos quanto para compartimento para eletrólito o suporte/amostra. Para a montagem do sistema, pinos de aço inoxidável com 0.59 mm de diâmetro foram introduzidos na ponteira em posições diferentes, dois deles na transversal (eletrodo pseudo-referência e auxiliar) e o outro (eletrodo de trabalho previamente modificado com uma tinta condutora de carbono) verticalmente na ponta da ponteira, Figura 5. As medidas eletroquímicas foram diretamente realizadas em baixos volumes de amostras (μL). A excelente reprodutibilidade dos dispositivos foi obtida por meio da construção independente de cinco sistemas, sendo o desvio padrão relativo menor que 7% para a corrente de pico catódica de azul de metileno. Por fim, os dispositivos construídos foram empregados na determinação de um surfactante aniônico, dodecil sulfato de sódio, em amostras de água através da interação do surfactante com o corante azul de metileno.

Figura 5 - Imagem de um sistema eletroquímico baseado em ponteira de micropipeta. Reproduzido de (González-López *et al.* 2021) com permissão. Copyright© 2021 ELSEVIER B.V.



Nosso grupo de pesquisa também tem trabalhado no desenvolvimento de dispositivos eletroquímicos miniaturizados baseados em ponteiros de micropipetas [70]. Para manter o baixo custo, facilitar a fabricação e manuseio do sensor, fios metálicos com 0,5 mm de diâmetro reutilizados de eletrodos de vidro danificados, foram empregados como eletrodos de trabalho, auxiliar e pseudo-referência. Para montagem do dispositivo, o eletrodo de trabalho foi inserido na ponteira e fixado em sua extremidade através de aquecimento, os eletrodos auxiliar e pseudo-referência foram posicionados em lados opostos na parte externa da ponteira com auxílio de uma fita de teflon. Outra ponteira com capacidade de 500 μL foi empregada como recipiente para eletrólito suporte. O sistema eletroquímico miniaturizado produzido com materiais alternativos foi avaliado usando o íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ como sonda eletroquímica e forneceu resultados similares a resultados obtidos com células eletroquímicas convencionais. Este resultado demonstrou que o dispositivo produzido tem potencialidade para aplicações analíticas empregando microvolumes de solução.

Estudos recentes têm demonstrado que ponteiros de micropipetas podem ser plataformas para a construção de sistemas eletroquímicos totais de análises, nesta condição chamados de “*Lab-on-a-tip*”. Esses sistemas têm como proposta a integração de etapas que normalmente são desenvolvidas em laboratórios, como pré-tratamento de amostras, reações químicas, separações analíticas e detecção [71]. Diante disso, pode-se considerar que as ponteiros de micropipetas são uma alternativa para o desenvolvimento de dispositivos analíticos robustos com possibilidade de portabilidade [67,72].

De modo análogo as ponteiras de micropipetas, as seringas de insulina também podem ser empregadas como suporte para a construção de dispositivos eletroanalíticos [73–75]. Da mesma maneira que as ponteiras de micropipetas começaram a ser utilizadas em 1990 por Fernandez *et al.* [76], atualmente as seringas são geralmente utilizadas como suporte apenas para o eletrodo de trabalho, sendo necessário o emprego de eletrodos auxiliar e referência montados em plataformas separadas, dificultando análises em microvolumes de solução. Considerando a fácil aquisição e o baixo custo das seringas de insulina, estes materiais apresentam potencialidade para serem empregados como suporte/plataforma na construção de dispositivos eletroanalíticos integrados.

1.4 Dispositivos eletroanalíticos miniaturizados acoplados a etapas de preparo de amostras

O preparo de amostra é uma das etapas mais importantes no processo de identificação e quantificação das espécies envolvidas. É nesta etapa em que ocorre o isolamento/concentração do analito, diminuindo assim, os interferentes presentes na matriz da amostra. Além da natureza da matriz, os procedimentos adotados para o preparo de amostras são dependentes da técnica analítica empregada para a detecção do analito [77].

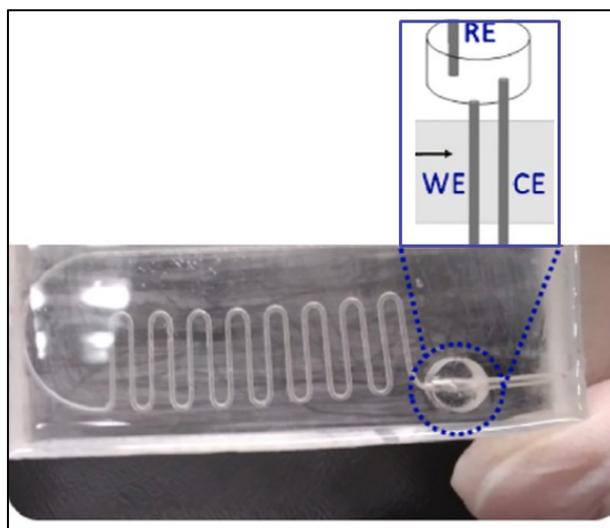
Neste sentido, a eletroquímica pode facilitar o processo de detecção do analito em um método, uma vez que possibilita menos manipulação da amostra (compatível com soluções coloridas e suspensões), minimizando o número de etapas envolvidas no método e, conseqüentemente, as fontes de erros atreladas a ele. Além disso, as técnicas eletroquímicas de análise podem ser automatizadas, utilizando sistemas de montagem simples e com baixo custo [78]. Alguns trabalhos apresentados na literatura têm desenvolvido métodos analíticos envolvendo procedimentos de preparo de amostras e detecção eletroquímica. Entre as diferentes etapas de preparo de amostra empregadas pode-se destacar a microextração [79], pré-concentração [80], extração líquido-líquido [81]; extração em fase sólida [82].

A detecção eletroquímica integrada a microextração líquido-líquido foi proposta por Rosa *et al.* [80]. Neste trabalho, os autores desenvolveram uma célula eletroquímica que possibilitou realizar, em um mesmo ambiente, a microextração líquido-líquido (com menos etapas que a microextração líquido-líquido convencional), pré-concentração e a detecção *in situ* de norfloxacin. O método analítico proposto permitiu detectar norfloxacin em água com

níveis de concentração na ordem de 10^{-9} mol L⁻¹ com porcentagens de recuperação próximas a 100 %.

Os dispositivos eletroquímicos miniaturizados acoplados a etapas de tratamento de amostras podem trazer vantagens adicionais ao método analítico. Além da redução do consumo de reagentes/amostras e minimização na geração de resíduos, a detectabilidade pode ser consideravelmente melhorada, visto que o fator de diluição do analito no eletrólito de suporte é reduzido. Os sistemas microfluídicos com detecção eletroquímica contemplam bem esses benefícios, pois são compatíveis com baixos volumes de amostra e com a integração de etapas de tratamento de amostra, como por exemplo procedimentos de separação. Maximiano *et al.* [83] desenvolveram uma plataforma microfluídica acoplando etapa de separação e detecção eletroquímica, Figura 6. Como prova de conceito, a plataforma foi utilizada para separar e determinar ácido salicílico e cafeína. A separação ocorreu em um microcanal de PDMS previamente tratado e a detecção foi realizada pela técnica de amperometria. O desempenho analítico da plataforma microfluídica proposta para a detecção de ácido salicílico e cafeína foi comparada ao da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, umas das técnicas mais robustas para separação e detecção de compostos orgânicos. Os resultados demonstraram que o sistema desenvolvido tem desempenho comparável ao método cromatográfico, com a vantagem da redução significativa no consumo de reagentes e de amostras.

Figura 6 - Imagem de uma plataforma microfluídica integrada a detecção eletroquímica. Reproduzido de (Maximiano *et al.* 2021) com permissão. Copyright© 2021 ELSEVIER B.V.

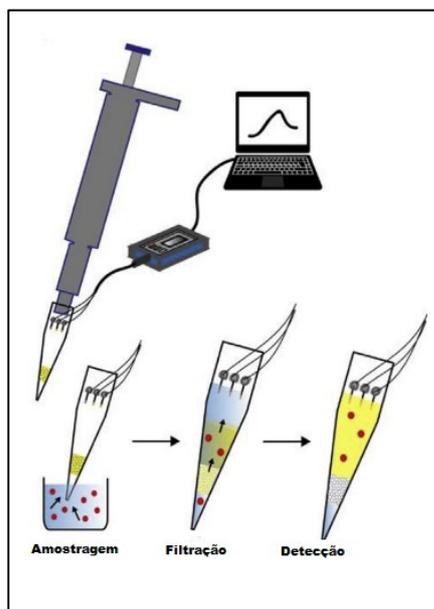


No campo da microfluídica, a eletroforese capilar também é uma técnica analítica que permite desenvolver métodos de separação com detecção eletroquímica de diferentes

compostos [84]. Embora bons resultados sejam alcançados a partir da microfluídica, normalmente esses sistemas são constituídos por vários componentes, como reservatórios, bombas, câmaras e canais microfluídicos, os quais contribuem para o aumento considerável do custo e complexidade de operação de todo método.

Dessa forma, desenvolver sistemas mais simples e robustos nos quais procedimentos de tratamento de amostras e detecção aconteçam de modo integrado, empregando baixo volume de amostra é interessante do ponto de vista prático. Neste sentido, Cinti e colaboradores [72] propuseram um sistema de análise totalmente integrado, denominado *Lab-on-a-tip*, para detecção de cobre em amostras de água de rio. A plataforma foi construída com materiais economicamente mais viáveis, tais como: ponteira de micropipeta, algodão e fios metálicos, Figura 7. Neste sistema, o algodão teve como função filtrar a amostra e armazenar os reagentes necessários para análise, os fios de ouro foram empregados como eletrodos de trabalho e referência, e um fio de aço inoxidável como eletrodo auxiliar, a detecção foi realizada diretamente na ponteira de micropipeta. O método analítico robusto, simples e de baixo custo, apresentou resultados promissores com limites de detecção e quantificação na ordem de partes por bilhão e com porcentagens de recuperação próximas a 100%.

Figura 7 - Representação esquemática de um sistema *Lab-on-a-tip*. Reproduzido de (Cinti *et al.* 2018) com permissão. Copyright© 2018 ELSEVIER B.V.



Martins *et al.* [85] combinaram um dispositivo eletroanalítico a base de papel com uma etapa de preparo de amostra, microextração por difusão de gás, para a determinação voltamétrica de sulfito em amostras de bebidas. Neste método, o sulfito foi convertido a SO_2

gasoso a partir da acidificação das amostras. O gás formado foi coletado em solução tampão acetato, a qual foi sequencialmente analisada empregando o dispositivo eletroanalítico desenvolvido. Para todas as medidas eletroquímicas foram necessários apenas 80 μL da solução coletora. O método analítico desenvolvido combinando detecção eletroquímica e extração gasosa apresentou resultados semelhantes aos resultados obtidos com método oficial, baseado na titulação iodométrica, para determinação de agentes sulfitantes. Dessa maneira, o sistema proposto de baixo custo, simples com menor número de etapas mostrou-se promissor para ser utilizado na determinação de sulfito em amostras de bebidas. Portanto, o desenvolvimento de sistemas eletroquímicos miniaturizados acoplados a etapas de preparo de amostra é uma alternativa interessante para permitir a popularização e aplicação prática da eletroanalítica.

Diante de toda a revisão bibliográfica apresentada, nota-se que o desenvolvimento de dispositivos eletroanalíticos miniaturizados com materiais alternativos é uma estratégia promissora para promover análises eletroquímicas em ambientes diferentes de laboratórios acadêmicos. Além disso, essa abordagem contempla os princípios da “*química verde*” e os objetivos para o desenvolvimento sustentável definidos pela ONU, uma vez que a maioria dos materiais utilizados foram reutilizados. Dessa forma, o trabalho dessa tese não se limitou a apresentar os dispositivos eletroanalíticos miniaturizados desenvolvidos. Além de demonstrar que construção manual empregando materiais alternativos amplamente disponíveis em qualquer laboratório de pesquisa permite a fabricação de sistemas eletroquímicos miniaturizados, os quais podem ser aplicados em análises com microvolumes de solução. Essa tese buscou também apresentar a versatilidade desses sistemas, a partir da integração com etapas de preparo de amostras e modificações da superfície eletródica, para determinação de analitos de interesse alimentício

2- OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como principal objetivo fabricar, otimizar e aplicar dispositivos eletroanalíticos integrados e miniaturizados construídos com materiais alternativos de baixo custo e fácil aquisição para análises em microvolumes de solução/amostra. Para atingir o objetivo geral proposto, alguns objetivos específicos foram estabelecidos:

- 1- Construir e avaliar a resposta eletroquímica dos dispositivos fabricados com materiais alternativos;
- 2- Avaliar a versatilidade dos sistemas miniaturizados desenvolvidos: modificação da superfície eletródica, possibilidade de detecção em modo estático e hidrodinâmico, integração com etapas de preparo de amostra;
- 3- Avaliar as potencialidades analíticas dos dispositivos na determinação de analitos de interesse alimentício.

3- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de pureza analítica e utilizados como recebidos. As soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura (ASTM tipo I, resistividade $\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$), obtida com um ultrapurificador da marca Megapurity[®]. O pó de grafite (Fisher Chemical[™], New Jersey, USA), esmalte incolor de unha (Base Brilho Cuidados, Cora[®], São Paulo, Brazil) foram utilizados para fabricação da tinta condutora. Zeína adquirida da Sigma-Aldrich[®] (São Paulo, Brasil) foi utilizada no preparo das suspensões de nanotubos de carbono.

Diferentes tamanhos de MWCNT (Sigma-Aldrich[®], Milwaukee, WI, USA) foram utilizados para modificação dos eletrodos: menor diâmetro ($D \times L 6 - 9 \text{ nm} \times 5 \text{ }\mu\text{m}$, >95%) e outro com diâmetro maior ($D \times L 100 - 170 \text{ nm} \times 5 - 9 \text{ }\mu\text{m}$, >95%), nomeados como SD-MWCNT e LD-MWCNT, respectivamente.

Cloreto de potássio (Vetec[®], Rio de Janeiro, Brasil) e ferrocianeto de potássio foram empregados para caracterização eletroquímica dos eletrodos. Ácido perclórico (70% v/v) adquirido da Isofar[®] (Rio de Janeiro, Brasil) foi utilizado para preparar o eletrólito de suporte empregado na determinação de ácido cafeico (Sigma-Aldrich[®], São Paulo, Brasil) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ, 98 % Acros, New Jersey, USA). Etanol absoluto (Vetec[®], Rio de Janeiro, Brasil) foi utilizado nos estudos voltamétricos em meio orgânico e para preparar as soluções padrão de ácido cafeico (Sigma-Aldrich[®], São Paulo, Brazil). Solução tampão Britton-Robson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada pela mistura de di-hidrogenofosfato de potássio, ácido bórico e ácido acético adquiridos da (Vetec[®], Rio de Janeiro, Brasil). Reagente Folin-Ciocalteu (Êxodo Scientific, Sumaré, Brasil) foi usado para determinação espectrofotométrica de ácido cafeico. Ácido ascórbico (Vetec[®], Rio de Janeiro, Brasil), dopamina (Sigma-Aldrich[®], São Paulo, Brasil) e peróxido de hidrogênio (Labsynth[®], São Paulo, Brasil) foram empregados como analitos modelo. Hidróxido de sódio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (Vetec[®], Rio de Janeiro, Brasil) foi utilizado como solução aceptora e eletrólito de suporte na determinação de sulfito. Ácido sulfúrico (Vetec[®], Rio de Janeiro, Brasil) $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi empregado como solução extratora de sulfito. As soluções padrão de sulfito foram preparadas com sulfito de sódio adquirido da Vetec[®], Rio de Janeiro, Brasil. Carbendazim (CBZ, 98%) foi adquirido da Sigma-Aldrich[®], São Paulo, Brasil.

Folhas de retroprojeto, ponteiros de micropipetas de polietileno, cola epóxi, lixa d'água, fios de cobre, seringas para insulina (1 mL), amostras de chá, suco de fruta e água de coco foram adquiridas no comércio local.

3.2 Instrumentação

Todas as medidas voltamétricas e amperométricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato μ AUTOLAB III (Eco Chemie, Utrecht, Netherlands). As medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica utilizadas para a caracterização dos eletrodos impressos foram efetuadas em um potenciostato AUTOLAB PGSTAT 204 (Metrohm Autolab, Utrecht, Netherlands) no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal – LEMUP, localizado na Universidade Federal de Uberlândia – Campus de Ituiutaba-MG. Ambos os equipamentos foram acoplados a um microcomputador e gerenciados pelo software NOVA 2.1. Para correção da linha de base de alguns voltamogramas obtidos a partir da voltametria de onda quadrada e pulso diferencial, a opção “*moving average*” foi selecionada.

A caracterização morfológica dos SPEs modificados foi realizada por imagens de microscopia eletrônica de varredura - MEV e de força atômica (AFM do inglês “*atomic force microscopy*”). As medidas de MEV foram obtidas com um microscópio eletrônico de varredura VEGA3-Tescan (Brno, Czech Republic) operado a 5 kV, localizado no laboratório de multiusuários do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia. Antes das análises de MEV, todos os materiais foram submetidos ao recobrimento com filme de ouro. As imagens de AFM foram realizadas empregando um microscópio de força atômica (Shimadzu AFM, Kyoto, Japan) operado em modo dinâmico sem contato com uma ponta de silício (BudgetSensors) com radio de curvatura < 10 nm, $k=40$ N m⁻¹, e frequência de 300 kHz, localizado no laboratório do curso de Física da Universidade Federal de Uberlândia.

A tinta condutora de carbono foi preparada com uma centrífuga dupla assimétrica SpeedMixer™ Dac 150.1 FVZ-K (FlackTec Inc, Landrum, USA). Para completa homogeneização da tinta, dois ciclos de repetição de 90 segundos com uma rotação de 3500 rpm foram realizados. Após o preparo, a tinta foi imediatamente depositada sobre as folhas de retroprojeto empregadas como substrato no preparo dos sensores.

Um pHmetro da marca Hanna Instruments (Woonsocket, USA) modelo HI 3221 conectado a um eletrodo de vidro foi usado para as medidas de pH.

As imagens digitais do dispositivo fabricado com ponteiros de micropipetas foram obtidas através de um microscópio digital USB modelo 1600 (Cooling Tech, China). As

medidas das dimensões nestas imagens foram efetuadas com software AxionVision® LE 4.8.2.0 (Carl Zeiss MicroImaging, Jena, Germany).

Para os estudos em modo hidrodinâmico uma bomba peristáltica (model MPV-500, Marte Scientific, São Paulo, Brasil) foi utilizada como propulsor do fluxo da solução carregadora. Tubos de politetrafluoroetileno (PTFE) com 1.0 mm de diâmetro interno (Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA) foram utilizados na montagem do sistema FIA e para integrar o sistema miniaturizado à extração por volatilização para a determinação de sulfito.

3.3 Funcionalização do MWCNTs

Os nanotubos de carbono utilizados neste trabalho foram funcionalizados seguindo a metodologia proposta por Cardoso *et al.* [86]. Para isso, 1 g de cada tipo de nanotubos foi tratado, separadamente, com 1 L de H₂SO₄/HNO₃ concentrados (3/1) (v/v) e então sonicados durante 3 h a 40 °C. Após essa etapa, os nanotubos funcionalizados foram resfriados até a temperatura ambiente e lentamente adicionados a 3 L de água ultrapura gelada, em seguida, foram filtrados a vácuo utilizando um papel filtro com poros de 0,05 µm. Finalmente, o filtrado foi lavado com água ultrapura até que o pH = 7 fosse obtido. Os nanotubos funcionalizados foram denominados como FSD-MWCNT e FLD-MWCNT, correspondendo aos nanotubos de menor e maior diâmetro, respectivamente.

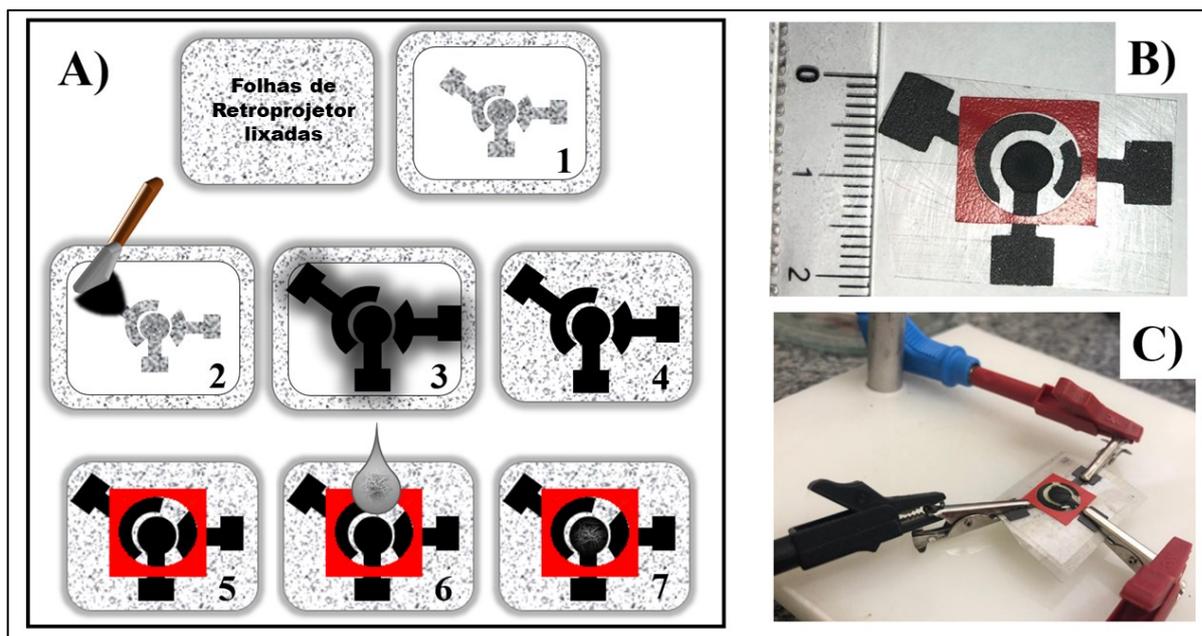
Para as modificações dos eletrodos, nanotubos funcionalizados e não funcionalizados foram suspensos em uma dispersão de zeína. A zeína é uma proteína prolamina encontrada em sementes de cereais, a sua característica de formar filmes estáveis resistentes a água tem se mostrado uma alternativa promissora no preparo de suspensões de nanotubos de carbono para a modificação de sensores eletroquímicos [87]. Para o preparo dessa dispersão, 0,03 g de zeína foram adicionados a 20 mL de etanol 70% (v/v), esta solução foi mantida em aquecimento na temperatura de 85 °C por 15 min. Após o resfriamento, essa mistura foi lentamente gotejada em 60 mL de água ultrapura sob vigorosa agitação, a dispersão final foi aquecida a 45 °C. Finalmente, os MWCNT funcionalizados e não funcionalizados foram suspensos em 1 mL da dispersão de zeína. A suspensão de concentração final 1 mg mL⁻¹ foi sonicada durante 60 min e gotejada na superfície dos eletrodos de trabalho.

3.3 Fabricação dos dispositivos miniaturizados

3.3.1 Dispositivo 1: Eletrodo impresso descartável baseado em folhas de retroprojektor e tinta condutora

Inicialmente, as folhas de retroprojektor foram lixadas, a fim de facilitar a adesão da tinta condutora e lavadas com etanol 70% para remoção de resíduos orgânicos e possíveis impurezas. Para definir o *design* dos eletrodos de trabalho, auxiliar e pseudo-referência, máscaras com formatos estabelecidos por Camargo e colaboradores [88], fabricadas utilizando papel adesivo (Colacril, Office CC185) e impressora de corte (Silhouette modelo Cameo 3, Belo Horizonte, Minas Gerais) foram cortadas e coladas sobre as folhas de retroprojektor (Figura 8-A1). A tinta condutora preparada pela mistura de 48 % de esmalte incolor para unhas e 52 % de pó de grafite (m/m) [60] foi aplicada com auxílio de uma espátula sobre as folhas de retroprojektor contendo as máscaras (Figura 8-A2 e A3), as quais foram imediatamente retiradas (Figura 8-A4). Por fim, os sensores produzidos foram secos durante 24 h em temperatura ambiente. A área geométrica dos eletrodos e o volume de solução utilizada para as análises foram definidas a partir de uma segunda máscara ($\varnothing = 1$ cm e 0,1 mm de espessura) fixada sobre o sensor (Figura 8-A5). A modificação da superfície do eletrodo de trabalho foi realizada pela adição de 20 μ L da suspensão de nanotubos de carbono (Figura 8-A6). O mesmo procedimento foi realizado com os quatro diferentes nanotubos empregados neste trabalho: LD-MWCNT (nanotubos de maior diâmetro não funcionalizado); FLD-MWCNT (nanotubos de maior diâmetro funcionalizado), SD-MWCNT (nanotubos de menor diâmetro não funcionalizado) e FSD-MWCNT (nanotubos de menor diâmetro funcionalizado). Por fim, os eletrodos impressos fabricados foram secos por 12 h em temperatura ambiente. Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas com 100 μ L de solução/amostra. As Figura 8B e Figura 8C apresentam as imagens do SPE e do SPE conectado ao potenciostato, respectivamente.

Figura 8 - Representação esquemática do processo de fabricação dos SPE/MWCNT: 1- colagem da máscara para deli; 2- aplicação da tinta condutora; 3- tinta condutora aplicada sobre o dispositivo; 4- Retirada da máscara delimitadora; 5- colagem do adesivo delimitador da área geométrica e do volume para análises; 6- modificação da superfície do eletrodo de trabalho; 7- dispositivo pronto. B) Imagem do SPE/MWCNT. C) Imagem do SPE/MWCNT conectado ao potenciostato.



3.3.1.1 Procedimento analítico e preparo das amostras de chás

As soluções estoque de ácido cafeico (AC) foram preparadas em etanol e diluídas em uma solução de HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, utilizado como eletrólito de suporte. As determinações voltamétricas de ácido cafeico foram realizadas empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *differential pulse voltammetry*) adotando os seguintes parâmetros: incremento de potencial = 2 mV , amplitude = 25 mV , tempo de pulso = 50 ms . O desempenho analítico dos sensores não modificados e modificados com nanotubos de carbono funcionalizados foi avaliado a partir da construção das curvas analíticas para o AC. Para isso, $100 \mu\text{L}$ das soluções padrão de ácido cafeico em diferentes concentrações foram adicionadas na superfície do SPE e as medidas voltamétricas foram rapidamente registradas. A resposta voltamétrica de alguns possíveis interferentes foi estudada: ácido úrico, ácido ascórbico, glucose e sulfito. Para isso, foram preparadas e analisadas soluções padrão de ácido cafeico na concentração de $3 \mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de três diferentes proporções de cada interferente: 1/1; 1/5 e 1/10.

A concentração de ácido cafeico foi determinada em três amostras de chá: branco, mate e erva-doce; todas adquiridas em supermercado local na cidade de Ituiutaba – MG. O procedimento de infusão de chá foi adaptado de David *et al* [89]. Inicialmente, 1 g de folhas de chá foi infundido em 25 mL de água ultrapura fervente por 20 min . Após resfriar, a mistura foi filtrada com um papel de filtro qualitativo e o extrato foi transferido para um balão de 50 mL .

As amostras foram diluídas, separadamente, em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 de acordo com a quantidade de ácido cafeico presente em cada uma, assim os seguintes volumes foram estabelecidos: $5 \text{ }\mu\text{L}$ chá branco, $50 \text{ }\mu\text{L}$ chá de erva-doce e $10 \text{ }\mu\text{L}$ chá mate, para um volume final de 5 mL . Sequencialmente, $100 \text{ }\mu\text{L}$ da solução final das amostras foram gotejadas na superfície do SPE/FLD-MWCNT e analisadas pelo método proposto. As concentrações de AC e de compostos polifenólicos totais (TPC, do inglês *total polyphenolic content*) presentes nas amostras de chá foram calculadas usando curvas analíticas e a exatidão foi avaliada por meio de estudos de adição e recuperação.

O método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu (FC) foi empregado como método comparativo para determinar a TPC presente nas amostras de chá, conforme proposto por David *et al.* [89]. Este método baseia-se na redução do reagente de FC, constituído de ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico, que inicialmente tem coloração amarelada. Em meio básico os polifenóis são dissociados formando um ânion fenolato capaz de reduzir os ácidos de molibdênio e tungstênio, resultando em solução com coloração azulada. Assim, a partir da mudança de coloração deste reagente é possível determinar a quantidade de compostos polifenólicos totais [90]. A solução de FC utilizada nos experimentos foi preparada diluindo o reagente comercial de FC em água ultrapura na proporção 1/10 (v/v). A curva analítica do método FC foi construída utilizando AC como padrão, e as quantidades de TPC presentes na amostra foram expressas em mg de AC g^{-1} de chá. As soluções padrão foram preparadas nas concentrações $10, 20, 30, 40$ e $50 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ de AC. A mistura reacional do método FC foi preparada da seguinte forma: $2,5 \text{ mL}$ da solução do reagente FC foram misturados as soluções padrão/amostra, em seguida, acrescentaram-se 2 mL de carbonato de sódio ($7,8\% \text{ m/v}$) e o volume final de 5 mL foi completado com água ultrapura. Essa mistura foi deixada em repouso ao abrigo da luz durante 60 min e foram sequencialmente analisadas por espectrofotometria de absorção UV/vis em 760 nm .

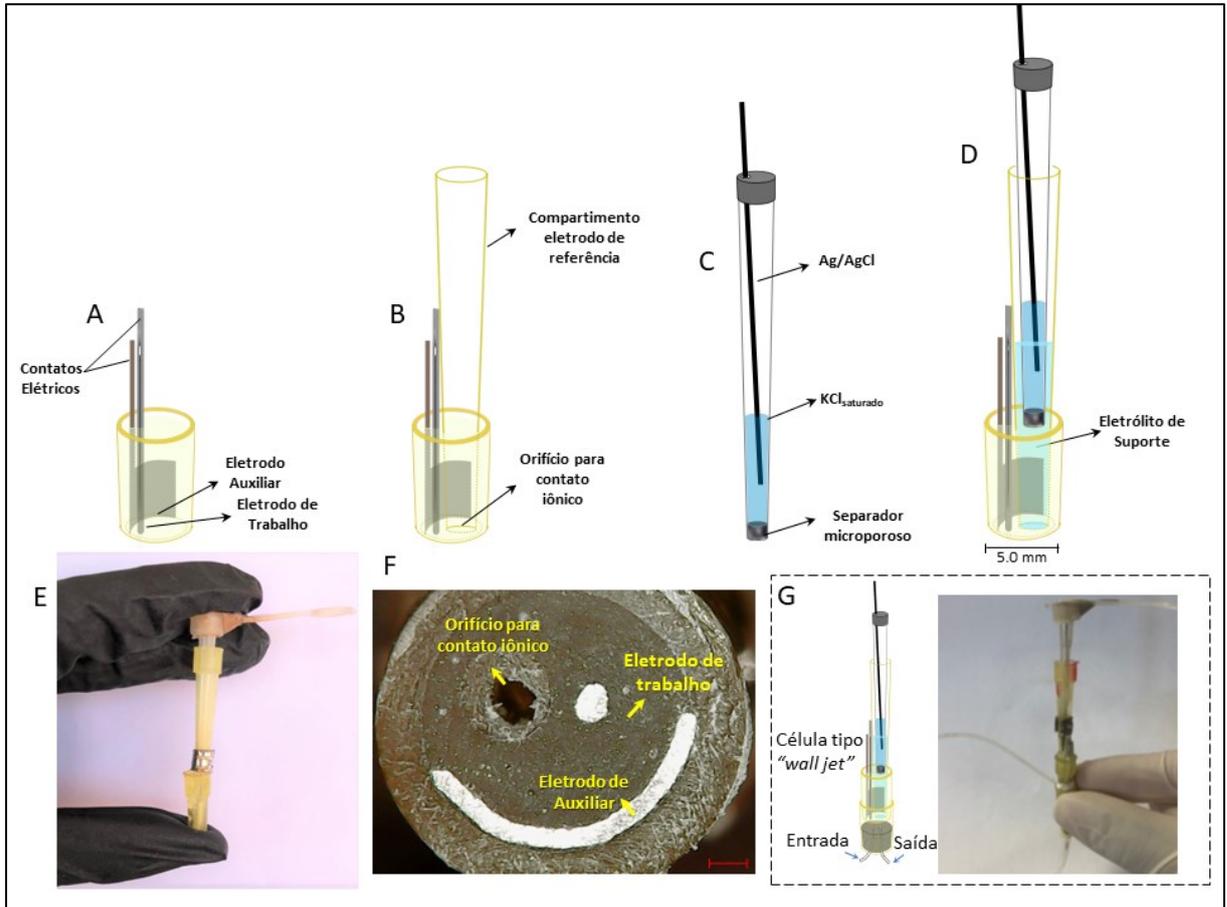
3.3.2 Dispositivo 2: Sistema eletroquímico baseado em ponteiros de micropipetas

Para construção deste dispositivo, duas ponteiros universais com capacidade máxima de $200 \text{ }\mu\text{L}$ (ponteira amarela) foram utilizadas como substrato. Uma das ponteiros foi cortada ao meio e empregada como suporte para os eletrodos de trabalho e auxiliar. Um fio de platina com $0,5 \text{ mm}$ de diâmetro (eletrodo de trabalho) e uma placa de platina (eletrodo auxiliar) com $0,3 \text{ mm}$ de espessura, recuperada de uma célula de condutância, foram inseridas na ponteira

cortada. A placa de platina foi posicionada na parede interna da ponteira, então a cola epóxi foi introduzida a fim de fixar e isolar os eletrodos de trabalho e auxiliar. Sequencialmente, a outra ponteira amarela, empregada como compartimento do eletrodo de referência, foi fixada no interior da primeira ponteira, promovendo ação semelhante ao capilar de *Luggin*. O orifício da ponteira permitiu o contato iônico entre a solução do compartimento do eletrodo de referência e a solução de medida. Após esta etapa, a parte inferior do dispositivo foi lixada com lixa D'água 220 para remover o excesso de cola epóxi que cobria a superfície dos eletrodos.

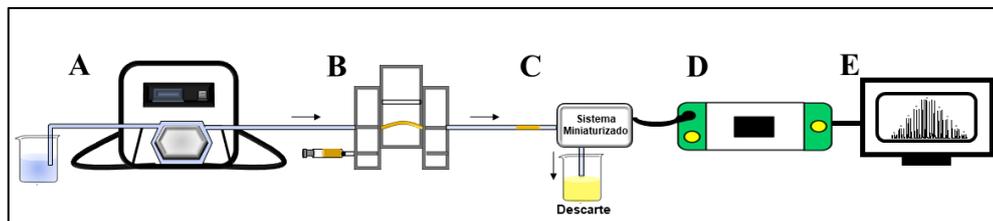
O eletrodo de referência ($\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}$) foi construído utilizando uma ponteira de micropipeta com capacidade de 10 μL . Um separador polimérico microporoso (separador de bateria ou papel celofane) foi imobilizado na extremidade da ponteira a fim de permitir o contato iônico do eletrodo de referência. Posteriormente, um fio de Ag/AgCl , recuperado de um eletrodo de vidro combinado danificado, foi inserido na ponteira contendo uma solução de KCl saturada. Por fim, o dispositivo foi posicionado perpendicularmente para evitar a formação de bolhas, e eletrodo de referência foi colocado dentro do compartimento contendo o eletrólito de suporte, assim o dispositivo estava completo e pronto para uso. Antes dos estudos eletroquímicos, o dispositivo foi polido com uma lixa D'água 2500 3M[®], solução de alumina 0,5 μm e lavado com água ultrapura. Os experimentos eletroquímicos em modo estático foram realizados em 500 μL de eletrólito de suporte colocados em tubo do tipo *Enpperdof*[®]. Para os experimentos em fluxo, uma ponteira de micropipeta com capacidade de 200 μL foi empregada como suporte para os canais de entrada e saída do eletrólito de suporte. A Figura 9 mostra a representação esquemática do processo de montagem do dispositivo e as imagens do dispositivo pronto para uso em modo estático e hidrodinâmico. A Figura 9G mostra o esquema do sistema FIA utilizado nos experimentos.

Figura 9 - A) Montagem dos eletrodos de trabalho e auxiliar. B) Dispositivo contendo o compartimento para o eletrodo de referência. C) Eletrodo referência. D) Dispositivo miniaturizado completo. E) Imagem do dispositivo miniaturizado montado. F) Imagem de microscopia digital da parte inferior do dispositivo miniaturizado. G) Representação esquemática e imagem do dispositivo montado para os experimentos em fluxo.



O sistema FIA utilizado para avaliar a versatilidade do dispositivo miniaturizado construído foi montado conforme apresentado na Figura 10.

Figura 10 - Representação esquemática do sistema FIA empregado: A) bomba peristáltica; B) injetor comutador; C) detector; D) potenciostato e E) gerenciador de dados.



A propulsão dos fluidos foi realizada com auxílio de uma bomba peristáltica (A), a vazão real foi determinada pela aferição do volume da solução carregadora ($\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) após percorrer todo o sistema. Para o percurso analítico e alças de amostragem, foram utilizados tubos de teflon[®] com diâmetro interno de 0,8 mm. A alça de amostragem foi preenchida, por meio de uma seringa, com a sonda eletroquímica ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} 1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) representada pela coloração amarela. Quando a barra central do injetor (B) é deslocada para a posição de inserção da sonda eletroquímica, a sonda é inserida no percurso analítico e transportada pela solução carregadora em direção ao dispositivo miniaturizado que atuou como detector amperométrico.

3.3.2.1 Procedimento analítico e preparo das amostras

O desempenho analítico do dispositivo foi avaliado em diferentes meios: ácido, básico e na presença de um solvente orgânico (etanol). Para isso, foram empregados alguns analitos modelo os quais haviam estudos prévios na literatura utilizando eletrodos de platina, entre eles: dopamina, TBHQ, ácido ascórbico e peróxido de hidrogênio. Estes analitos foram escolhidos a fim de avaliar a estabilidade do dispositivo em diferentes meios: orgânico, ácido e básico. Para dopamina e TBHQ, medidas voltamétricas foram registradas, para ácido ascórbico e peróxido de hidrogênio, a técnica de amperometria foi utilizada. Antes dos experimentos, o sistema miniaturizado foi submetido a 30 voltamogramas cíclicos sucessivos no intervalo de $-0,25$ a $1,25 \text{ V}$ em $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ para ativação eletroquímica da superfície do eletrodo de trabalho.

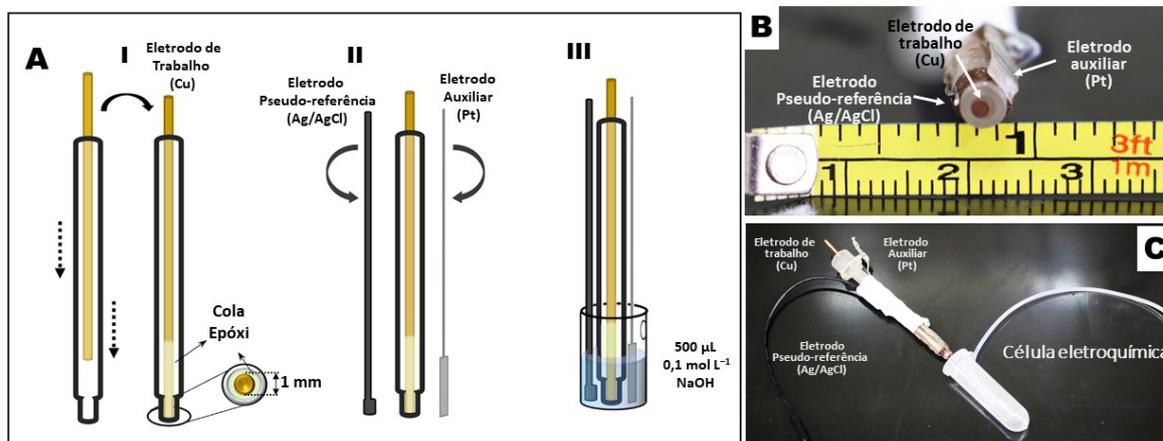
Para as determinações de CBZ, o eletrodo de trabalho (Pt) foi modificado com nanotubos de carbono não funcionalizados e funcionalizados, conforme descrito na seção 3.3. Antes da modificação, o eletrodo foi polido e lavado com água ultrapura e, em seguida, $1 \mu\text{L}$ da suspensão de nanotubos de menor diâmetro – SD-MWCNT foi cuidadosamente gotejada sobre o eletrodo de trabalho, o qual foi deixado em repouso até a completa evaporação do solvente.

A voltametria de redissolução anódica adsortiva de pulso diferencial (DP-ASV, do inglês *adsorptive differential pulse anodic stripping voltammetry*) foi empregada para determinação voltamétrica de CBZ em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR como eletrólito de suporte. A etapa de pré-concentração foi realizada em potencial de circuito aberto sob agitação constante. O pH do eletrólito de suporte, os parâmetros voltamétricos da técnica (velocidade de varredura, amplitude de pulso e tempo de pulso) e o tempo de pré-concentração foram otimizados. O efeito da funcionalização do nanotubos de carbono na determinação de CBZ foi avaliado por meio da construção de curvas analíticas no intervalo de $0,1$ a $15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Finalmente, o dispositivo modificado com melhor desempenho analítico foi aplicado para determinação de CBZ em amostras de água mineral e sucos de laranja industrializados. Para a água mineral, o tampão BR foi diretamente preparado na amostra. Para as amostras de sucos industrializados seguiu-se o procedimento descrito por Razzino *et al.* [91]: $100 \text{ } \mu\text{L}$ do suco de laranja de caixinha e $25 \text{ } \mu\text{L}$ do suco de laranja de garrafa “natural”, foram diluídos, separadamente, em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR, obtendo um volume final de 5 mL . As amostras foram enriquecidas com quantidades conhecidas de CBZ, e a quantificação foi realizada pelo método de adição de padrão.

3.3.3 Dispositivo 3: Sistema eletroanalítico a base de seringa para insulina e fios metálicos

Para a construção desse sistema, um fio de cobre com $1,0 \text{ mm}$ de diâmetro (eletrodo de trabalho) utilizado em instalações elétricas foi inserido em uma seringa de insulina e fixado com cola epóxi. Um fio de Ag/AgCl, recuperado de um eletrodo de pH danificado, e uma placa de platina com $0,3 \text{ mm}$ de espessura, reutilizada de uma célula de condutância quebrada, foram empregados como eletrodos pseudo-referência e auxiliar, respectivamente. Ambos os eletrodos foram fixados em lados opostos na parte exterior da seringa com auxílio de cola epóxi. Posteriormente, o dispositivo foi deixado em repouso durante seis horas para completa secagem da cola e fixação dos eletrodos. Após esta etapa, o sistema eletroanalítico miniaturizado e integrado estava pronto para uso. Todas as medidas eletroquímicas foram registradas em $500 \text{ } \mu\text{L}$ de eletrólito de suporte adicionados em um frasco do tipo *Enpperdof*[®] com capacidade total de 2 mL (célula eletroquímica). É importante destacar que, diariamente ou quando necessário, a renovação da superfície o eletrodo de trabalho foi realizada por polimento em lixa D'água 2500 fixada em uma placa de vidro. A Figura 11 mostra o processo adotado para a fabricação e as fotos do sistema eletroanalítico integrado construído.

Figura 11 - A) Representação esquemática da fabricação do dispositivo integrado: I) Visão interna do eletrodo de trabalho inserido na seringa; II) Posicionamento do eletrodo auxiliar e pseudo-referência; III) Dispositivo completo inserido na célula eletroquímica contendo 500 μL de eletrólito de suporte. B) Imagem da parte inferior do dispositivo. C) Imagem do sistema eletroanalítico completo.

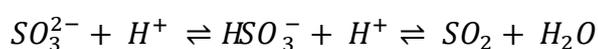


Inicialmente, o perfil voltamétrico correspondente a oxidação de sulfito em meio básico foi avaliado empregando o dispositivo integrado desenvolvido. Para isso, voltamogramas cíclicos no intervalo de 0 a 0,5 V em diferentes velocidades de varredura foram registrados em 0,1 mol L⁻¹ de NaOH na presença de 3,0 mmol L⁻¹ de sulfito. A fim de melhorar o desempenho analítico do dispositivo construído, a resposta voltamétrica de sulfito foi estudada empregando duas técnicas voltamétricas de pulso: onda quadrada e pulso diferencial. Em ambos os casos, somente 500 μL do eletrólito de suporte foram necessários. Após escolha e otimização dos parâmetros (frequência, amplitude de pulso, incremento de potencial) da melhor técnica voltamétrica, a repetitividade e reprodutibilidade do sistema desenvolvido foram avaliadas por meio de curvas analíticas construídas em um único dia de trabalho e em dias diferentes variando a concentração de sulfito no intervalo de 0,6 a 10 mmol L⁻¹.

3.3.3.1 Dispositivo miniaturizado acoplado a extração gasosa de sulfito

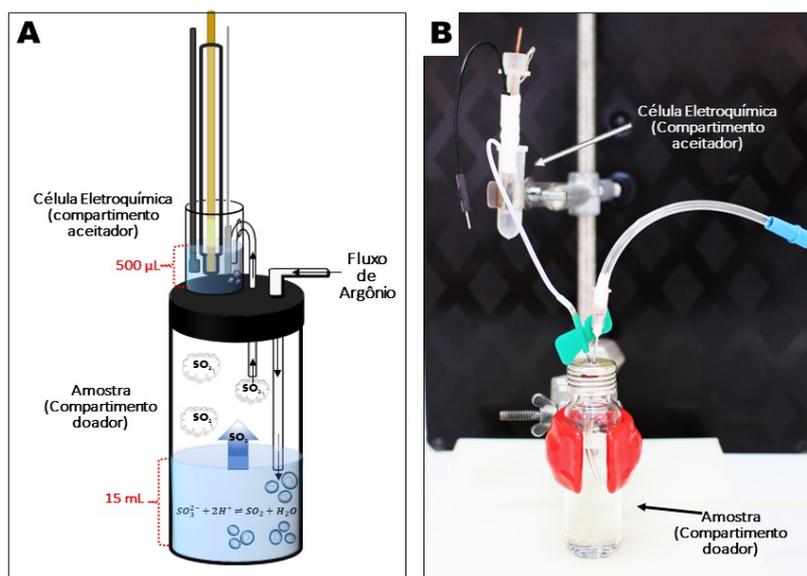
O desempenho do dispositivo eletroanalítico foi avaliado para a determinação voltamétrica de sulfito a partir da conversão desse ânion a SO₂ gasoso em meio ácido, *Equação 1*.

Equação 1:



O sistema de extração por volatilização do sulfito acoplado a detecção voltamétrica, foi composto por dois compartimentos, um extrator e outro receptor, interligados por um tubo de PTFE (1 mm de diâmetro interno). Para a montagem do sistema completo, um frasco tipo vial, usado como compartimento para solução extratora, foi preenchido com 15 mL de ácido sulfúrico 1,0 mol L⁻¹ (solução extratora). Dois pequenos orifícios foram perfurados no septo desse vial, um deles foi usado para conectar um tubo com 15 cm de comprimento e 1 mm de diâmetro, responsável pelo transporte de SO_{2(g)}, do compartimento extrator para o compartimento receptor. No outro orifício, foi conectado um tubo com 5 cm de comprimento e 1 mm de diâmetro interno, empregado para borbular argônio na solução extratora. O compartimento receptor contendo 500 µL de NaOH 0,1 mol L⁻¹ também foi empregado, simultaneamente, como célula eletroquímica para as medidas voltamétricas empregando o dispositivo miniaturizado desenvolvido. A Figura 12 apresenta a representação esquemática da integração do dispositivo miniaturizado ao sistema de extração por volatilização e a imagem do sistema completo montado.

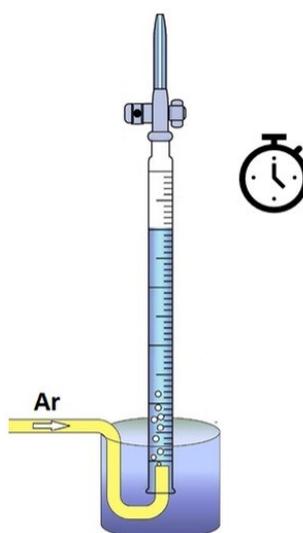
Figura 12 - A) Representação esquemática do sistema miniaturizado integrado as etapas de extração gasosa sem membrana e pré-concentração. **B)** Imagem do sistema completo.



O procedimento de extração por volatilização e pré-concentração de sulfito foi realizado da seguinte forma: o compartimento extrator foi preenchido com 15 mL de solução total, somando a solução padrão de sulfito ou amostra + solução de ácido sulfúrico, de modo que a concentração final de ácido sulfúrico atingisse sempre 1,0 mol L⁻¹. Este compartimento foi totalmente fechado e conectado via tubo de PTFE ao compartimento aceitador, sistema

eletroanalítico desenvolvido contendo 500 μL de NaOH 0,1 mol L^{-1} . Durante todo experimento de extração, um fluxo de argônio foi mantido na solução extratora, a fim de auxiliar o transporte de massa de $\text{SO}_{2(\text{g})}$ do compartimento extrator para o receptor, sendo este interrompido apenas para o registro das medidas voltamétricas, visto que o borbulhamento de Ar gera perturbação na solução. A interrupção do fluxo foi realizada retirando o tubo da solução receptora (célula eletroquímica), retornando-o rapidamente após o registro voltamétrico. A vazão de argônio, $19,1 \pm 0,1 \text{ mL min}^{-1}$ foi estimada borbulhando-se o gás em uma bureta preenchida com água inserida na posição inversa em um béquer com água, como representado na Figura 13. É importante destacar que, a vazão foi escolhida devido as limitações instrumentais para o ajuste fino da vazão do gás.

Figura 13 - Representação esquemática do sistema empregado para calcular a vazão de argônio durante os procedimentos de extração de sulfito.



Alguns parâmetros envolvidos no procedimento de extração integrado ao sistema eletroanalítico miniaturizado foram otimizados: dimensão dos compartimentos da solução doadora e receptora, influência do fluxo de argônio e tempo de extração. A porcentagem de extração foi obtida a partir do registro de voltamogramas em diferentes tempos de extração, a intensidade de pico para oxidação de sulfito foi utilizada para o cálculo da concentração de sulfito na célula eletroquímica (solução receptora), para esse cálculo utilizou-se a equação da reta obtida com a curva analítica construída diretamente na célula eletroquímica (curva sem etapa de extração). Finalmente, o melhor tempo foi escolhido para prosseguir os estudos.

3.3.3.2 Procedimento analítico e preparo das amostras

A calibração do sistema de extração acoplado ao dispositivo miniaturizado desenvolvido, foi realizada por meio de curvas analíticas construídas variando a concentração de sulfito presente na solução extratora no intervalo de 25 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Para cada concentração, a solução do padrão de sulfito foi acidificada com solução de ácido sulfúrico 1,0 mol L^{-1} . Todas as extrações ocorreram durante 10 min em temperatura ambiente. Após este período, voltamogramas de onda quadrada foram registrados em triplicata na solução aceitadora, e a corrente de pico anódica foi empregada como sinal analítico

Todas as amostras de bebidas, água de coco e sucos industrializados, foram adquiridas em supermercado local na cidade de Ituiutaba-MG. O volume da amostra adicionada ao compartimento de extração foi estabelecido de acordo com quantidade agentes sulfitantes presentes em cada amostra, de modo que o sinal voltamétrico fosse compatível com o intervalo linear obtido na curva de analítica. Dessa forma, para as amostras livres de sulfitos: água de torneira, suco de uva e uma marca de água coco; 5 mL de cada amostra foram adicionadas no frasco extrator. Para as amostras que indicavam a presença de agentes sulfitantes (INS 220): uma marca de água de coco e suco de caju; 1,5 e 0,5 mL, respectivamente, foram empregados para as análises. Antes das extrações, todas as amostras foram acidificadas com uma solução de ácido sulfúrico, de modo que a concentração final do ácido atingisse 1,0 mol L^{-1} e volume final (amostra + ácido) 15 mL. Após o tempo de extração (10 min), voltamogramas de onda quadrada foram imediatamente registrados na solução receptora. As concentrações de sulfito nas amostras foram determinadas a partir da equação da reta obtida através da curva de calibração. A precisão e exatidão do método proposto foram determinadas por estudos de adição e recuperação.

Como método comparativo, as concentrações de sulfito presente nas amostras foram determinadas empregando o método voltamétrico proposto por Moreira e colaboradores [92]. Nesta ocasião, foram empregados uma célula eletroquímica convencional com capacidade de 10 mL, um eletrodo de referência de $\text{Ag/AgCl/KCl}_{\text{sat}}$, um eletrodo auxiliar de Pt e um eletrodo trabalho de pasta de carbono modificado, preparado pela mistura de 5% MWCNT, 55% pó de grafite e 40% de óleo mineral Nujol[®] (m/m) – EPC/MWCNT. As análises foram realizadas em 10 mL de tampão B.R. 0,1 mol L^{-1} , pH 1, previamente desaerado por 15 min. 1 mL de amostra foi adicionado em 9 mL de tampão B.R. Em seguida, voltamogramas de onda quadrada, no intervalo de 0 a $-0,7$ V, foram rapidamente registrados e a corrente de pico da redução de sulfito

foi utilizada como sinal analítico. As determinações de sulfito foram realizadas usando a equação a reta obtida na curva de analítica construída para esse método.

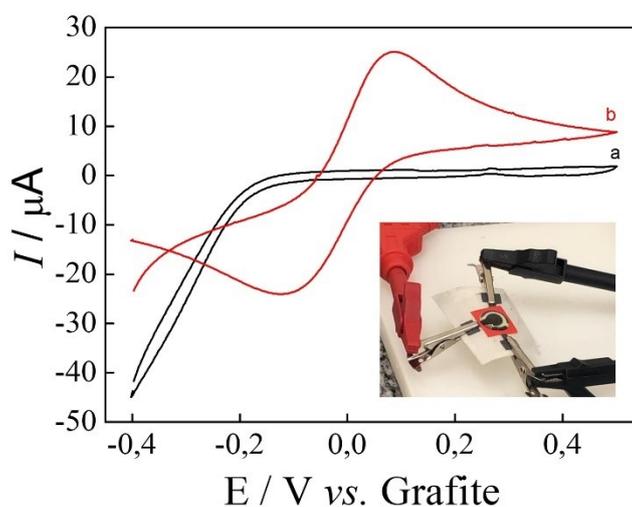
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para melhor apresentação e compreensão dos resultados obtidos neste trabalho, a seção de resultados e discussão foi dividida em três partes, as quais descrevem a construção de três diferentes sistemas eletroquímicos miniaturizados a partir de materiais de baixo custo empregados para análise em microvolumes de solução.

4.1 Dispositivo 1: Eletrodo impresso descartável baseado em folhas de retroprojeter e tinta condutora

O primeiro dispositivo integrado desenvolvido com materiais alternativos para análises em microvolumes de solução, foi construído a partir da técnica de *screen-printing*. Para isso, folhas de retroprojeter e tinta condutora preparada com esmalte incolor para unhas e pó de grafite foram utilizados, e o *design* do sensor foi estabelecido de acordo com Camargo *et al.* [88], e todos os eletrodos do sistema foram preparados com tinta condutora. A fim de avaliar o funcionamento do sensor para análises em microvolumes, o SPE preparado foi submetido a estudos voltamétricos preliminares empregando 100 μL de solução. Este estudo é muito relevante quando um novo sensor é desenvolvido, pois a partir dele é avaliado se o dispositivo apresenta ou não características para aplicações analíticas, tais como baixa corrente de fundo, ausência de processos redox no intervalo útil de potencial do eletrólito de suporte selecionado e estabilidade na presença do eletrólito de suporte. A Figura 14 apresenta os voltamogramas cíclicos registrados e a imagem do dispositivo conectado ao potenciostato contendo 100 μL de eletrólito de suporte.

Figura 14 - Voltamogramas cíclicos registrados em uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ na a) ausência e b) presença de 1,0 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]^{4-/3-} empregando o SPE construído. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Inserido: Imagem do dispositivo conectado ao potenciostato.



A Figura 14 mostra que os voltamogramas cíclicos registrados com o SPE desenvolvido apresentam perfis voltamétricos esperados e comparáveis a outros eletrodos descartáveis [88]. Como pode ser observado, uma baixa corrente de fundo foi obtida e nenhum pico voltamétrico foi registrado em uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹, indicando que a tinta condutora de grafite utilizada para construir os SPE não possui componentes eletroativos neste intervalo de potencial, o que é concordante com o observado Andreotti *et al.* [60]. Na presença de [Fe(CN)₆]^{4-/3-} 1 mmol L⁻¹ foram obtidos dois picos definidos em 0,08 V e -0,12 V (*vs.* grafite), correspondentes aos processos de oxidação e redução, respectivamente, do par [Fe(CN)₆]^{4-/3-}. A partir desses resultados, conclui-se que este dispositivo apresenta potencialidades para ser aplicado para análises voltamétricas empregando microvolumes de solução.

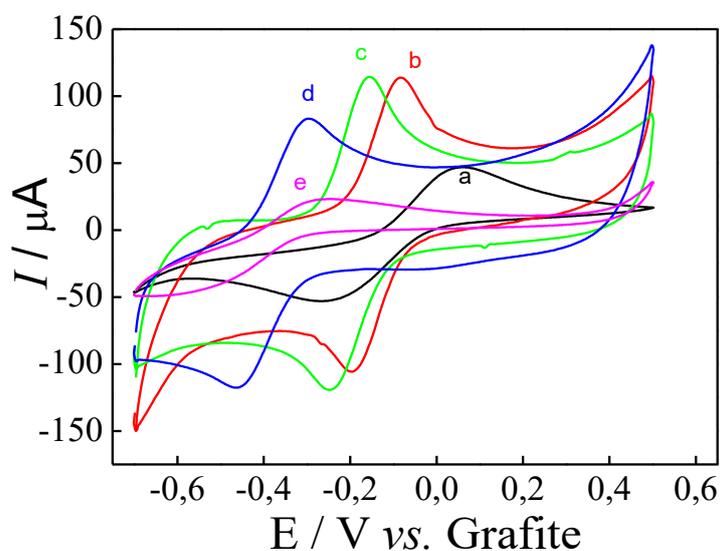
4.1.1 Modificação dos sensores eletroquímicos descartáveis com MWCNTs

A modificação da superfície eletródica com nanotubos de carbono pode fornecer ganhos significativos no desempenho analítico de sensores eletroquímicos. Os nanotubos de carbono são formados pela junção de arranjos hexagonais de carbono, possuindo hibridização sp^2 , que originam uma nanoestrutura cilíndrica de diâmetros da ordem de nanômetros e comprimentos da ordem de micrômetros e são formados por folhas de grafeno que se enrolam formando uma cavidade interna oca similar a estrutura de um cano [93]. Os CNT estão distribuídos em dois tipos: de parede simples como uma única folha de grafite enrolada sobre si mesma (SWCNT, do inglês *single-walled carbon nanotubes*), e de paredes múltiplas sendo um conjunto folhas de

grafeno concêntricas enroladas (MWCNT, do inglês *multi-walled carbon nanotubes*) [93]. As propriedades mecânicas e eletrônicas dos nanotubos dependem, principalmente, do tamanho, do diâmetro, do ângulo dos cilindros e da presença de sítios disponíveis nas bordas do tubo [86].

Diante disso, a próxima etapa deste trabalho foi avaliar a influência do tamanho e da funcionalização dos nanotubos de carbono sobre as propriedades eletroquímicas dos dispositivos descartáveis preparados com tinta condutora. Embora a modificação do dispositivo pudesse ter sido realizada pela adição direta de nanotubos à tinta condutora, para diminuir a quantidade de material optou-se pela modificação apenas do eletrodo de trabalho a partir do método de *drop-casting* utilizando uma suspensão de nanotubos de carbono 1 mg mL^{-1} . Neste método, o material modificador suspenso em determinado solvente é depositado, por meio de uma gota, sobre a superfície eletródica. Os SPEs modificados com os quatro diferentes nanotubos foram denominados da seguinte maneira: LD-MWCNT/SPE (nanotubos de maior diâmetro não funcionalizado), FLD-MWCNT/SPE (nanotubos de maior diâmetro, funcionalizado), SD-MWCNT/SPE (nanotubos de menor diâmetro não funcionalizado) e FSD-MWCNT/SPE (nanotubos de menor diâmetro funcionalizado). A Figura 15 apresenta os voltamogramas registrados em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de 1 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ como sonda eletroquímica empregando os diferentes dispositivos preparados.

Figura 15 - Voltamogramas cíclicos registrados em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de 1 mmol L^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ empregando diferentes sensores: (a) SPE não modificado, (b) FLD-MWCNT/SPE, (c) FSD-MWCNT/SPE, (d) LD-MWCNT/SPE, (e) SD-MWCNT/SPE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



A Figura 15 mostra que a modificação com diferentes tipos de MWCNTs influencia no perfil voltamétrico da sonda eletroquímica. De modo geral, observou-se um deslocamento do pico anódico para potenciais mais negativos e um ganho significativo na intensidade de corrente de pico quando os SPE modificados com MWCNT foram utilizados, exceto para o SD-MWCNT/SPE (curva e), o que será discutido mais adiante. Esses efeitos são atribuídos as propriedades intrínsecas dos nanotubos de carbono, tais como alta condutividade e elevada área superficial [94]. Foi observado que, independentemente do diâmetro do nanotubo, melhores respostas voltamétricas para a sonda eletroquímica foram registradas quando os nanotubos funcionalizados foram empregados. Esta melhora pode ser explicada devido a cinética mais rápida de transferência de carga promovida através dos grupos oxigenados inseridos na estrutura dos MWCNT após o tratamento ácido [95,96]. Isto pode ser comprovado pelos valores de $\Delta E_p = 106$ mV e $\Delta E_p = 102$ mV, para o FLD-MWCNT/SPE e FSD-MWCNT/SPE, respectivamente, comparado ao $\Delta E_p = 306$ mV para o SPE não modificado. Estes resultados indicam que a funcionalização dos nanotubos de carbono afeta mais fortemente a resposta voltamétrica da sonda eletroquímica do que o diâmetro desse nanomaterial.

Em contrapartida, para os nanotubos não funcionalizados o tamanho apresentou uma grande influência na resposta voltamétrica da sonda eletroquímica. Neste caso, os resultados obtidos para o LD-MWCNT/SPE (curva d) foram consideravelmente melhores que para o SD-MWCNT/SPE (curva e), uma vez que para o primeiro sensor obtiveram-se valores de $\Delta E_p = 106$ mV e $I_{pa} = 83$ μ A, enquanto para o sensor modificado com menor tamanho de nanotubos os valores de $\Delta E_p = 292$ mV e $I_{pa} = 22$ μ A foram obtidos. Além disso, a I_{pa} obtida para o SD-MWCNT/SPE foi menor do que a obtida para o SPE não modificado, demonstrando que para o SD-MWCNT o desempenho do sensor não foi melhorado. Esta piora no desempenho pode ser explicada pela dificuldade em dispersar eficientemente os SD-MWCNTs em zeína, uma vez que durante o procedimento experimental notou-se que os nanotubos de carbono de menor diâmetro formam aglomerados logo que são depositados na superfície eletródica. Estes aglomerados apresentam menor área eletroquimicamente ativa, uma vez que é dificultada a permeação da solução eletrolítica e, conseqüentemente da espécie de interesse. Além disso, sabe-se que a dispersão eficiente dos nanotubos de carbono é um critério para obter sensores eletroquímicos modificados com melhor desempenho analítico [87]. Com base nos resultados apresentados na Figura 15, os SPE modificados com nanotubos de carbono funcionalizados, de ambos os tamanhos, foram escolhidos para prosseguir os estudos e os nanotubos sem funcionalização foram descartados.

4.1.2 Caracterização dos FMWCNT/SPE

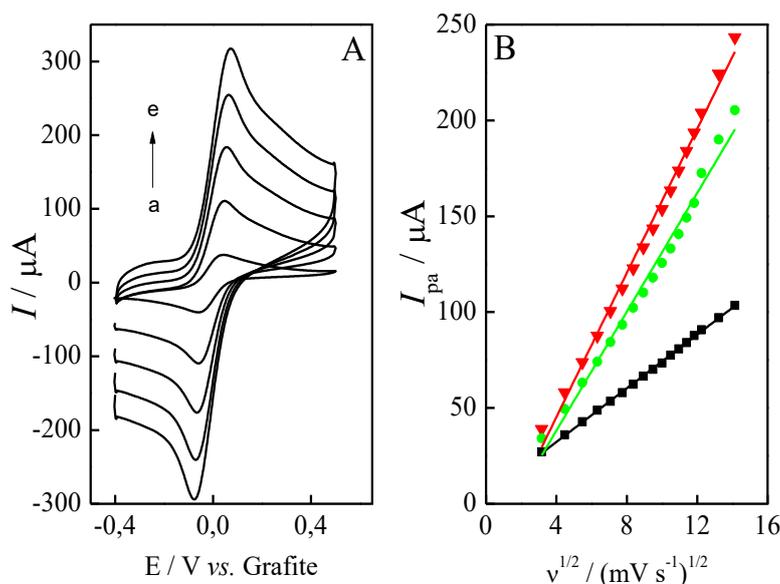
As áreas eletroquimicamente ativas dos FMWCNT/SPE preparados foram estimadas pela técnica de voltametria cíclica mantendo-se o íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ como sonda eletroquímica. Para isso, voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura foram registrados no intervalo de 10 a 200 mV s^{-1} e as áreas foram calculadas a partir da equação de Randles-Sevcik representada na Equação 1.

Equação 1:

$$I = 2,69 \times 10^5 \times n^{3/2} \times A \times C \times D \times v^{1/2}$$

Os parâmetros usados na equação de Randles-Sevcik foram: $C = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol cm}^{-3}$, $D = 6,5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ [97] e $n = 1$. A Figura 16A mostra os voltamogramas cíclicos registrados em algumas velocidades de varredura avaliadas para o FLD-MWCNT, e a Figura 16B apresenta o gráfico de I_{pa} vs. $v^{1/2}$ para os três sensores descartáveis preparados.

Figura 16 – **A)** Voltamogramas cíclicos empregando FLD-MWCNT/SPE registrados em KCl 0,1 mol L^{-1} na presença de 1 mmol L^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ em diferentes velocidades de varredura: a) 10, b) 50, c) 100, d) 150 e) 200 mV s^{-1} . **B)** Gráfico de I_{pa} vs. $v^{1/2}$ para os diferentes SPE: (■) SPE não modificado; (●) FLD-MWCNT/SPE e (▼) FSD-MWCNT/SPE.

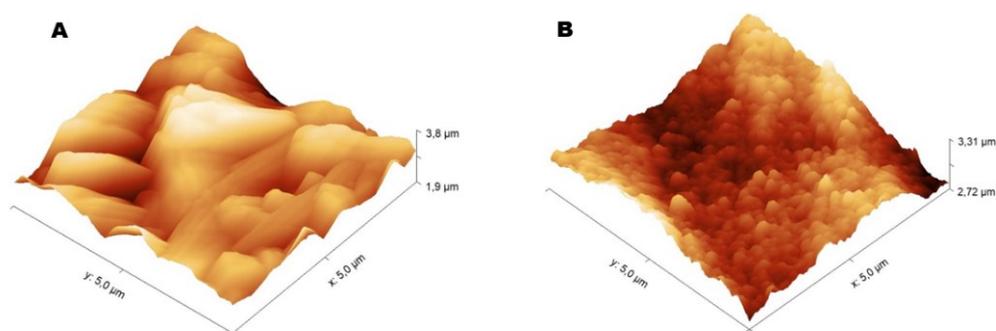


A Figura 16 mostra que, para todos os dispositivos avaliados, a corrente de pico anódica é diretamente proporcional a raiz quadrada da velocidade de varredura, indicando que o processo de transferência eletrônica do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ sobre a superfície do SPE é

controlado por difusão [98], independentemente da modificação. Para os eletrodos modificados os valores de ΔE_p variaram de 69 a 136 mV com o aumento da velocidade de varredura de 10 a 200 mV s^{-1} . Estes valores são superiores ao esperado para um processo reversível envolvendo a transferência de 1 elétron (59 mV a 298 K), como no caso da sonda $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$. Entretanto, valores superiores ao teórico são frequentemente encontrados para os eletrodos modificados com nanotubos de carbono [99]. Para o SPE, os valores de ΔE_p variaram de 200 a 624 mV com o aumento da velocidade de varredura de 10 a 200 mV s^{-1} , indicando, mais uma vez, que a modificação com nanotubos de carbono melhora a cinética de transferência de carga.

A Tabela 1 apresenta os valores de áreas eletroquimicamente ativas estimadas para os diferentes dispositivos. É importante destacar que todos os eletrodos possuem 5 mm de diâmetro, portanto, todos têm área geométrica igual $0,196 \text{ cm}^2$. Conforme esperado, as áreas ativas para os F-MWCNT/SPE foram maiores, em aproximadamente 2 vezes, em relação ao SPE, sendo a área deste último concordante com outros sensores semelhantes reportados na literatura [58,59]. Para os dispositivos modificados, o FSD-MWCNT/SPE apresentou uma área ativa ligeiramente menor ($0,714 \text{ cm}^2$) em comparação ao LD-MWCNT/SPE ($0,822 \text{ cm}^2$). Este comportamento é provavelmente atribuído ao fato de que o FSD-MWCNT é mais densamente compactado na superfície do eletrodo, levando a uma rugosidade superficial mais baixa e, conseqüentemente, a uma área ativa menor [86]. As micrografias de força atômica apresentadas na Figura 17 corroboram com os resultados da caracterização eletroquímica, uma vez que as rugosidades superficiais obtidas para o FSD-MWCNT/SPE e FLD-MWCNT/SPE foram 91 e 275 μm , respectivamente.

Figura 17 – Imagens de AFM dos eletrodos de trabalho modificados dos seguintes dispositivos: A) FLD-MWCNT/SPE e B) FSD-MWCNT/SPE.



A partir desses resultados, o fator de rugosidade para todos os dispositivos foi calculado, sendo a razão entre a área ativa e a área geométrica, os resultados são apresentados na Tabela

1. O fator de rugosidade avalia a semelhança entre a área eletroquimicamente ativa e área geométrica do eletrodo, então, quanto mais próxima a 1 for essa razão, maior a semelhança entre a área eletroquimicamente ativa e a área geométrica [100,101]. Ao contrário, quanto mais distante de 1 for esta razão maiores são as diferenças entre as áreas ativa e geométrica.

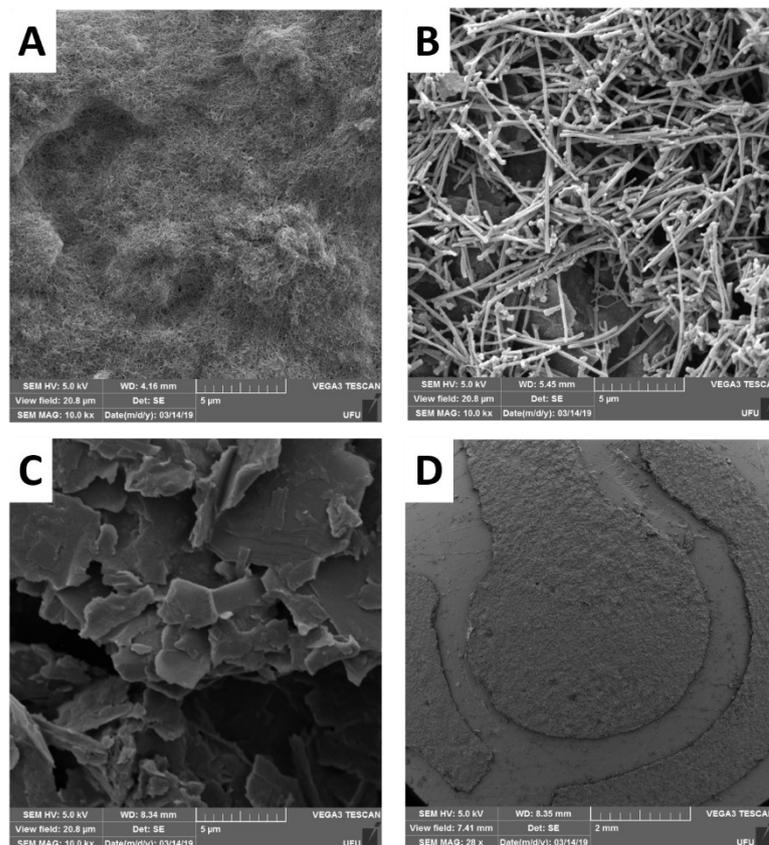
Tabela 1- Resultados obtidos a partir dos voltamogramas cíclicos registrados em 0,1 mol L⁻¹ de KCl na presença de 1,0 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]^{4-/3-} em diferentes velocidades de varredura.

Dispositivo	Coefficiente angular do gráfico I_{pa} vs. $v^{1/2}$ A (Vs ⁻¹) ^{1/2}	R ²	Área eletroquímica ativa / cm ²	Fator de Rugosidade
SPE	2,21 x 10 ⁻⁴	0,999	0,322	1,6
FLD-MWCNT/SPE	5,64 x 10 ⁻⁴	0,995	0,822	4,2
FSD-MWCNT/SPE	4,90 x 10 ⁻⁴	0,993	0,714	3,6

Como observado na Tabela 1, os fatores de rugosidade para o SPEs foram superiores a 1. Fatores de rugosidade superiores a 1 são comuns para sensores preparados com tinta condutora de grafite, devido a forma lamelar deste material condutor, o que proporciona uma maior área para ocorrência de processos redox. Entretanto, para os eletrodos modificados, observa-se um aumento significativo deste valor, sendo 4,2 e 3,6 para o FLD-MWCNT/SPE e FSD-MWCNT/SPE, respectivamente. Em eletroanálise, geralmente, áreas eletroquimicamente ativas maiores são desejáveis, pois fornecem maiores sensibilidades, embora esse ganho de sensibilidade nem sempre se converta em ganho de detectabilidade.

A morfologia dos eletrodos de trabalho dos dispositivos preparados também foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), as imagens obtidas com ampliação de 10 000 vezes são mostradas na Figura 18.

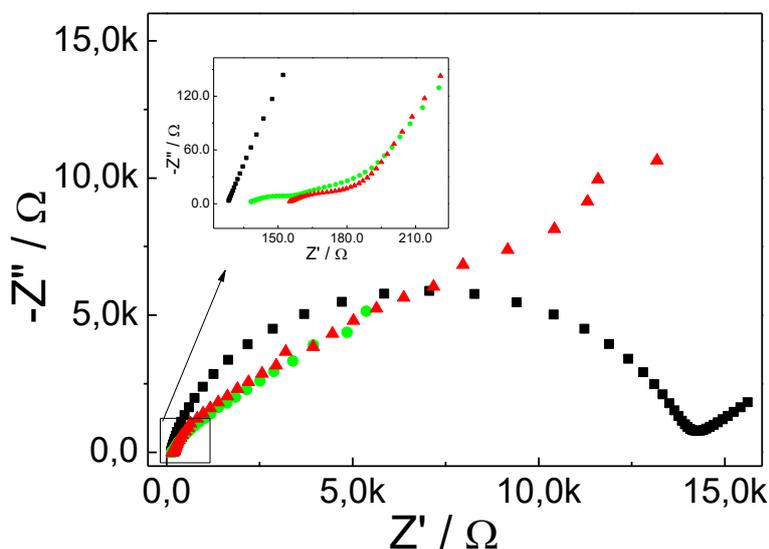
Figura 18- Imagens de MEV dos eletrodos de trabalho dos dispositivos preparados: **A)** FSD-MWCNT/SPE; **B)** FLD-MWCNT/SPE; **C)** SPE não modificado e **D)** SPE completo (ampliação de 28 vezes).



As imagens de MEV mostram que os MWCNTs de menor diâmetro (Figura 18 A) são uniformemente depositados na superfície da tinta condutora, enquanto os MWCNTs maiores são mais aleatoriamente espalhados (Figura 18. B). As imagens de MEV confirmam a hipótese que os SD-MWCNTs ficam mais densamente compactados na superfície do eletrodo em relação aos LD-MWCNTs, comportamento também observado por Melo *et al.* [86] que avaliaram a morfologia dos MWCNTs de carbono com esses mesmos diâmetros. Para o SPE não modificado (Figura 18C) a morfologia com superfície lamelar correspondente as partículas de carbono é típica de eletrodos construídos com tinta condutora preparados com esmalte de unha [102]. Além disso, a partir da imagem de MEV apresentada na Figura 18. nota-se que o método manual adotado para a construção do eletrodo é eficiente, uma vez que a tinta é uniformemente espalhada na folha de retroprojeter.

As propriedades dos dispositivos preparados também foram avaliadas pela técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica, os gráficos de Nyquist para os três SPEs são apresentados na Figura 19.

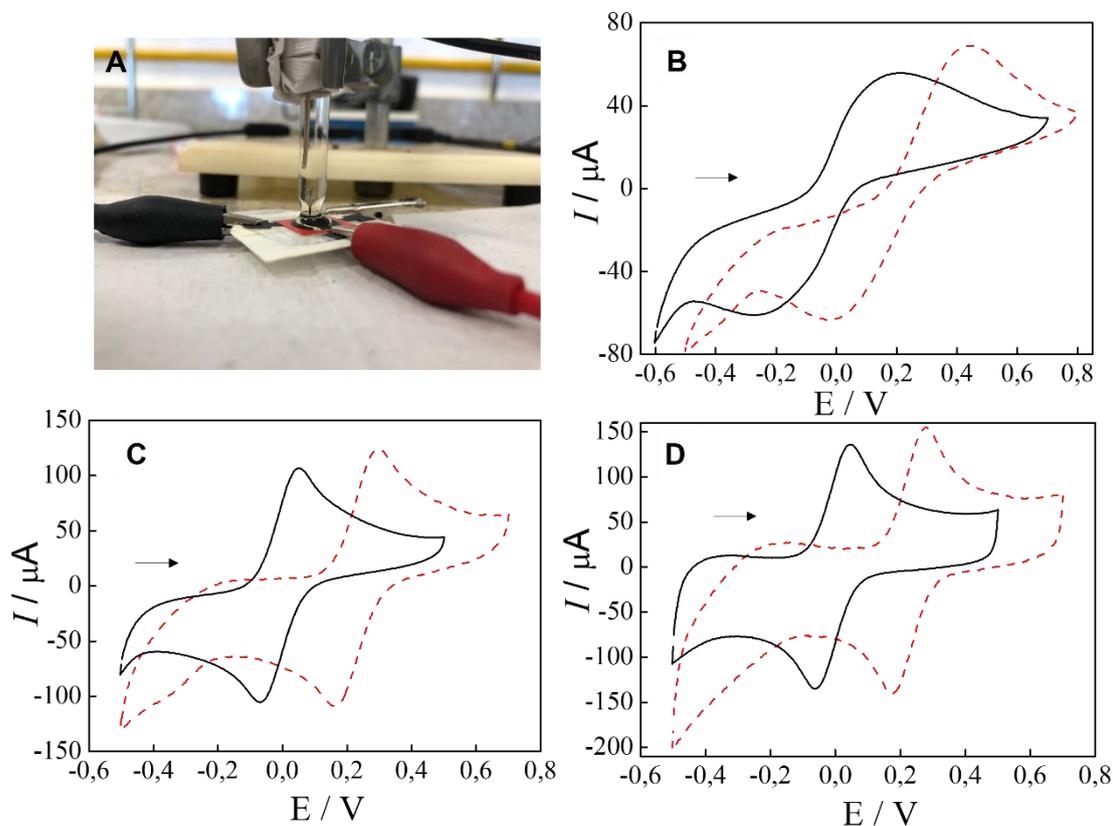
Figura 19 - Gráficos de Nyquist obtidos por espectroscopia de impedância eletroquímica em 100 μL de KCl 0,1 mol L^{-1} na presença 1 mmol L^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ com diferentes dispositivos: (■) SPE não modificado; (●) FSD-MWCNT/SPE e (▲) FLD-MWCNT/SPE. Frequência = 0,1 a 1×10^5 Hz, $E = +0$ V e amplitude = 10 mV.



Informações sobre a resistência de transferência de carga (R_{ct}) e resistência da solução (R_s) podem ser obtidas por meio dos semicírculos, sendo o diâmetro do semicírculo utilizado para calcular o valor de R_{ct} . De acordo com a Figura 19, o SPE não modificado apresentou maior resistência de transferência de carga (14305 Ω) comparado aos SPE modificados, 37 Ω e 29 Ω para o FLD-MWCNT/SPE e FSD-MWCNT/SPE, respectivamente. Estes menores valores de R_{ct} são atribuídos à maior condutividade e maior área ativa para os SPEs modificados, resultados consistentes com os voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 15 nos quais também foi observado que o SPEs modificados apresentaram menores valores de ΔE_p em relação ao SPE não modificado ($\Delta E_p = 306$ mV). Além disso, os gráficos de Nyquist mostram que o tamanho do nanotubos de carbono afeta pouco os valores de R_{ct} para a sonda eletroquímica utilizada. Dessa forma, por meio dos resultados obtidos por voltametria cíclica, microscopia de força atômica, eletrônica de varredura e impedância eletroquímica, conclui-se que a modificação do eletrodo de trabalho com nanotubos de carbono é uma alternativa promissora para melhorar o desempenho analítico dos dispositivos descartáveis mantendo o baixo custo de produção.

As respostas eletroquímicas para a sonda $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ obtidas como os SPEs foram comparadas utilizando um $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}$ como eletrodo referência externo. Para isso, o eletrodo de referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}$ foi colocado em contato com a gota da solução presente no SPE (Figura 20 A). A Figura 20 também apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para esse estudo.

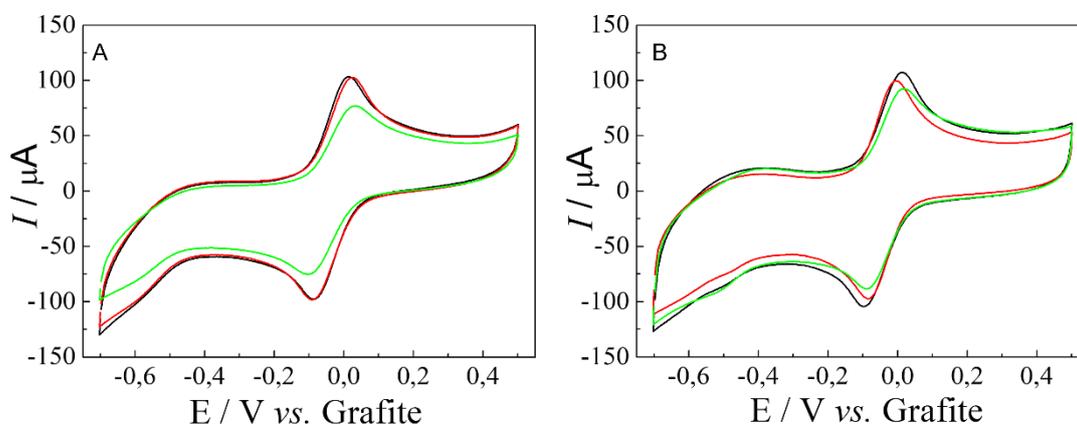
Figura 20 – A) Imagem do eletrodo de referência externo conectado ao SPE. Voltamogramas cíclicos registrados em 100 μL de KCl 0,1 mol L^{-1} na presença de 1 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ com diferentes SPE: B) SPE não modificado, C) FLD-MWCNT/SPE e D) FSD-MWCNT/SPE: (–) Eletrodo pseudo-referência e (---) Eletrodo de referência $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



A Figura 20 mostra que o perfil voltamétrico da sonda eletroquímica permaneceu praticamente inalterado com a troca do eletrodo de referência para todos os SPE avaliados. Entretanto, foi observada uma pequena mudança de potencial para o processo redox do par $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ em função do eletrodo de referência externo $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}$, resultando um deslocamento de aproximadamente $295 \pm 34 \text{ mV}$. Esta diferença entre os dois eletrodos de referência se manteve constante para diferentes dispositivos fabricados, indicando que o eletrodo de pseudo-referência de carbono fornece um controle satisfatório do potencial.

A repetitividade do procedimento de fabricação dos dispositivos modificados foi também avaliada comparando a resposta eletroquímica para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ entre 3 diferentes FSD-MWCNT/SPE e FLD-MWCNT/SPE, os resultados são apresentados na Figura 21.

Figura 21 - Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 0,1 mol L⁻¹ na presença de 1 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]^{4-/3-} utilizando 3 diferentes dispositivos preparados separadamente: **A)** FLD-MWCNT/SPE e **B)** FSD-MWCNT/SPE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



A Figura 21 mostra respostas satisfatoriamente repetitivas para 3 dispositivos preparados em dias diferentes, com diferentes tintas e diferentes folhas de retroprojctor. Os valores de RSD ($n = 3$) para a I_{pa} foram de 9 % e 10% e para o ΔE_p foram de 11 % e 12 % para FLD-MWCNT/SPE e FSD-MWCNT/SPE, respectivamente. Portanto, o procedimento adotado para fabricar e modificar os dispositivos forneceu reprodutibilidade satisfatória.

4.1.3. Desempenho analítico dos SPEs para determinação de compostos fenólicos

A etapa seguinte deste trabalho consistiu em avaliar o desempenho analítico dos sensores descartáveis empregando ácido gálico (AG) e ácido cafeico (AC) como analitos modelo. AG e AC são compostos fenólicos naturais extraídos de plantas e que são benéficos à saúde humana devido as suas propriedades antioxidantes e vasodilatadoras. Além disso, esses compostos contribuem para a qualidade organoléptica dos alimentos [103]. Dessa forma, há um crescente interesse no desenvolvimento de métodos analíticos para quantificação destes compostos em amostras de bebidas.

A condição de pH para detecção destes compostos foi estabelecida de acordo com alguns estudos da literatura, os quais demonstram que melhores respostas voltamétricas para os compostos fenólicos são obtidas em meio fortemente ácido [89]. Baseado nessas informações, os experimentos voltamétricos foram realizados em 0,1 mol L⁻¹ de HClO₄ usando a voltametria de pulso diferencial (DPV) e os parâmetros operacionais da técnica foram adaptados de Lima *et al.* [104], sendo: incremento de potencial = 2 mV, amplitude de pulso = 25 mV, tempo de pulso = 50 ms.

4.1.3.1 Ácido Gálico

Inicialmente, foi avaliado o comportamento eletroquímico do AG (Figura 22) e o desempenho analítico do SPEs na presença desse antioxidante. A Figura 23 mostra os voltamogramas cíclicos registrados na presença de 1 mmol L^{-1} de AG e as curvas analíticas construídas para o AG empregando os diferentes dispositivos.

Figura 22 – Estrutura química do ácido gálico

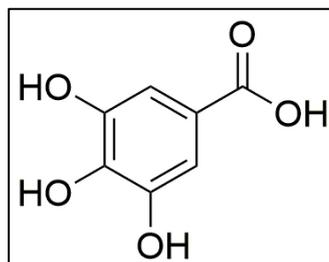
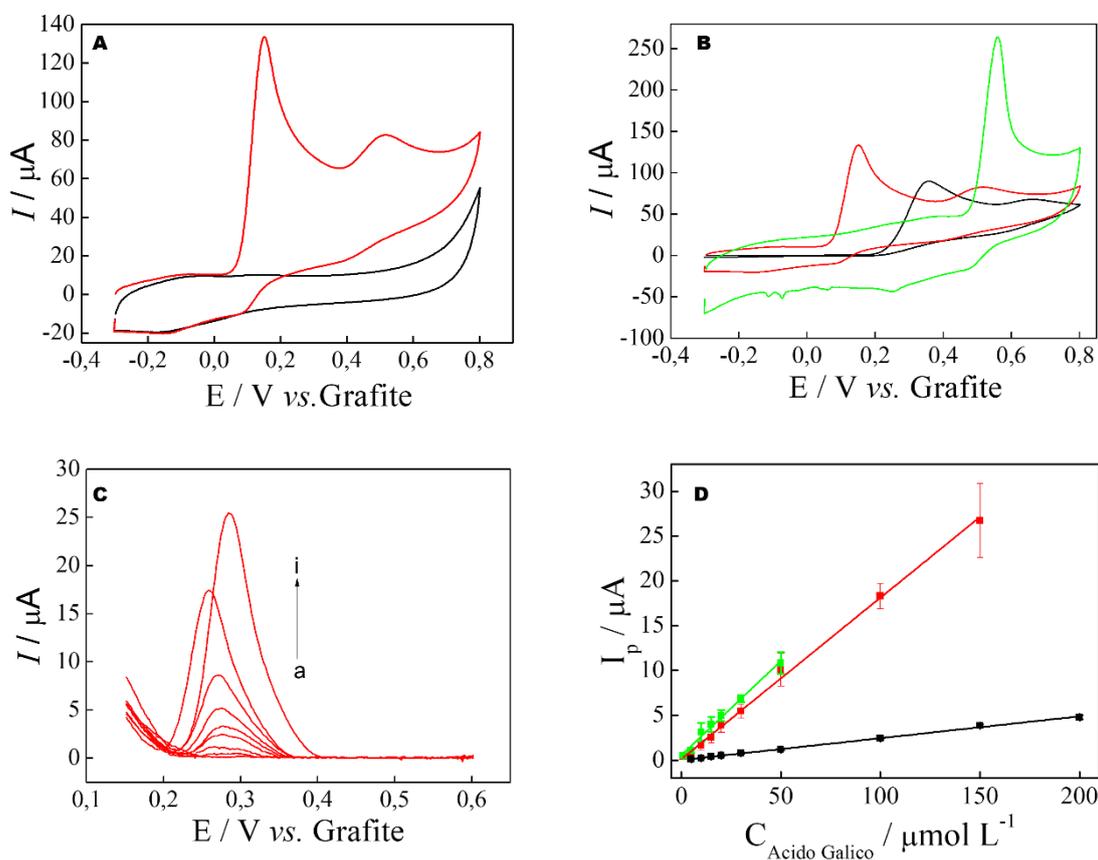


Figura 23 – **A)** Voltamogramas cíclicos registrados com FLD-MWCNT/SPE em uma solução de HClO_4 0,1 mol L^{-1} : (—) ausência de AG e (—) presença de 1,0 mmol L^{-1} de AG. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. **B)** Voltamogramas cíclicos registrados na presença de 1,0 mmol L^{-1} de AG empregando diferentes dispositivos: (—) SPE não modificado; (—) FLD-MWCNT/SPE e (—) FSD-MWCNT/SPE. **C)** Voltamogramas de pulso diferencial com linha de base corrigida registrados empregando o FLD-MWCNT/SPE em diferentes concentrações de AG: a) 1, b) 5, c) 10, d) 15, e) 20, f) 30, g) 50, h) 100, i) 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ AC. **D)** Curvas analíticas para AG empregando diferentes sensores: (—) SPE não modificado; (—) FLD-MWCNT/SPE e (—) FSD-MWCNT/SPE.



A Figura 23A mostra que uma baixa corrente de fundo foi obtida e nenhum processo faradaico foi registrado em HClO_4 . Embora somente tenha sido apresentado o voltamograma do branco para o FLD-MWCNT/SPE, comportamentos semelhantes foram registrados para os outros dispositivos. De acordo com a Figura 23A, o AG apresenta dois picos anódicos referentes a processos eletródicos irreversíveis, sendo um mais intenso em 0,15 V e o outro em 0,50 V, os quais correspondem a formação de uma quinona, este processo eletroquímico é relatado em outros trabalhos disponíveis na literatura [105]. A resposta eletroquímica do AG para os diferentes dispositivos é apresentada na Figura 23B, como pode ser observado, um ganho significativo na corrente de pico anódica foi registrado quando os FMWCNT/SPE foram utilizados, comprovando que a modificação com nanotubos de carbono é vantajosa. Para o FLD-MWCNT/SPE um deslocamento para potenciais mais negativos de aproximadamente 217 mV em relação ao SPE não modificado foi observado, indicando que o processo de oxidação do AG pode acontecer mais facilmente neste dispositivo. Por outro lado, observou-se que a

oxidação do AG deslocou-se para potenciais mais positivos quando o FSD-MWVNT/SPE foi usado. Embora este comportamento possa comprometer a seletividade, o aumento significativo na corrente de pico poderia trazer um ganho substancial de sensibilidade e poderia justificar a utilização deste dispositivo para fins analíticos. Como sinal analítico para o AG, foi adotado o pico anódico mais intenso, os voltamogramas de pulso diferencial registrados em diferentes concentrações de AG utilizando o FLD-MWCNT/SPE como sensor eletroquímico são apresentados na Figura 23C. De acordo com as curvas analíticas construídas para este composto (Figura 23D), observou-se um aumento considerável na sensibilidade para os dispositivos modificados com nanotubos de carbono. A Tabela 2 agrupa os parâmetros analíticos obtidos neste estudo. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados de acordo com as respectivas equações: $LD = 3s_{dB}/S$ e $LQ = 10s_{dB}/S$, sendo s_{dB} o desvio padrão do intercepto da curva analítica e S o coeficiente angular da curva analítica [106]. O desvio padrão do intercepto da curva analítica foi usado para estimar o s_{dB} .

Tabela 2 – Parâmetros analíticos obtidos para AG empregando os diferentes dispositivos construídos.

Dispositivo	Intervalo Linear/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	R^2	LD/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	LQ/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	Sensibilidade/ μA $\mu\text{mol}^{-1} \text{L}$	Área eletroquímica ativa / cm^2	Sensibilidade normalizada pela área eletroquimicamente ativa/ $\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{L cm}^{-2}$
SPE não modificado	5 - 200	0,998	4,5	14,9	0,024	0,322	0,074
FLD-MWCNT/SPE	5 - 150	0,997	3,3	10,9	0,179	0,822	0,217
FSD-MWCNT/SPE	5 - 50	0,987	3,3	10,9	0,209	0,714	0,292

O SPE não modificado forneceu um intervalo linear maior em comparação aos eletrodos modificados FMWCNTs. Entretanto, quando a sensibilidade é comparada, o valor obtido para os eletrodos modificados foi pelo menos 7 vezes maior em relação ao SPE não modificado. A sensibilidade obtida para o FSD-MWCNT/SPE foi relativamente maior que para o FLD-MWCNT/SPE, contudo o intervalo linear foi aproximadamente a metade em relação ao FLD-MWCNT/SPE. A fim de verificar se o ganho de sensibilidade estava associado somente ao aumento da área eletroativa, a sensibilidade de cada sensor foi dividida pela sua respectiva área eletroquimicamente ativa. Os resultados obtidos demonstram que a melhora da sensibilidade promovida pelos FMWCNT/SPE não deve ser somente atribuída ao aumento da área ativa, uma vez que a sensibilidade normalizada foi diferente para os 3 dispositivos. Caso o ganho de

sensibilidade fosse atribuído exclusivamente ao aumento da área ativa causado pelos MWCNTs, a sensibilidade normalizada seria a mesma para os três dispositivos. Assim, um eventual efeito eletrocatalítico promovido pelos sítios disponíveis nas arestas dos nanotubos de carbono [86] ou ainda uma mudança de transporte de massa de uma condição de difusão linear semi-infinita para uma condição de difusão em camada delgada poderiam justificar a melhora do desempenho analítico obtida para os SPEs modificados. De acordo com alguns autores, a camada de MWCNTs pode se comportar como uma camada condutora porosa, na qual as espécies eletroativas podem ser aprisionadas, levando a uma condição de camada delgada [92,107]. Entre os dois dispositivos modificados, a maior sensibilidade normalizada para o FSD-MWCNT/SPE pode ser justificada pela maior densidade de defeitos na estrutura dos nanotubos de menor diâmetro, os quais poderiam atuar como sítios ativos para as reações de transferência de carga [86]. De modo geral, para os dispositivos modificados, não foi possível observar diferenças significativas dos parâmetros analíticos obtidos para o AG, exceto para o intervalo linear do FSD-MWCNT que foi menor. Contudo, isso não é uma limitação, levando em consideração que uma simples diluição da amostra contornaria este problema.

Os valores de LQ calculados foram maiores que os primeiros pontos da curva para os diferentes sensores avaliados. Por esse motivo, adotou-se o primeiro ponto da curva como os LQs reais. Embora os valores de LQ foram os mesmos para todos os sensores, o ganho significativo da sensibilidade quando FMWCNT/SPE foram empregados justificam a sua aplicação.

Diante dos resultados apresentados, é comprovado que a modificação com nanotubos de carbono melhora o desempenho analítico dos sensores descartáveis preparados, uma vez que maiores sensibilidades e menores limites de detecção para o AG foram obtidos.

4.1.3.2 Ácido Cafeico

O comportamento eletroquímico para o AC (Figura 24) também foi avaliado empregando os 3 dispositivos preparados. A Figura 25 apresenta os voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial registrados e as curvas analíticas construídas para o AC.

Figura 24 – Estrutura química do ácido cafeíco.

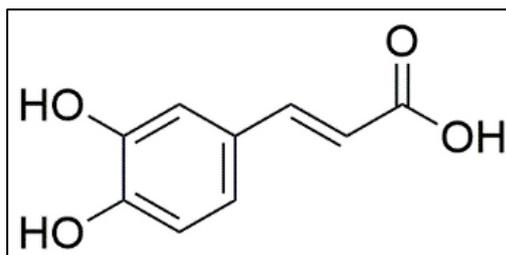
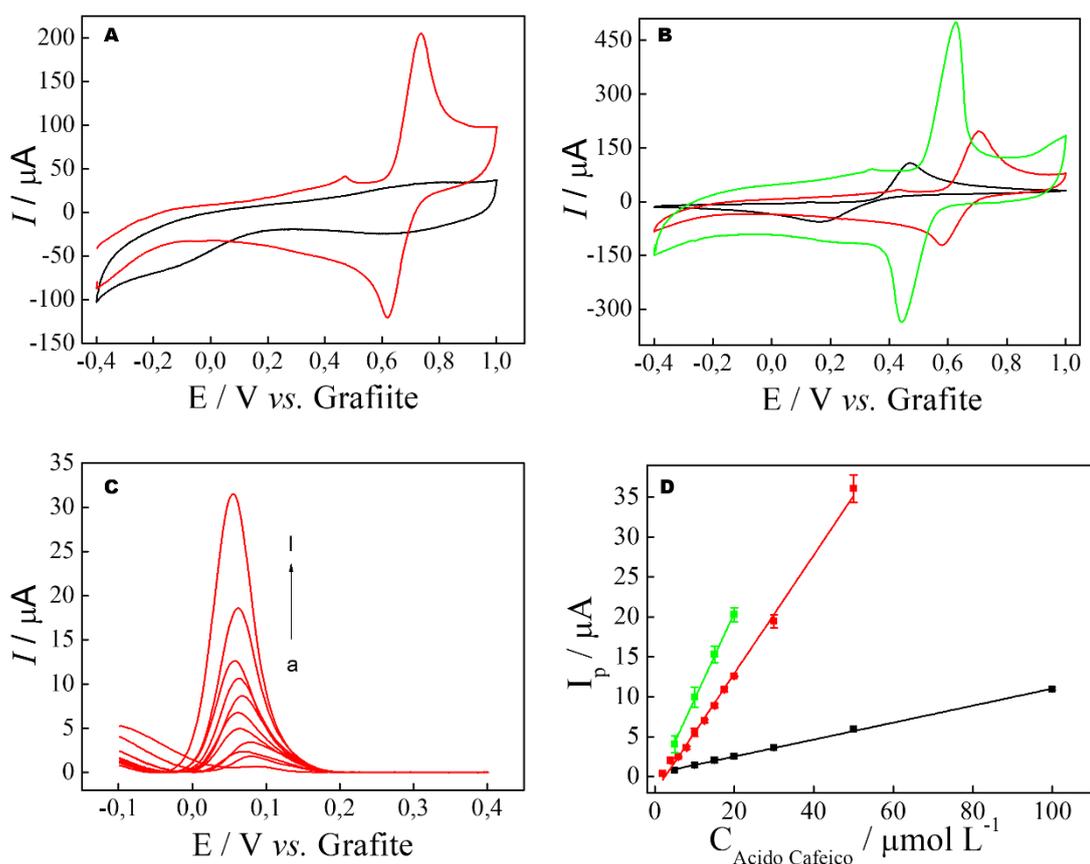


Figura 25 - **A**) Voltamogramas cíclicos registrados com FLD-MWCNT/SPE SPE em uma solução de HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$: (—) ausência de AC e (—) presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AC. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. **B**) Voltamogramas cíclicos registrados na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AC empregando diferentes dispositivos: (—) SPE não modificado; (—) FLD-MWCNT/SPE e (—) FSD-MWCNT/SPE. **C**) Voltamogramas de pulso diferencial com linha de base corrigida registrados empregando o FLD-MWCNT/SPE em diferentes concentrações de AC: a) 2, b) 4, c) 6, d) 8, e) 10, f) 12,5, g) 15, h) 17,5, i) 20, j) 30 e k) $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ AC. **D**) Curvas analíticas para AC empregando diferentes sensores: (—) SPE não modificado; (—) FLD-MWCNT/SPE e (—) FSD-MWCNT/SPE.



Como pode ser observado na Figura 25 A, o AC apresenta um processo eletroquímico reversível com $E^{1/2} = 0,678 \text{ V}$, correspondente a formação de um derivado de o-quinona [108]. A Figura 25 B mostra que ambos os dispositivos modificados forneceram maiores intensidades de corrente de pico, com destaque para o FSD-MWCNT que aumentou em aproximadamente

4 vezes a corrente de pico em relação ao SPE não modificado. Embora um deslocamento para potenciais mais positivos quando os eletrodos modificados foram avaliados tenha sido observado, menores valores de ΔE_p foram obtidos, sendo 306, 140 e 193 mV para SPE, FLD-MWCNT/SPE e FSD-MWCNT/SPE, respectivamente. Os voltamogramas de pulso diferencial registrados em diferentes concentrações de AC com o FLD-MWCNT/SPE são apresentados na Figura 25 C. Como observado na Figura 25 D, a sensibilidade para o AC foi dependente do dispositivo eletroquímico utilizado, sendo que o maior valor de sensibilidade foi obtido para os FSD-MWCNT/SPEs. Para melhor comparação dos resultados, a Tabela 3 reúne todos os parâmetros analíticos obtidos nesse estudo.

Tabela 3 - Parâmetros analíticos obtidos para AC empregando os diferentes dispositivos construídos.

Dispositivo	Intervalo Linear/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	R^2	LD/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	LQ/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	Sensibilidade/ $\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}$	Área eletroquímica ativa / cm^2	Sensibilidade normalizada pela área eletroquimicamente ativa/ $\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-2}$
SPE não modificado	5 - 100	0,998	2,1	6,9	0,106	0,322	0,329
FLD-MWCNT/SPE	2 - 50	0,996	0,2	0,6	0,742	0,822	0,903
FSD-MWCNT/SPE	5 - 20	0,997	1,0	3,3	1,08	0,714	1,51

A Tabela 3 mostra que intervalos lineares menores foram encontrados para os dispositivos modificados em comparação ao SPE não modificado. Em relação a sensibilidade, houve um aumento de aproximadamente 7 vezes para os SPEs modificados. Ao normalizar a sensibilidade pela área eletroquimicamente ativa de cada dispositivo, observa-se que da mesma forma que aconteceu para o AG, o ganho de sensibilidade promovido pelos FMWCNT/SPE não pode ser somente atribuído ao aumento da área ativa, uma vez que os valores de sensibilidade normalizada foram diferentes. Apesar da maior sensibilidade observada para o FSD-MWCNT/SPE, este fator não foi convertido em um ganho significativo no desempenho analítico para a determinação de AC, visto que um maior LD e LQ e um pequeno intervalo linear foram obtidos.

4.1.3.3 Análises das amostras de chá

Baseado nos resultados anteriores, considerando o menor LD e o intervalo linear mais amplo, o FLD-MWCNT/SPE foi empregado para determinar a concentração de AC presente

nas amostras de chá. Todas as determinações foram realizadas em triplicata, a Tabela 4 apresenta os resultados de recuperação e a quantidade de compostos polifenólicos totais das amostras determinadas pelo método eletroanalítico proposto empregando os SPE e pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu.

Tabela 4 – Resultados de recuperação de AC nas amostras de chá (expressos em concentração de ácido cafeico) e TPC obtidos pelo método de FC e DPV.

Chá	Adicionado* ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado** ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação** (%)	TPC _{DPV} ** ^a	TPC _{FC} ** ^a	F ^b
Mate	0	7,8 ± 0,7	---			
	10,0	18,0 ± 2,0	102 ± 15			
	20,0	28,0 ± 1,0	101 ± 7	34,9 ± 2,9	280,0 ± 1,0	8,4
	30,0	40,0 ± 2,0	107 ± 5			
Ervadoce	0	2,9 ± 0,1	---			
	10,0	13,0 ± 0,9	101 ± 9			
	20,0	24,4 ± 0,7	108 ± 4	2,7 ± 0,2	35,7 ± 0,7	12,2
	30,0	34,8 ± 0,3	106 ± 1			
Branco	0	4,9 ± 0,2	---			
	10,0	14,9 ± 0,6	100 ± 6		128,8 ± 5,5	
	20,0	26,7 ± 0,4	109 ± 2	44,0 ± 2,0		7,6
	30,0	37,6 ± 0,7	109 ± 2			

*Concentração presente na solução de medida. **Valor de média ± SD (n = 3), ^aTPC_{FC} e TPC_{DPV} são as quantidades de compostos fenólicos totais (expressos com mg AC g⁻¹ de chá) obtidos pelo método de FC e DPV, respectivamente, ^bF_{critical/2/2} = 19,0

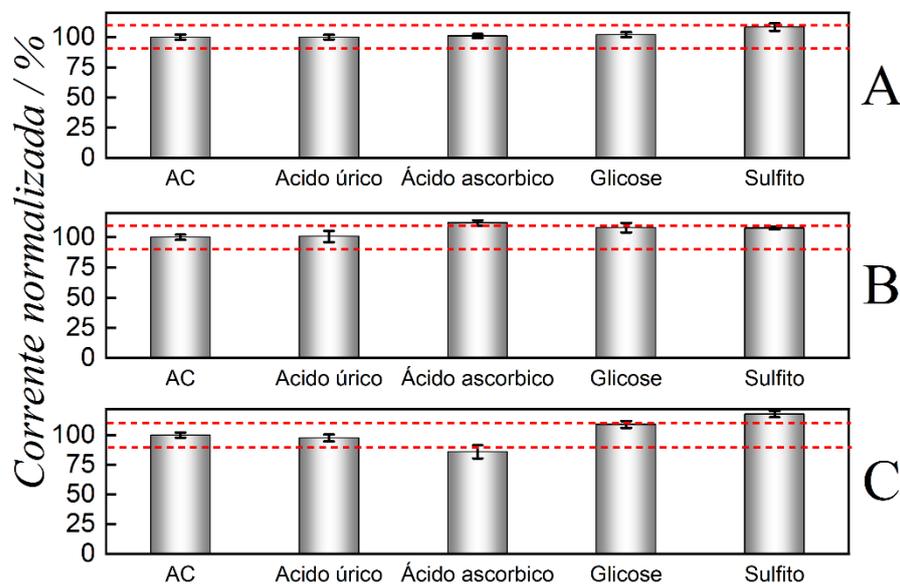
De acordo com a Tabela 4, porcentagens de recuperação entre 99 e 109 % foram obtidas quando as amostras foram enriquecidas com 10, 20 e 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AC, correspondendo a 1,8; 3,6 e 5,4 ppm de AC, respectivamente. De acordo com AOAC (do inglês, *Official Methods of Analysis Guidelines for Standard Method Performance Requirements*) [109], porcentagens de recuperação entre 80 e 120% são satisfatórias quando as concentrações do analito na amostra estão presente no intervalo de 1 a 10 ppm. Além disso, as porcentagens de recuperação encontradas indicam que o método apresenta boa exatidão e sugerem que nenhuma espécie

presente nas matrizes das amostras interferiu significativamente na determinação de AC. O método analítico desenvolvido também apresentou boa precisão, visto que desvios padrão menores de 2% foram obtidos.

Muitos métodos analíticos não são capazes de discriminar a contribuição de cada composto fenólico na capacidade antioxidante de chás e vinhos. Assim, a quantidade de TPC expressa em mg de AC ou AG por grama ou litro da amostra é o principal parâmetro usado para estimar a capacidade oxidante dessas bebidas e o FC é o método oficial para essa análise [86,103,110]. A Tabela 4 mostra que não houve diferença estatística entre a precisão encontrada pelo método voltamétrico e o método oficial (FC). No entanto, os valores de TPC determinados pelo método voltamétrico foram consideravelmente menores do que os valores obtidos pelo método de FC. Este resultado era esperado, uma vez que o método de FC é sensível a muitas substâncias com capacidades oxidantes, tais como açúcares redutores, dióxido de enxofre, ácido ascórbico, ácido gálico e catequinas [103,110]. Em contrapartida, o método voltamétrico responde mais seletivamente a espécies polifenólicas, tais como AC e AG, resultando em valores de TPC menores [103,110,111].

Para verificar se, de fato, o método voltamétrico proposto é capaz de discriminar as espécies com capacidades antioxidantes presentes na amostra de chá, a resposta voltamétrica de AC foi avaliada na presença de alguns possíveis interferentes [111,112]. A Figura 26 mostra a variação do sinal voltamétrico para o AC na presença de potenciais interferentes. Uma variação de 5% do sinal voltamétrico de AC para mais ou para menos foi estabelecido como limite neste estudo. Caso maiores variações de sinal sejam observadas, considera-se que há interferência.

Figura 26– Efeito no sinal voltamétrico de $3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AC na presença de diferentes razões molares de potenciais espécies interferentes: **A)** 1:1; **B)** 1:5 e **C)** 1:10 (AC:interferente). As linhas pontilhadas representam o limite entre 95% e 105% do sinal



Como pode ser observado na Figura 26, ácido ascórbico, ácido úrico e sulfito não interferiram na resposta voltamétrica de AC, visto que a variação do sinal analítico para o AC foi menor que 5%. Na presença de glicose uma mudança de 7% na resposta voltamétrica de AC foi observada quando este possível interferente está presente em uma concentração 10 vezes maior do que a concentração de AC. Durante os estudos, foi verificada forte interferência da quercetina, sendo observado que o sinal voltamétrico do AC aumentou em aproximadamente 30%, mesmo quando a quercetina e o AC estavam presentes na mesma concentração. Este comportamento era esperado visto que a quercetina é um composto fenólico e apresenta perfil de oxidação semelhante ao AC e AG. Portanto, o estudo de interferentes provou que, ao contrário do método espectrofotométrico de FC, o método voltamétrico foi capaz de discriminar AC de algumas espécies redutoras, justificando os menores valores de TPC obtidos.

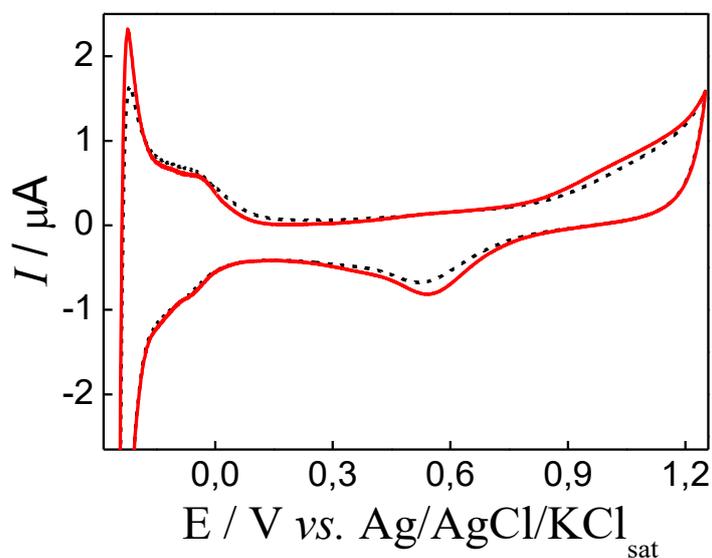
Diante de todos os estudos e resultados apresentados nessa seção, foi demonstrado que os dispositivos preparados de forma simples e com materiais de baixo custo, forneceram resultados satisfatórios para a determinação de compostos fenólicos em amostras de chás. Além disso, as vantagens adicionais do método proposto incluem a natureza descartável e a possibilidade de portabilidade, visto que apenas alguns microlitros de solução foram necessários para as análises.

4.2 - Dispositivo 2: Sistema eletroquímico miniaturizado baseado em ponteiras de micropipetas e fios metálicos

A segunda parte deste trabalho teve como ideia principal o desenvolvimento de um dispositivo integrado, versátil, de baixo custo e não descartável que permitisse análises em microvolumes de solução. Para isso, ponteiras de micropipetas, fios metálicos (Pt e Ag/AgCl) e cola epóxi foram empregados para a construção dos dispositivos (Figura 9).

A primeira etapa desse estudo foi verificar o funcionamento do sistema miniaturizado proposto. Para isso, voltamogramas cíclicos foram registrados em 500 μL de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} , o meio ácido foi escolhido para verificar o comportamento voltamétrico da platina utilizada para construção do eletrodo de trabalho. A Figura 27 apresenta o primeiro e o trigésimo voltamograma cíclico registrado.

Figura 27 – Voltamogramas cíclicos registrados em 500 μL de uma solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} utilizando o dispositivo miniaturizado: (--) 1º ciclo e (—) 30º ciclo. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

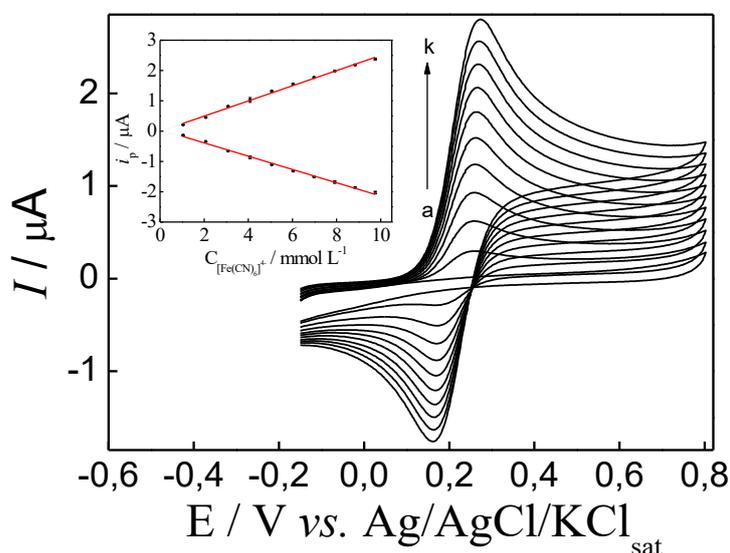


A Figura 27 mostra que os voltamogramas cíclicos registrados com o dispositivo apresentaram comportamento típico de Pt policristalina em meio ácido [98,113]. Os picos de adsorção e dessorção de hidrogênio foram observados em potenciais mais negativos que 0 V, e os picos correspondentes a formação e redução de óxidos de Pt foram identificados em 0,95 V e em 0,56 V, respectivamente. A Figura 27 mostra também que estes picos voltamétricos ficam mais definidos após 30 ciclos sucessivos de potenciais no intervalo de $-0,25$ a $1,25$ V, indicando que uma etapa de ativação da Pt deve ser realizada antes dos estudos eletroquímicos.

4.2.1 Caracterização eletroquímica do dispositivo miniaturizado

O dispositivo foi caracterizado eletroquimicamente utilizando $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ como sonda eletroquímica. Inicialmente, foram registrados voltamogramas cíclicos em 500 μL de uma solução de KCl 0,1 mol L^{-1} na ausência e na presença de diferentes concentrações de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. A Figura 28 apresenta os resultados obtidos para esse estudo.

Figura 28– Voltamogramas cíclicos registrados em uma solução de KCl 0,1 mol L^{-1} empregando o dispositivo miniaturizado: a) ausência de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$; b) 1,04; c) 2,07; d) 3,08; e) 4,08; f) 5,06; g) 6,02; h) 6,97; i) 7,91; j) 8,84 e k) 9,74 mmol L^{-1} . Inserido: Curvas analíticas construídas a partir da I_{pa} e I_{pc} . $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

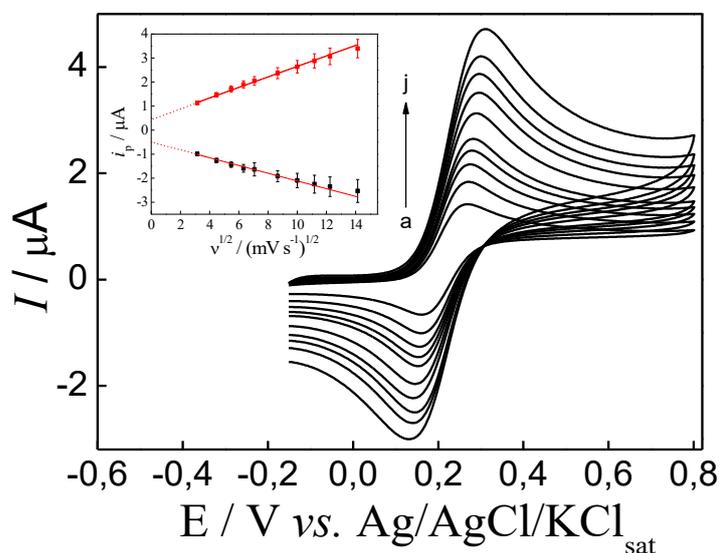


Como pode ser observado na Figura 28 na ausência de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ não foi registrado nenhum pico voltamétrico, indicando que a superfície do eletrodo de trabalho está livre de impurezas eletroativas. Além disso, a baixa corrente de fundo observada na ausência da sonda eletroquímica sugere que o dispositivo miniaturizado desenvolvido tem uma grande capacidade de fornecer baixos limites de detecção. Na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, dois picos definidos em 0,25 V e 0,18 V correspondentes ao par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ são observados. Independentemente da concentração da sonda eletroquímica, o ΔE_{p} permaneceu em 80 mV (50 mV s^{-1}). Valores de ΔE_{p} superiores ao teórico para sistemas reversíveis (59 mV) são frequentemente obtidos quando sensores eletroquímicos miniaturizados são utilizados, por exemplo um sensor miniaturizado construído com eletrodo de ouro forneceu valor de $\Delta E_{\text{p}} = 400 \text{ mV}$ a 50 mV s^{-1} na presença de 2 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ [72]. As curvas analíticas (Figura 28 inserida) mostram que I_{pa} e I_{pc} variaram linearmente com a concentração de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ no

intervalo de 1,04 a 9,74 mmol L⁻¹ de acordo com as equações: $I_{pa}(\mu A) = -0,006 + 0,250 C_{[Fe(CN)_6]^{4-}} (\text{mmol L}^{-1})$, $R^2 = 0,99552$ e $I_{pc}(\mu A) = -0,051 - 0,219 C_{[Fe(CN)_6]^{4-}} (\text{mmol L}^{-1})$, $R^2 = 0,99507$. Os valores de coeficiente linear foram próximos a zero e os valores de R^2 foram próximos a 1,0, estes resultados indicam que o sistema miniaturizado é estável durante todo o estudo. Os valores dos coeficientes angulares para os gráficos de I_{pa} e I_{pc} vs. concentração foram similares em módulo, resultado esperado para um processo reversível controlado por difusão. Estes resultados sugerem que o dispositivo tem capacidade para ser utilizado em aplicações analíticas.

Voltamogramas cíclicos foram registrados em diferentes velocidades de varredura a fim de verificar o comportamento eletroquímico de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ sobre a superfície eletródica do dispositivo miniaturizado. Estes experimentos foram realizados em 500 μL de solução contendo 1,0 mol L⁻¹ de KCl e 10,0 mmol L⁻¹ de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ no intervalo $-0,2$ a $0,8$ V vs. Ag/AgCl/KCl_{sat} variando-se a velocidade de varredura no intervalo de 25 a 200 mV s⁻¹ (Figura 29).

Figura 29 - Voltamogramas cíclicos registrados com o dispositivo miniaturizado em uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ na presença de 10,0 mmol L⁻¹ de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em diferentes velocidades de varredura: a) 10, b) 20, c)30, d)40, e) 50, f)75, g)100, h)125, i)150 e j)200 mV s⁻¹. Inserido: Gráfico da I_{pa} (■) e I_{pc} (■) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.

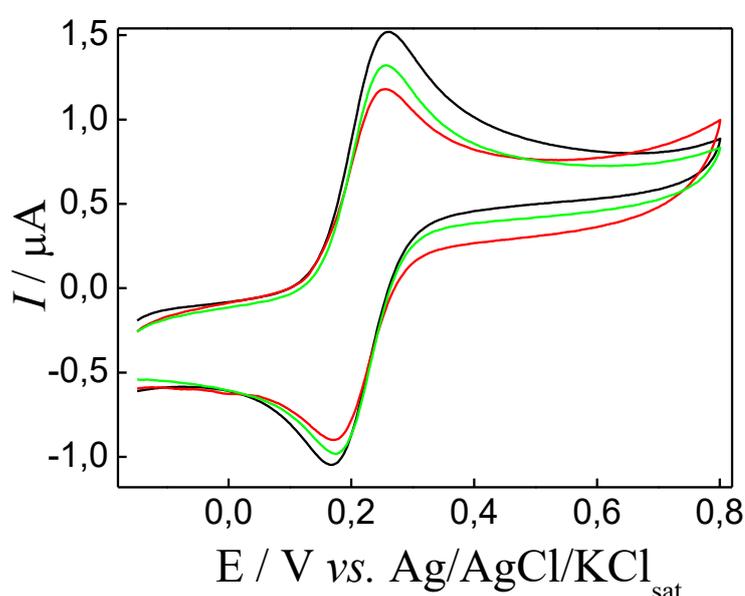


A Figura 29 mostra que as correntes de pico anódica e catódica são diretamente proporcionais à raiz quadrada da velocidade de varredura, de acordo com as seguintes equações: $I_{pa}(\mu A) = -0,201 + 0,286 v^{1/2}(\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, $R^2 = 0,99900$ e $I_{pc}(\mu A) = -0,148 - 0,265 v^{1/2}(\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, $R^2 = 0,99889$. Estes resultados indicam que o sistema miniaturizado integrado responde

conforme esperado para um processo redox reversível controlado por difusão com transferência de 1 elétron [98].

Após verificar o funcionamento do sistema miniaturizado e suas potencialidades de aplicações analíticas, a repetitividade do processo de montagem foi avaliada registrando-se medidas voltamétricas na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ utilizando três sistemas construídos independentemente. A Figura 30 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos nesse estudo.

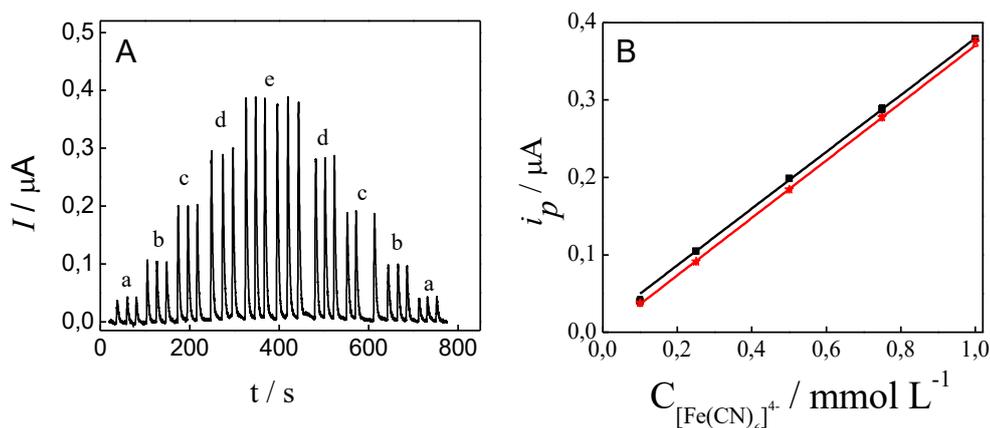
Figura 30 – Voltamogramas cíclicos registrados em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl na presença de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ empregando três sistemas diferentes. $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$.



A Figura 30 mostra consistência entre os resultados mesmo utilizando sistemas construídos separadamente, comprovando que o processo de montagem é reproduzível, com eficientes contatos elétricos e efetivo contato iônico entre o eletrodo de referência e a solução. Os valores de RSD para ΔE_p e I_{pa} foram 6% e 13% ($n=3$), respectivamente. Os maior RSD para I_{pa} pode ser atribuído as diferentes áreas eletroativas dos dispositivos causadas pela etapa de lixamento para remoção do excesso de cola epóxi durante o processo de montagem. Apesar de todos os dispositivos terem sido igualmente polidos com alumina antes das medidas eletroquímicas, é quase impossível obter superfícies com a mesma rugosidade. Contudo, isso não compromete a aplicabilidade do sistema desde que o mesmo dispositivo seja utilizado tanto para a calibração quanto para as análises. É importante destacar que todas as medidas foram realizadas em $500 \mu\text{L}$ de solução, entretanto, caso seja necessário, é possível reduzir esse volume desde que a toda a superfície do dispositivo esteja completamente submersa na solução eletrolítica.

Após verificar o bom desempenho do dispositivo eletroquímico miniaturizado em condições voltamétricas estacionárias, este dispositivo foi avaliado como detector amperométrico em um sistema FIA (Figura 10). Para isso, o dispositivo foi conectado a um reservatório (ponteira de micropipeta cortada) com capacidade de 200 μL , dois tubos acoplados a esse reservatório foram empregados como canal de entrada e saída da solução, conforme apresentado no esquema da Figura 9, conferindo assim uma configuração do tipo *wall-jet*. A Figura 31 apresenta os sinais transientes obtidos para injeções em ordem de concentração crescente e decrescente de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ no intervalo de 0,1 a 1,00 mmol L^{-1} e as curvas analíticas obtidas.

Figura 31 –A) Sinais transientes obtidos para injeções de soluções de diferentes concentrações de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$: a) 0,10; b) 0,25; c) 0,50; d) 0,75 e) 1,00 mmol L^{-1} . Solução carregadora: KCl 0,1 mol L^{-1} , vazão: 3 mL min^{-1} , volume de injeção: 100 μL , $E_{\text{detecção}} = +0,6 \text{ V}$. B) Curvas analíticas construídas injetando concentrações de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ em ordem crescente (■) e decrescente (★).



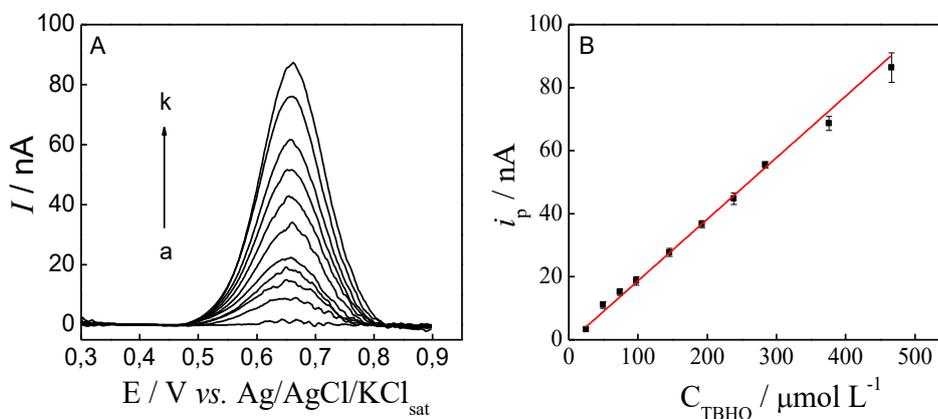
De acordo com a Figura 31A observa-se que o dispositivo respondeu de forma satisfatória quando acoplado ao sistema FIA, visto que sinais transientes repetitivos e com pouco ruído foram obtidos. Para ambas as curvas apresentadas na Figura 31B, uma boa linearidade foi obtida, de acordo com as seguintes equações: $I_p(\mu\text{A}) = -0,0131 + 0,3666 C_{[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}} (\text{mmol L}^{-1})$, $R^2 = 0,9998$ (crescente) e $I_{pc}(\mu\text{A}) = -0,0007 + 0,3712 C_{[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}} (\text{mmol L}^{-1})$, $R^2 = 0,9997$ (decrescente). A similaridade dos coeficientes angulares demonstra que não houve efeito de memória ou envenenamento da superfície eletródica durante os experimentos em condições hidrodinâmicas. Além disso, o dispositivo miniaturizado pode ser facilmente acoplado ao sistema FIA sem a necessidade de conectores sofisticados e células eletroquímicas complexas.

4.2.2 Desempenho analítico

O desempenho analítico do dispositivo miniaturizado foi avaliado empregando algumas espécies eletroativas relevantes como analitos modelo. Para seleção dos analitos dois critérios foram adotados: 1) apresentar comportamento eletroquímico bem estabelecido; 2) estudos eletroanalíticos recentes com eletrodos de Pt. Assim, quatro espécies foram selecionadas, sendo elas: dopamina (DP); terc-butil-hidroquinona (TBHQ), ácido ascórbico (AA) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). As técnicas eletroquímicas e o eletrólito de suporte foram selecionados de acordo com o analito, o potencial de detecção foi escolhido a partir de um voltamograma cíclico registrado com o dispositivo proposto. As Figura 32 -33 apresentam os estudos eletroquímicos e as curvas analíticas construídas. Para os quatro analitos avaliados, os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados de acordo com as respectivas equações: $\text{LD} = 3\text{sd}_B/\text{S}$ e $\text{LQ} = 10\text{sd}_B/\text{S}$, sendo sd_B o desvio padrão do intercepto da curva analítica e S o coeficiente angular da curva analítica. O desvio padrão do intercepto da curva analítica foi usado para estimar o sd_B [106].

O TBHQ é um antioxidante parcialmente solúvel em água, geralmente empregado como estabilizante para o biodiesel e conservante alimentício [114,115]. A exposição a altas concentrações dessa espécie pode trazer danos à saúde humana. Dessa forma, o desenvolvimento de métodos analíticos para a quantificação de TBHQ se faz muito importante [116]. Os estudos voltamétricos na presença de TBHQ foram realizados por DPV em meio ácido seguindo as seguintes condições: amplitude de pulso = 50mV, tempo de pulso = 50 ms e $v = 10 \text{ mVs}^{-1}$ [114]. Devido à baixa solubilidade do TBHQ em água, este analito foi utilizado para avaliar a resistência do dispositivo miniaturizado em meio orgânico. Portanto, as curvas analíticas foram construídas em 500 μL de uma mistura de etanol e 1,0 mol L^{-1} HClO_4 na proporção 90:10 (v:v), a Figura 32 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial nas diferentes concentrações de TBHQ e a curva analítica construída.

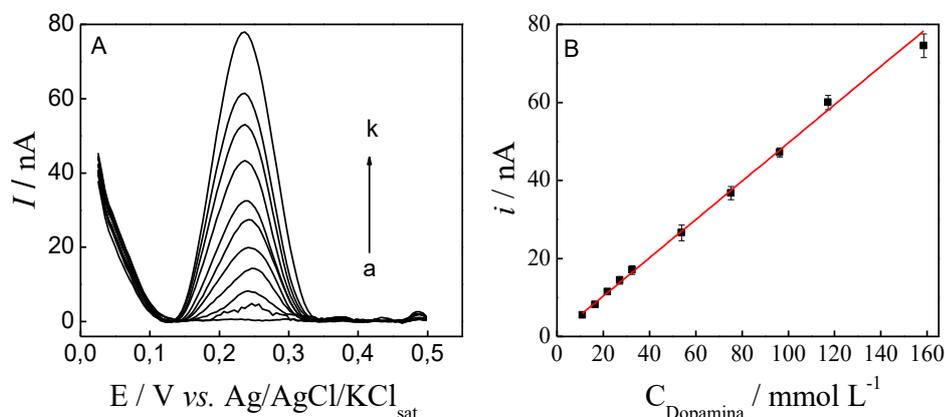
Figura 32 - A) Voltamogramas de pulso diferencial com a linha de base corrigida registrados em etanol: 1,0 mol L⁻¹ HClO₄ (90:10; v:v) em diferentes concentrações de TBHQ: a) branco; b) 24,9; c) 40,5; d) 73,7; e) 97,5; f) 145,1; g) 191,9; h) 238,2; i) 283,7; j) 375,4; k) 465,8 μmol L⁻¹. **B)** Curva analítica para TBHQ.



De acordo com os voltamogramas apresentados na Figura 32 A, nenhum processo faradaico foi registrado no intervalo de potencial avaliado quando o TBHQ não está presente, indicando que não há espécies eletroativas interferentes. Na presença de TBHQ, picos definidos em 0,65 V foram observados, sugerindo que o dispositivo miniaturizado proposto é estável em meio orgânico. A curva analítica foi linear no intervalo de 25 a 460 μmol L⁻¹ de acordo com a equação: $i_p(\text{nA}) = -0,750 + 0,195 C_{\text{TBHQ}} (\mu\text{mol L}^{-1})$, $R^2 = 0,99567$, foram obtidos LD e LQ de 8,9 e 29 μmol L⁻¹, respectivamente. A boa linearidade obtida e a ausência de danos físicos no dispositivo após horas imerso na mistura etanol:HClO₄ (90:10; v:v) confirmam a estabilidade do sensor em meio orgânico.

A próxima espécie avaliada foi a dopamina. A dopamina é um importante neurotransmissor e quando presente no corpo humano em níveis anormais pode causar efeitos adversos à saúde humana, entre eles a doença de Parkinson [117]. Portanto, a determinação de dopamina em amostras de fluidos biológicos é importante para fins de diagnóstico e monitoramento do tratamento. Os experimentos voltamétricos foram realizados de acordo com Oliveira *et al.* [118], os quais utilizaram folhas flexíveis de Pt para a determinação de dopamina, empregando a técnica de SWV com os seguintes parâmetros: amplitude de pulso = 20 mV; frequência = 25 Hz, incremento de potencial = 5 mV. A Figura 33 mostra os voltamogramas de onda quadrada registrados e curva analítica construída para dopamina.

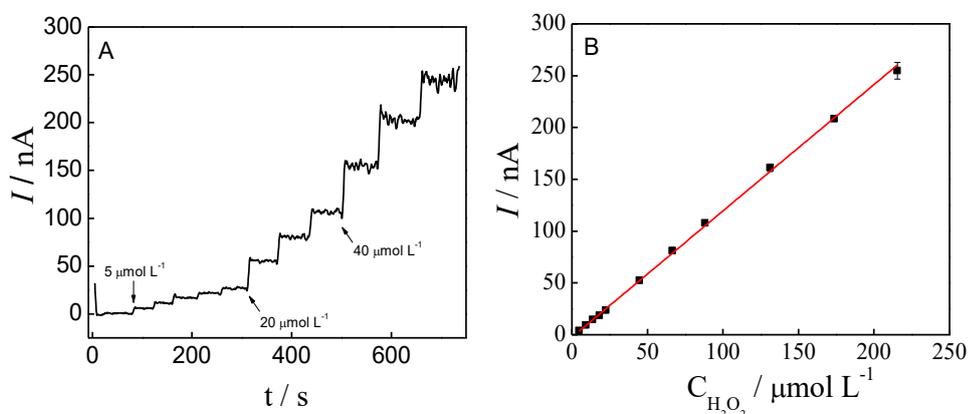
Figura 33 - A) Voltamogramas de onda quadrada com a linha de base corrigida registrados em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato pH = 6,8 em diferentes concentrações de dopamina: a) branco; b) 10,9; c) 16,4; d) 21,8; e) 27,2; f) 32,5; g) 53,9; h) 75,1; i) 96,2; j) 118,1; k) $158,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. **B)** Curva analítica para dopamina.



A Figura 33A mostra que a dopamina foi oxidada em $+0,24 \text{ V}$, as correntes de pico anódicas foram proporcionais a concentração de dopamina no intervalo de 10 a $160 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, como apresentado na Figura 33B. A equação da reta obtida foi: $i_p(\text{nA}) = 0,523 + 0,491 C_{\text{dopamina}} (\text{ } \mu\text{mol L}^{-1})$, $R^2 = 0,99706$, com um LD e LQ de $1,6$ e $5,3 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O dispositivo proposto apresentou desempenho analítico superior ao obtido com as folhas flexíveis de Pt (LD = $5,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) [118]. O melhor desempenho pode ser explicado devido a menor resistência elétrica do fio de Pt empregado como eletrodo de trabalho em comparação aos eletrodos de folhas de Pt flexíveis, os quais foram preparados a partir da deposição de Pt em um substrato isolante.

O dispositivo proposto também foi avaliado para a determinação amperométrica de H_2O_2 em meio neutro. O H_2O_2 é produto de algumas reações enzimáticas e sua quantificação é importante para o desenvolvimento de biossensores [119]. Durante todo experimento, a solução do eletrólito de suporte ($500 \text{ } \mu\text{L}$) foi mantida em agitação vigorosa, a Figura 34 mostra as respostas amperométricas e curva analítica para o H_2O_2 .

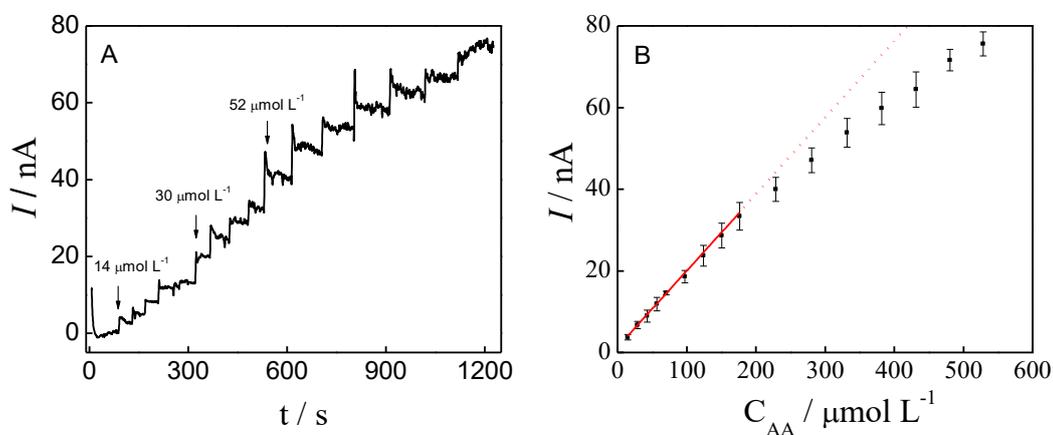
Figura 34 – A) Sinais amperométricos registrados em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato $\text{pH} = 6,8$ na presença de diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio. $E_{\text{detecção}} = 0,7 \text{ V}$. B) Curva analítica construída para peróxido de hidrogênio.



A Figura 34 mostra que o sinal amperométrico variou linearmente com a concentração de H_2O_2 no intervalo de 5 a $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de acordo com a equação: $i(\text{nA}) = -2,38 + 1,22 C_{\text{H}_2\text{O}_2}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$), $R^2 = 0,99913$, sendo obtidos LD e LQ de 1,1 e $3,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Os resultados obtidos comprovam que o dispositivo miniaturizado proposto apresenta capacidade para ser empregado na determinação de peróxido de hidrogênio, uma vez que os LD obtidos foram comparáveis aos LD (1 a $8 \mu\text{mol L}^{-1}$) alcançados por Agrisuelas *et al.* [120] empregando eletrodos de Pt *screen-printed*.

Por fim, o dispositivo miniaturizado proposto foi avaliado em meio básico empregando ácido ascórbico (AA) como analito modelo. O desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de AA é importante, visto que este composto é amplamente utilizado como antioxidante na indústria alimentícia [117]. Os experimentos amperométricos foram registrados em $500 \mu\text{L}$ de $\text{NaOH } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e as adições de AA foram realizadas sob agitação constante do eletrólito de suporte. A Figura 35 apresenta os resultados obtidos neste estudo.

Figura 35 - A) Sinais amperométricos registrados em 0,1 mol L⁻¹ de NaOH na presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico. E_{detecção} = 0,155 V. B) Curva analítica construída para ácido ascórbico.



O sinal amperométrico do AA variou linearmente no intervalo de 15 a 180 $\mu\text{mol L}^{-1}$, de acordo com a equação: $I(\text{nA}) = 1,33 + 0,187 C_{\text{AA}} (\mu\text{mol L}^{-1})$, $R^2 = 0,99684$. Para concentrações maiores que 180 $\mu\text{mol L}^{-1}$ um desvio negativo de linearidade foi observado, o que pode ser atribuído à rápida degradação de AA em meio básico e não uma limitação do dispositivo proposto. Durante os experimentos, foi observado, com o passar do tempo, que as soluções padrão de AA adquiriram uma coloração amarelo acastanhada, indicando uma possível degradação deste composto. Os LD e LQ calculados para o AA foram 3,7 e 12,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Na literatura, é possível encontrar métodos eletroanalíticos para determinação de AA com menores valores de LD, entretanto, na grande maioria das vezes, são necessários eletrodos modificados [121]. Além disso, normalmente as quantidades de AA presente nas amostras são elevadas e, portanto, a determinação deste composto não requer valores de LD extremamente baixos.

Como resumo, e para melhor visualização, algumas condições adotadas nos experimentos e os parâmetros analíticos obtidos para os analitos modelos empregando o dispositivo miniaturizado são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Condições experimentais e parâmetros analíticos obtidos para os analitos modelos.

Analito	Técnica	Meio	Intervalo linear/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	R^2	LD/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	Sensitividade/ $\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{L}$
TBHQ	DPV	Etanol/HClO ₄	25 - 460	0,99567	8,9	0,950
DP	SWV	Tampão fosfato	10 - 160	0,99706	1,6	0,491
H ₂ O ₂	Amperometria	Tampão fosfato	5-200	0,99684	3,7	0,187
AA	Amperometria	NaOH	15-180	0,99913	1,1	1,22

Os resultados apresentados na Tabela 5 comprovam a versatilidade do dispositivo, uma vez que pode ser utilizado para a determinação de muitos compostos aplicando variadas técnicas eletroquímicas e em diferentes meios, incluindo a mistura de etanol e HClO₄.

Os parâmetros analíticos obtidos foram comparados com outros métodos previamente reportados na literatura, conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 - Comparação entre o desempenho analítico do dispositivo miniaturizado proposto e outros sensores reportados na literatura para a determinação de TBHQ, dopamina, AA e H₂O₂.

Analito	Eletrodo de trabalho	Célula Eletroquímica	Intervalo linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Referência
TBHQ	Eletrodo 3D <i>PLA e carbono black</i>	Convencional	0,50 – 175	0,150	[122]
	Carbono vítreo ativação química	Convencional	1,0 – 1100	0,067	[123]
	Carbono vítreo modificado com MWCNT	Convencional	1,0 – 1000	0,260	[124]
	Ultramicroeletrodo de Pt	Convencional	860 – 4900	212,0	[125]
	Microeletrodo de Pt	Miniaturizada	25 – 460	8,9	Este trabalho
Dopamina	Eletrodos de Pt flexíveis <i>Screen-printed</i> modificado com MWCNT	Miniaturizada	35 – 800	5,1	[118]
	Carbono vítreo modificado com oxido de grafeno e nanopartículas de Au	Convencional	6,8 – 41,0	1,4	[127]
	Diamante dopado com boro com tratamento anódico	Convencional	0,1 – 200	1,0	[128]
	Microeletrodo de Pt	Miniaturizada	10 – 160	1,6	Este trabalho
	<i>Screen-printed</i> modificado nanopartículas de Pt	Convencional	0 – 215	1,9	[120]
H ₂ O ₂	<i>Screen-printed</i> modificado nanopartículas de Pt	Convencional	100 – 1000	0,14	[129]
	Eletrodo de ouro modificado com nanotubos de carbono e nanopartículas de platina	Convencional	5 – 200	1,2	[130]
	Carbono Vitreo modificado com nanopartículas de Ag e polianilina	Convencional	10– 90	0,23	
	Microeletrodo de Pt	Miniaturizada	5 – 200	1,1	Este trabalho
	Eletrodo de Pt modificado com nanopartículas de Co-Pt	Convencional	10 – 500	0,37	[121]
AA	Carbono vítreo modificado com MWCNT	Convencional	5 – 120	3,5	[131]
	Carbono vítreo modificado com oxido de grafeno e nanopartículas de Au	Convencional	240 – 1500	51	[132]
	Carbono vítreo modificado com nanopartículas de Pt-Pd, quitosana e grafeno	Convencional	2 – 400	0,97	[133]
	Microeletrodo de Pt	Miniaturizada	15 – 180	3,7	Este trabalho

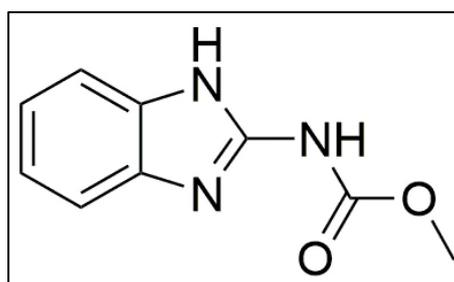
PLA: ácido polilático; MWCNT: nanotubos de carbono de paredes múltiplas;

A Tabela 6 mostra que o dispositivo miniaturizado proposto forneceu faixas de trabalho e limites de detecção comparáveis a outros métodos eletroanalíticos convencionais previamente reportados na literatura, os quais geralmente utilizam células eletroquímicas convencionais com volumes de eletrólito de suporte significativamente maiores (da ordem de 10 mL), eletrodos de maior tamanho e modificados. Dessa forma, comprova-se que a miniaturização do dispositivo e a utilização de materiais alternativos não prejudicou a detectabilidade dos analitos avaliados.

4.2.3 Modificação do eletrodo de trabalho com SD-MWCNT e determinação de CBZ

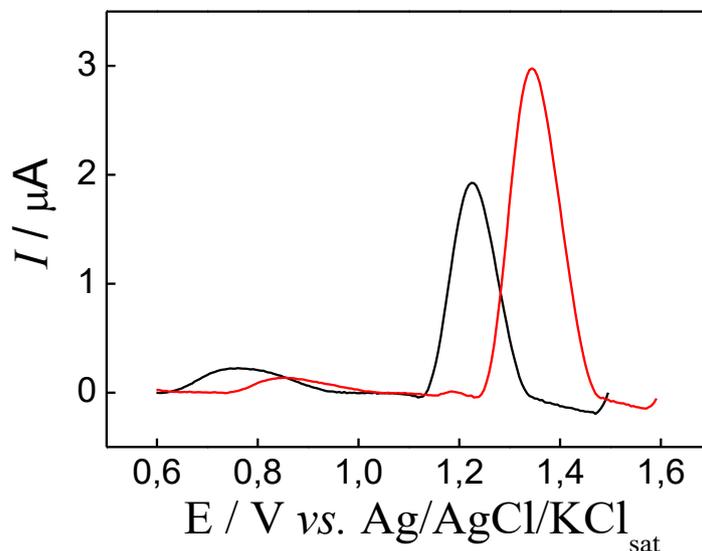
A aplicabilidade do dispositivo miniaturizado proposto foi avaliada para a determinação de carbendazim (CBZ) em amostras de água e de suco de laranja. O CBZ apresentado na **Figura 36** é um fungicida amplamente utilizado em plantações de laranjas [91]. Devido ao alto consumo de suco laranja no mundo e aos possíveis danos ambientais que este agrotóxico pode causar, o controle dos níveis de CBZ tanto em amostras de sucos quanto em água faz-se necessário [134]. Assim, o desenvolvimento de métodos analíticos empregando dispositivos eletroanalíticos miniaturizados é uma alternativa promissora para responder a este problema analítico, pois além de reduzir a quantidade de resíduos gerados, a detectabilidade também pode ser aprimorada devido a diminuição do fator de diluição do analito no eletrólito de suporte.

Figura 36 – Estrutura química do carbendazim.



O comportamento eletroquímico de CBZ foi avaliado utilizando o dispositivo miniaturizado proposto. Para isso, voltamogramas de pulso diferencial foram registrados em 500 μL de 0,04 mol L^{-1} de tampão B.R. pH = 2 na ausência e na presença de CBZ, os voltamogramas de pulso diferencial para este estudo são apresentados na Figura 37.

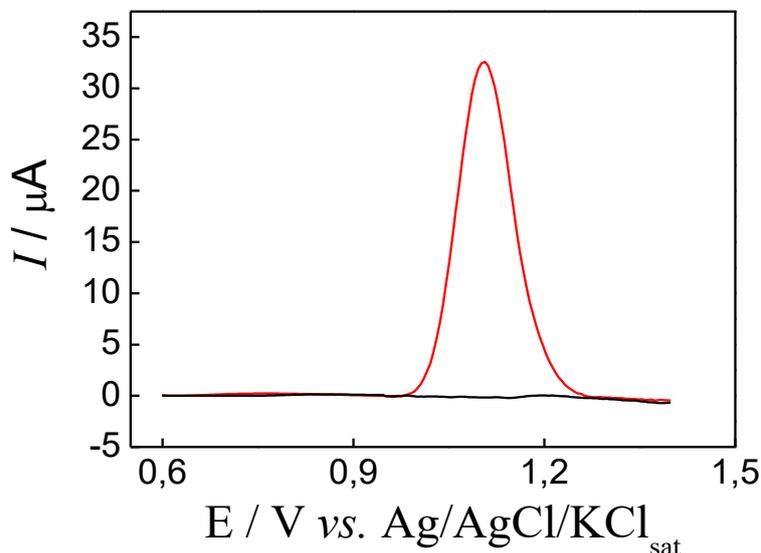
Figura 37– Voltamogramas de pulso diferencial com linha de base corrigida registrados em uma solução de tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 2 registrados com dispositivo miniaturizado: (—) ausência de CBZ e (—) presença de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CBZ. Condições voltamétricas: Amplitude de pulso = 80 mV, tempo de pulso = 30 ms, incremento de potencial = 5 mV e $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.



A Figura 37 mostra que um pico voltamétrico em 1,22 V foi registrado no branco, e que a presença de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CBZ causou apenas um ligeiro aumento na intensidade de corrente e um deslocamento deste pico para potenciais mais positivos. Para verificar se o processo de oxidação registrado no branco estava relacionado a alguma impureza presente na célula eletroquímica, tanto o dispositivo miniaturizado quanto o compartimento do eletrólito de suporte foram submetidos a uma limpeza rigorosa. Antes de registrar as medidas voltamétricas em uma nova solução de tampão B.R., o eletrodo de trabalho foi polido, lavado com água ultrapura e ativado em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 . Mesmo realizando todos os procedimentos de limpeza, o pico anódico do branco permaneceu, este comportamento impossibilita a aplicação do eletrodo de Pt do dispositivo miniaturizado para a determinação de CBZ.

Visando a determinação de CBZ em microvolumes de solução, o eletrodo de trabalho foi modificado com MWCNT. É conhecido que os nanotubos de carbono fornecem alta sensibilidade para a determinação eletroquímica de CBZ devido as suas propriedades, tais como: alta área superficial e atividade eletrocatalítica para diversas reações eletroquímicas [135–137]. A modificação do eletrodo de trabalho foi realizada conforme descrito na seção 3.3.2 apresentada na página 44. O comportamento eletroquímico de CBZ empregando o eletrodo modificado com FSD-MWCNT foi avaliado sob as mesmas condições voltamétricas anteriores. A Figura 38 mostra os voltamogramas de pulso diferencial registrados em $500 \text{ } \mu\text{L}$ de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão B.R. pH = 2 na ausência e na presença de CBZ.

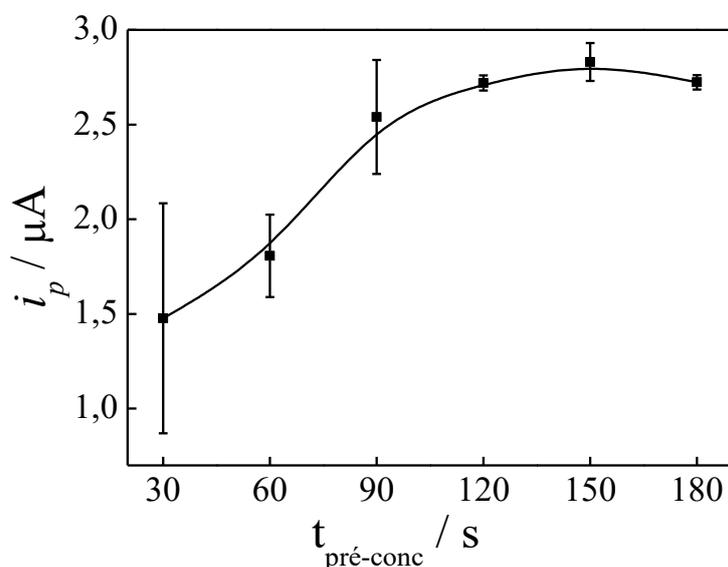
Figura 38 - Voltamogramas de pulso diferencial com linha de base corrigida registrados em uma solução de tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ $\text{pH} = 2$ registrados com dispositivo miniaturizado modificado com SD-MWCNT: (—) ausência de CBZ e (—) presença de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CBZ. Condições voltamétricas: Amplitude de pulso = 80 mV , tempo de pulso = 30 ms , incremento de potencial = 5 mV e $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$.



Como pode ser observado na Figura 38, nenhum processo de oxirredução foi registrado em tampão B.R. no intervalo de $0,6$ e $1,4 \text{ V}$. Porém, quando $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CBZ foram adicionados à célula eletroquímica um pico anódico intenso e estreito em $1,10 \text{ V}$ foi obtido, indicando que o dispositivo miniaturizado modificado com FSD-MWCNT é capaz de detectar CBZ.

Durante os experimentos voltamétricos, notou-se uma variação da intensidade do sinal voltamétrico de CBZ dependendo do tempo que o dispositivo ficava em contato com a solução do agrotóxico. Este comportamento sugere que alguma interação entre o CBZ e o FSD-MWCNT estaria ocorrendo. Para verificar essa hipótese, o efeito do tempo de pré-concentração em potencial de circuito aberto (OCP, do inglês *open-circuit potential*) foi avaliado. Para este estudo, voltamogramas de pulso diferencial foram registrados após diferentes tempos de contato do eletrodo com a solução de CBZ, sendo esta etapa realizada em agitação constante na presença de $2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CBZ. A Figura 39 apresenta o gráfico da variação da corrente de pico em função do tempo de contato.

Figura 39 – Influência do tempo de pré-concentração em OCP na resposta voltamétrica de $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CBZ. Condições voltamétricas: Amplitude de pulso = 80 mV, tempo de pulso = 30 ms, incremento de potencial = 5 mV e $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$. Barras de erro indicam o desvio padrão de I_{pa} para $n = 3$.

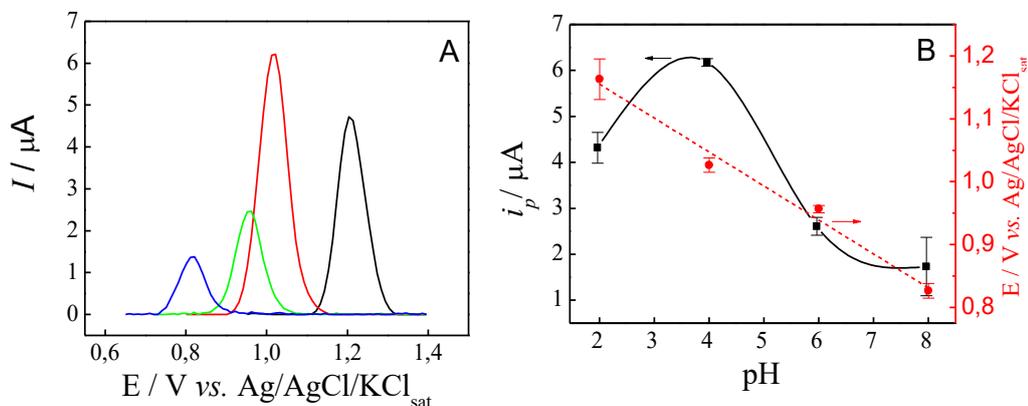


A partir da Figura 39 pode-se confirmar que maiores quantidades do agrotóxico são adsorvidas na superfície do eletrodo, uma vez que foi registrado um aumento da i_p com o aumento do tempo de pré-concentração no intervalo de 30 a 120 s. Após este período, o sinal estabilizou, indicando uma saturação dos sítios disponíveis para a pré-concentração. Embora o tempo de 120 s tenha fornecido um RSD menor (1,5%) em relação ao RSD (3,5%) de 150 s, durante os experimentos foi observada uma tendência de queda do sinal voltamétrico entre os voltamogramas da triplicata para tempos inferiores a 120 s. Entretanto, para tempos de pré-concentração superiores a 120 s, as medidas variaram aleatoriamente e não seguiram uma tendência. Assim, considerando a intensidade do sinal voltamétrico e a repetitividade da medida, o tempo de 150 s para a pré-concentração foi escolhido como tempo ótimo para prosseguir os estudos.

Em seguida, os parâmetros voltamétricos da técnica de pulso diferencial foram otimizados e as melhores condições obtidas foram: amplitude de pulso = 75 mV, tempo de pulso = 30 ms, incremento de potencial = 7,5 mV e $v = 15 \text{ mV s}^{-1}$.

Empregando-se as condições otimizadas, a influência do pH do eletrólito de suporte no potencial de pico e na intensidade de corrente de pico do CBZ foi avaliada. Para cada valor de pH, as medidas voltamétricas foram realizadas em triplicata, a Figura 40 apresenta os resultados obtidos para este estudo.

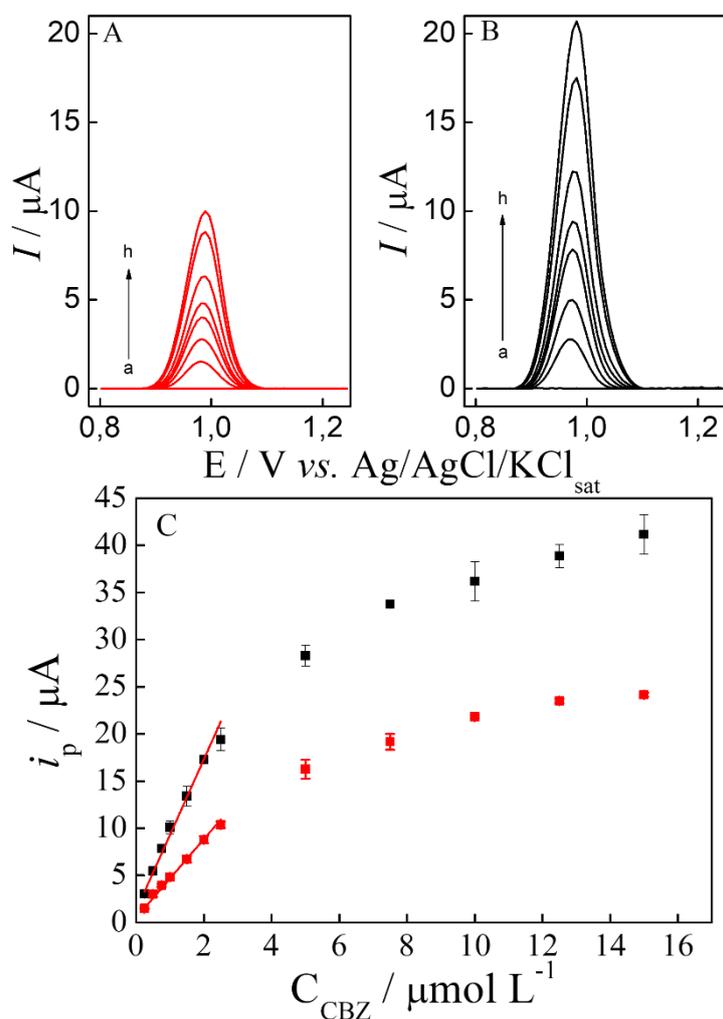
Figura 40 – **A)** Voltamogramas de redissolução adsortiva por pulso diferencial com linha de base corrigida registrados com o dispositivo miniaturizado modificado com SD-MWCNT em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão B.R. na presença $1,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CBZ em diferentes valores de pH: (—) 2, (—) 4, (—) 6 e (—) 8. **B)** Influência do pH na i_p (■) e no E_p (●). Condições voltamétricas: Amplitude de pulso = 75 mV , tempo de pulso = 30 ms , incremento de potencial = $7,5 \text{ mV}$, $v = 15 \text{ mV s}^{-1}$ e $t_{\text{pré-conc}} = 150 \text{ s}$ em OCP.



A Figura 40 mostra que o pH afeta o processo de oxidação do CBZ, indicando a existência de etapas de protonação acopladas as transferências eletrônicas. O E_p variou linearmente com o pH do eletrólito de suporte de acordo com a equação: $E_p \text{ (V)} = 1,263 - 0,054 \text{ pH}$, $R^2 = 0,9794$, sugerindo que o processo de oxidação envolva o mesmo número de prótons e de elétrons, o que é concordante com os resultados apresentados em alguns trabalhos da literatura [138,139]. O gráfico de i_p em função do pH mostra que a corrente de oxidação máxima foi atingida em pH 4, valor também encontrado por outros autores que determinaram CBZ eletroquimicamente [91,140,141]. Baseado nestes resultados, todos os estudos subsequentes foram realizados em solução de tampão B.R. pH = 4.

Sabendo que a funcionalização dos nanotubos de carbono influencia o comportamento eletroquímico de alguns compostos, o efeito do pré-tratamento ácido dos MWCNTs na resposta voltamétrica de CBZ foi avaliado a partir de curvas analíticas construídas no intervalo de $0,25$ a $15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CBZ empregando o dispositivo modificado com os dois tipos de nanotubos: FSD-MWCNT (funcionalizado) e SD-MWCNT (não funcionalizado), conforme mostra a Figura 41.

Figura 41 – Voltamogramas de redissolução adsortiva por pulso diferencial com linha de base corrigida registrados em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão B.R. pH = 4 com o dispositivo miniaturizado modificado com (A) FSD-MWCNT e (B) SD-MWCNT em diferentes concentrações de CBZ: a) branco, b) 0,25, c) 0,50, d) 0,75, e) 1,0, f) 1,5, g) 2,0 e h) $2,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. C) Curva analítica construída para CBZ empregando dispositivos miniaturizados modificados com diferentes nanotubos de carbono (■) FSD-MWCNT e (■) SD-MWCNT. Condições voltamétricas: Amplitude de pulso = 75 mV, tempo de pulso = 30 ms, incremento de potencial = 7,5 mV, $v = 15 \text{ mV s}^{-1}$ e $t_{\text{pré-conc}} = 150 \text{ s}$ em OCP.



A Figura 41 A e B mostra que os perfis voltamétricos obtidos para os diferentes dispositivos modificados foram semelhantes, ambos com E_p em aproximadamente +0,98 V. Em relação a corrente de pico, foi observado um aumento, de quase duas vezes, na corrente anódica quando o dispositivo miniaturizado modificado com nanotubos não funcionalizados foi utilizado. Além disso, a sensibilidade foi significativamente melhorada quando este MWNCT foi empregado, Figura 41 C. Embora alguns estudos demonstrem que a funcionalização ácida fornece melhor desempenho analítico [96,142], alguns autores observaram melhores desempenhos analíticos para os nanotubos não funcionalizados [99,143]. Segundo esses autores, a funcionalização diminui a área superficial e remove as impurezas metálicas, as quais

poderiam atuar como eletrocatalisadores. Além disso, outros autores ressaltam que os nanotubos funcionalizados são mais suscetíveis a efeitos de envenenamento da superfície eletródica [95]. Portanto, é necessário avaliar o efeito da funcionalização para cada composto de interesse e, portanto, generalizações sobre a funcionalização dos nanotubos devem ser evitadas. A Tabela 7 apresenta os parâmetros analíticos obtidos a partir das curvas analíticas construídas para o CBZ.

Tabela 7 – Parâmetros analíticos obtidos para o CBZ empregando diferentes dispositivos modificados.

Dispositivo modificado	Intervalo linear/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	R^2	LD/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	Sensibilidade/ $\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}$	Intercepto/ μA
SD-MWCNT	0.25 – 2.50	0.99707	0.05	8.53	1.04
FSD-MWCNT	0.25 – 2.50	0.99344	0.06	4.39	0.452

Para ambos os dispositivos, o mesmo intervalo linear foi obtido, 0,25 a 2,50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CBZ. A sensibilidade foi aumentada duas vezes quando o dispositivo modificado SD-MWCNTs foi utilizado, além disso, menor valor de LD foi alcançado. A precisão intradia e em dias diferentes obtidas empregando 3 diferentes sensores modificados com SD-MWCNTs na presença de 0,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CBZ, foram de 12% e 3,2%, respectivamente. Considerando o melhor desempenho analítico, o dispositivo modificado com SD-MWCNTs foi utilizado para a determinação de CBZ em amostras reais.

Para todas as amostras analisadas, não foi observado o pico referente a oxidação do CBZ, indicando que esta espécie está ausente na amostra ou em concentrações abaixo da detectável pelo método proposto. Estas amostras foram, então, submetidas a estudos de adição e recuperação. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos utilizando a calibração por adição de padrão são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Resultados das recuperações de CBZ em diferentes amostras.

Amostra	Adicionado* ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado** ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação** (%)
Água mineral	0,80	0,74 \pm 0,07	92 \pm 9
Suco de laranja A	0,80	0,72 \pm 0,05	90 \pm 6
Suco de laranja B	0,80	0,79 \pm 0,05	99 \pm 6

* Concentração presente na célula eletroquímica. **Valores expressos como valor médio \pm SD.

A Tabela 8 mostra porcentagens de recuperação no intervalo de 90 a 99 %, indicando que o dispositivo proposto fornece exatidão satisfatória para a determinação de CBZ nas amostras analisadas. Além disso, as porcentagens de recuperação próximas a 100 % sugerem que as espécies presentes nas matrizes destas amostras não interferem significativamente na quantificação de CBZ. O método analítico proposto também apresentou precisão satisfatória, uma vez que os valores de RSD foram relativamente baixos para todas as amostras analisadas. O conjunto de resultados apresentados na Tabela 8 demonstra que o dispositivo miniaturizado modificado com SD-MWCNTs pode ser aplicado como sensor na determinação de CBZ. Além disso, as determinações de CBZ realizadas em microvolumes de solução abrem possibilidades para a integração do dispositivo proposto a etapas de pré-tratamento de amostras, como por exemplo procedimentos de extração [144]. Neste caso, as medidas eletroquímicas poderiam ser realizadas diretamente em microlitros do extrato sem a necessidade de diluição em eletrólito de suporte, o que poderia melhorar significativamente a detectabilidade do método.

4.3 Dispositivo 3: Sistema eletroquímico miniaturizado baseado em seringa descartável e fios metálicos acoplado a extração por volatilização.

Considerando que a ideia central do trabalho é desenvolver dispositivos miniaturizados utilizando materiais alternativos de custo relativamente baixo, o terceiro dispositivo miniaturizado foi construído utilizando uma seringa de insulina como suporte para os eletrodos. O eletrodo de trabalho foi um fio de cobre ($\Phi = 1 \text{ mm}$), normalmente utilizado em instalações elétricas residenciais, o eletrodo pseudo-referência foi um fio de Ag recoberto com AgCl, recuperado de um eletrodo de vidro combinado e o eletrodo auxiliar foi uma placa fina de Pt, reaproveitada de uma célula de condutância quebrada. As etapas de construção deste dispositivo são descritas na seção 3.3.3 e representadas na Figura 11. É importante destacar que todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em 500 μL de solução. Por fim, o dispositivo construído foi acoplado a um sistema de extração por volatilização e utilizado como detector na determinação voltamétrica de sulfito após a extração.

Os agentes sulfitantes são aditivos alimentares amplamente utilizados como conservantes em alimentos e bebidas devido à sua ação antioxidante que evita a ocorrência de reações de deterioração e o crescimento microbiano [145]. A denominação dos conservantes alimentícios é realizada por meio de um número específico denominado INS (do inglês, *International Numbering System*), estabelecido pela Organização Mundial da Saúde. A Tabela

9 apresenta o INS e fórmula química dos diferentes agentes sulfitantes empregados como conservante alimentício permitidos pela legislação brasileira [146]. Embora os derivados de sulfito sejam bem tolerados, a ingestão de elevadas quantidades deste ânion pode provocar alguns efeitos adversos, tais como: asma, alergias e distúrbios gastrointestinais [147]. Nesse sentido, a OMS recomenda que a ingestão máxima de sulfito não ultrapasse 0,7 mg (de SO₂) Kg⁻¹ (peso corporal). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, determina que o uso permitido de sulfito em alimentos é de 0,03 g/100 g e em bebidas 0,03 mL/100 mL [146].

Tabela 9 - Agentes sulfitantes utilizados como aditivos em alimentos.

Agentes sulfitantes	Fórmula química	INS
Dióxido de enxofre	SO ₂	220
Sulfito de sódio	Na ₂ SO ₃	221
Bissulfito de sódio	NaHSO ₃	222
Metabissulfito de sódio	Na ₂ S ₂ O ₅	223
Metabissulfito de potássio	K ₂ S ₂ O ₅	224
Sulfito de potássio	K ₂ SO ₃	225
Sulfito de cálcio	CaSO ₃ ×2H ₂ O	226
Bissulfito de cálcio	Ca(HSO ₃) ₂	227
Bissulfito de potássio	KHSO ₃	228

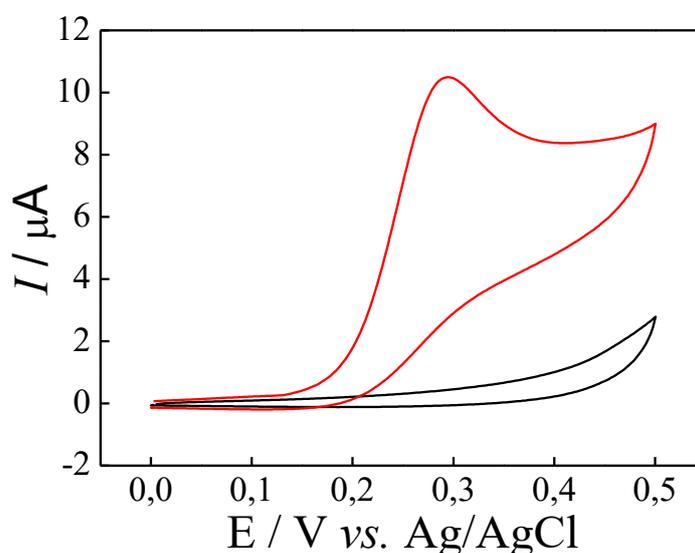
A destilação de Monier-Willians é o método oficial para a determinação de sulfito segundo a AOAC. Neste método, a quantidade de sulfito é determinada a partir da destilação de SO_{2(g)} proveniente da extração ácida do sulfito. Em meio ácido (pH<3) as espécies derivadas de sulfito são convertidas em SO₂ gasoso a partir do deslocamento dos equilíbrios químicos representados pela Equação 1 no sentido de formação de produtos. O SO₂ gasoso é coletado em uma solução de peróxido de hidrogênio, onde é oxidado a ácido sulfúrico e, sequencialmente, titulado com uma solução de hidróxido de sódio padronizada. Apesar de eficiente, este método é trabalhoso e demorado pois envolve muitas etapas. Por esse motivo, o desenvolvimento de métodos analíticos simples e rápidos, capazes de determinar sulfito em amostras de alimentos e bebidas é muito importante.

4.3.1 Caracterização do dispositivo eletroquímico miniaturizado

Inicialmente, foi realizada uma investigação do comportamento voltamétrico do sulfito em meio básico empregando o dispositivo miniaturizado proposto. O meio alcalino foi

escolhido pois o SO_2 gasoso um gás ácido produto da extração ácida de sulfito (Equação 1) é mais solúvel em soluções alcalinas. Além disso, alguns trabalhos publicados na literatura demonstram que eletrodos de cobre são adequados para oxidar sulfito em soluções alcalinas devido ao efeito eletrocatalítico promovido pelas espécies de Cu [148]. A Figura 42 mostra os primeiros voltamogramas cíclicos registrados com o dispositivo miniaturizado em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na ausência e na presença de sulfito.

Figura 42 – Voltamogramas cíclicos registrados em $500 \mu\text{L}$ de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH empregando o dispositivo miniaturizado: (—) ausência de sulfito e (—) presença de 3 mmol L^{-1} de sulfito. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

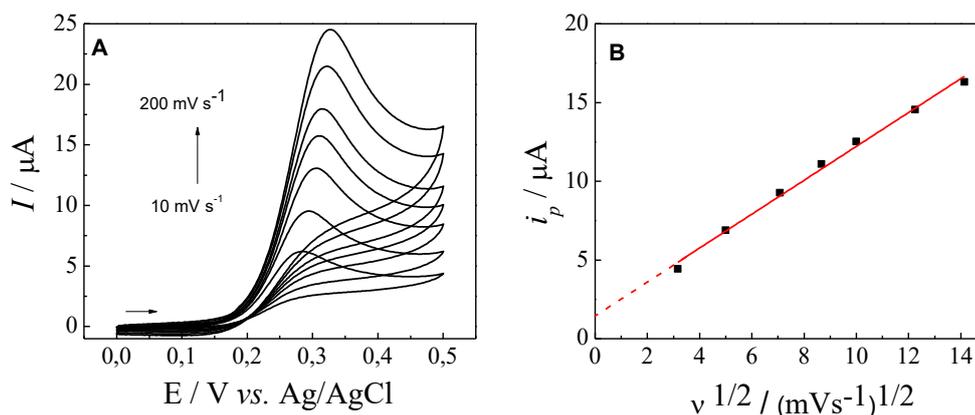


Uma baixa corrente de fundo foi obtida na ausência de sulfito, além disso também não foram observados picos voltamétricos relacionados aos processos de oxirredução de Cu neste intervalo de potencial, comportamento também observado por outros autores que utilizaram eletrodos de Cu em meio básico [148,149]. A baixa corrente de fundo registrada, indica que o sistema eletroquímico miniaturizado é potencialmente aplicável para fins analíticos, uma vez que maiores razões sinal-ruído poderiam ser obtidas. Na presença de 3 mmol L^{-1} de sulfito, um pico intenso e bem definido em $0,3 \text{ V}$, correspondente a oxidação de sulfito foi observado. Em meio alcalino, o sulfito é oxidado a sulfato em um processo que envolve a transferência de dois elétrons [145]. Embora o dispositivo tenha sido construído com um eletrodo de pseudo-referência, o potencial de pico para oxidação de sulfito foi muito semelhante ao relatado na literatura [148].

O processo de oxidação de sulfito no eletrodo de cobre do dispositivo miniaturizado foi investigado registrando-se voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura. A Figura 43 apresenta os voltamogramas registrados em $500 \mu\text{L}$ de uma solução de NaOH $0,1$

mol L⁻¹ contendo 3 mmol L⁻¹ de sulfito, variando-se a velocidade de varredura no intervalo de 10 a 200 mV s⁻¹.

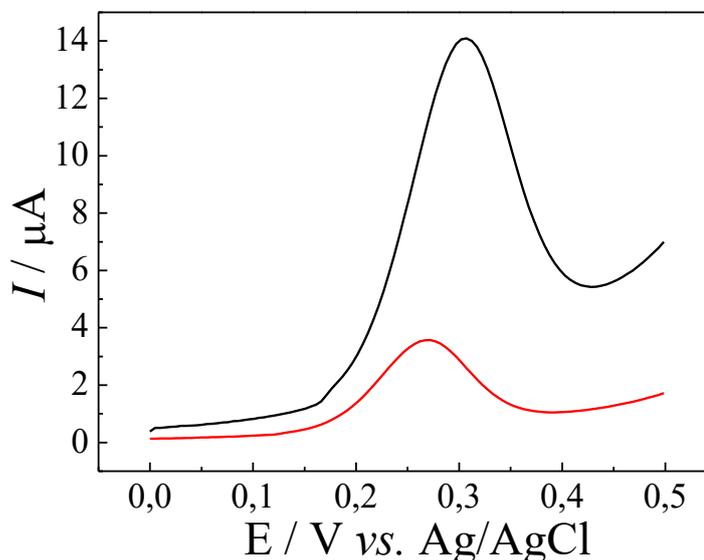
Figura 43 – **A)** Voltamogramas cíclicos registrados com o dispositivo miniaturizado em 500 μL de 0,1 mol L⁻¹ de NaOH na presença de 3,0 mmol L⁻¹ de sulfito em diferentes velocidades de varredura: a) 10, b) 20, c) 30, d) 40, e) 50, f) 75, g) 100, h) 125, i) 150 e j) 200 mV s⁻¹. **B)** Gráfico da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.



Como pode ser observado na Figura 43A, o aumento da velocidade de varredura aumentou a intensidade do pico do sulfito, e nenhum processo catódico foi registrado nas velocidades de varredura avaliadas. O deslocamento do pico para potenciais mais positivos com o aumento da velocidade de varredura sugere que o processo de oxidação de sulfito seja irreversível [150,151]. A Figura 43B mostra que as correntes de pico anódica são diretamente proporcionais à raiz quadrada da velocidade de varredura, de acordo com a equação: $I_{pa}(\mu\text{A}) = 1,456 + 1,075 v^{1/2}(\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, $R^2 = 0,99372$, demonstrando que, nessas condições experimentais, o processo é controlado por difusão [98]. Os resultados obtidos neste estudo mostram que o comportamento voltamétrico do sulfito sobre o eletrodo de Cu miniaturizado é similar ao observado na literatura para eletrodos de Cu convencionais [148]. Este resultado é importante pois mostra que apesar do fio de cobre utilizado ser um material comercial e de baixo custo, ele forneceu resultados similares a fios de Cu de alta pureza, geralmente utilizados em estudos eletroquímicos. Além disso, estes resultados mostram que a miniaturização não trouxe qualquer prejuízo para a resposta voltamétrica do sulfito.

É conhecido que as técnicas voltamétricas de pulso fornecem maior sensibilidade e detectabilidade para os métodos eletroanalíticos. Neste sentido, a detecção de sulfito empregando o dispositivo miniaturizado foi avaliada aplicando-se duas técnicas de pulso: voltametria de onda quadrada e de pulso diferencial. A Figura 44 mostra os voltamogramas registrados em 500 μL de NaOH 0,1 mol L⁻¹ contendo 3 mmol L⁻¹ de sulfito.

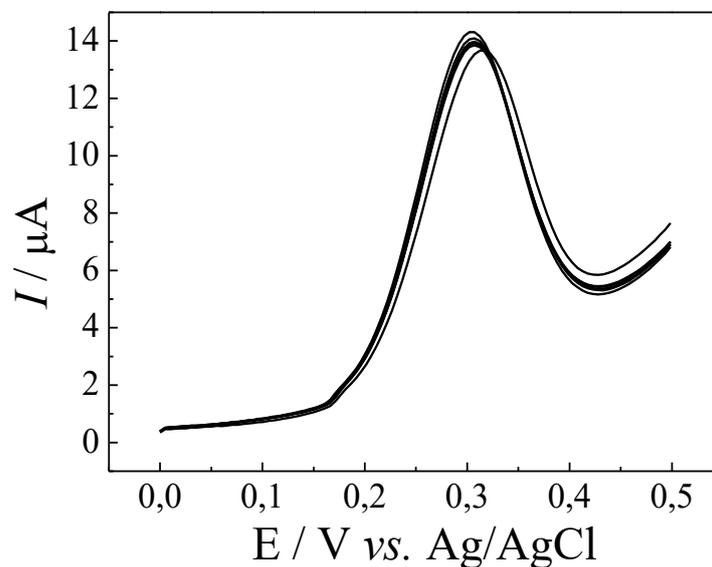
Figura 44 – Voltamogramas registrados com o dispositivo miniaturizado em 500 μL de NaOH 0,1 mol L^{-1} na presença de 3 mmol L^{-1} de sulfito empregando diferentes técnicas voltamétricas: (—) DPV e (—) SWV. Condições voltamétricas DPV) $\Delta E = 20 \text{ mV}$, $t_p = 25 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$; SWV) $\Delta E = 20 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$.



A partir da Figura 44, pode ser observado que a voltametria de onda quadrada forneceu maior pico voltamétrico em relação a voltametria de pulso diferencial. Além disso, a SWV permite que as medidas sejam realizadas mais rapidamente do que as medidas de DPV, fornecendo uma maior frequência analítica, característica importante para métodos analíticos. Com base nesse resultado, a técnica de SWV foi escolhida para os estudos posteriores.

Após a escolha da melhor técnica voltamétrica, foi realizada a otimização dos parâmetros da SWV a fim de proporcionar melhor perfil voltamétrico, bem como maior sensibilidade para a quantificação de sulfito. Os melhores perfis voltamétricos foram obtidos nas seguintes condições: frequência (f) = 50 Hz, amplitude de pulso (ΔE_p) = 50 mV e incremento de potencial (ΔE_s) = 6 mV. Seguindo todas as condições otimizadas, a repetitividade da medida de onda quadrada foi avaliada registrando-se seis voltamogramas sucessivos na presença de 3 mmol L^{-1} de sulfito, Figura 45.

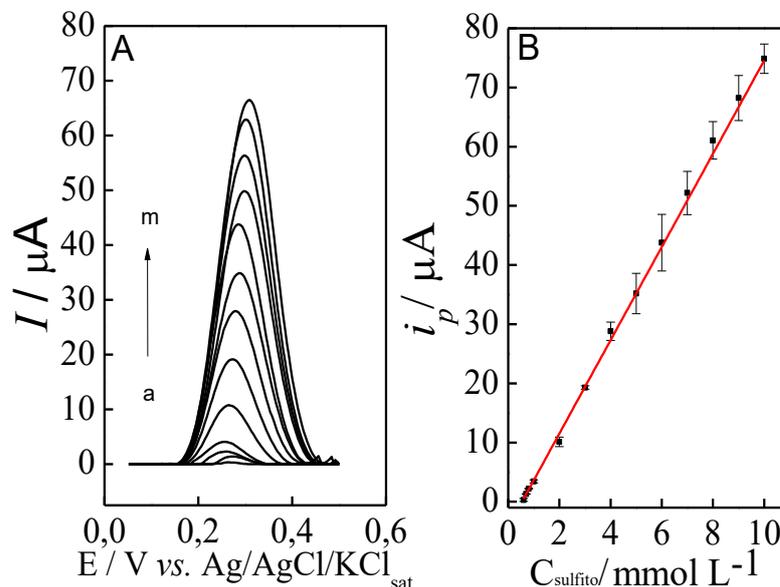
Figura 45 – Voltamogramas de onda quadrada sucessivos registrados em 500 μL de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de 3 mmol L^{-1} de sulfito empregando o dispositivo miniaturizado. Condições voltamétricas: SWV) $\Delta E = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$.



A partir da Figura 45 é observado que o perfil voltamétrico para oxidação de sulfito não foi alterado durante as sucessivas varreduras de potencial, sendo obtido um $\text{RSD} = 3\%$ para os valores de corrente de pico ($n=6$). Estes resultados indicam que a superfície eletródica do dispositivo miniaturizado permanece estável mesmo após várias medidas sucessivas.

O desempenho analítico do dispositivo para a determinação de sulfito foi avaliado a partir de três curvas analíticas construídas em um único dia e em dias diferentes. Para isso, voltamogramas de onda quadrada sob as condições otimizadas foram registrados em diferentes concentrações de sulfito, a Figura 46 apresenta os resultados obtidos neste estudo.

Figura 46 - **A)** Voltamogramas de onda quadrada com a linha de base corrigida registrados em NaOH 0,1 mol L⁻¹ em diferentes concentrações de sulfito: a) 0,6; b) 0,7; c) 0,8; d) 1,0; e) 2,0; f) 3,0; g) 4,0; h) 5,0; i) 6,0; j) 7,0; k) 8,0; l) 9,0 e m) 10,0 mmol L⁻¹. **B)** Curva analítica para sulfito intradia. Barras de erro indicam o desvio padrão de i_p para $n = 3$. Condições voltamétricas: SWV) $\Delta E = 50$ mV, $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 6$ mV.



A corrente de pico de oxidação do sulfito variou linearmente com o aumento da concentração de sulfito no intervalo de 0,6 a 10 mmol L⁻¹, de acordo com a equação: $I_p(\mu A) = -4,219 + 7,878 C_{sulfito} (mmol L^{-1})$, $R^2 = 0,99866$. A partir da curva de calibração, os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados de acordo com as respectivas equações: $LD = 3s_{dB}/S$ e $LQ = 10s_{dB}/S$, sendo s_{dB} o desvio padrão do intercepto da curva analítica e S o coeficiente angular da curva analítica [106]. Os limites de detecção e quantificação foram 0,03 e 0,10 mmol L⁻¹, respectivamente. O valor de RSD dos coeficientes angulares das curvas analíticas construídas no mesmo dia e em dias diferentes foram 1 e 5 %, respectivamente. Estes resultados mostram que o dispositivo apresenta um desempenho analítico satisfatório, uma vez que limites LD e LQ obtidos são comparáveis a outros métodos apresentados na literatura [148,152]. Além disso, os valores de RSD obtidos comprovam que a precisão do dispositivo miniaturizado foi satisfatória mesmo quando as calibrações foram realizadas em dias diferentes.

4.3.2 Integração do dispositivo a um sistema de extração por volatilização de sulfito

A determinação de sulfito em amostras reais por meio das técnicas eletroanalíticas é um grande desafio devido à complexidade das matrizes das amostras que muitas vezes contêm

espécies que se oxidam no mesmo potencial do sulfito [92]. As principais espécies interferentes incluem: ácido ascórbico, frutose, glicose e compostos polifenólicos [153]. A conversão de sulfito a SO_2 gasoso por ação de um ácido forte (Equação 1), seguida da difusão deste gás para um outro compartimento contendo uma solução receptora é uma alternativa promissora para detectar sulfito eletroquimicamente, tendo em vista que a maioria dos interferentes não são voláteis. Entretanto, a maior parte dos procedimentos de separação por volatilização gasosa requerem sistemas complexos, os quais incluem equipamentos e materiais de alto custo, tais como: membranas seletivas, bombas, entre outros. Nesta perspectiva, trabalhos desenvolvendo métodos alternativos mais simples e com materiais de baixo custo, para a detecção de SO_2 gasoso após extração por volatilização estão sendo reportados na literatura [85]. Geralmente, a detecção de sulfito após a extração por volatilização gasosa é realizada separadamente, acrescentando ao método analítico mais uma etapa e, conseqüentemente, mais uma fonte de erro. Neste sentido, Shahvar *et al.* [154] desenvolveram um dispositivo baseado em papel para determinação de sulfito após a extração ácida. O dispositivo de papel modificado com Ferro (III) e fenantrolina foi posicionado no interior do compartimento de extração, o complexo vermelho formado a partir da reação de fenantrolina e ferro (II) foi detectado utilizando um smartfone.

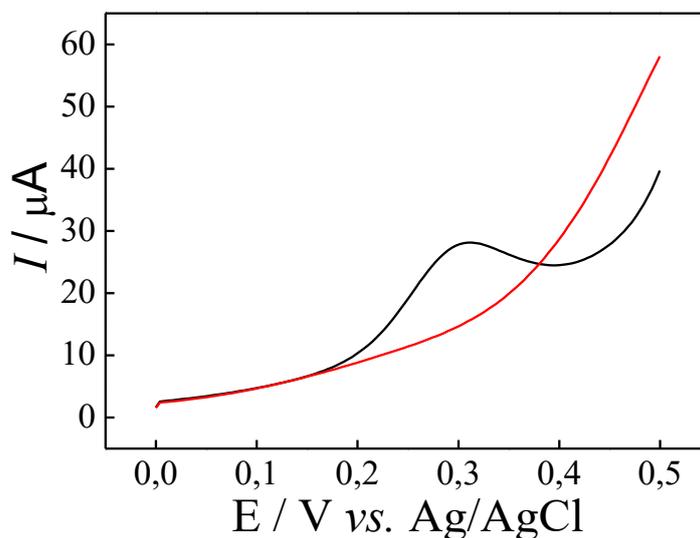
Em relação a detecção eletroquímica, a diluição da amostra em grandes volumes do eletrólito de suporte compromete a detectabilidade do método. Como tentativa para superar essas limitações, o dispositivo eletroquímico proposto com capacidade de detecção em microvolumes de solução foi integrado a um sistema de extração gasosa sem membrana. A Figura 12 apresenta uma representação esquemática do dispositivo miniaturizado integrado a extração por volatilização do sulfito.

As condições experimentais adotadas para a extração de sulfito foram adaptadas de Martins *et al.* [85]. Todas as soluções padrão ou amostras foram acidificadas e o compartimento foi rapidamente fechado e conectado à célula eletroquímica miniaturizada (compartimento receptor). O $\text{SO}_{2(g)}$ gerado pela acidificação preenche o espaço vazio superior do compartimento doador, e então é transferido para solução alcalina receptora (eletrólito de suporte, NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) com auxílio de um fluxo de argônio. Após se solubilizar em NaOH , o $\text{SO}_{2(g)}$ é convertido novamente a sulfito, o qual é detectado eletroquimicamente.

O primeiro parâmetro avaliado do procedimento de extração foi o efeito do fluxo de argônio no processo de transferência do $\text{SO}_{2(g)}$ do compartimento doador para o compartimento receptor. Neste estudo, voltamogramas de onda quadrada foram registrados na solução

receptora após 3 min de extração a partir de 15 mL de uma solução contendo $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito na presença e na ausência do fluxo de argônio.

Figura 47 – Voltamogramas de onda quadrada registrados em $500 \mu\text{L}$ de $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ após 3 min de extração a partir de 15 mL de uma solução contendo $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito em $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 : (—) com fluxo de argônio e (—) sem fluxo de argônio. Condições voltamétricas: SWV) $\Delta E = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$.



Não foi possível observar pico voltamétrico correspondente à oxidação de sulfito quando o procedimento de extração foi realizado sem fluxo de argônio, indicando que o SO_2 gasoso gerado no compartimento doador não é transferido para a solução receptora no tempo avaliado. Por outro lado, quando o fluxo de argônio é mantido, um pico de oxidação em aproximadamente $0,3 \text{ V}$ atribuído à oxidação de sulfito foi registrado, indicando que o processo de extração não afetou o perfil voltamétrico de oxidação deste ânion. Portanto, o uso do fluxo de argônio permite a transferência do SO_2 gasoso gerado no compartimento doador para o compartimento receptor, nesta condição, extrações mais rápidas podem ser realizadas e a frequência analítica é aumentada. Com base nestes resultados, todos os estudos posteriores foram realizados com um fluxo de argônio de $19 \pm 0,1 \text{ mL min}^{-1}$ na solução doadora.

Uma das características atrativas do método proposto é a possibilidade de se obter curvas de extração em tempo real, ou seja, a porcentagem de extração em função do tempo a partir de um único sistema de extração. Além disso, a detecção do analito em baixos volumes de eletrólito de suporte promove um efeito de pré-concentração melhorando consideravelmente a detectabilidade do método, visto que o fator de diluição do analito será reduzido. Ainda, o emprego de microvolumes de solução permite uma ampliação na análise de amostras disponíveis em baixos volumes.

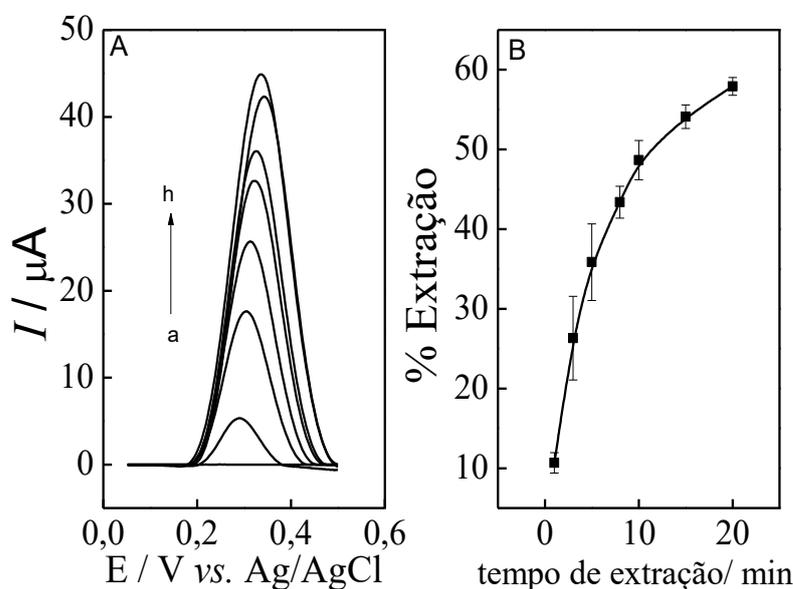
A extração do sulfito por volatilização foi acompanhada por um período de 20 min. Para este estudo, voltamogramas de onda quadrada foram registrados na solução receptora após o tempo de extração determinado, a porcentagem de extração de sulfito foi calculada a partir a Equação 2. A concentração de sulfito presente na solução receptora foi determinada a partir da equação da reta obtida na curva de calibração construída diretamente no compartimento aceitador apresentada na Figura 46 .

Equação 2:

$$\%_{\text{extração de sulfito}} = \frac{([\text{SO}_3^{2-}]_{\text{solução aceitadora}} \times V_{\text{solução aceitadora}})}{([\text{SO}_3^{2-}]_{\text{solução doadora}} \times V_{\text{solução doadora}})} \times 100$$

A Figura 48 apresenta os voltamogramas de onda quadrada obtidos e a curva de extração construída em tempo real.

Figura 48 - A) Voltamogramas de onda quadrada com a linha de base corrigida registrados em NaOH 0,1 mol L⁻¹ para diferentes tempos de extração: a) 0; b) 1; c) 3; d) 5; e) 8; f) 10; g) 15 e h) 20 min. **B)** Curva de extração para sulfito. Condições da extração: Solução doadora: 15 mL de uma solução de 500 μmol L⁻¹ de sulfito preparada em 1,0 mol L⁻¹ de H₂SO₄; Solução receptora: 500 μL de 0,1 mol L⁻¹ de NaOH. Barras de erro indicam o desvio padrão de *i_p* para 3 extrações realizadas em dias diferentes. Condições voltamétricas: SWV) ΔE = 50 mV, *f* = 50 Hz, ΔEs = 6 mV.



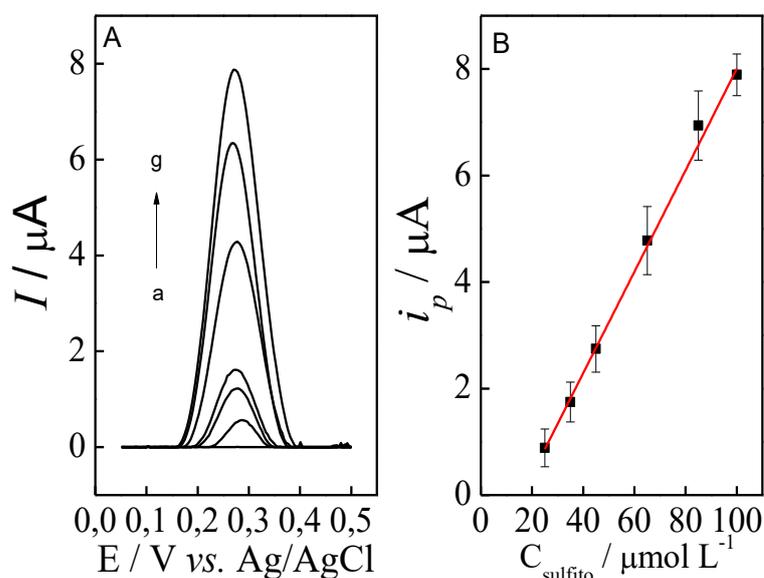
A Figura 48A mostra que o perfil de oxidação do sulfito é semelhante ao perfil voltamétrico obtido para as medidas realizadas sem nenhuma etapa de extração, Figura 46A. Na Figura 48B pode ser observado que porcentagem de extração aumenta rapidamente nos primeiros 10 min, diminuindo a velocidade após este período. Em 20 min, quase 60% de sulfito

foi extraído, tempos de extração superiores não foram estudados uma vez que poderiam prejudicar a frequência analítica do método. Nesta condição, aproximadamente 40% de sulfito é perdido, o que pode ser atribuído à conversão incompleta de sulfito a SO_2 , à solubilização incompleta desse gás na solução de NaOH ou a perdas de SO_2 gasoso pelas paredes do tubo responsável pela conexão entre os dois compartimentos. Esta perda do $\text{SO}_{2(g)}$ não introduz erros na aplicação do método, desde que a porcentagem de perda se mantenha constante ao longo dos processos de calibração e análise. Entretanto, isso poderá dificultar a determinação de sulfito quando este estiver presente na amostra em baixas concentrações.

A Figura 48B também mostra que a precisão fornecida pelo sistema foi satisfatória, uma vez que para três extrações realizadas em dias diferentes com sistemas montados separadamente foram obtidos baixos valores de RSD, por exemplo para o tempo de 10 min, o valor de RSD calculado foi 5%. Baseado nos resultados apresentados, o tempo de extração de 10 min foi selecionado para continuar aos estudos.

Curvas de analíticas para sulfito foram construídas a partir de soluções acidificadas contendo diferentes concentrações deste ânion. Para isso, voltamogramas de onda quadrada foram registrados na solução receptora após 10 min de extração de sulfito, a Figura 49 apresenta os resultados obtidos.

Figura 49 - Voltamogramas de onda quadrada com a linha de base corrigida registrados em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ após 10 min de extração de diferentes concentrações de sulfito: a) branco; b) 25,0; c) 35,0; d) 45,0; e) 65,0; f) 85,0 eg) $100,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. **B)** Curva analítica para sulfito. Barras de erro indicam o desvio padrão de i_p para 3 diferentes superfícies eletrodicas. Condições voltamétricas: SWV) $\Delta E = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$.



A intensidade da corrente de pico aumentou proporcionalmente com o aumento da concentração de sulfito na solução doadora (amostra + ácido), no intervalo de 25 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (2,0 a 8,0 mg L^{-1}) de acordo com a equação: $i_p(\mu\text{A}) = -1,5199 + 0,0952 C_{\text{sulfito}} (\mu\text{mol L}^{-1})$, $R^2 = 0,99757$. Os limites de detecção e quantificação foram 4,0 e 13,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O efeito da integração do dispositivo miniaturizado à etapa de extração gasosa no desempenho analítico para a determinação de sulfito é melhor visualizado na Tabela 10.

Tabela 10 – Parâmetros analíticos para a determinação de sulfito com dispositivo miniaturizado não integrado e integrado ao procedimento de extração.

Método desenvolvido	Intervalo linear/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	R^2	LD/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	LQ/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	Sensibilidade/ $\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}$
Dispositivo miniaturizado	600 - 10000	0,99866	30,0	100,0	0,007
Dispositivo miniaturizado integrado a extração gasosa	25 - 100	0,99757	4,0	13,0	0,095

De acordo com a Tabela 10, verifica-se que a integração do dispositivo miniaturizado à etapa de preparo de amostra promoveu uma melhora significativa nos parâmetros analíticos do método, uma vez que menores LD e LQ foram obtidos, além disso, a sensibilidade foi aumentada em aproximadamente 10 vezes. O ganho de sensibilidade e detectabilidade estão diretamente associados ao efeito de pré-concentração promovido pelo volume da solução receptora, também empregada como eletrólito de suporte, em relação ao volume da solução doadora. A Tabela 11 apresenta uma comparação dos parâmetros analíticos obtidos neste trabalho com outros trabalhos reportados na literatura que também empregam a extração por volatilização para a determinação de sulfito.

Tabela 11 – Comparação do método proposto com outros métodos reportados na literatura para determinação de sulfito a partir da extração gasosa.

Método	Tempo de Extração/ min	Membrana semipermeável	Temperatura de extração	Eletrodo de trabalho	Intervalo Linear/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	Referência
Colorimétrico	6	Não	Temperatura ambiente	–	0,001 – 0,01	5×10^{-4}	[154]
UV/vis	3,5	Não	Temperatura ambiente	–	0,06 – 1,6	1	[155]
FIA– UV/vis	4,0	Sim	60 °C	–	31,2 – 312	19	[156]
FIA – Amperométrico	–	Sim	–	Cobre	1000 – 5000	40	[148]
Espectroscopia por fibra óptica – UV/vis	15	Não	70 °C	–	0,5 – 5,0	0,01	[157]
Voltamétrico	15	Sim	55 °C	Eletrodo de papel pirolisado com laser	39,0 – 390	15	[85]
Voltamétrico	15	Sim	30 °C	SPE	–	5	[158]
SIA – Amperométrico	–	Sim	–	Diamante dopado com boro	2,5 – 250	0,6	[159]
FIA – Amperométrico	–	Sim	–	Porfirina/carbono vítreo	5,0 – 50	0,6	[160]
Espectroscopia de absorção molecular de alta resolução	1,2	Não	–	–	–	4,5	[161]
Voltamétrico	10	Não	Temperatura ambiente	Cobre	25 – 100	4	Este trabalho

FIA – do inglês, Flow Injection Analysis (Análise por injeção e fluxo); **SIA** – do inglês, Sequential injection analysis (Análise por injeção sequencial).

Embora melhores desempenhos analíticos sejam relatados na literatura para os métodos que envolvem extração por volatilização na determinação de sulfito, a maioria desses métodos depende de sistemas complexos de fluxo, como bombas, membranas permeáveis, banhos termostáticos e instrumentação de alto custo instrumental, Tabela 11. Em relação apenas aos métodos voltamétricos, nota-se que o dispositivo miniaturizado proposto integrado a extração por volatilização de sulfito forneceu limites de detecção menores quando comparados aos métodos nos quais a detecção é realizada separadamente, ou seja, o gás coletado é normalmente diluído em eletrólito de suporte. Portanto, o efeito de pré-concentração obtido empregando um volume da solução receptora consideravelmente menor (500 μL) e acoplado ao sistema de extração foi uma estratégia eficiente que garantiu melhor desempenho analítico para o método proposto.

A aplicabilidade do método para quantificação de sulfito em amostras reais foi avaliada a partir da análise de amostras de bebidas comerciais. Todas as amostras foram acidificadas antes da extração, e o sulfito foi extraído durante 10 min. A exatidão do método foi avaliada a partir de estudos de adição e recuperação. A concentração de sulfito também foi determinada usando o método voltamétrico proposto por Moreira *et al.* [92], empregando um eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os resultados são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12– Resultados para a determinação de sulfito em amostras de bebidas.

Amostra	[SO ₃ ²⁻] Adicionada* (mg L ⁻¹)	[SO ₃ ²⁻] encontrada** (mg L ⁻¹)	Recuperação** (%)	[SO ₃ ²⁻] original** (mg L ⁻¹) EPC/MWCNT
Água de torneira	0,0	ND	-	ND
	2,4	2,6 ± 0,1	111 ± 4	
	3,2	3,2 ± 0,1	99 ± 2	
	4,0	3,8 ± 0,1	95 ± 3	
Suco de uva	0,0	ND	-	ND
	2,4	2,6 ± 0,1	107 ± 3	
	3,2	3,2 ± 0,1	99 ± 2	
	4,8	4,3 ± 0,03	90 ± 1	
Água de coco A	0,0	ND	-	ND
	2,4	2,5 ± 0,2	101 ± 7	
	3,2	3,3 ± 0,1	104 ± 4	
	4,8	4,6 ± 0,1	97 ± 2	
Água de coco B INS 223	0,0	33,6 ± 0,2	-	34,7 ± 0,6
	1,2	1,3 ± 0,1	111 ± 3	
	2,4	2,3 ± 0,3	96 ± 13	
	3,6	3,5 ± 0,3	97 ± 8	
Suco de Caju INS 223	0,0	87,0 ± 4,9	-	79,7 ± 2,6
	1,2	1,4 ± 0,1	113 ± 5	
	2,4	2,5 ± 0,1	105 ± 6	
	3,6	3,5 ± 0,2	96 ± 6	

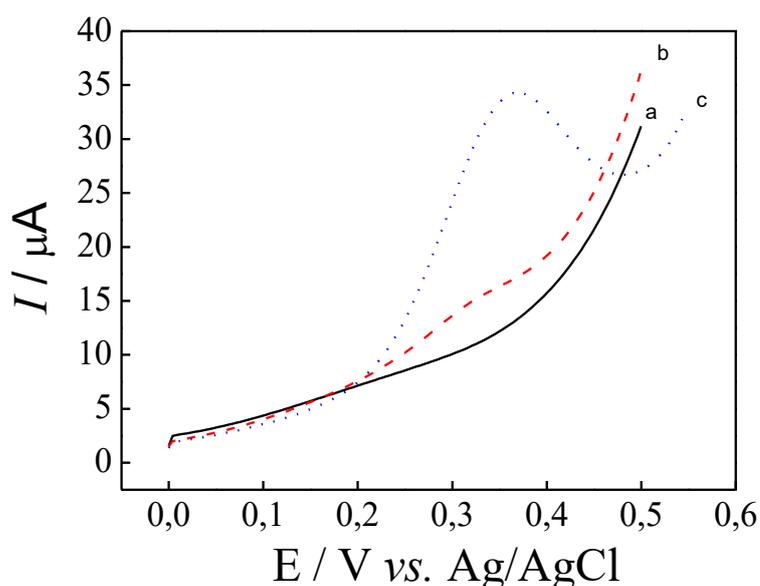
* Concentração presente na solução doadora. **Valores expressos como valor médio ± SD.

Para três amostras analisadas, água de torneira, suco de uva e água de coco A, não foi observado nenhum sinal voltamétrico na amostra original, indicando ausência de sulfito. Este resultado é concordante com os rótulos das amostras de suco de uva e de água de coco, as quais indicavam livres de agentes sulfitantes. Para as outras amostras, a concentração original de sulfito foi calculada a partir da equação da curva analítica e os resultados foram comparados com o método voltamétrico utilizando um EPC modificado com MWCNTs. Testes F e t foram realizados para verificar se existe diferença estatística entre a precisão e o valor de sulfito encontrado por ambos os métodos. Os valores de F e t para água de coco B foram, 12,2 e 0,65,

respectivamente, e para o suco de caju os valores foram 3,5 e 0,5, respectivamente. Os valores encontrados foram menores que os valores de F e t críticos para quatro graus de liberdade e 95% de confiança, sendo 19,0 e 2,78, respectivamente. Portanto, esses resultados demonstram que a precisão e a concentração de sulfito obtidas em ambos os métodos são estatisticamente equivalentes, indicando que não há evidências de erros sistemáticos nos resultados obtidos pelo método proposto neste trabalho.

Além disso, a Tabela 12 mostra que as porcentagens de recuperação foram próximas a 100%, indicando precisão satisfatória. Segundo a AOAC [109] porcentagens de recuperação entre 80 e 120% são aceitáveis quando as concentrações do analito na amostra estão presentes no intervalo de 1 a 10 ppm. Recuperações próximas a 100% também sugerem que não há efeitos de matriz que interfiram na determinação de sulfito pelo método proposto. Conforme mencionado, os principais interferentes encontrados nas amostras analisadas são açúcares e ácido ascórbico, os quais são oxidados na superfície de cobre em meio alcalino. Porém, o procedimento de extração gasosa limita os interferentes apenas às espécies voláteis, estes dois compostos foram facilmente eliminados, uma vez que não se volatilizam nas condições experimentais adotadas. É importante destacar que o método não pode ser aplicado para a quantificação de sulfito em amostras de bebidas alcoólicas, conforme sugere a Figura 50.

Figura 50 – Voltamogramas de onda quadrada registrados em 500 μL de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$: a) ausência de sulfito e etanol na solução doadora; b) presença de 10% de etanol e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito na solução doadora, c) Ausência de etanol e presença de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito na solução doadora. Condições da extração: Solução doadora: 15 mL de H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$; Solução receptora: 500 μL de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $t_{\text{extração}} = 10 \text{ min}$. Condições voltamétricas: SWV) $\Delta E = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$



A Figura 50 mostra que a presença de etanol no compartimento da solução doadora (Figura 50, curva b) causa uma diminuição acentuada do sinal voltamétrico do sulfito comparado ao sinal obtido na ausência de etanol (Figura 50, curva c). Não foram realizados estudos adicionais que pudessem explicar completamente este efeito, porém algumas hipóteses podem ser propostas. Considerando a alta volatilidade do etanol, grandes quantidades deste álcool podem ser transferidas para o compartimento receptor, o que alteraria substancialmente as propriedades da solução da medida voltamétrica, afetando o perfil voltamétrico do sulfito. Além disso, o etanol ou produtos de sua oxidação poderiam bloquear a superfície do eletrodo de cobre desativando-a. Embora o etanol interfira fortemente no sinal do sulfito, o uso de uma membrana permeável ao $\text{SO}_{2(g)}$ contornaria essa limitação, ampliando assim a aplicabilidade do dispositivo proposto. Dessa forma, os resultados apresentados demonstram que o dispositivo miniaturizado combinado à extração por volatilização é aplicável para a determinação de sulfito em amostras de bebidas não alcoólicas.

5- CONCLUSÕES

O desenvolvimento de dispositivos integrados e miniaturizados construídos de maneira simples, utilizando materiais alternativos e de baixo custo foi relatado neste trabalho. Três diferentes sistemas foram construídos e aplicados em análises de bebidas empregando microvolumes de solução/amostra. A versatilidade dessa abordagem foi demonstrada a partir da fabricação de diferentes dispositivos e da determinação de vários compostos em diferentes meios: básico, ácido, neutro e orgânico, além da modificação simples da superfície eletródica e integração com etapas de preparo de amostras. De forma geral, todos os dispositivos foram desenvolvidos tendo os princípios da sustentabilidade (reduzir, reciclar e reutilizar) como diretrizes. Assim, todos os dispositivos possuíam componentes provenientes de materiais reutilizados e/ou reciclados e permitiram as análises em microvolumes, reduzindo, portanto, o gasto de reagentes e de amostras, bem como a quantidade de resíduos gerados diminuindo o impacto ambiental gerado pela atividade química.

O primeiro dispositivo foi construído a partir da técnica *screen-printing* utilizando folhas de retroprojeter e tinta condutora preparada com esmalte incolor de unha e pó de grafite. Para as medidas voltamétricas, apenas 100 μL de solução (eletrólito de suporte + amostra) foram necessários. O efeito do tamanho e funcionalização dos nanotubos de carbono no desempenho analítico dos dispositivos foi avaliado. Os voltamogramas cíclicos obtidos na presença da sonda eletroquímica $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ demonstraram que os nanotubos de carbono funcionalizados forneceram melhores desempenhos para os dispositivos. A aplicabilidade do dispositivo modificado foi avaliada para quantificação de ácido cafeico em amostras de chá. Estudos de adição e recuperação foram realizados e porcentagens de recuperação próximas a 100% foram obtidas com precisão satisfatória para três amostras, indicando que o método desenvolvido permitiu a quantificação confiável de ácido cafeico nestas amostras. Além disso, o método analítico desenvolvido permitiu discriminar compostos fenólicos de outras espécies redutoras presentes em amostras de bebidas.

O segundo dispositivo miniaturizado foi construído com ponteiras de micropipetas e fios metálicos reutilizados de eletrodos de vidro combinados danificados. Além do baixo volume de solução necessário para as medidas eletroquímicas, este dispositivo apresentou algumas vantagens em relação a outros dispositivos eletroquímicos baseados em ponteiras de micropipetas, entre elas destacam-se a robustez e o controle efetivo do potencial aplicado entre o eletrodo de trabalho e o de referência. Além disso, o dispositivo foi facilmente empregado como detector em um sistema FIA. A potencialidade analítica do dispositivo para análises em

microvolumes foi avaliada para a detecção de diferentes analitos modelo: TBHQ, dopamina, ácido ascórbico e peróxido de hidrogênio, para os quais R^2 próximos a 1 foram obtidos, indicando que o dispositivo é potencialmente aplicável para a determinação destas espécies. Uma simples modificação da superfície eletródica com nanotubos de carbono possibilitou a aplicação do dispositivo para a determinação de carbendazim em amostras de água e de sucos de laranja. Recuperações próximas a 100% foram obtidas, indicando que o poderia ser empregado como sensor na determinação desse agrotóxico.

O último dispositivo foi desenvolvido empregando-se uma seringa para insulina como suporte para os eletrodos, como eletrodo de trabalho foi utilizado um fio de cobre, utilizado em instalações elétricas residenciais. Os eletrodos de pseudo-referência e auxiliar foram, respectivamente, um fio de Ag/AgCl e um fio de platina, recuperados de eletrodos de vidro danificados. A aplicabilidade do dispositivo foi avaliada para a determinação de sulfito utilizando microvolumes de solução. O desempenho analítico do dispositivo para a determinação de sulfito foi consideravelmente melhorado a partir da integração com a extração por volatilização do sulfito, uma vez que um efeito de pré-concentração foi alcançado devido ao baixo volume de solução (500 μ L) necessário para as análises. Uma vantagem adicional da integração do dispositivo com extração gasosa, é a possibilidade de se obter as curvas de extração em “tempo real” e com alta resolução temporal. O sistema de extração acoplado ao dispositivo miniaturizado foi empregado para determinação de sulfito em amostras de bebidas. Porcentagens de recuperação próximas a 100% foram obtidas, indicando que o dispositivo integrado e miniaturizado acoplado a extração gasosa de sulfito forneceu exatidão satisfatória. Além disso, os resultados obtidos para a análises das amostras empregando um método eletroanalítico com célula convencional descrito por Moreira *et al.* [92] sugerem a ausência de erros sistemáticos no método proposto.

Os resultados apresentados neste trabalho demonstraram que as estratégias de construção adotadas para o desenvolvimento de sistemas eletroquímicos miniaturizados foram eficientes, uma vez que os três dispositivos miniaturizados propostos foram satisfatoriamente aplicados para análises em amostras reais.

Além disso, acreditamos que outra contribuição relevante deste trabalho foi mostrar um caminho pelo qual pesquisadores atuando em países com poucos recursos para a pesquisa científica possam ser incluídos no campo da microanálise, um dos mais fascinantes e promissores na área da Química Analítica. Além das contribuições acadêmico-científicas, acreditamos que esta Tese contém uma mensagem de esperança. Apesar do desrespeito exercido por líderes que não acreditam/investem na Ciência, o trabalho dos cientistas ao redor

do mundo persistirá e os avanços científicos continuarão tocando e inspirando as novas gerações e, acima de tudo, fazendo do nosso mundo um lugar melhor.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] P.N. Nge, C.I. Rogers, A.T. Woolley, Advances in Microfluidic Materials, Functions, Integration, and Applications, Chemical Reviews. 113 (2013) 2550–2583. <https://doi.org/10.1021/cr300337x>
- [2] L. Nyholm, Electrochemical techniques for lab-on-a-chip applications, Analyst. 130 (2005) 599–605. <https://doi.org/10.1039/b415004j>
- [3] United Nations Sustainable Development Group. Disponível em: < [UNSDG | 2030 Agenda](https://www.un.org/sustainabledevelopment/)>. Acesso em Julho 2022.
- [4] J. Wang, Analytical Electrochemistry, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, NJ, USA, 2006. <https://doi.org/10.1002/0471790303>
- [5] D. De Souza, S.A.S. Machado, L.A. Avaca, Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos, Química Nova. 26 (2003) 81–89. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422003000100015>
- [6] W.F. Pacheco, F.S. Semaan, V.G.K. De Almeida, A.G.S.L. Ritta, R.Q. Aucélio, Voltammetry: A brief review about concepts, Revista Virtual de Química. 5 (2013) 516–537. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130040>
- [7] L.M. Aleixo, Voltametria: Conceitos e Técnicas | Chemkeys Português, Apostila. (2003) 40. DOI:10.20396/chemkeys.v0i3.9609
- [8] K.H. Lubert, K. Kalcher, History of electroanalytical methods, Electroanalysis. 22 (2010) 1937–1946. <https://doi.org/10.1002/elan.201000087>
- [9] I. Svancara, K. Vytras, J. Barek, J. Zima, Carbon paste electrodes in modern electroanalysis, Critical Reviews in Analytical Chemistry. 31 (2001) 311–345. <https://doi.org/10.1080/20014091076785>
- [10] I. Svancara, K. Vytras, J. Barek, J. Zima, Carbon paste electrodes in modern electroanalysis, Critical Reviews in Analytical Chemistry. 31 (2001) 311–345. <https://doi.org/10.1080/20014091076785>
- [11] I. Švancara, K. Vytrás, K. Kalcher, A. Walcarius, J. Wang, Carbon paste electrodes in facts, numbers, and notes: A review on the occasion of the 50-years jubilee of carbon paste in electrochemistry and electroanalysis, Electroanalysis. 21 (2009) 7–28. <https://doi.org/10.1002/elan.200804340>
- [12] M. del P. Zanoni, Maria Valnice Boldrin Alessandro Santos Borges, Assis Vicente Benedetti, Hideko Yamanaka, C.L. de P. e S.Z. e Taboada Sotomayora, Guilherme Garcia Bessegato, Nelson Ramos Stradiotto, A.R.A. De, PANORAMA DA

- ELETROQUÍMICA E ELETROANALÍTICA NO BRASIL, *Química Nova*. 40 (2017) 663–669. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170072>
- [13] V.N. Ataíde, L.F. Mendes, L.I.L.M. Gama, W.R. De Araujo, T.R.L.C. Paixaõ, Electrochemical paper-based analytical devices: Ten years of development, *Analytical Methods*. 12 (2020) 1030–1054. <https://doi.org/10.1039/c9ay02350j>
- [14] J.P. Metters, R.O. Kadara, C.E. Banks, New directions in screen printed electroanalytical sensors: An overview of recent developments, *Analyst*. 136 (2011) 1067–1076. <https://doi.org/10.1039/c0an00894j>
- [15] J.P. Hart, S.A. Wring, Screen-printed voltammetric and amperometric electrochemical sensors for decentralized testing, *Electroanalysis*. 6 (1994) 617–624. <https://doi.org/10.1002/elan.1140060802>
- [16] F. Arduini, L. Micheli, D. Moscone, G. Palleschi, S. Piermarini, F. Ricci, G. Volpe, Electrochemical biosensors based on nanomodified screen-printed electrodes: Recent applications in clinical analysis, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 79 (2016) 114–126. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.01.032>
- [17] A. Fernández-la-Villa, D.F. Pozo-Ayuso, M. Castaño-Álvarez, Microfluidics and electrochemistry: an emerging tandem for next-generation analytical microsystems, *Current Opinion in Electrochemistry*. 15 (2019) 175–185. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2019.05.014>
- [18] E.J. Lenardão, R.A. Freitag, M.J. Dabdoub, A.C. Ferreira Batista, C. Da Cruz Silveira, “Green chemistry” - Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa, *Química Nova*. 26 (2003) 123–129. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100020>
- [19] United Nations Sustainable Development Group. Disponível em: < [UNSDG | 2030 Agenda](https://www.un.org/sustainabledevelopment/agenda)>. Acesso em Julho 2022.
- [20] W.K.T. Coltro, E. Piccin, E. Carrilho, D.P. de Jesus, J.A.F. da Silva, H.D.T. da Silva, C.L. do Lago, Microsistemas de análises químicas: introdução, tecnologias de fabricação, instrumentação e aplicações, *Química Nova*. 30 (2007) 1986–2000. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000800034>
- [21] E.J. Lenardão, R.A. Freitag, M.J. Dabdoub, A.C. Ferreira Batista, C. Da Cruz Silveira, “Green chemistry” - Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa, *Química Nova*. 26 (2003) 123–129. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100020>

- [22] D.R. Reyes, D. Iossifidis, P. Auroux, A. Manz, *Micro Total Analysis Systems*. 1 . Introduction , Theory , and Technology, 74 (2002) 2623–2636. <https://doi.org/10.1021/ac0202435>
- [23] W. Siangproh, W. Dungchai, P. Rattanarat, O. Chailapakul, Nanoparticle-based electrochemical detection in conventional and miniaturized systems and their bioanalytical applications: A review, *Analytica Chimica Acta*. 690 (2011) 10–25. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.01.054>
- [24] A. Ríos, A. Escarpa, M.C. González, A.G. Crevillén, Challenges of analytical microsystems, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 25 (2006) 467–479. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.11.012>
- [25] T.D. Ngo, A. Kashani, G. Imbalzano, K.T.Q. Nguyen, D. Hui, Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges, *Composites Part B: Engineering*. 143 (2018) 172–196. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.02.012>
- [26] F.M. Matysik, Miniaturization of electroanalytical systems, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 375 (2003) 33–35. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1635-x>
- [27] J. Wang, Electrochemical detection for microscale analytical systems: A review, *Talanta*. 56 (2002) 223–231. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00592-6](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00592-6)
- [28] W.C. Sim, N. Kutrakul, P. Khunkaewla, A. Schulte, Three-Electrode 30–60 μ L Mini-Cell for Ecologically Conscious Analytical Voltammetry with Common Macro- and Microelectrodes, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 8 (2020) 5082–5090. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b07034>
- [29] A. González-López, M.C. Blanco-López, M.T. Fernández-Abedul, Micropipette Tip-Based Immunoassay with Electrochemical Detection of Antitissue Transglutaminase to Diagnose Celiac Disease Using Staples and a Paper-Based Platform, *ACS Sensors*. 4 (2019) 2679–2687. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b01096>
- [30] P.B. Lillehoj, M.C. Huang, N. Truong, C.M. Ho, Rapid electrochemical detection on a mobile phone, *Lab on a Chip*. 13 (2013) 2950–2955. <https://doi.org/10.1039/c3lc50306b>
- [31] Y. Shi, H. Dou, A. Zhou, Y.Q. Chen, Design and fabrication of a miniaturized electrochemical instrument and its preliminary evaluation, *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 131 (2008) 516–524. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.12.053>
- [32] G.F. Giordano, M.B.R. Vicentini, R.C. Murer, F. Augusto, M.F. Ferrão, G.A. Helfer, A.B. da Costa, A.L. Gobbi, L.W. Hantao, R.S. Lima, Point-of-use electroanalytical platform based on homemade potentiostat and smartphone for multivariate data

- processing, *Electrochimica Acta*. 219 (2016) 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.09.157>
- [33] G.F. Giordano, M.B.R. Vicentini, R.C. Murer, F. Augusto, M.F. Ferrão, G.A. Helfer, A.B. da Costa, A.L. Gobbi, L.W. Hantao, R.S. Lima, Point-of-use electroanalytical platform based on homemade potentiostat and smartphone for multivariate data processing, *Electrochimica Acta*. 219 (2016) 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.09.157>
- [34] T.R.L.C. Paixão, M. Bertotti, Métodos para fabricação de microeletrodos visando a detecção em microambientes, *Química Nova*. 32 (2009) 1306–1314. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000500037>
- [35] H.M. Mohamed, Screen-printed disposable electrodes: Pharmaceutical applications and recent developments, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 82 (2016) 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.02.010>
- [36] X. Guo, Q. Wang, J. Li, J. Cui, S. Zhou, S. Hao, D. Wu, A mini-electrochemical system integrated micropipet tip and pencil graphite electrode for detection of anticancer drug sensitivity in vitro, *Biosensors and Bioelectronics*. 64 (2015) 594–596. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.09.086>
- [37] T.R.L.C. Paixão, M. Bertotti, Métodos para fabricação de microeletrodos visando a detecção em microambientes, *Química Nova*. 32 (2009) 1306–1314. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000500037>
- [38] C.S. Santos, R. Bannitz-Fernandes, A.S. Lima, C.A. Tairum, I. Malavazi, L.E.S. Netto, M. Bertotti, Monitoring H₂O₂ inside *Aspergillus fumigatus* with an Integrated Microelectrode: The Role of Peroxiredoxin Protein Prx1, *Analytical Chemistry*. 90 (2018) 2587–2593. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04074>
- [39] V.B. Nascimento, L. Angnes, Eletrodos fabricados por “silk-screen,” *Química Nova*. 21 (1998) 614–629. <https://doi.org/10.1590/s0100-40421998000500014>
- [40] R.C. Alkire, P.N. Bartlett, J. Lipkowski, *Electrochemistry of Carbon Electrodes*, 1st ed., Wiley, Weinheim, Germany, 2015. <https://doi.org/10.1002/9783527697489>
- [41] V.B. Nascimento, L. Angnes, Eletrodos fabricados por “silk-screen,” *Química Nova*. 21 (1998) 614–629. <https://doi.org/10.1590/s0100-40421998000500014>
- [42] J. Mettakoonpitak, K. Boehle, S. Nantaphol, P. Teengam, J.A. Adkins, M. Srisa-Art, C.S. Henry, Electrochemistry on Paper-based Analytical Devices: A Review, *Electroanalysis*. 28 (2016) 1420–1436. <https://doi.org/10.1002/elan.201501143>

- [43] V.N. Ataide, L.F. Mendes, L.I.L.M. Gama, W.R. De Araujo, T.R.L.C. Paixaõ, Electrochemical paper-based analytical devices: Ten years of development, *Analytical Methods*. 12 (2020) 1030–1054. <https://doi.org/10.1039/c9ay02350j>
- [44] J.P. Metters, S.M. Houssein, D.K. Kampouris, C.E. Banks, Paper-based electroanalytical sensing platforms, *Anal. Methods*. 5 (2013) 103–110. <https://doi.org/10.1039/C2AY26396C>
- [45] M.C. McAlpine, H. Ahmad, D. Wang, J.R. Heath, Highly ordered nanowire arrays on plastic substrates for ultrasensitive flexible chemical sensors, *Nature Materials*. 6 (2007) 379–384. <https://doi.org/10.1038/nmat1891>
- [46] A.S. Afonso, C. V. Uliana, D.H. Martucci, R.C. Faria, Simple and rapid fabrication of disposable carbon-based electrochemical cells using an electronic craft cutter for sensor and biosensor applications, *Talanta*. 146 (2016) 381–387. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.09.002>
- [47] E.S. Almeida, L.A.J. Silva, R.M.F. Sousa, E.M. Richter, C.W. Foster, C.E. Banks, R.A.A. Munoz, Organic-resistant screen-printed graphitic electrodes: Application to on-site monitoring of liquid fuels, *Analytica Chimica Acta*. 934 (2016) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.05.055>
- [48] C.W. Foster, J.P. Metters, D.K. Kampouris, C.E. Banks, Ultraflexible Screen-Printed Graphitic Electroanalytical Sensing Platforms, *Electroanalysis*. 26 (2014) 262–274. <https://doi.org/10.1002/elan.201300563>
- [49] R. Thota, V. Ganesh, Selective and sensitive electrochemical detection of methyl parathion using chemically modified overhead projector sheets as flexible electrodes, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 227 (2016) 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.12.008>
- [50] D. Martín-Yerga, I. Álvarez-Martos, M.C. Blanco-López, C.S. Henry, M.T. Fernández-Abedul, Point-of-need simultaneous electrochemical detection of lead and cadmium using low-cost stencil-printed transparency electrodes, *Analytica Chimica Acta*. 981 (2017) 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.05.027>
- [51] J.A. Adkins, K. Boehle, C. Friend, B. Chamberlain, B. Bisha, C.S. Henry, Colorimetric and Electrochemical Bacteria Detection Using Printed Paper- and Transparency-Based Analytic Devices, *Analytical Chemistry*. 89 (2017) 3613–3621. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b05009>
- [52] S. Boonkaew, I. Jang, E. Noviana, W. Siangproh, O. Chailapakul, C.S. Henry, Electrochemical paper-based analytical device for multiplexed, point-of-care detection

- of cardiovascular disease biomarkers, *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 330 (2021) 129336. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.129336>
- [53] J. Mettakoonpitak, D. Miller-Lionberg, T. Reilly, J. Volckens, C.S. Henry, Low-cost reusable sensor for cobalt and nickel detection in aerosols using adsorptive cathodic square-wave stripping voltammetry, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 805 (2017) 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.10.026>
- [54] D. Rocha, H. Silva-Neto, L. Oliveira, S. Souza, M. Santana, W. Coltro, Disposable stencil-printed carbon electrodes for electrochemical analysis of sildenafil citrate in commercial and adulterated tablets, *Brazilian Journal of Analytical Chemistry*. (2021) 1–19. <https://doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.ar-65-2021>
- [55] D.S. Saidina, N. Eawwiboonthanakit, M. Mariatti, S. Fontana, C. Hérold, Recent Development of Graphene-Based Ink and Other Conductive Material-Based Inks for Flexible Electronics, *Journal of Electronic Materials*. 48 (2019) 3428–3450. <https://doi.org/10.1007/s11664-019-07183-w>
- [56] J.R. Camargo, L.O. Orzari, D.A.G. Araújo, P.R. de Oliveira, C. Kalinke, D.P. Rocha, A. Luiz dos Santos, R.M. Takeuchi, R.A.A. Munoz, J.A. Bonacin, B.C. Janegitz, Development of conductive inks for electrochemical sensors and biosensors, *Microchemical Journal*. 164 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.105998>
- [57] W. Dungchai, O. Chailapakul, C.S. Henry, Electrochemical detection for paper-based microfluidics, *Analytical Chemistry*. 81 (2009) 5821–5826. <https://doi.org/10.1021/ac9007573>
- [58] L.A. Pradela-Filho, D.A.G. Araújo, R.M. Takeuchi, A.L. Santos, Nail polish and carbon powder: An attractive mixture to prepare paper-based electrodes, *Electrochimica Acta*. 258 (2017) 786–792. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.11.127>
- [59] L.A. Pradela-Filho, I.A.A. Andreotti, J.H.S. Carvalho, D.A.G. Araújo, L.O. Orzari, A. Gatti, R.M. Takeuchi, A.L. Santos, B.C. Janegitz, Glass varnish-based carbon conductive ink: A new way to produce disposable electrochemical sensors, *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 305 (2020) 127433. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127433>
- [60] I.A. de Araujo Andreotti, L.O. Orzari, J.R. Camargo, R.C. Faria, L.H. Marcolino-Junior, M.F. Bergamini, A. Gatti, B.C. Janegitz, Disposable and flexible electrochemical sensor made by recyclable material and low cost conductive ink, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 840 (2019) 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.03.059>
- [61] L.O. Orzari, R. Cristina de Freitas, I. Aparecida de Araujo Andreotti, A. Gatti, B.C. Janegitz, A novel disposable self-adhesive inked paper device for electrochemical

- sensing of dopamine and serotonin neurotransmitters and biosensing of glucose, *Biosensors and Bioelectronics*. 138 (2019) 111310. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.05.015>
- [62] A.L.S. Fernandez, J.A.G. Calzón, A.C. Garcia, P.T. Blanco, Simple and reliable fabrication of carbon fiber ultramicroelectrodes, *Electroanalysis*. 3 (1991) 413–417. <https://doi.org/10.1002/elan.1140030428>
- [63] R.C. Peña, L. Cornejo, M. Bertotti, C.M.A. Brett, Electrochemical determination of Cd(II) and Pb(II) in mining effluents using a bismuth-coated carbon fiber microelectrode, *Analytical Methods*. 10 (2018) 3624–3630. <https://doi.org/10.1039/c8ay00949j>
- [64] L. Baldrianova, I. Svancara, S. Sotiropoulos, Anodic stripping voltammetry at a new type of disposable bismuth-plated carbon paste mini-electrodes, *Analytica Chimica Acta*. 599 (2007) 249–255. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.07.067>
- [65] R.A.B. da Silva, A.C. Rabelo, R.A.A. Munoz, E.M. Richter, Three-electrode-integrated sensor into a micropipette tip, *Electroanalysis*. 22 (2010) 2167–2171. <https://doi.org/10.1002/elan.201000244>
- [66] D.W. Zhang, J.X. Liu, J. Nie, Y.L. Zhou, X.X. Zhang, Micropipet tip-based miniaturized electrochemical device combined with ultramicroelectrode and its application in immobilization-free enzyme biosensor, *Analytical Chemistry*. 85 (2013) 2032–2036. <https://doi.org/10.1021/ac303223u>
- [67] A. González-López, E. Costa-Rama, M.T. Fernández-Abedul, Electrochemical micropipette-tip for low-cost environmental applications: Determination of anionic surfactants through their interaction with methylene blue, *Talanta*. 224 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121732>
- [68] I.F. Paiola, A.C.A. Faria, D.A.G. Araújo, R.M. Takeuchi, A.L. Santos, Miniaturizing an electrochemical cell on a cyclic voltammetry didactic experiment: Saving chemicals and minimizing waste generation, *Revista Virtual de Química*. 9 (2017) 953–973. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170062>
- [69] A. Hájková, V. Vyskočil, B. Josypčuk, J. Barek, A miniaturized electrode system for voltammetric determination of electrochemically reducible environmental pollutants, *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 227 (2016) 263–270. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.11.136>
- [70] I.F. Paiola, A.C.A. Faria, D.A.G. Araújo, R.M. Takeuchi, A.L. Santos, Miniaturizing an electrochemical cell on a cyclic voltammetry didactic experiment: Saving chemicals and

- minimizing waste generation, *Revista Virtual de Quimica*. 9 (2017) 953–973. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170062>
- [71] Á. Ríos, M. Zougagh, M. Avila, Miniaturization through lab-on-a-chip: Utopia or reality for routine laboratories? A review, *Analytica Chimica Acta*. 740 (2012) 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.06.024>
- [72] S. Cinti, V. Mazzaracchio, G. Öztürk, D. Moscone, F. Arduini, A lab-on-a-tip approach to make electroanalysis user-friendly and de-centralized: Detection of copper ions in river water, *Analytica Chimica Acta*. 1029 (2018) 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.04.065>
- [73] F.D. da Silva, R.G. Rocha, D.P. Rocha, M.N.T. Silva, E. Nossol, R.A.A. Muñoz, F.S. Semaan, R.M. Dornellas, In situ electrochemical exfoliation of embedded graphite to superficial graphene sheets for electroanalytical purposes, *Electrochimica Acta*. 354 (2020) 136762. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136762>
- [74] A. Yari, A. Shams, Fabrication of a renewable syringe carbon paste electrode with a motor rotary blade and using for voltammetric measurement of dipyridamole, *Journal of the Iranian Chemical Society*. 15 (2018) 1861–1869. <https://doi.org/10.1007/s13738-018-1383-2>
- [75] D.A.G. Araújo, L.A. Pradela-Filho, A.L.R. Santos, A.M. Faria, R.M. Takeuchi, H. Karimi-Maleh, A.L. Santos, Uncured polydimethylsiloxane as binder agent for carbon paste electrodes: Application to the quantification of propranolol, *J Braz Chem Soc*. 30 (2019) 1988–1998. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190117>
- [76] A.L.S. Fernandez, J.A.G. Calzón, A.C. Garcia, P.T. Blanco, Simple and reliable fabrication of carbon fiber ultramicroelectrodes, *Electroanalysis*. 3 (1991) 413–417. <https://doi.org/10.1002/elan.1140030428>.
- [77] Y. Chen, Z. Guo, X. Wang, C. Qiu, Sample preparation, *Journal of Chromatography A*. 1184 (2008) 191–219. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.10.026>.
- [78] R.C. Matos, I.G.R. Gutz, L. Angnes, R.S. Fontenele, J.J. Pedrotti, Propulsor pneumático versátil e isento de pulsação para sistemas de análise em fluxo, *Quimica Nova*. 24 (2001) 795–798. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422001000600017>.
- [79] T.M. Rosa, A.C. Roveda, W.P. da Silva Godinho, C.A. Martins, P.R. Oliveira, M.A.G. Trindade, Electrochemical cell designed for in situ integrate microextraction and electroanalysis: Trace-level determination of norfloxacin in aqueous samples, *Talanta*. 196 (2019) 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.12.028> .

- [80] W.P. da Silva, L.H. de Oliveira, A.L. dos Santos, V.S. Ferreira, M.A.G. Trindade, Sample preparation combined with electroanalysis to improve simultaneous determination of antibiotics in animal derived food samples, *Food Chemistry*. 250 (2018) 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.041>.
- [81] J.V. Gabbana, L.H. de Oliveira, G.C. Paveglio, M.A.G. Trindade, Narrowing the interface between sample preparation and electrochemistry: Trace-level determination of emerging pollutant in water samples after in situ microextraction and electroanalysis using a new cell configuration, *Electrochimica Acta*. 275 (2018) 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.04.134>.
- [82] H. Filik, A. Aslihan Avan, Conducting polymer modified screen-printed carbon electrode coupled with magnetic solid phase microextraction for determination of caffeine, *Food Chemistry*. 242 (2018) 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.068>.
- [83] E.M. Maximiano, D.A. Gonçalves, C.A. Martins, L. Angnes, R.S. Gomes, M.A.G. Trindade, Simultaneous separation and electroanalysis in a single polydimethylsiloxane-based platform, *Talanta*. 233 (2021) 122514. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122514>.
- [84] TAVARES, M.F.M. Tavares, Eletroforese _conceitos _basicos. *Química Nova*, 19 (1996) 173-181. http://static.sites.s bq.org.br/quimicanova.s bq.org.br/pdf/Vol19No2_173_v19_n2_12.pdf
- [85] A. Bezerra Martins, A. Lobato, N. Tasić, F.J. Perez-Sanz, P. Vidinha, T.R.L.C. Paixão, L. Moreira Gonçalves, Laser-pyrolyzed electrochemical paper-based analytical sensor for sulphite analysis, *Electrochemistry Communications*. 107 (2019) 106541. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.106541>.
- [86] R.M. Cardoso, R.H.O. Montes, A.P. Lima, R.M. Dornellas, E. Nossol, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Multi-walled carbon nanotubes: Size-dependent electrochemistry of phenolic compounds, *Electrochimica Acta*. 176 (2015) 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.06.117>.
- [87] M.P.M. Itkes, G.G. de Oliveira, T.A. Silva, O. Fatibello-Filho, B.C. Janegitz, Voltammetric sensing of fenitrothion in natural water and orange juice samples using a single-walled carbon nanohorns and zein modified sensor, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 840 (2019) 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.03.055>.

- [88] J.R. Camargo, I.A.A. Andreotti, C. Kalinke, J.M. Henrique, J.A. Bonacin, B.C. Janegitz, Waterproof paper as a new substrate to construct a disposable sensor for the electrochemical determination of paracetamol and melatonin, *Talanta*. 208 (2020) 120458. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120458>.
- [89] I.G. David, A.M.C. Bizgan, D.E. Popa, M. Buleandra, Z. Moldovan, I.A. Badea, T.A. Tekiner, H. Basaga, A.A. Ciucu, Rapid determination of total polyphenolic content in tea samples based on caffeic acid voltammetric behaviour on a disposable graphite electrode, *Food Chemistry*. 173 (2015) 1059–1065. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.139>.
- [90] S. Rosa, S. Lazzarotto, M. Stasyszen De Freitas Scherruth, P.S. Calixto, M. De, M. Carraro, A. Claudia Da Silveira, M. Lazzarotto, Método De Folin Ciocalteau Adaptado Para Quantificar Polifenóis Em Extratos De Erva-Mate Folin Ciocalteau Adapted Method To Quantify Polyphenols in Yerba Mate Extracts, (2020) 5–8. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/222830/1/Marcelo-Lazzarotto-Metodo-de-Folin.pdf>
- [91] C.A. Razzino, L.F. Sgobbi, T.C. Canevari, J. Cancino, S.A.S. Machado, Sensitive determination of carbendazim in orange juice by electrode modified with hybrid material, *Food Chemistry*. 170 (2015) 360–365. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.085>.
- [92] E.M. Silva, R.M. Takeuchi, A.L. Santos, Carbon nanotubes for voltammetric determination of sulphite in some beverages, *Food Chemistry*. 173 (2015) 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.106>.
- [93] G.G. Wildgoose, C.E. Banks, H.C. Leventis, R.G. Compton, Chemically Modified Carbon Nanotubes for Use in Electroanalysis, *Microchimica Acta*. 152 (2006) 187–214. <https://doi.org/10.1007/s00604-005-0449-x>.
- [94] L. Ag, Review article Role of carbon nanotubes in electroanalytical chemistry " 1 , Paloma Y a Lourdes Ag u ' , 2 (2008) 11–47. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.05.070>.
- [95] M.E. Weese, R.A. Krevh, Y. Li, N.T. Alvarez, A.E. Ross, Defect Sites Modulate Fouling Resistance on Carbon-Nanotube Fiber Electrodes, *ACS Sensors*. 4 (2019) 1001–1007. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b00161>.
- [96] P. Cañete-Rosales, V. Ortega, A. Álvarez-Lueje, S. Bollo, M. González, A. Ansón, M.T. Martínez, Influence of size and oxidative treatments of multi-walled carbon nanotubes on their electrocatalytic properties, *Electrochimica Acta*. 62 (2012) 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2011.12.043>.

- [97] J.E. Baur, Diffusion coefficients, Elsevier B.V., 2007. <https://doi.org/10.1016/B978-044451958-0.50036-7>.
- [98] L.R.F. Allen J. Bard, Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., Austin, Texas, 2000.
- [99] J.S. Stefano, D.P. Rocha, R.M. Dornellas, L.C.D. Narciso, S.R. Krzyzaniak, P.A. Mello, E. Nossol, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Highly sensitive amperometric detection of drugs and antioxidants on non-functionalized multi-walled carbon nanotubes: Effect of metallic impurities?, *Electrochimica Acta*. 240 (2017) 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.04.050>.
- [100] S. Trasatti, O.A. Petrii, International Union of Pure and Applied Chemistry Physical Chemistry Division Commission on Electrochemistry: Real Surface Area Measurements in Electrochemistry, *Pure and Applied Chemistry*. 63 (1991) 711–734. <https://doi.org/10.1351/pac199163050711>.
- [101] T.A. Benites, W.C. Ribeiro, M.S. Góes, A.A.P. Ferreira, P.R. Bueno, Efeitos da rugosidade superficial nas propriedades de passivação de monocamadas orgânicas automontadas, *Química Nova*. 37 (2014) 1533–1537. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140241>.
- [102] L.O. Orzari, I.A. de Araujo Andreotti, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino, B.C. Janegitz, Disposable electrode obtained by pencil drawing on corrugated fiberboard substrate, *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 264 (2018) 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.02.162>.
- [103] A. Sánchez Arribas, M. Moreno, L. González, N. Blázquez, E. Bermejo, A. Zapardiel, M. Chicharro, A comparative study of carbon nanotube dispersions assisted by cationic reagents as electrode modifiers: Preparation, characterization and electrochemical performance for gallic acid detection, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 857 (2020) 113750. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113750>.
- [104] A.P. Lima, W.T.P. dos Santos, E. Nossol, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Critical evaluation of voltammetric techniques for antioxidant capacity and activity: Presence of alumina on glassy-carbon electrodes alters the results, *Electrochimica Acta*. 358 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136925>.
- [105] R. Abdel-Hamid, E.F. Newair, Electrochemical behavior of antioxidants: I. Mechanistic study on electrochemical oxidation of gallic acid in aqueous solutions at glassy-carbon electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 657 (2011) 107–112. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2011.03.030>.

- [106] J.N. Miller, J.C. Miller, *Statistic and chemometrics for analytical chemistry*, 6th ed., Pearson Education, Gosport, 2010.
- [107] M.C. Henstridge, E.J.F. Dickinson, M. Aslanoglu, C. Batchelor-McAuley, R.G. Compton, Voltammetric selectivity conferred by the modification of electrodes using conductive porous layers or films: The oxidation of dopamine on glassy carbon electrodes modified with multiwalled carbon nanotubes, *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 145 (2010) 417–427. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2009.12.046>.
- [108] E.A. Carneiro, D. Agustini, L.C.S. Figueiredo-Filho, C.E. Banks, L.H. Marcolino-Junior, M.F. Bergamini, 3D-printed Microfluidic Device Based on Cotton Threads for Amperometric Estimation of Antioxidants in Wine Samples, *Electroanalysis*. 30 (2018) 101–108. <https://doi.org/10.1002/elan.201700579>.
- [109] A. International, Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, *AOAC Official Methods of Analysis*. (2016) 1–18.
- [110] E.A. Carneiro, D. Agustini, L.C.S. Figueiredo-Filho, C.E. Banks, L.H. Marcolino-Junior, M.F. Bergamini, 3D-printed Microfluidic Device Based on Cotton Threads for Amperometric Estimation of Antioxidants in Wine Samples, *Electroanalysis*. 30 (2018) 101–108. <https://doi.org/10.1002/elan.201700579>.
- [111] V. Erady, R.J. Mascarenhas, A.K. Satpati, A.K. Bhakta, Z. Mekhalif, J. Delhalle, D. A, Carbon paste modified with Bi decorated multi-walled carbon nanotubes and CTAB as a sensitive voltammetric sensor for the detection of Caffeic acid, *Microchemical Journal*. 146 (2019) 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.12.023>.
- [112] X. Tu, Y. Xie, F. Gao, X. Ma, X. Lin, X. Huang, F. Qu, L. Ping, Y. Yu, L. Lu, Self-template synthesis of flower-like hierarchical graphene/copper oxide@copper(II) metal-organic framework composite for the voltammetric determination of caffeic acid, *Microchimica Acta*. 187 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00604-020-04238-2>.
- [113] K.H.A.A. Fernandes, J.P.T. Da Silva Santos, V. Del Colle, J. Souza-Garcia, C.A. Angelucci, Considerações técnicas quanto ao uso da voltametria de varredura escalonada em processos adsorptivos, *Quimica Nova*. 38 (2015) 431–435. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140317>.
- [114] G. Ziyatdinova, E. Guss, H. Budnikov, Amperometric sensor based on MWNT and electropolymerized carminic acid for the simultaneous quantification of TBHQ and BHA, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 859 (2020) 113885. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.113885>.

- [115] R.P. Caramit, A.G. de Freitas Andrade, J.B. Gomes de Souza, T.A. de Araujo, L.H. Viana, M.A.G. Trindade, V.S. Ferreira, A new voltammetric method for the simultaneous determination of the antioxidants TBHQ and BHA in biodiesel using multi-walled carbon nanotube screen-printed electrodes, *Fuel*. 105 (2013) 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.06.062>.
- [116] T.F. Tormin, R.R. Cunha, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Fast simultaneous determination of BHA and TBHQ antioxidants in biodiesel by batch injection analysis using pulsed-amperometric detection, *Talanta*. 99 (2012) 527–531. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.06.024>.
- [117] W. Cai, T. Lai, H. Du, J. Ye, Electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid based on an exfoliated graphite paper electrode: A high performance flexible sensor, *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 193 (2014) 492–500. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.12.004>.
- [118] G.C.M. de Oliveira, J.H. de S. Carvalho, L.C. Brazaca, N.C.S. Vieira, B.C. Janegitz, Flexible platinum electrodes as electrochemical sensor and immunosensor for Parkinson's disease biomarkers, *Biosensors and Bioelectronics*. 152 (2020) 112016. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112016>.
- [119] S. Husmann, E. Nossol, A.J.G. Zarbin, 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*. 192 (2014) 782–790. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.10.074>.
- [120] J. Agrisuelas, M.I. González-Sánchez, E. Valero, Hydrogen peroxide sensor based on in situ grown Pt nanoparticles from waste screen-printed electrodes, *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 249 (2017) 499–505. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.04.136>.
- [121] M. Douliche, M. Trari, B. Saidat, Bimetallic CoPt nanoparticles-modified Pt disk electrode for the amperometric sensing of ascorbic acid, *Journal of Chemical Sciences*. 130 (2018) 1–10. <https://doi.org/10.1007/s12039-018-1513-5>.
- [122] N.I.G. Inoque, A.F. João, L. V. de Faria, R.A.A. Muñoz, Electrochemical determination of several biofuel antioxidants in biodiesel and biokerosene using polylactic acid loaded with carbon black within 3D-printed devices, *Microchimica Acta*. 189 (2022) 1–11. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-05152-x>.
- [123] Z. Wang, F. Yang, H. Zheng, X. Qin, J. Luo, Y. Li, D. Xiao, Voltammetric determination of TBHQ at a glassy carbon electrode surface activated by in situ chemical oxidation, *Analyst*. 139 (2013) 3622–3628. <https://doi.org/10.1039/c4an00325j>.

- [124] G. Ziyatdinova, K. Os'Kina, E. Ziganshina, H. Budnikov, Simultaneous determination of TBHQ and BHA on a MWNT-Brij® 35 modified electrode in micellar media, *Analytical Methods*. 7 (2015) 8344–8351. <https://doi.org/10.1039/c5ay01973g>.
- [125] A.A. Hoffmann Da Rocha, M. Casagrande, L. De Souza Schaumlöffel, Y.P. Da Silva, C.M. Sartori Piatnicki, Simultaneous Voltammetric Determination of tert-Butylhydroquinone and Propyl Gallate in Biodiesel-Ethanol at a Pt Ultramicroelectrode, *Energy and Fuels*. 31 (2017) 7076–7081. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b00204>.
- [126] B. Habibi, M.H. Pournaghi-Azar, Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid by use of a MWCNT modified carbon-ceramic electrode and differential pulse voltammetry, *Electrochimica Acta*. 55 (2010) 5492–5498. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2010.04.052>.
- [127] C. Wang, J. Du, H. Wang, C. Zou, F. Jiang, P. Yang, Y. Du, A facile electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and Au nanoplates modified glassy carbon electrode for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid, *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 204 (2014) 302–309. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.07.077>.
- [128] Y. Qi, H. Long, L. Ma, Q. Wei, S. Li, Z. Yu, J. Hu, P. Liu, Y. Wang, L. Meng, Enhanced selectivity of boron doped diamond electrodes for the detection of dopamine and ascorbic acid by increasing the film thickness, *Applied Surface Science*. 390 (2016) 882–889. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.08.158>.
- [129] J.P. Metters, F. Tan, R.O. Kadara, C.E. Banks, Platinum screen printed electrodes for the electroanalytical sensing of hydrazine and hydrogen peroxide, *Analytical Methods*. 4 (2012) 1272–1277. <https://doi.org/10.1039/c2ay05934g>.
- [130] X. Niu, H. Zhao, C. Chen, M. Lan, Platinum nanoparticle-decorated carbon nanotube clusters on screen-printed gold nanofilm electrode for enhanced electrocatalytic reduction of hydrogen peroxide, *Electrochimica Acta*. 65 (2012) 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.01.030>.
- [131] L.V. da Silva, F.A.S. Silva, L.T. Kubota, C.B. Lopes, P.R. Lima, E.O. Costa, W. Pinho Júnior, M.O.F. Goulart, Amperometric sensor based on carbon nanotubes and electropolymerized vanillic acid for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid, *Journal of Solid State Electrochemistry*. 20 (2016) 2389–2393. <https://doi.org/10.1007/s10008-016-3129-3>.

- [132] C. Wang, J. Du, H. Wang, C. Zou, F. Jiang, P. Yang, Y. Du, A facile electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and Au nanoplates modified glassy carbon electrode for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid, *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 204 (2014) 302–309. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.07.077>.
- [133] X. Luo, L. Chen, J. Yang, S. Li, M. Li, Q. Mo, Y. Li, X. Li, Electrochemically simultaneous detection of ascorbic acid, sulfite and oxalic acid on Pt-Pd nanoparticles/chitosan/nitrogen doped graphene modified glassy carbon electrode: A method for drug quality control, *Microchemical Journal*. 169 (2021) 106623. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106623>.
- [134] T.S.H. Pham, L. Fu, P. Mahon, G. Lai, A. Yu, Fabrication of β -Cyclodextrin-Functionalized Reduced Graphene Oxide and Its Application for Electrocatalytic Detection of Carbendazim, *Electrocatalysis*. 7 (2016) 411–419. <https://doi.org/10.1007/s12678-016-0320-3>.
- [135] S. Luo, Y. Wu, H. Gou, A voltammetric sensor based on GO-MWNTs hybrid nanomaterial-modified electrode for determination of carbendazim in soil and water samples, *Ionics (Kiel)*. 19 (2013) 673–680. <https://doi.org/10.1007/s11581-013-0868-3>.
- [136] J. Li, Y. Chi, Determination of carbendazim with multiwalled carbon nanotubes-polymeric methyl red film modified electrode, *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 93 (2009) 101–104. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2008.12.004>.
- [137] P.L.A. Sundari, S.P. Palaniappan, P. Manisankar, Enhanced Sensing of Carbendazim, a Fungicide on Functionalized Multiwalled Carbon Nanotube Modified Glassy Carbon Electrode and Its Determination in Real Samples, *Analytical Letters*. 43 (2010) 1457–1470. <https://doi.org/10.1080/00032710903502066>.
- [138] E.M. Maximiano, F. de Lima, C.A.L. Cardoso, G.J. Arruda, Incorporation of thermally activated zeolite into carbon paste electrodes for voltammetric detection of carbendazim traces in milk samples, *Journal of Applied Electrochemistry*. 46 (2016) 713–723. <https://doi.org/10.1007/s10800-016-0954-0>.
- [139] I.M. Costa, L. Codognoto, E.M.A. Valle, Voltammetric and spectroscopic studies of the interaction between copper (II) ions with the pesticide carbendazim and its effect in the soil, *Journal of Solid State Electrochemistry*. 22 (2018) 1563–1570. <https://doi.org/10.1007/s10008-017-3746-5>.
- [140] J.M. Petroni, B.G. Lucca, D.K. Fogliato, V.S. Ferreira, Sensitive Approach for Voltammetric Determination of Carbendazim Based on the Use of an Anionic

- Surfactant, Electroanalysis. 28 (2016) 1362–1369.
<https://doi.org/10.1002/elan.201501069>.
- [141] P. Santana, J. Lima, T. Santana, L. Santos, C. Matos, L. da Costa, I. Gimenez, E. Sussuchi, Semiconductor Nanocrystals-Reduced Graphene Composites for the Electrochemical Detection of Carbendazim, *J Braz Chem Soc.* 00 (2019) 1–7.
<https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190026>.
- [142] P. Jara-Ulloa, P. Cañete-Rosales, L.J. Núñez-Vergara, J.A. Squella, Adsorptive stripping voltammetric determination of nitroimidazole derivative on multiwalled carbon nanotube modified electrodes: Influence of size and functionalization of nanotubes, *J Braz Chem Soc.* 22 (2011) 1271–1278. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011000700012>.
- [143] J.S. Stefano, A.P. Lima, C.C. Nascentes, S.R. Krzyzaniak, P.A. Mello, J.M. Gonçalves, E.M. Richter, E. Nossol, R.A.A. Munoz, Electrochemical detection of 2,4,6-trinitrotoluene on carbon nanotube modified electrode: Effect of acid functionalization, *Journal of Solid State Electrochemistry.* 24 (2020) 121–129.
<https://doi.org/10.1007/s10008-019-04465-5>.
- [144] C.A.S. Aguiar Júnior, A.L.R. dos Santos, A.M. de Faria, Disposable pipette extraction using a selective sorbent for carbendazim residues in orange juice, *Food Chemistry.* 309 (2019) 125756. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125756>.
- [145] A.M. Pisoschi, A. Pop, I. Gajaila, F. Iordache, R. Dobre, I. Cazimir, A.I. Serban, Analytical methods applied to the assay of sulfur-containing preserving agents, *Microchemical Journal.* 155 (2020) 104681.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104681>.
- [146] R.M.D. Machado, M.C.F. Toledo, Sulfitos em Alimentos, *Brazilian Journal of Food Technology.* 9 (2006) 265–275.
- [147] C. Ruiz-Capillas, F. Jiménez-Colmenero, Application of flow injection analysis for determining sulphites in food and beverages: A review, *Food Chemistry.* 112 (2009) 487–493. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.085>.
- [148] D. Corbo, M. Bertotti, Use of a copper electrode in alkaline medium as an amperometric sensor for sulphite in a flow-through configuration, *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 374 (2002) 416–420. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1504-7>.
- [149] J.M. Marioli, T. Kuwana, Electrochemical characterization of carbohydrate oxidation at copper electrodes, *Electrochimica Acta.* 37 (1992) 1187–1197.
[https://doi.org/10.1016/0013-4686\(92\)85055-P](https://doi.org/10.1016/0013-4686(92)85055-P).

- [150] J. Lu, D.B. Dreisinger, W.C. Cooper, Anodic oxidation of sulphite ions on graphite anodes in alkaline solution, *Journal of Applied Electrochemistry*. 29 (1999) 1161–1170. <https://doi.org/10.1023/A:1003629208316>.
- [151] I.G. Casella, R. Marchese, Sulfite oxidation at a platinum glassy carbon electrode. Determination of sulfite by ion exclusion chromatography with amperometric detection, *Analytica Chimica Acta*. 311 (1995) 199–210. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(95\)00180-8](https://doi.org/10.1016/0003-2670(95)00180-8).
- [152] M.K. Sezgintürk, E. Dinçkaya, Direct determination of sulfite in food samples by a biosensor based on plant tissue homogenate, *Talanta*. 65 (2005) 998–1002. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.08.037>.
- [153] A. Isaac, J. Davis, C. Livingstone, A.J. Wain, R.G. Compton, Electroanalytical methods for the determination of sulfite in food and beverages, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 25 (2006) 589–598. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2006.04.001>.
- [154] A. Shahvar, M. Saraji, H. Gordan, D. Shamsaei, Combination of paper-based thin film microextraction with smartphone-based sensing for sulfite assay in food samples, *Talanta*. 197 (2019) 578–583. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.01.071>.
- [155] E. Gómez-Otero, M. Costas, I. Lavilla, C. Bendicho, Ultrasensitive, simple and solvent-free micro-assay for determining sulphite preservatives (E220-228) in foods by HS-SDME and UV-vis micro-spectrophotometry Microextraction Techniques, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 406 (2014) 2133–2140. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-7293-3>.
- [156] E. Mataix, M.D. Luque De Castro, Determination of total and free sulfur dioxide in wine by pervaporation-flow injection, *Analyst*. 123 (1998) 1547–1549. <https://doi.org/10.1039/a802566e>.
- [157] S. Zaruba, A.B. Vishnikin, J. Škrlíková, V. Andruch, Using an Optical Probe as the Microdrop Holder in Headspace Single Drop Microextraction: Determination of Sulfite in Food Samples, *Analytical Chemistry*. 88 (2016) 10296–10300. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b03129>.
- [158] R.M. Ramos, L.M. Gonçalves, V. Vyskočil, J.A. Rodrigues, Free sulphite determination in wine using screen-printed carbon electrodes with prior gas-diffusion microextraction, *Electrochemistry Communications*. 63 (2016) 52–55. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2015.12.010>.
- [159] C. Chinvongamorn, K. Pinwattana, N. Praphairaksit, T. Imato, O. Chailapakul, Amperometric determination of sulfite by gas diffusion-sequential injection with boron-

- doped diamond electrode, *Sensors*. 8 (2008) 1846–1857. <https://doi.org/10.3390/s8031846>.
- [160] P.R. Martins, W.D. Popolim, L.A.F. Nagato, E. Takemoto, K. Araki, H.E. Toma, L. Angnes, M.D.V.C. Penteadó, Fast and reliable analyses of sulphite in fruit juices using a supramolecular amperometric detector encompassing in flow gas diffusion unit, *Food Chemistry*. 127 (2011) 249–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.103>.
- [161] M.L. Oliveira, G.C. Brandao, J.B. de Andrade, S.L.C. Ferreira, Determination of free and total sulfur(IV) compounds in coconut water using high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry in gas phase, *Talanta*. 179 (2018) 810–815. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.11.070>.

APÊNDICE 1

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos referentes a esta tese:

- 1- **Araújo, D.A.G.**; Camargo, J. R.; Pradela-Filho, L.A.; Lima, A.P.; Muñoz, R.A.A.; Takeuchi, R.M.; Janegitz, B.C.; Santos, A.L. A lab-made screen-printed electrode as a platform to study the effect of the size and functionalization of carbon nanotubes on the voltammetric determination of caffeic acid. **Microchemical Journal**. v.158, p.105297, 2020.
- 2- 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, p.128880, 2020.
- 3- **Araújo, D.A.G.**; Oliveira, A.C.M.; Pradela-Filho, L.A.; Takeuchi, R.M.; Santos, A.L. A novel miniaturized electroanalytical device integrated with gas extraction for the voltammetric determination of sulfite in beverages. **Analytica Chimica Acta**. v.1185, p.339067, 2021.

Outros artigos completos publicados em periódicos durante o período de doutoramento

- 1- **Araújo, D.A.G.**; Pradela-Filho, L.A.; Santos, A.L.R.; Faria, A.M.; Takeuchi, R.M.; Karimi-Maleh, H.; Santos, A.L. Uncured Polydimethylsiloxane as Binder Agent for Carbon Paste Electrodes: Application to the Quantification of Propranolol. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.30, p.1988 - 1998, 2019.
- 2- Pradela-Filho, L.A.; Noviana, Eka; **Araújo, D.A.G.**; Takeuchi, R.M.; Santos, A.L.; Henry, C.S. Rapid Analysis in Continuous-Flow Electrochemical Paper-Based Analytical Devices. **ACS Sensors**, v.5, p.274 - 281, 2019.
- 3- Pradela-Filho, L. A.; Andreotti, I.A.A.; Carvalho, J.H.S.; **Araújo, D.A.G.**; Orzari, L.O.; Gatti, Alexandre; Takeuchi, R.M.; Santos, A.L.; Janegitz, B.C. Glass varnish-based carbon conductive ink: a new way to produce disposable electrochemical sensors. **Sensors and Actuators B-Chemical**. v.305, p.127433, 2019.

4- Pradela-Filho, L.A.; **Araújo, D.A.G.**; Takeuchi, R.M.; Santos, A.L.; Henry, C.S. Thermoplastic electrodes as a new electrochemical platform coupled to microfluidic devices for tryptamine determination. **Analytica Chimica Acta**. v.1147, p.116 - 123, 2021.

5- Silva, J.L.; Buffon, E.; Beluomini, M.A.; Pradela-Filho, L.A.; **Araújo, D.A.G.**; Santos, A.L.; Takeuchi, R.M.; Stradiotto, N.R. Non-enzymatic lactose molecularly imprinted sensor based on disposable graphite paper electrode. **Analytica Chimica Acta**. v.1143, p.53 - 64, 2021.

6- Camargo, J.R.; Orzari, L.O.; **Araújo, D.A.G.**; Oliveira, P.R.; Kalinke, C.; Rocha, D.P.; Santos, A.L.; Takeuchi, R.M.; Munoz, R.A.A.; Bonacin, J.A.; Janegitz, B.C. Development of conductive inks for electrochemical sensors and biosensors. **Microchemical Journal**. v.164, p.105998, 2021.

Artigos aceitos para publicação

Oliveira, A.C.M.; **Araújo, D.A.G.**; Pradela-Filho, L.A.; Takeuchi, R.M.; Trindade, M.A.G.; Santos, A.L. Threads in tubing: an innovative approach towards improved electrochemical thread-based microfluidic devices. **Lab on a Chip**, 2022.

Capítulo de livros publicado

Barbosa, H.P.; **Araújo, D.A.G.**; Pradela-Filho, L.A.; Takeuchi, R.M.; Lima, R.G.; Ferrari, J.Luis; Sousa G.M.; Santos, A.Luiz. Zinc Oxide as a Multifunctional Material: From Biomedical Applications to Energy Conversion and Electrochemical Sensing In: Environmental Chemistry for a Sustainable World. *1 ed.*: **Springer International Publishing**, 2021, p. 251-305.