



**Universidade Federal de
Uberlândia Instituto de Química
Programa de Pós Graduação em
Química**

Waleska Renata P. Costa

**Obtenção e Aplicações Analíticas de
Eletrodos de Grafeno por Gravação a
Laser**

Uberlândia-MG

2022

Waleska Renata P. Costa

**Obtenção e Aplicações Analíticas de
Eletrodos de Grafeno por Gravação a
Laser**

Dissertação de mestrado
apresentada ao Programa de
Pós Graduação em Química da
Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito à
obtenção do título de Mestre em
Química Analítica.

Orientador: Dr. Rodrigo Alejandro Abarza
Muñoz

Área de concentração: Química Analítica

Uberlândia-MG

2022

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

C837 Costa, Waleska Renata Pereira, 1997-
2022 Obtenção e Aplicações Analíticas de Eletrodos de
Grafeno por Gravação a Laser [recurso eletrônico] /
Waleska Renata Pereira Costa. - 2022.

Orientador: Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz .
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Uberlândia, Pós-graduação em Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.478>

Inclui bibliografia.

1. Química. I. , Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, 1980-
, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia.
Pós-graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



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:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 349, PPGQUI				
Data:	Doze de agosto de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	09:00	Hora de encerramento:	11:20
Matrícula do Discente:	12112QMI024				
Nome do Discente:	Waleska Renata Pereira Costa				
Título do Trabalho:	Obtenção e Aplicações Analíticas de Eletrodos de Grafeno por Gravação a Laser				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Eletroquímica Aplicada				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Sensores eletroquímicos de alto desempenho: novos materiais e estratégias de produção				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma Google Meet, link <https://meet.google.com/xup-pghv-qoj>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores Sidnei Gonçalves da Silva, da Universidade Federal de Uberlândia; Renata Pereira Alves, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, orientador da candidata.

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

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

Aprovada.

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

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

Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Alejandro Abarza Munoz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 12/08/2022, às 11:21, 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 **Sidnei Gonçalves da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 12/08/2022, às 11:22, 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 **Renata Pereira Alves Balvedi, Usuário Externo**, em 12/08/2022, às 11:22, 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 **3705853** e o código CRC **F049817C**.

“Somos assim: sonhamos o voo mas tememos a altura. Para voar é preciso ter coragem para enfrentar o terror do vazio. Porque é só no vazio que o voo acontece. O vazio é o espaço da liberdade, a ausência de certezas. Mas é isso o que tememos: o não ter certezas. Por isso trocamos o voo por gaiolas. As gaiolas são o lugar onde as certezas moram.”

Fiódor Dostoiévski

Dedico este trabalho aos meus amados pais, Carme Regina e Renato, que nunca mediram esforços para me ajudarem a realizar meus sonhos, pelo amor incondicional e apoio em todas as dificuldades.

Agradecimentos

- Primeiramente, ao Criador, pela oportunidade de viver nesse Planeta e com pessoas tão maravilhosas;
- Aos meus queridos pais, Carme Regina e Renato, pela vida, pelo apoio, pelos exemplos de humildade e amor. Sem vocês eu não teria chegado até aqui;
- Ao meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo, pela paciência, orientação, amizade e todo conhecimento compartilhado;
- À colega em especial, Raquel Rocha, por toda ajuda e conhecimento compartilhado desde o começo do mestrado, parte do que sei, agradeço a ela;
- Aos colegas de laboratório, Lucas, Jian, Amanda, Tiago, David, Mayane e Gilvania, por toda convivência e risadas que tornaram essa experiência mais leve e proveitosa;
- Ao meu amigo, Ruan, por estar sempre comigo, por me ouvir, pelos conselhos e pela presença virtual em todos momentos que precisei;
- Aos meus amigos, Mirian e William, por estarem sempre ao meu lado;
- Aos meus amigos, Lucas Eduardo, Matheus Valadares e Vinícius Augusto, pela convivência, por todos os momentos de descontração, por manterem a cozinha limpa, pelo carinho e amizade sincera;
- A minha amiga, Kívia, por todo auxílio durante a minha busca por autoconhecimento;
- Ao meu amigo, Erick, por todo incentivo, ajuda e companheirismo;
- À CAPES, CNPq e FAPEMIG, por todo investimento em minha pesquisa.

Sumário

1.	Introdução	15
1.1	Grafeno e suas aplicações	16
1.2	Ácido Úrico e Nitrito	22
1.3	Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂)	23
1.4	Ciprofloxacina	24
2.	Objetivos	25
3.	Parte Experimental	26
3.1	Reagentes	26
3.2	Obtenção dos Eletrodos LIG	27
3.3	Caracterização Espectroscópica e Morfológica do LIG	29
3.4	Medidas Eletroquímicas	29
3.5	Modificação do LIG com Filme de Azul da Prússia Error! Bookmark not defined.	
3.6	Detecção Amperométrica Usando LIG em uma Célula de Análise de Injeção em Batelada (BIA)	30
4.	Resultados e Discussão	32
4.1	Caracterização Morfológica e Estrutural	32
4.2	Desempenho Analítico dos Sensores Propostos	38
4.2.1	Ácido Úrico e Nitrito	38
4.2.2	H₂O₂ em eletrodo LIG modificado com azul da Prússia	43
4.2.3	Determinação de Ciprofloxacina Utilizando Sistema BIA	45
5.	Conclusão	54
6.	Referências	55

Resumo

Os materiais à base de grafeno apresentam propriedades únicas para aplicações eletroquímicas e a conversão térmica de poli-imida em grafeno usando laser é uma rota emergente para obter um material de alta qualidade para detecção eletroquímica. Nesta dissertação de mestrado é descrito o uso de um equipamento compacto e de baixo custo construído a partir de uma impressora 3D, na qual um laser com emissão na região do visível (449 nm) de 3,5 W foi adaptado para seu controle na direção x-y com intuito de fabricar eletrodos de grafeno. Os eletrodos de grafeno foram produzidos a partir da queima de poli-imida comercial (conhecida como Kapton) usando o laser (conhecidos como LIG, do inglês *laser induced graphene*, ou seja, grafeno induzido por laser). Posteriormente, estes eletrodos foram conectados a um potenciostato e um computador para a realização dos testes eletroanalíticos. O eletrodo obtido apresentou um coeficiente de transferência de elétrons (k^0) de $5,6 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ e uma boa reprodutibilidade (DPR < 5%, n = 5 eletrodos), conforme indicado pelas medidas de voltametria cíclica para $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$. Os eletrodos LIG permitiram a determinação voltamétrica simultânea de ácido úrico (com pico de oxidação em +0,1 V vs. pseudo-referência) e nitrito (com pico de oxidação em +0,4 V vs. pseudo-referência) em amostra padrão, com valores de limite de detecção (LD) de 0,07 e 0,27 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Além disso, foram feitas medidas amperométricas para a detecção de H_2O_2 (aplicando +0,0 V vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$) após modificação de superfície do LIG com azul da Prússia. Em superfície não modificada do LIG, também foi demonstrada a detecção de ciprofloxacina (CIP) sob a aplicação de +1,2 V vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$ em condições de fluxo. Os valores de LD foram estimados em 1 e 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para H_2O_2 e CIP, respectivamente. Não foram verificados efeitos de matriz na determinação de CIP em amostras de leite (recuperação entre 84 e 96%). O equipamento utilizado para a fabricação dos LIGs foi construído com menos de U\$300 (R\$1.500,00) e cada eletrodo custa menos de U\$0,01 (R\$0,05).

Palavras chaves: Voltametria, Amperometria, Gravação a Laser, Materiais de Grafeno, Laser Visível, Sensor Analítico.

Abstract

Graphene-based materials present unique properties for electrochemical applications, and laser-induced conversion of polyimide to graphene is an emerging route to obtain a high-quality material for sensing. Herein we present compact and low-cost equipment constructed from an open-source 3D printer at which a 3.5-W visible (449 nm) laser was adapted to fabricate laser-induced graphene (LIG) electrodes from commercial polyimide, which resulted in electron transfer kinetic (k_0) of $5.6 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ and reproducibility calculated by relative standard deviation (RSD < 5%) from cyclic voltammograms of $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ using 5 different electrodes. LIG electrodes enabled the simultaneous voltammetric determination of uric acid (+ 0.1 V vs. pseudo-reference) and nitrite (+ 0.4 V vs pseudo-reference), with limit of detection (LOD) values of 0.07 and $0.27 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. Amperometric measurements for the detection of H_2O_2 (applying + 0.0 V vs. Ag|AgCl|KCl(sat.)) after Prussian blue (PB) modification and ciprofloxacin (applying + 1.2 V vs. Ag|AgCl|KCl(sat.)) were performed under flow conditions, which confirmed the high stability of LIG and LIG-PB surfaces. The LOD values were 1.0 and $0.2 \mu\text{mol L}^{-1}$ for H_2O_2 and ciprofloxacin, respectively. The RSD values (< 12%) obtained for the analysis using three different electrodes attested the precision of LIG electrodes manufactured in two designs. No sample matrix effects on the determination of ciprofloxacin in milk samples were observed (recoveries between 84 and 96%). The equipment used to manufacture the LIGs was built with less than \$300 and each LIG electrode costs less than \$0.01.

Key words: Voltammetry, Amperometry, Laser Graved, Graphene Materials, Visible Laser, Analytical Sensor.

Lista de Abreviaturas e Siglas

PI	Poli-imida
DPR	Desvio Padrão Relativo
VC	Voltametria Cíclica
LIG	Laser Induced Graphene
LD	Limite de Detecção
PB	Prussian blue
CIP	Ciprofloxacina
IV	Infravermelho
AU	Ácido Úrico
DPV	Voltametria de Pulso Diferencial
BIA	Célula de Análise de Injeção em Batelada
BR	Britton-Robinson
MEV	Microscopia de Varredura Eletrônica
k^0	Coefficiente de Transferência de Elétrons
UV	Ultravioleta
GC	Carbano Vítreo
CNTs	Nanotubos de Carbono
BDD	Diamante Dopado com Boro
DGNPs	Nanoplaquetas de Diamante-Grafite
3D-GF	Espuma de Grafeno em 3D
MG	Grafeno Monocamada
ΔE	Variação de Potencial
E_{pa}	Potencial de Pico Anódico
E_{pc}	Potencial de Pico Catódico
ΔE_p	Variação de Potencial Padrão
I_{pa}	Corrente de Pico Anódica
I_{pc}	Corrente de Pico Catódica
PBS	Phosphate-Buffered Saline
ΔE_s	Potencial
a	Amplitude

t_m	Tempo de Modulação
$a h^{-1}$	Análise por Hora
rGO/GCE	Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Óxido de Grafeno Reduzido
GCE/LaSH	Eletrodo de Carbono Vítreo GCE Modificado por um Filme Fino de Laponita Funcionalizada com Tiol
TiO ₂ /AuNPs/CMK-3/Nafion/GE	Eletrodo de Grafite Modificado com Sol de Dióxido de Titânio Enriquecido com Carbono Mesoporoso, Nanopartículas de Ouro e Nafion
AuNP- β -CD-RGO/GCE	Nanocompósito de Óxido de Grafeno Reduzido Funcionalizado com β -Ciclodextrina Revestida com Nanopartículas de Ouro
SPE	Eletrodo Impresso
rGO/PPR/GCE	Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Vermelho de Fenol e Óxido de Grafeno Reduzido
PDA/MWCNT-GCE	Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado Composto de Nanotubos de Polidopamina de Parede Múltipla

Lista de Figuras

- Figura 1** Ilustração da máquina de impressão a laser. **A)** vista frontal e **B)** vista superior. **C)** Projeto dos sensores LIG produzidos: (a) configuração de eletrodo de trabalho único (1 cm × 4 cm) e (b) três eletrodos (1,5 cm × 4 cm). **D)** Imagem real do eletrodo LIG produzido.
- Figura 2** **(A)** Imagens reais do equipamento construído usando uma impressora 3D Hypercube em arranjo Core-XY e cabeçote de laser controlado por placas eletrônicas destacadas em **(B)** a placa eletrônica (CNC Shield no Arduino UNO) para movimento x - y (acima à esquerda) e controle do laser (acima à direita). Além disso, são mostradas imagens reais dos eletrodos LIG fabricados em duas configurações: **(C)** uma configuração de três eletrodos e **(D)** um único eletrodo de trabalho.
- Figura 3** **(A)** Componentes do sistema BIA impresso em 3D. (a) micropipeta eletrônica (Eppendorf Multipette® stream); (b) adaptador de ponta de micropipeta; (c) eletrodo de referência e (d) contra eletrodo; (e) tampa superior; (f) corpo celular; (g) tampa inferior; (h) parafusos; (i) chapa de aço (para contato elétrico); (j) eletrodo LIG. **(B)** Esquema da célula impressa em 3D (vista de corte transversal). **(C)** Sistema BIA montado.
- Figura 4** **A)** Imagens do MEV e **B)** Espectro Raman dos eletrodos LIG.
- Figura 5** Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura (20-100 mV s^{-1}) utilizando 1 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$, usando os eletrodos LIG. A figura inserida corresponde a um gráfico com os valores decorrente de picos anódico e catódico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.
- Figura 6** Relação entre a diferença de potencial de pico (ΔE_p) e o grau de reversibilidade (ψ) de uma reação redox.
- Figura 7** Voltamogramas cíclicos na presença de 1 mmol L^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, usando diferentes eletrodos LIG ($n = 5$). A linha tracejada corresponde ao sinal em branco. Eletrólito suporte: 0,1 mol L^{-1} KCl. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} ; incremento de potencial: 5 mV.

- Figura 8** (A) DPV com correção de linha de base obtidas para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido úrico e nitrito de sódio em $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ BR buffer (pH = 2,0-10,0). (B) Relação entre pH e potencial de pico (E_p) e resposta atual da oxidação eletroquímica de ácido úrico e nitrito de sódio em $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ BR buffer (pH ajustado com NaOH).
- Figura 9** DPV com correção de linha base obtidos de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido úrico e nitrito de sódio, usando diferentes eletrólitos de suporte.
- Figura 10** (A) DPV com correção de linha base obtida por aumento de concentração de ácido úrico e nitrito de sódio em eletrólito de suporte $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ BR buffer (pH = 3) e (B,C) respectivas curvas de calibração usando DPV com os seguintes parâmetros: $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$; $a = 100 \text{ mV}$; $t_m = 50 \text{ ms}$.
- Figura 11** DPV com correção de linha base obtida para avaliação intereletródos com 3 diferentes eletrodos LIG (E1, E2 E E3) usando ácido úrico (em torno de $0,1 \text{ V}$) e nitrito de sódio (em torno de $0,35 \text{ V}$), ambos $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 3). Parâmetros: $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$; $a = 100 \text{ mV}$; $t_m = 50 \text{ ms}$.
- Figura 12** (A) Resposta da cronoamperometria do LIG modificado com AP para sucessivas adições de H_2O_2 ($5- 447 \mu\text{mol L}^{-1}$) (setas no amperograma indicam quando ocorre a injeção de solução padrão de H_2O_2). Eletrólito de suporte: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão PBS (pH = 7,2)/ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl; potencial aplicado: 0 V e (B) respectiva curva de calibração.
- Figura 13** (A) Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos com o sistema BIA traçando os valores de corrente de pico em função do potencial aplicado correspondente, usando LIG como eletrodo de trabalho. Concentração da CIP: $50 \mu\text{mol L}^{-1}$; eletrólito de suporte: $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ BR buffer (pH = 5,0); taxa de dispensação: $200 \mu\text{L s}^{-1}$. Efeito da taxa de dispensação (B) e o volume de injeção (C) na resposta amperométrica de CIP. Potencial aplicado $+1,2 \text{ V}$ (vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat.})}$).
- Figura 14** A) Amperograma obtido pelo sistema BIA para injeções de CIP ($n = 3$) em concentrações de (a) 1; (b) 5; (c) 10; (d) 20; (e) 40; (f) 50; (g) $75 \mu\text{mol L}^{-1}$, usando o eletrodo LIG. B) Curvas analíticas com concentrações de CIP crescentes e decrescentes. Eletrólito de suporte: $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ tampão BR (pH = 5,0); taxa de dispensação: $227 \mu\text{L s}^{-1}$; volume de injeção: $100 \mu\text{L}$; potencial aplicado: $+1, 2 \text{ V}$ (vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat.})}$).

- Figura 15** Curva de calibração para a concentração crescente de CIP ($1-50 \mu\text{mol L}^{-1}$) obtida para eletrodos IV-LIG (linha vermelha) e visível-LIG (linha preta). Condições de detecção amperométrica BIA: **Tabela 8**.
- Figura 16** Amperograma obtido pelo sistema BIA para determinação de CIP em amostra de leite **A**) e leite enriquecido (A_{F1} , A_{F2} , A_{F3}). **B**) Curva analítica: (a) 1, (b) 5, (c) 10, (d) 20, (e) 40 e (f) $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. Condições experimentais: Eletrólito de suporte: $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ tampão BR ($\text{pH} = 5,0$); taxa de dispensação: $227 \mu\text{Ls}^{-1}$; volume de injeção: $100 \mu\text{L}$; potencial aplicado: $+1,2 \text{ V}$ (vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat.})}$).
- Figura 17** Amperograma obtido pelo sistema BIA para estudo de repetibilidade com injeções de CIP ($n = 20$) em concentrações de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, usando o eletrodo LIG.

Lista de Tabelas

- Tabela 1** Resumo de polímeros, suas unidades de repetição química e sua capacidade de formação de LIG. Dos 15 polímeros, apenas PI e PEI foram convertidos com sucesso em LIG.
- Tabela 2** Comparação entre a constante de Cinética de Transferência Eletrônica (k^0) de diferentes eletrodos à base de carbono, usando $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ como sonda redox.
- Tabela 3** Dados eletroquímicos (E_{pa} , E_{pc} , ΔE_p , I_{pa} , I_{pc}) obtidos a partir dos voltamogramas cíclicos em 1 mmolL^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ apresentados na Figura 6.
- Tabela 4** Faixas de estudos e valores otimizados selecionados para determinação de ácido úrico e nitrito usando DPV.
- Tabela 5** Parâmetros analíticos obtidos por detecção de ácido úrico e nitrito, usando condições otimizadas.
- Tabela 6** Parâmetros analíticos obtidos pela detecção de H_2O_2 , usando azul da Prússia como modificador.
- Tabela 7** Faixa estudada e valores otimizados selecionados para a determinação de CIP usando BIA com detecção amperométrica.
- Tabela 8** Faixa estudada e valores otimizados selecionados para a determinação de CIP usando BIA com detecção amperométrica.
- Tabela 9** Comparação entre alguns parâmetros analíticos para determinação de CIP usando BIA com detecção amperométrica.
- Tabela 10** Resultados obtidos pelo sistema BIA-AD para determinação de CIP em amostra de leite.
- Tabela 11** Comparação do desempenho analítico do LIG com outros sensores relatados na literatura para determinação de CIP.

1. Introdução

A utilização de grafeno tem aumentado exponencialmente devido às suas propriedades com aplicações em diversas áreas, incluindo eletroquímica [1, 2]. Desde seu primeiro isolamento por esfoliação mecânica do grafite em 2004, que possibilitou sua investigação pioneira [3], novos métodos para obtenção de grafeno têm sido investigados [4–6]. Folhas de grafeno podem ser produzidas por deposição de vapor químico a qual requer condições de alta temperatura; outra abordagem envolve a oxidação do grafite em óxido de grafeno e subsequente remoção de grupos oxigenados [7]. Um procedimento inovador para fabricar folhas de grafeno em uma etapa única é a conversão fototérmica de carbono sp^3 de polímeros em átomos de carbono sp^2 por irradiação de laser pulsado [4]. Este trabalho pioneiro demonstrou que a poli-imida comercial pode ser convertida em filmes porosos de grafeno em um processo único e escalável usando um laser de CO_2 com emissão na região do infravermelho (IV), resultando na formação um material com uma alta condutividade elétrica; os materiais obtidos através desses métodos foram nomeados na literatura como grafeno induzido por laser (do inglês, *laser induced graphene* (LIG)).

Considerando as folhas de grafeno de alta qualidade obtidas por este procedimento fototérmico, os substratos LIG encontraram inúmeras aplicações em eletroquímica, incluindo o desenvolvimento de sensores eletroquímicos [8–14]. Os eletrodos LIG têm sido explorados como sensores eletroquímicos para moléculas de interesse biológico (dopamina, H_2O_2 , glicose), bem como substratos para produzir biossensores e sensores quimicamente modificados para diversos analitos em uma ampla gama de aplicações [14–21]. O protocolo de fabricação mais empregado para obter tais sensores eletroquímicos envolve o uso de um pulso de laser infravermelho de CO_2 a partir de uma máquina de corte a laser para converter poli-imida em folhas de grafeno. Ainda muito menos exploradas, as fontes de laser de emissão na região do visível podem produzir LIG a partir de poli-imida com vantagens em relação à miniaturização do sensor, pois fornecem maior resolução no design, além de instrumentação mais simples [11, 22].

1.1 Grafeno e suas aplicações

O grafeno tem chamado muita atenção desde que uma nova forma de obtenção foi descoberta em 2004 [2]. É um alotropo do carbono e sua estrutura consiste em uma monocamada hexagonal de átomos de carbono organizados em uma rede do tipo “colmeia” e possuem comprimento de ligação aproximadamente de 0,142 nm [23].

Os elétrons nesse material se comportam como partículas relativísticas sem massa, o que contribui para propriedades peculiares, como um efeito Hall quântico anômalo e ausência de localização de carga devido à nuvem p de carbonos sp^2 [24]. Esses efeitos da mecânica quântica podem levar a aplicações em dispositivos baseados em carbono magnético e eletromagnético mais elevados [25, 26]. Entre suas várias propriedades diferenciadas estão a alta mobilidade elétrica à temperatura ambiente ($250.000 \text{ cm}^2/\text{Vs}$), excepcional condutividade térmica ($5000 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$) [27] e propriedades mecânicas superiores, como um Módulo de Young de 1 Tpa [28].

O grafeno pode ser preparado utilizando dois métodos: *top-down* que consiste em destruir um precursor até que o resultado seja a estrutura hexagonal desejada. E o *bottom-up* que utiliza a construção do grafeno a partir de pequenas moléculas contendo carbono [24].

Um dos métodos pioneiros utilizado para isolar o grafeno é da categoria *top-down* e consiste na esfoliação mecânica, camada por camada, reportado por Geim e Novoselev [3]. Seguindo a mesma lógica, é possível utilizar esse método para fazer a esfoliação em fase líquida, que possui uma vantagem em relação à esfoliação em fase sólida, gerando mais material para manipulação [24]. Além desses dois métodos, é possível realizar a esfoliação e redução química de forma simultânea, resultando em um processo mais rápido e com menos gases tóxicos, um revés encontrado na esfoliação mecânica [24].

Ademais, há muitos métodos que envolvem a redução do óxido de grafeno possibilitando a sua obtenção. A redução química utiliza dois reagentes, hidrazina e borohidreto de sódio, apesar de ser uma técnica barata, de fácil manuseio e com produtos estáveis, a geração de algumas espécies podem ser tóxicas para a saúde e o meio ambiente [29]. No entanto, a utilização do ácido ascórbico se mostra uma opção mais segura, garantindo uma redução “verde” eficiente. Uma alternativa mais segura é a redução eletroquímica que não possui intermediários tóxicos e atua como tratamento da superfície de eletrodos. Para que ela ocorra,

é necessário a imersão de um sistema de três eletrodos em uma suspensão coloidal contendo óxido de grafeno bem disperso e o eletrólito de suporte [24].

Dentre os métodos bottom-up, um dos que se destaca é a deposição de vapor químico que pode sintetizar grandes áreas de folha de grafeno [30]. O processo necessita de alta temperatura para que ocorra a decomposição de gases de hidrocarbonetos simples que favorece no crescimento da estrutura de grafeno, necessitando ainda de um catalisador metálico. Apesar de a técnica ter sido aprimorada, é um processo relativamente caro e possui algumas desvantagens [24].

Nesse sentido, um método inovador foi relatado em 2014, que consiste na obtenção de grafeno a partir da queima de um polímero pela irradiação de laser para fabricação de sensores eletroquímicos [4]. Esse estudo pioneiro despertou muito interesse e vários testes posteriores foram realizados alternando o tipo do laser, os parâmetros de otimização para a construção dos eletrodos, bem como seu design. Os parâmetros de irradiação do laser têm um efeito significativo na morfologia e na estrutura química do LIG e está resumido no **Quadro 1** [8].

Quadro 1: Os principais pontos do mecanismo para a conversão de poli-imida a estruturas gráficas.

Interação do laser com o filme de poli-imida

- Absorção de energia de fótons a laser

A superfície superior da poliimida absorve mais de 90% de IV neste comprimento de onda, as camadas superiores do substrato se transformam em LIG; em contraste, a parte inferior permanece intocada e pode atuar como suporte mecânico

- Aumento local de pressão e temperatura

A obtenção de uma temperatura do substrato acima de 2500 °C é possível sob a influência de um feixe de laser focado com duração de pulso de milissegundos

Conversão fototérmica sp^3 -átomos de carbono (em poli-imida) em sp^2 -átomos de carbono

- Quebra e recombinação das ligações de C-O, C = O e N-C em poli-imida
- Evolução dos gases gerados durante a oxidação
- Formação de uma estrutura porosa (devido à ablação de uma certa quantidade de carbono na presença de oxigênio disponível e umidade)
- A produção e a taxa de emissão de gases durante o processo de gaseificação são a razão das diferenças na morfologia do LIG fabricado com diferentes parâmetros de laser.

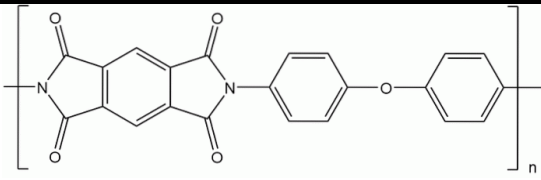
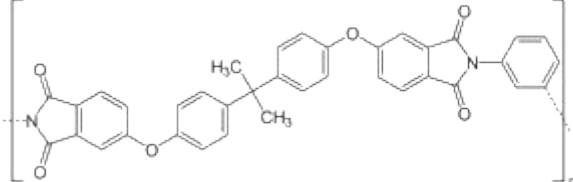
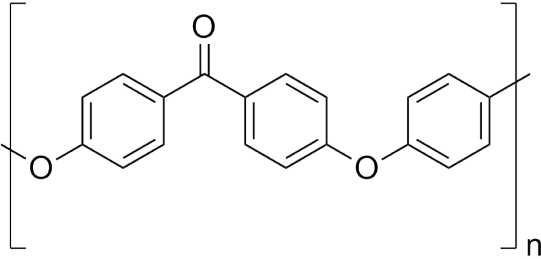
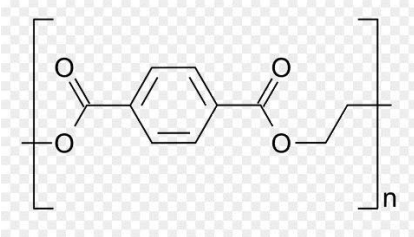
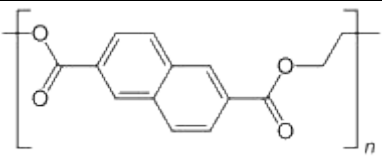
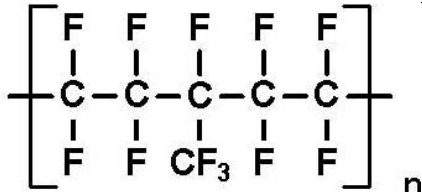
Produzindo material de nanofolhas de grafeno poroso (3D) composto por mais de 85% de carbono

- Uma mudança de cor de laranja para preto indica a carbonização da poli-imida
-

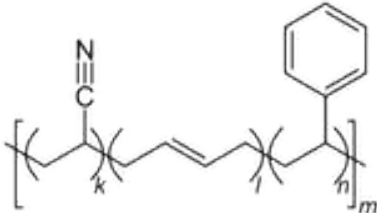
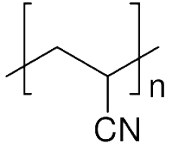
Fonte: [8].

O LIG pode ser gerado a partir de diferentes fontes de laser, infravermelho (IV), ultravioleta (UV) e visível. Em vista disso, um estudo foi feito para descobrir quais polímeros poderiam ser convertidos em grafeno e o resumo pode ser observado na **Figura 1**.

Tabela 1: Resumo de polímeros, suas unidades de repetição química e sua capacidade de formação de LIG. Dos 15 polímeros, apenas PI e PEI foram convertidos com sucesso em LIG.

Nome	Símbolo	Unidade	Formação de Grafeno?
Poli-imida Kapton	PI		Sim
Polieterimida	PEI		Sim
Poliéter Éter Cetona	PEEK		Não
Tereftalato de Polietileno	PET		Não
Naftalato de Polietileno	PEN		Não
Étilenopropileno fluorado	FEP		Não

Perfluoroalcoxi alcanos	PFA	$\left(\begin{array}{c} \text{F} \quad \text{F} \\ \quad \\ \text{---C---C---} \\ \quad \\ \text{F} \quad \text{F} \end{array} \right)_n \left(\begin{array}{c} \text{F} \quad \text{F} \\ \quad \\ \text{---C---C---} \\ \quad \\ \text{F} \quad \text{O} \\ \\ \text{F---C---F} \\ \\ \text{F} \end{array} \right)_m$	Não
Teflon	PTFE	$\left[\begin{array}{c} \text{F} \quad \text{F} \\ \quad \\ \text{---C---C---} \\ \quad \\ \text{F} \quad \text{F} \end{array} \right]_n$	Não
Poliestireno	PS	$\left[\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{---C---} \\ \\ \text{H} \end{array} \text{---} \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---} \\ \\ \text{H} \end{array} \right]_n$	Não
Policarbonato	PC	$\left[\text{---O---} \begin{array}{c} \text{C} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \end{array} \text{---C(CH}_3)_2\text{---} \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{O} \end{array} \text{---C(=O)---} \right]_n$	Não
Poliétileno	PE	$\left(\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{---C---C---} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} \right)_n$	Não
Álcool Polivinílico	PVA	$\left(\text{---CH}_2\text{---CH(OH)---} \right)_n$	Não
Poli(metacrilato de metila)	PMMA	$\left(\text{---CH}_2\text{---C(CH}_3)_2\text{---C(=O)OCH}_3\text{---} \right)_n$	Não

Acrilonitrila	ABS	Não
Butadieno		Não
Estireno		
Poli(acrilonitrila)	PAN	Não
		

Fonte: [4].

Hidrocarbonetos não aromáticos sofrem degradação quase completa sem grafitação. A formação de LIG a partir de estruturas poli- ou heterocíclicas, como o grupo imida em polímeros PI e PEI, favorece a formação de LIG. Embora o PAN seja um precursor da fibra de carbono, ele não grafita bem, a menos que seja aquecido lentamente para permitir a ciclização e a extrusão de N [4].

A alta estabilidade química e a estrutura bidimensional do grafeno são características que permitem a utilização deste material na construção de diversos tipos de sensores e o LIG pode ser aplicado para vários fins. Foi relatado um trabalho utilizando LIG como célula de biocombustível enzimática flexível que tem sido fontes de energia promissoras para dispositivos biomédicos e implantes [31]. O LIG é interessante nesse caso, pois é um material flexível e não necessita de revestimento posterior, sendo possíveis várias aplicações práticas.

Para uma maior precisão e melhor desempenho também é possível modificar a superfície do LIG, como reportado no trabalho em que foi feito um tratamento de superfície utilizando filmes de nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizados com COOH (f-MWCNT) e nanopartículas de ouro (AuNPs) para detecção de nitrito em amostras de água [32]. Outro trabalho que vale ser ressaltado, utilizando o laser de UV e posterior tratamento da superfície com quitosana e glicose oxidase, foi feito para desenvolver um biossensor para detecção de glicose [22].

1.2 Ácido Úrico e Nitrito

O Ácido Úrico (AU) é um produto do metabolismo de purinas e nucleotídeos provenientes das proteínas da alimentação [33]. É também um componente importante na urina, um dos indicadores saudáveis no corpo humano. AU excessivo ou deficiente na urina causa uma variedade de doenças, como gota, hiperuricemia, leucemia, pneumonia entre outros [34]. Níveis sanguíneos anormais de ácido úrico (hiperuricemia) podem ser decorrentes de alterações na produção ou excreção, indicando alguma fisiopatologia renal. Em contraste, o AU tem outro papel nos fluidos biológicos, como uma molécula de defesa não enzimática do estresse oxidativo, contribuindo com aproximadamente 70% da capacidade antioxidante total salivar [35].

Os nitritos são amplamente conhecidos por seu uso na preservação e conservação de alimentos embutidos [34]. A prevalência de seu uso levou a pesquisas sobre os efeitos adversos que poderia ter sobre o ser humano e o meio ambiente em geral. O nitrito é formado também pela injestão de nitrato que é reduzido por algumas bactérias presentes na saliva, sendo comprovado que pessoas que utilizam enxaguante bucal diariamente têm percentuais de nitrito inferiores. O nitrito é muito utilizado na conservação de carnes embutidas, como presunto e bacon, além de ser muito encontrado em verduras e legumes devido a fertilização do solo [36]. Entretanto, o nitrito forma um carcinógeno, N-nitrosoamina, quando reage com a amina, principalmente, no sistema digestório que possui um pH mais alto aumentando as chances de desenvolver câncer de intestino [37]. Algumas verduras e frutas possuem níveis de nitrato e nitrito superiores aos recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), no entanto, como nesses alimentos tem a presença de vitaminas C e E, que são antioxidantes e não são ricas em proteínas, o risco de desenvolver um câncer é inferior quando esses compostos são provenientes de vegetais.

Os nitritos, quando em excesso nos fluidos corporais, têm sido relacionados em várias complicações de saúde que vão desde leucemia, câncer de intestino e tumores cerebrais. Também causa deficiência de oxigênio no sangue, pois oxida a hemoglobina transportadora de oxigênio em metemoglobina deficiente em oxigênio [38]. Devido aos numerosos efeitos adversos na saúde humana, a OMS define 65 μM e 4,3 μM para seus

limites de exposição, seja por contato cutâneo, inalação ou ingestão, de curto e longo prazo, respectivamente [39].

Portanto, a análise e detecção precisas de AU e NO_2^- são de grande importância para aplicação clínica. Sabendo que o nitrito e o AU são moléculas importantes no metabolismo humano, a determinação simultânea dessas duas moléculas é de relevância significativa no campo do diagnóstico clínico.

1.3 Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2)

O peróxido de hidrogênio atua como oxidante e antisséptico. Este composto químico também tem propriedades antibacterianas, antifúngicas e antivirais. Esta combinação de propriedades o qualifica de forma única para esterilização de equipamentos ociosos e porosos, bem como para limpeza profunda de feridas. O H_2O_2 pode ser perigoso para a saúde humana por inalação, ingestão e contato direto com a pele quando em grandes concentrações. A ingestão de H_2O_2 é uma forma comum de intoxicação, que causa danos diretos aos tecidos pela produção de oxigênio e peroxidação lipídica [40].

A determinação de peróxido de hidrogênio em nível traço é importante nas áreas ambiental, médica, farmacêutica e biológica, bem como na indústria alimentícia e têxtil devido a um amplo espectro de propriedades antibacterianas, baixa toxicidade e pureza ecológica. É necessário determinar a concentração de peróxido de hidrogênio não apenas em processos químicos e industriais (por exemplo, desinfecção, tratamento de águas residuais), mas também como produto intermediário de reações enzimáticas em processos bioquímicos (por exemplo, para a determinação de glicose). Portanto, um sensor de H_2O_2 também pode ser usado como um intermediário para outros biossensores [41].

1.4 Ciprofloxacina

Os antibióticos são considerados os avanços mais importantes na história da medicina moderna devido ao seu impacto fenomenal na redução da morbidade humana, mortalidade e perdas econômicas [42]. Em vista disso, um importante antibiótico é a ciprofloxacina (CIP), que demonstrou ser ativa contra vários isolados de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, tais como: *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus spp.*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitides*, *Moraxella catarrhalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Moraxella catarrhalis*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus pyogenes* tanto in vitro quanto in vivo [43]. A CIP tem sido usada com sucesso desde 1987 e foi incluída na lista de medicamentos essenciais da OMS [44].

Outra utilidade deste antibiótico é o seu uso para controle de pragas e tratar ou prevenir doenças em gado leiteiro [45]. No entanto, o uso de forma inadequada pode ser responsável pela resistência de diversos patógenos, além de gerar resíduos em alimentos de origem animal [44]. Na indústria de laticínios, a CIP não é completamente eliminada durante o processo de tratamento térmico (pasteurização), o que pode causar riscos potenciais para o consumidor. Assim, o limite residual máximo definido para CIP pelas agências reguladoras com base nas recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) é de 0,1 mg L⁻¹ [46]. Portanto, é de grande interesse o desenvolvimento de um método simples, barato e preciso para a detecção de CIP em amostras de leite.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como principal objetivo analisar o desempenho de um eletrodo LIG obtido a partir de uma impressora adaptada e de baixo custo, utilizando um laser na região do visível ($\lambda = 449 \text{ nm}$) e folhas de poli-imida como substrato. A abordagem proposta consiste em uma impressora 3D CoreXY de bancada na qual uma fonte de laser foi conectada e controlada por uma placa Arduino. A construção dos eletrodos em dois designs diferentes: plataforma de três eletrodos (eletrodo de trabalho, auxiliar e pseudo-referência) e o eletrodo único de trabalho.

2.2 Objetivos específicos

- 1) A caracterização morfológica e espectroscópica do LIG obtido;
- 2) A caracterização eletroquímica (voltametria cíclica (VC)) com a finalidade de verificar se o eletrodo está apto;
- 3) A determinação simultânea de ácido úrico e nitrito utilizando o eletrodo com a plataforma de três eletrodos e volume reduzido (100 μL);
- 4) Análise do desempenho eletroquímico do eletrodo de trabalho LIG com tratamento de superfície com azulda Prússia (do inglês, prussian blue (PB)) para detecção de peróxido de hidrogênio;
- 5) Análise do desempenho eletroquímico do eletrodo de trabalho LIG para CIP utilizando o método BIA.

3. Parte Experimental

3.1 Reagentes

Água deionizada, (resistividade não inferior a 18,2 M Ω cm) obtida a partir de um sistema purificador de água Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, Estados Unidos), foi utilizada no preparo de todas as soluções. Todos os reagentes utilizados apresentavam pureza analítica e foram empregados sem purificação prévia. Hexacianoferrato de Potássio (III) (98,5% m/m) foi adquirido da Proquimios (Rio de Janeiro, Brazil). Cloreto de Ferro (III) (99% m/m), ciprofloxacina (98% m/m, CIP) e ácido úrico (99% m/m, UA) foram obtidos da Sigma-Aldrich (Rio de Janeiro, Brasil). Ácido clorídrico (37% m/m), ácido fosfórico (85% m/m), nitrito de sódio (97% m/m) e cloreto de potássio (98,5% m/m) foram adquiridos da Synth (Diadema, Brasil). Peróxido de hidrogênio em solução aquosa (30% m/m) da Dinamica (São Paulo, Brasil). Hidróxido de sódio (98% m/m) e ácido bórico (99,8% m/m) foram obtidos da AppliChem Panreac (Barcelona, Espanha). As folhas de poli-imida (PI) (ϕ 0,125 mm) foram compradas da Vemar (Sorocaba, Brasil).

O tampão Britton-Robinson (BR) a 0,12 mol L⁻¹ (pH 2,0–10,0) foi usado como eletrólito de suporte para avaliar o comportamento eletroquímico da CIP e para determinação simultânea de ácido úrico e nitrito em diferentes pHs. Este tampão é composto por uma mistura de ácido acético, ácido bórico e ácido fosfórico (todos numa concentração de 0,04 mol L⁻¹). Os valores de pH foram ajustados com solução de hidróxido de sódio (1,0 mol L⁻¹). A amostra de leite foi adquirida em supermercado local e fortificada com CIP diluída em eletrólito suporte (200 vezes).

3.2 Obtenção dos Eletrodos LIG

Uma impressora 3D Hypercube em um arranjo Core-XY foi adaptada aproveitando a mesa de impressão (30 cm x 30 cm) onde a folha de poli-imida é colocada e os motores estacionários são responsáveis pelo movimento $x-y$. Uma fonte de laser que emite luz na região do visível (3,5 W; 449,2 nm, da Eleksmaker) foi fixado no manipulador substituindo o extrusor de filamento presente em impressoras do tipo FDM (*Fused Deposition Modeling*, tradução de molegam por fusão e deposição). O comprimento de onda máximo de emissão da fonte de laser visível foi medido com Ocean Optic JAZ Espectrômetro UV-Vis (Ocean Insight, Estados Unidos) e o valor obtido foi 449,2 nm. O esquema da impressora adaptada com o laser pode ser observado na **Figura 2A-B** (vista frontal em A e vista superior em B) e as imagens reais estão representadas na **Figura 3**. A folha de PI é imobilizada na mesa da impressora com o auxílio de ímãs apoiados em uma máscara impressa em 3D, pois na medida em que ocorre a pirólise induzida pelo laser, a folha PI tende a se dobrar ou movimentar. O feixe de laser foi ajustado para obter o feixe de maior resolução, em que se tem a menor trilha de grafeno gerada, utilizando o menor spot do laser para gerar trilhas mais finas e sem falhas, sobre o leito a uma distância de 60 mm e pode se movimentar em uma velocidade de até 200 mm s⁻¹. O laser foi ajustado numa potência de 24% (0,84 W) e a velocidade de 20 mm s⁻¹ foi utilizada para fabricar os eletrodos LIG. Valores maiores de potência utilizados resultaram em um eletrodo com menor eficiência eletroquímica e até destruíram a folha de PI, enquanto a menor velocidade de até 20 mm s⁻¹ proporcionou maior condutividade das trilhas, consequentemente conferindo um melhor desempenho eletroquímico. Usando o método de ablação a laser [47], o ponto de diâmetro do laser pode ser medido e controlado ajustando a potência e a velocidade do laser. Foram obtidos valores entre 100 e 600 μm, e neste trabalho, o *spot* do laser foi mantido em 155 μm.

Figura 2. Ilustração da máquina de impressão a laser. **A)** vista frontal e **B)** vista superior. **C)** Projeto dos sensores LIG produzidos: (a) configuração de eletrodo de trabalho único ($1\text{ cm} \times 4\text{ cm}$) e (b) três eletrodos ($1,5\text{ cm} \times 4\text{ cm}$). **D)** Imagem real do eletrodo LIG produzido.

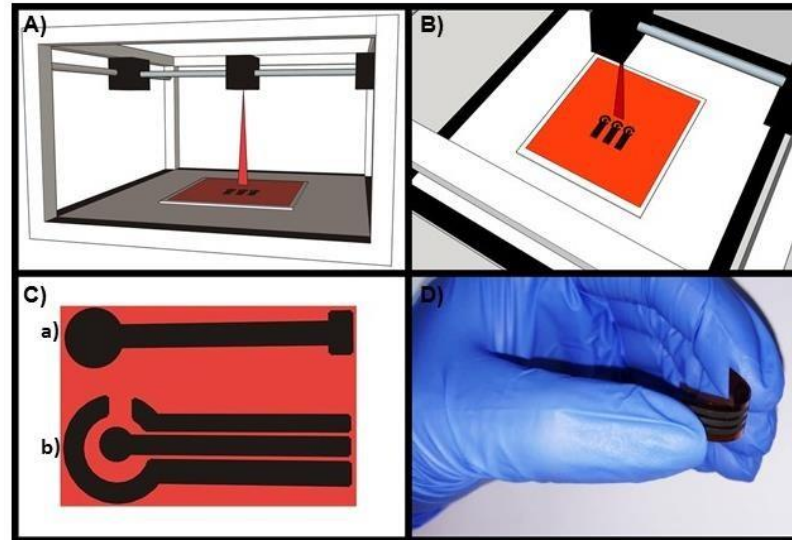
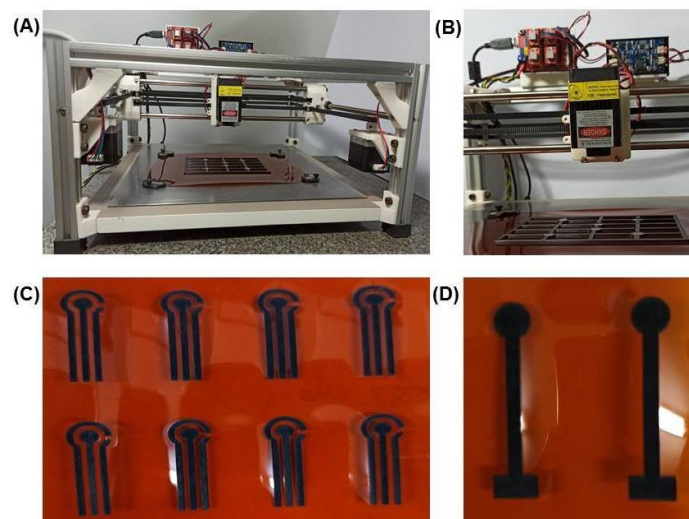


Figura 3. (A) Fotografias do equipamento construído usando uma impressora 3D Hypercube em arranjo Core-XY e cabeçote de laser controlado por placas eletrônicas destacadas em (B) a placa eletrônica (CNC Shield no Arduino UNO) para movimento x - y (acima à esquerda) e controle do laser (acima à direita). Além disso, são mostradas fotografias dos eletrodos LIG fabricados em duas configurações: (C) uma configuração de três eletrodos e (D) um único eletrodo de trabalho.



Dois modelos foram selecionados para fabricar os eletrodos LIG como mostrado na **Fig. 2C e 3C-D**, em que o primeiro (**C**) consiste em uma plataforma de três eletrodos (eletrodo de trabalho, auxiliar e pseudo-referência) e o segundo (**D**) se refere a um único eletrodo de trabalho. A **Fig. 2D** ilustra a flexibilidade do eletrodo LIG que pode ser completamente dobrado sem afetar as faixas gravadas a laser. O feixe de laser é aplicado em linhas paralelas gravadas lado a lado e separadas por 0,05 mm para gerar a imagem final. A gravação a laser da imagem é finalizada com a aplicação de uma linha circundando toda a imagem. É possível fazer doze impressões do sistema de três eletrodos em uma hora. Um verniz isolante ou uma fita podem ser utilizados para limitar a área dos dois modelos de eletrodos. As áreas geométricas do eletrodo de trabalho no sistema de três eletrodos e na plataforma de eletrodo de trabalho único foram 0,07 e 0,20 cm, respectivamente.

3.3 Caracterização Espectroscópica e Morfológica do LIG

Um microscópio LabRAM HR Evolution (Horiba, Japão) foi responsável pela obtenção dos espectros Raman utilizando um laser de íons de argônio de 532 nm com potência de incidência de 25% na faixa entre 4000 e 200 cm^{-1} . As medidas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram realizadas em um Thermo Fisher Scientific modelo Prisma E com equipamento ColorSEM Technology (TESCAN, Brno-Kohutovice, República Tcheca) operado a 20 kV.

3.4 Medidas Eletroquímicas

As medidas eletroquímicas voltametria cíclica (VC) e voltametria de pulso diferencial (DPV), foram realizadas usando um μ -Autolab tipo III potenciostato/galvanostato (Metrohm Autolab B. V., Utrecht, Holanda). A aquisição e processamento (correção de linha base) dos dados foram controlados pelo software NOVA 1.11 ou 2.1.4. Para as medições eletroquímicas usando o sistema de eletrodo único de trabalho LIG, um eletrodo $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}$ feito em laboratório e um fio de platina foram usados como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente.

Um conector de sensor (Metrohm Autolab B. V., Utrecht, Holanda) foi empregado para realizar a conexão eletrônica com a plataforma de três eletrodos LIG ao potenciostato. Este protótipo foi empregado para determinação simultânea de ácido úrico e nitrito de sódio pela técnica de DPV em uma gota de solução (100 μL). Os parâmetros de DPV como amplitude, tempo e potencial foram otimizados em 100 mV, 50 ms e 5 mV, respectivamente.

3.5 Determinação Amperométrica de H_2O_2

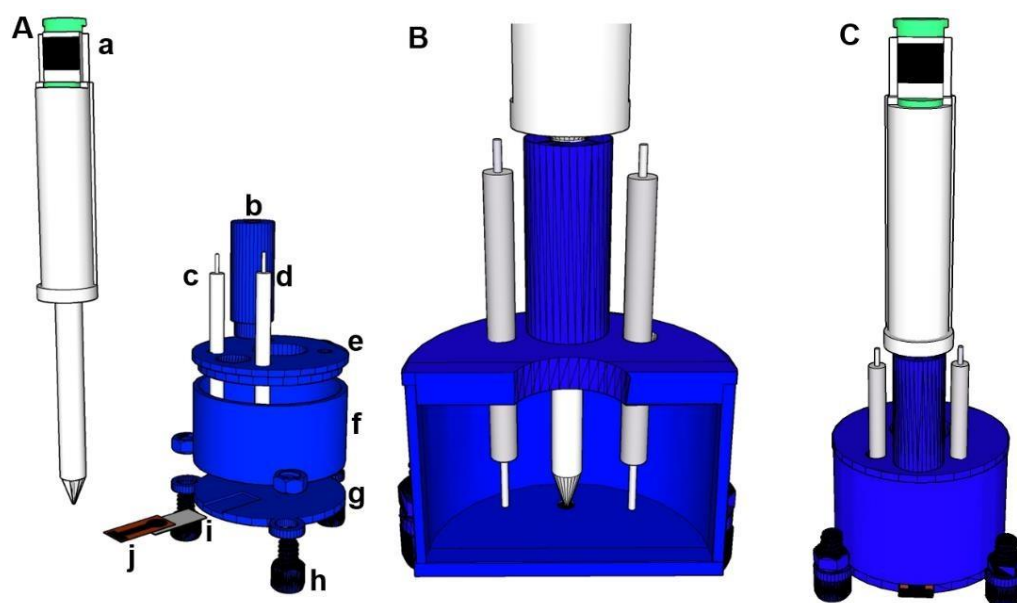
Os eletrodos de trabalho LIG foram modificados com azul da Prússia (PB) por meio de um pré-tratamento eletroquímico baseado em trabalhos anteriores [48, 49]. Os filmes de PB foram depositados aplicando +0,4 V (vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$) em uma solução contendo FeCl_3 e $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, ambos em 4 mmol L^{-1} e 0,1 mol L^{-1} $\text{KCl}/0,01 \text{ mol L}^{-1}$ HCl , como eletrólito de suporte. Em seguida, os eletrodos foram ativados no mesmo eletrólito por varreduras de VC sucessivas (20 ciclos) com potencial variando de +0,05 até +0,35 V (40 mV s^{-1}). A modificação do eletrodo de trabalho com PB foi utilizada para detecção amperométrica de H_2O_2 aplicando + 0,0 V (vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$).

3.6 Detecção Amperométrica Usando LIG em uma Célula de Análise de Injeção em Batelada (BIA) de CIP

Para detecção amperométrica de CIP, o eletrodo de trabalho LIG foi associado a uma célula de análise de injeção em batelada (do inglês, *batch-injection analysis* (BIA)) impressa em 3D desenvolvida pelo NuPE, nosso laboratório de pesquisa [50]. O esquema da célula BIA impressa em 3D é representado pela **Figura 4**, na qual o eletrodo de trabalho LIG foi montado para a determinação da CIP. Na **Figura 4A** é possível observar (a) a micropipeta eletrônica responsável pela injeção de soluções e amostras padrão e (b) as partes da célula BIA impressa em 3D, incluindo o posicionamento do eletrodo LIG (j) na parte inferior da célula, enquanto eletrodo de referência e contra-eleto-rodo são colocados na tampa superior (c e d). Um corte longitudinal da célula é representado na **Figura 4B** para destacar o posicionamento da ponta conectada à micropipeta no centro entre os eletrodos auxiliar e de referência. É possível ver a célula montada na **Figura 4C**.

A célula tem capacidade para suportar um volume de até 100 mL. O contato elétrico do eletrodo LIG foi auxiliado com uma fita de cobre para posteriormente ser conectado com uma pinça jacaré.

Figura 4. (A) Componentes do sistema BIA impresso em 3D. (a) micropipeta eletrônica (Eppendorf Multipipette® stream); (b) adaptador de ponta de micropipeta; (c) eletrodo de referência e (d) contra eletrodo; (e) tampa superior; (f) corpo celular; (g) tampa inferior; (h) parafusos; (i) chapa de aço (para contato elétrico); (j) eletrodo LIG. (B) Esquema da célula impressa em 3D (vista de corte transversal). (C) Sistema BIA montado.



As condições de análise que resultaram em maior resposta analítica foram obtidas usando potencial de +1,2 V (vs. Ag|AgCl|KCl_(sat)), taxa de injeção de 227 $\mu\text{L s}^{-1}$ e volume de injeção de 100 μL . Nas mesmas condições, os eletrodos LIG obtidos com um laser de CO₂ com emissão na região do infravermelho foram usados para determinação de CIP para comparar com os eletrodos LIG obtidos pelo laser de emissão no visível.

Para a fabricação dos eletrodos feitos pelo laser infravermelho, foi utilizado um equipamento em WorkSpecial WS4040 (São Paulo, Brasil) com um laser de CO₂ ($\lambda = 10,6 \mu\text{m}$, 40 W). O layout dos eletrodos foi feito no software RDWorks 8.0.

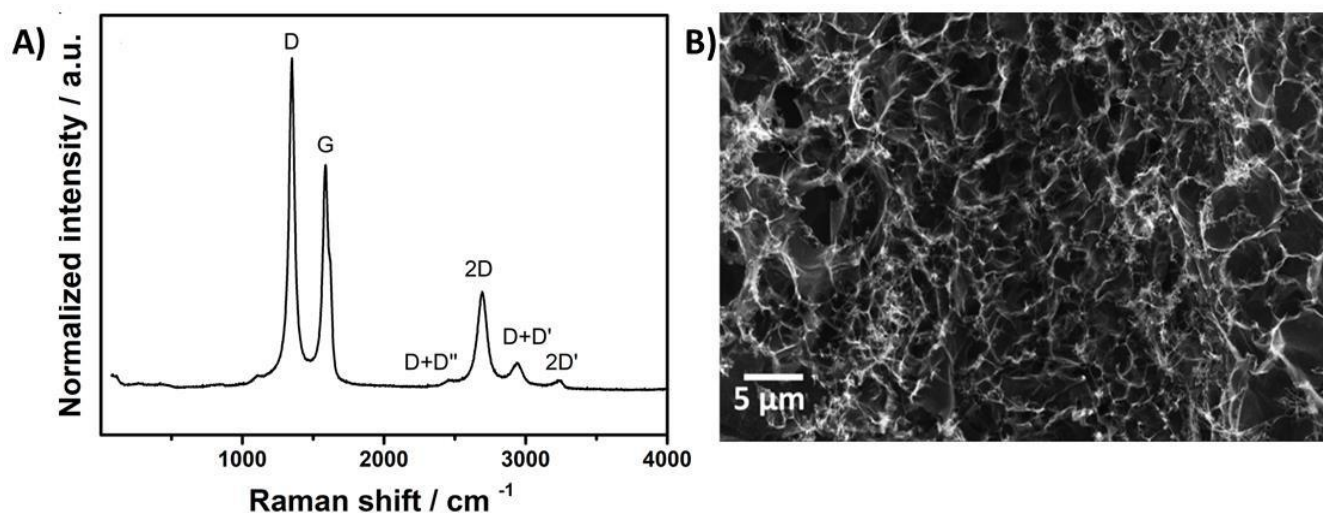
4. Resultados e Discussão

4.1 Caracterização Morfológica e Estrutural

O espectro Raman de um eletrodo LIG confeccionado neste trabalho é apresentado na **Fig. 5A**. É possível verificar a presença das bandas vibracionais D (1343 cm^{-1}), G (1591 cm^{-1}) e 2D (2691 cm^{-1}). Ambas as bandas, D e G, estão relacionadas à hibridização sp^3 , vacâncias e heteroátomos. A banda G também está associada à vibração sp^2 dos átomos de carbono em uma rede hexagonal bidimensional e o sinal 2D é devido à presença de contribuições induzidas por defeitos. Uma banda menor em 2936 cm^{-1} foi observada no espectro, correspondendo ao D + D' e indica a estrutura de desordem do grafeno com grupos contendo oxigênio. Sobretons combinados (D + D'' e 2D') também são exibidos na **Fig. 5A** e indicaram a formação de uma estrutura de carbono tipo grafite.

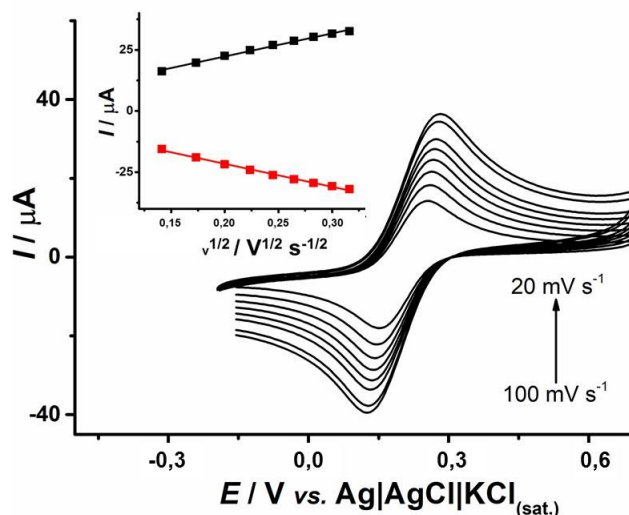
É possível observar na Fig. 4B pelas imagens obtidas do MEV que o eletrodo LIG é composto por uma folha de grafeno de alta densidade em redes tridimensionais interligadas, semelhante à morfologia de eletrodos de carbono tipo grafeno obtidos por indução a laser com emissão em outros comprimentos de onda [11, 51–53] A morfologia pode ser explicada pelo mecanismo de conversão de PI em estrutura de grafeno; a absorção da energia dos fótons do laser induz à alta temperatura localizada, resultando na pirólise rápida da PI. A construção dos eletrodos LIG foi realizada em condições ambientes (presença de oxigênio e umidade), o que pode explicar a presença de alguns grupos funcionais junto ao grafeno, uma vez que ocorre ablação independente das condições em que o laser e a folha de PI forem expostas, resultando na estrutura porosa observada. A presença de poros e morfologias de grafeno, provenientes da liberação de gases devido a alta temperatura de irradiação localizada, proporcionam sítios eletroativos altamente acessíveis e melhora da resposta eletroquímica, como observado previamente.

Figura 5. A) Espectro Raman dos eletrodos LIG e B) Imagens do MEV.



A **Figura 6** representa a resposta gráfica por voltametria cíclica para o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ em concentração de 1 mmol L^{-1} para diferentes velocidades de varredura ($20\text{--}100 \text{ mV s}^{-1}$). A sonda de ferricianeto é utilizada para este teste pois apresenta um perfil conhecido e estável. A corrente de pico é dependente da raiz quadrada da velocidade de varredura, o que indica que o transporte de massa da sonda é controlado por difusão. É sabido que o transporte de massa pode ser feito também por convecção e migração, no entanto, não ocorrem, pois a migração é minimizada devido ao eletrólito de suporte ter uma elevada concentração. E a convecção é reduzida pois a VC ocorre com a solução em repouso. Fenômeno de adsorção da sonda redox ao eletrodo não ocorre.

Figura 6. Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura (20-100 mV s⁻¹) utilizando 1 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]^{4-/3-}, usando os eletrodos LIG. A figura inserida corresponde a um gráfico com os valores decorrente de picos anódico e catódico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.



O desempenho eletroquímico do eletrodo LIG obtido foi avaliado e posteriormente comparado com outros eletrodos por meio da determinação do valor da constante de transferência de elétrons heterogênea k^0 , por voltametria cíclica. A constante k^0 representa um conjunto de características interfaciais, nesse caso, dos aspectos físico-químicos de uma interface eletrodo/eletrólito que contribuem para a cinética da transferência de elétrons em uma determinada interface [54].

O coeficiente de transferência de elétrons (k^0) foi calculado a partir dos dados voltamétricos da **Figura 6** usando o método de Nicholson [55] para avaliar os eletrodos obtidos. De acordo com esse método, o valor de k^0 , para sistemas quasi-reversíveis, pode ser determinado considerando-se o aumento na diferença entre os potenciais de pico catódico e anódico (ΔE_p), a velocidade de varredura e o coeficiente de difusão do meio.

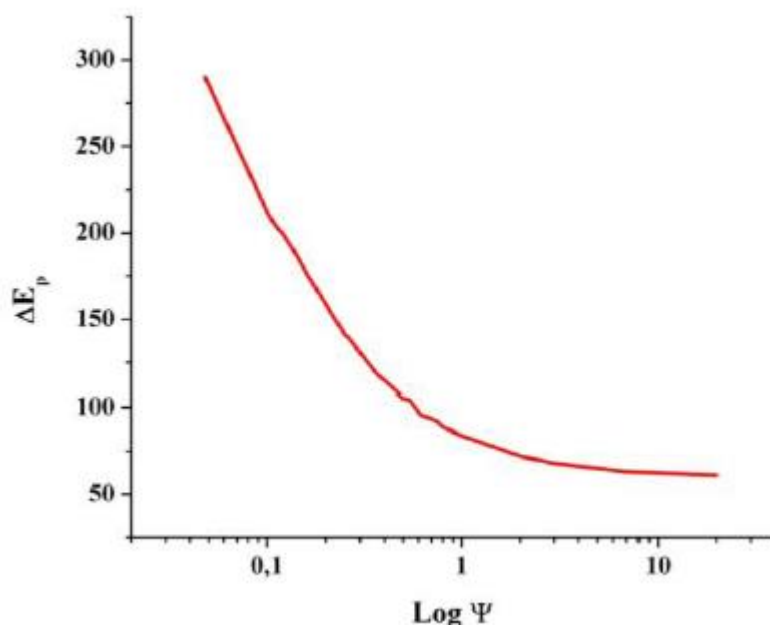
$$\Lambda = k^0 \frac{1}{\sqrt{Df\nu}} \quad (1)$$

Sendo Λ um parâmetro de medida quantitativa da reversibilidade de um sistema, D o coeficiente de difusão da espécie, assumindo que $D_0=D_r=D$, v a velocidade de varredura. Com isso é possível determinar o valor de k^0 através da seguinte equação:

$$k^0 = \psi \sqrt{\pi D f v} \quad (2)$$

Sendo $\psi = \Lambda \frac{1}{\sqrt{\pi}}$, seu valor pode ser encontrado a partir do gráfico apresentado por Nicholson, conforme a diferença de potencial de pico, a **Figura 7** foi montada a partir da tabela proposta por Nicholson [56].

Figura 7: Relação entre a diferença de potencial de pico (ΔE_p) e o grau de reversibilidade (ψ) de uma reação redox.



Fonte: adaptado da tabela [56].

O valor de k^0 obtido foi $5,6 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ e este foi comparado com outros obtidos em eletrodos à base de carbono como visto na **Tabela 2**. O valor de k^0 obtido foi semelhante ao valor obtido no eletrodo modificado com nanoplaquetas diamante-grafite ($5,63 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$) e maior do que os eletrodos modificado com nanotubos de carbono ($5,09 \times 10^{-6} \text{ cm s}^{-1}$), que exigem algumas etapas para sua produção [57, 58]. Por outro lado, o k^0 obtido pelo eletrodo LIG proposto é inferior aos valores obtidos em um trabalho recente [13] que comparou eletrodos LIG obtidos por fontes de IR ($1,00 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$) e UV ($2,27 \times 10^{-2}$

cm s⁻¹). As condições de produção do LIG relatadas nesse trabalho (comprimento de onda de 355 nm, potência média de 0,25 W, velocidade do laser de 75 mm s⁻¹ e distância de 4,4 mm) são diferentes, assim como a fonte do laser de emissão no UV (Nd: Laser UV pulsado YVO4 - 355 nm). Estas diferenças (sobretudo o uso de um laser mais energético) devem ter gerado uma superfície de LIG diferente que forneceu um valor de k^0 mais alto. Embora um valor menor de k^0 tenha sido obtido para 1 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]^{3-/4-} no trabalho reportado nesta dissertação, outros resultados eletroquímicos demonstram a viabilidade dos eletrodos LIG obtidos para eletroanálise. Além disso, este valor de k^0 pode ser melhorado otimizando as condições de gravação, como velocidade, potência do laser, distância da linha e ângulo da linha que influenciam na formação da superfície carbonácea.

Tabela 2. Comparação entre a constante de Cinética de Transferência Eletrônica (k^0) de diferentes eletrodos à base de carbono, usando [Fe(CN)₆]^{4-/3-} como sonda redox.

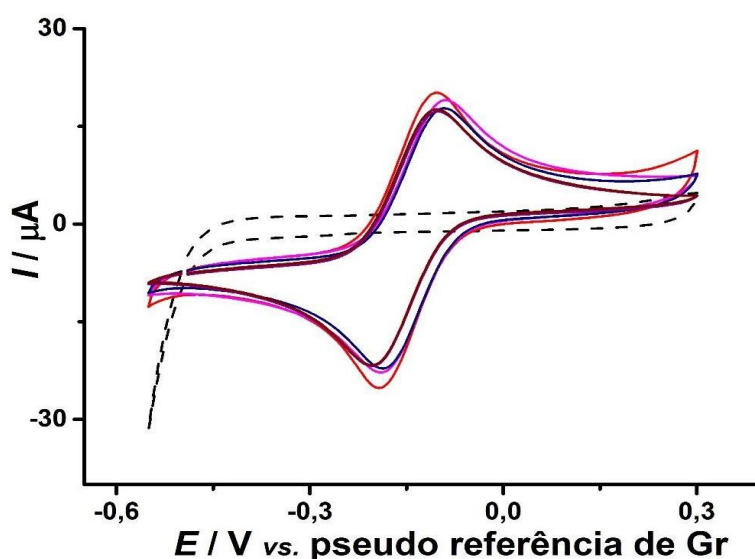
Eleto do	$k^0 / \text{cm s}^{-1}$	Ref.
GC	3,22x10 ⁻⁵	[59]
CNTs	5,09x10 ⁻⁶	[60]
BDD	1,0x10 ⁻²	[61]
DGNP s	5,63x10 ⁻³	[62]
3D-GF	4,50 x10 ⁻⁴	[63]
MG	1,2x10 ⁻³	[64]
LIG	5,60x10 ⁻³	Este trabalho

GC: Carbono vítreo; CNTs: Nanotubos de carbono; BDD: Diamante dopado com boro; DGNPs: Nanoplaquetas de diamante-grafite; 3D-GF: espuma de grafeno em 3D; MG: grafeno monocamada; LIG: Grafeno induzido por laser.

A construção da impressora adaptada para fabricação dos eletrodos LIG teve um custo aproximado de U\$300 (~R\$1.500) e cada eletrodo LIG custa cerca de U\$0,01 (as folhas de PI custam U\$120 por kg, o que pode gerar 16.000 eletrodos). Assim, a fabricação de eletrodos LIG usando o equipamento proposto é de baixo custo. A reprodutibilidade do processo de fabricação foi avaliada por voltametria cíclica com

cinco eletrodos diferentes usando 1 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ em solução de $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (**Figura 8**). Respostas semelhantes (formato, corrente e separação de pico) revelam a alta reprodutibilidade dos eletrodos LIG.

Figura 8. Voltamogramas cíclicos na presença de 1 mmol L^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, usando diferentes eletrodos LIG ($n = 5$). A linha tracejada corresponde ao sinal em branco. Eletrólito suporte: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl . Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} ; incremento de potencial: 5 mV .



Os dados eletroquímicos obtidos da **Figura 8** são apresentados na **Tabela 3**. Desvios padrões relativos inferiores a 5% foram obtidos considerando-se ΔE e valores de corrente anódica e catódica. É importante ressaltar que o eletrodo de pseudo-referência de grafeno foi estável em medições contínuas, conforme mostrado na **Figura 5**, o que facilita a construção de sensores eletroquímicos miniaturizados. Em relação à estabilidade de armazenamento, os mesmos eletrodos de LIG foram mantidos por 1 ano em temperatura ambiente e após esse período os eletrodos funcionaram adequadamente na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ mostrando o mesmo perfil eletroquimicamente reversível típico.

Tabela 3. Dados eletroquímicos (E_{pa} , E_{pc} , ΔE_p , I_{pa} , I_{pc}) obtidos a partir dos voltamogramas cíclicos (n=5) em $1 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ apresentados na Figura 7.

E_{pa} / V	E_{pc} / V	$\Delta E_p / \text{V}$	$I_{pa} / \mu\text{A}$	$I_{pc} / \mu\text{A}$	I_{pa}/I_{pc}
$-0,19 \pm 0,01$	$-0,08 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,08$	$19,7 \pm 0,9$	$20,1 \pm 1,2$	$1,01 \pm 0,04$

4.2 Desempenho Analítico dos Sensores Propostos

4.2.1 Ácido Úrico e Nitrito

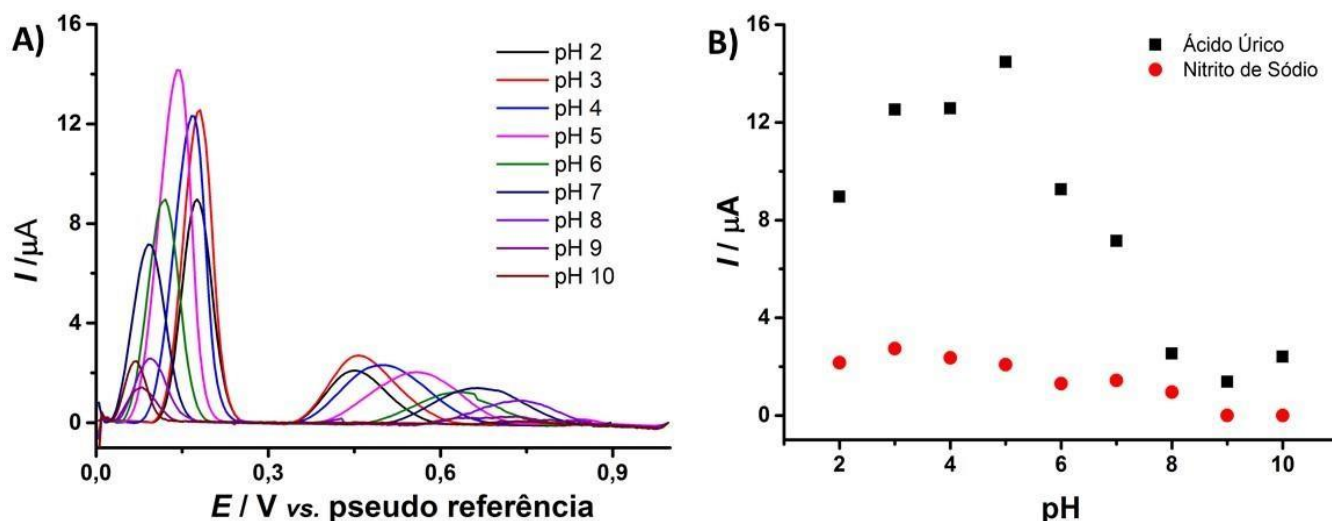
Para demonstrar o potencial de aplicação dos eletrodos LIG produzidos, diferentes analitos e sistemas foram investigados. Primeiro, foram investigadas as melhores condições para detecção simultânea de AU e nitrito, biomarcadores importantes encontrados em fluídos biológicos, utilizando DPV. Para isso, foi feito um experimento utilizando diferentes valores de pH em tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$, (pH = 2,0 - 10,0).

Como é possível observar na **Figura 9A**, o nitrito e UA apresentaram boas respostas eletroquímicas em ampla faixa de pH, no entanto, para a resposta obtida utilizando pH 4 e 5 os picos de nitrito foram mais largos quando comparados ao pico obtido utilizando pH 3. Além disso, considerando os valores de pKa das duas espécies, o pKa do ácido nitroso é 3,39, o que indica que no pH 3, com a dissociação do ácido, o íon NO_2^- está presente na solução.



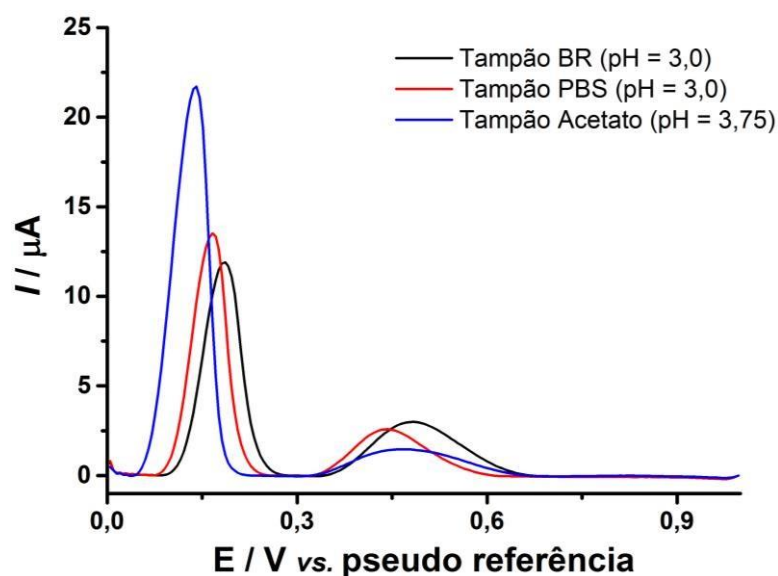
O mesmo ocorre com o ácido úrico, que tem pKa igual a 3,89, com o aumento do pH os dois analitos não estão presentes na solução como o desejado. Em vista disso, foi levada em consideração a resposta mais sensível e nítida para nitrito, uma vez que sinais muito largos podem sofrer influência de interferentes. Além disso, o AU possui boa resposta em diferentes pHs, e por essa razão, o pH 3 foi escolhido para guiar os experimentos posteriores (**Figura 9B**).

Figura 9. (A) DPV com correção de linha de base obtidas para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido úrico e nitrito de sódio em $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ BR buffer (pH = 2,0-10,0). (B) Relação entre pH e potencial de pico (E_p) e resposta atual da oxidação eletroquímica de ácido úrico e nitrito de sódio em $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ BR buffer (pH ajustado com NaOH).



Em seguida, foi feito um estudo para escolher o melhor eletrólito de suporte para os testes entre os tampões BR, PBS e acetato. Como pode ser observado na **Figura 10**, a resposta para o AU foi bem nítida para todos os eletrólitos testados. No entanto, a resposta para o nitrito difere de acordo com cada eletrólito, por isso, foi considerado o pico menos largo e mais preciso, visando diminuir a possibilidade de interferentes em amostras, por essa razão, o tampão BR foi escolhido.

Figura 10. DPV com correção de linha base obtidos de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido úrico e nitrito de sódio, usando diferentes eletrólitos de suporte.



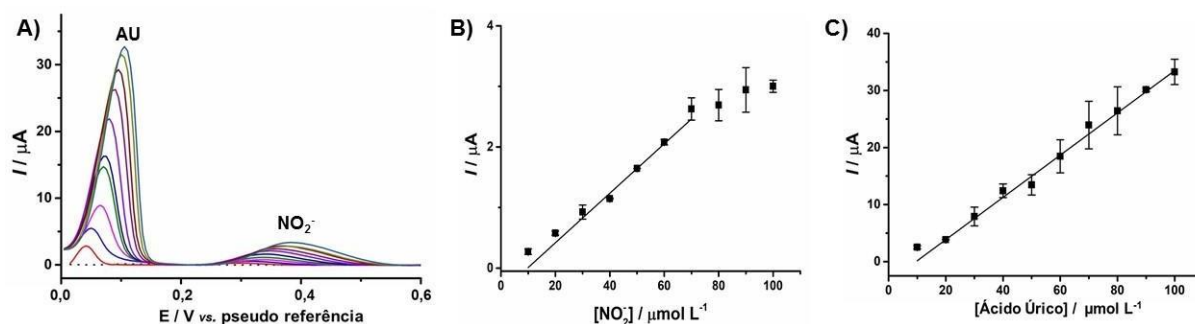
Os parâmetros de DPV foram avaliados conforme mostrado na **Tabela 4**, e os valores otimizados foram escolhidos considerando respostas analíticas mais altas (maiores valores de corrente de oxidação dos compostos).

Tabela 4. Faixas de estudos e valores otimizados selecionados para determinação de ácido úrico e nitrito usando DPV.

Parâmetros	Faixa Estudada	Valor otimizado
Amplitude / mV	10-100	100
Tempo de Modulação / ms	10-50	50

A **Figura 11A** mostra que DPV pode ser usado para a determinação de ambos os compostos em uma faixa de concentração entre 10 e 70 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para nitrito e 10 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para UA (**Fig. 11B e C** representam os respectivos gráficos de calibração). Até a data desta dissertação, este era o primeiro trabalho usando eletrodos LIG fabricados por um laser com emissão na região do visível para detecção de nitrito sem modificação na superfície dos eletrodos, enquanto a detecção de UA foi relatada usando eletrodo LIG produzido por um laser de CO_2 (emissão no infravermelho) [11].

Figura 11. (A) DPV com correção de linha base obtida por aumento de concentração de ácido úrico e nitrito de sódio em eletrólito de suporte 0,12 mol L^{-1} BR buffer (pH =3) e (B,C) respectivas curvas de calibração usando DPV com os seguintes parâmetros: $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$; $a = 100 \text{ mV}$; $t_m = 50 \text{ ms}$.



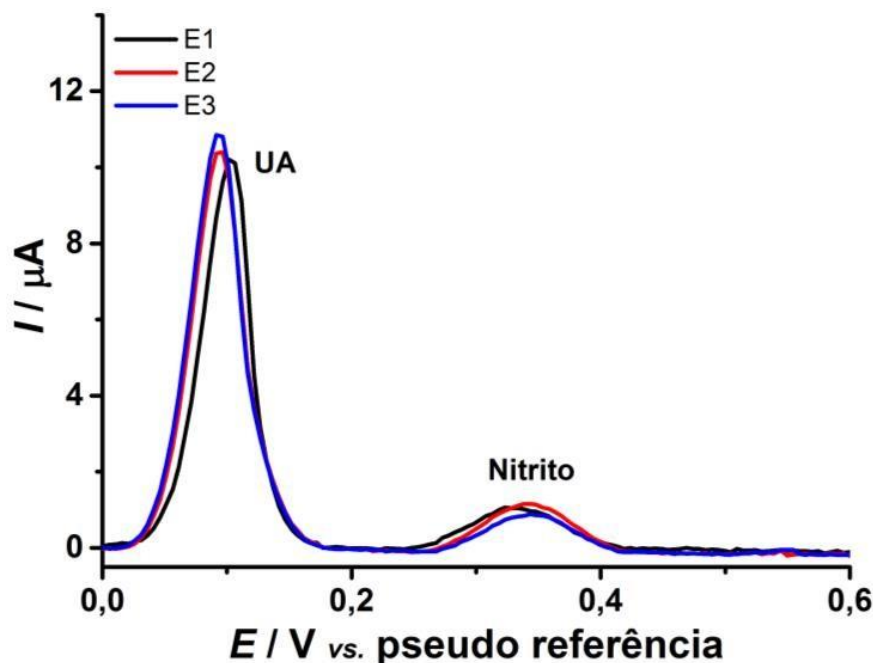
A **Tabela 5** resume as características analíticas dos eletrodos LIG para a determinação simultânea de ambas as moléculas. O limite de detecção (LD) foi calculado com base na definição da IUPAC ($3,3 \sigma/s$), onde σ é o desvio padrão do ruído e s é a sensibilidade (inclinação) obtida através do gráfico de calibração [65]. Esta configuração de três eletrodos permite a análise simultânea a partir de microvolumes como mostrado para a detecção desses dois biomarcadores.

Tabela 5. Parâmetros analíticos obtidos por detecção de ácido úrico e nitrito, usando condições otimizadas.

Parâmetros Analíticos	Ácido Úrico	Nitrito
R	0,998	0,984
Coefficiente Linear / μA	-3,56 \pm 0,25	-0,40 \pm 0,16
Inclinação / $\mu\text{A L } \mu\text{ mol}^{-1}$	0,370 \pm 0,013	0,041 \pm 0,003
Faixa Linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	10-100	10-70
LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,074	0,27

Foi feito um estudo para verificar a reprodutibilidade de construção utilizando três diferentes eletrodos usando $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ambas as espécies, como mostrado na **Figura 12**. Valores de desvio padrão relativo (RSD) de 3,1% e 16% foram obtidos para AU e nitrito, respectivamente, o que demonstrou uma adequada reprodutibilidade de produção dos eletrodos LIG.

Figura 12. DPV com correção de linha base obtida para avaliação intereletrodos com 3 diferentes eletrodos LIG (E1, E2 e E3) usando ácido úrico (em torno de 0,1 V) e nitrito de sódio (em torno de 0,35 V), ambos $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH =3). Parâmetros: $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$; $a = 100 \text{ mV}$; $t_m = 50 \text{ ms}$.

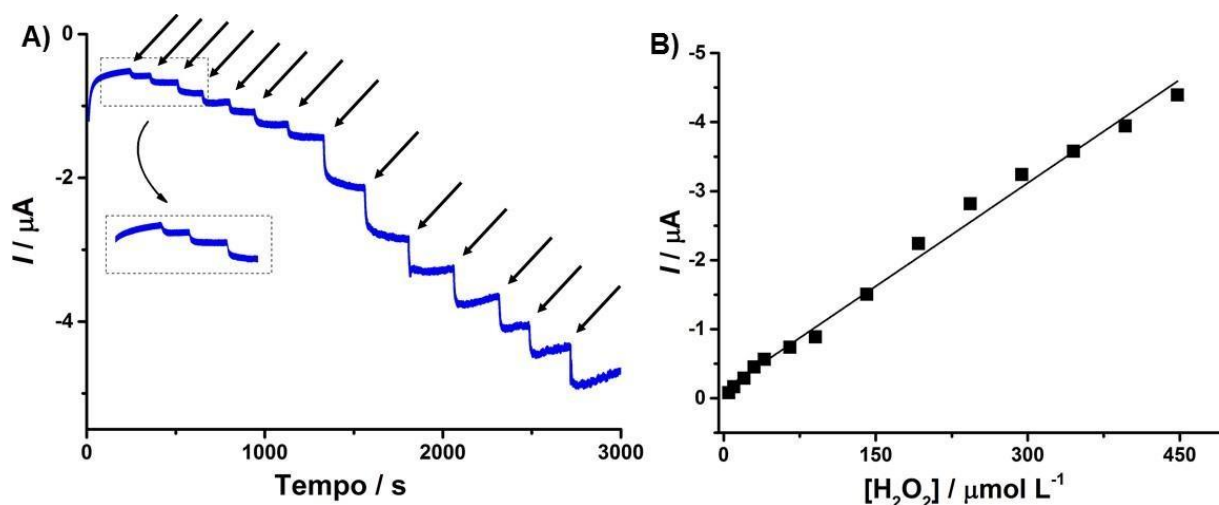


4.2.2 H_2O_2 em eletrodo LIG modificado com azul da Prússia

A modificação de superfícies de LIG com filmes de PB pode gerar uma plataforma promissora para desenvolver um biossensor, pois o PB é um excelente eletrocatalisador para detecção de H_2O_2 , que é um dos principais produtos enzimáticos. Dessa forma, o LIG foi avaliado como plataforma para incorporação do medidor eletroquímica PB. O amperograma na **Fig. 13A** foi feito usando solução sob agitação à qual foram feitas adições de alíquotas de solução padrão de H_2O_2 (cada seta indica quando ocorreu a injeção de solução padrão usando uma micropipeta). A corrente cai a cada adição o que indica a ocorrência de um processo de redução eletroquímica do H_2O_2 catalisado por PB. Este experimento mostrou que o filme eletrodepositado de PB é estável na superfície do eletrodo LIG com comportamento linear frente à detecção de H_2O_2 até $447 \mu\text{mol L}^{-1}$. Ao final do experimento, a linha base de corrente começa a aumentar (em 3000 s), o que indica o início da perda de estabilidade do filme de PB. Dessa forma, pode-se concluir que o eletrodo modificado pode ser usado para medir H_2O_2 por tempos próximos a 3000 s de forma

contínua. O LD foi estimado em $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ (calculado de acordo com a definição IUPAC descrita acima), o que é notável em comparação com eletrodos modificados por PB anteriores [48, 49, 66, 67].

Figura 13. (A) Resposta da cronoamperometria do LIG modificado com PB para sucessivas adições de H_2O_2 ($5\text{--}447 \mu\text{mol L}^{-1}$) (setas no amperograma indicam quando ocorre a injeção de solução padrão de H_2O_2). Eletrólito suporte: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão PBS (pH = 7,2)/ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl; potencial aplicado: $0,0 \text{ V}$ e (B) respectiva curva analítica.



A **Tabela 6** resume o desempenho analítico desta nova plataforma para detecção de H_2O_2 . Assim, a plataforma LIG mostra-se promissora para construir biossensores usando a modificação com PB. Além disso, considerando a flexibilidade das folhas PI, os (bio)sensores desenvolvidos usando LIG modificado com PB poderiam ser avaliados como sensores vestíveis (associados a roupas ou acessórios vestíveis). Neste sentido, mais experimentos precisariam ser feitos para comprovar a eficiência do biossensor em condições de sensores vestíveis.

Tabela 6. Parâmetros analíticos obtidos pela detecção de H₂O₂, usando azul da Prússia como modificador.

Parâmetros Analíticos	H ₂ O ₂
R	0,998
Coefficiente Linear / μA	$-0,125 \pm 0,056$
Inclinação / $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$	$0,0097 \pm 0,0002$
Faixa Linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	5 – 447
LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	1

4.2.3 Determinação de Ciprofloxacina Utilizando Sistema BIA

Primeiramente, foram feitos estudos para determinar as condições instrumentais ótimas da determinação de CIP usando o sistema BIA. Foram feitos estudos para escolher a melhor resposta diante da faixa de potencial de +0,95 a +1,20 V e o maior valor de corrente obtido foi para o potencial de +1,20 V (como pode ser visto na **Figura 14A**). Alguns testes foram feitos anteriormente utilizando valores maiores de potencial, no entanto, a corrente de fundo foi muito elevada, influenciando nos resultados. Por isso, a faixa segura de trabalho é de +0,95 V a +1,20 V, sendo este último o melhor para os teste com CIP.

Além disso, foi feito um estudo para determinar a melhor resposta do eletrodo diante da velocidade de injeção do analito, de acordo com a **Figura 14B** é possível observar que o valor de $227 \mu\text{L s}^{-1}$ apresentam menor erro apesar de não ter o maior valor de corrente, e por isso, foi escolhido para guiar os estudos posteriores. Por fim, foi feito um estudo para selecionar o volume de injeção, conforme a **Figura 14C**, os resultados obtidos além de $100 \mu\text{L}$ não apresentam muitas variações, portanto, o volume de $100 \mu\text{L}$ foi escolhido. Esses valores estão resumidos na **Tabela 7**.

Figura 14. (A) Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos com o sistema BIA traçando os valores de corrente de pico em função do potencial aplicado correspondente, usando LIG como eletrodo de trabalho. Concentração da CIP: $50 \mu\text{mol L}^{-1}$; eletrólito de suporte: $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ BR buffer (pH = 5,0); taxa de dispensação: $200 \mu\text{L s}^{-1}$. Efeito da taxa de dispensação (B) e o volume de injeção (C) na resposta amperométrica de CIP. Pontencial aplicado +1,2 V (vs. $\text{Ag|AgCl|KCl}_{(\text{sat.})}$).

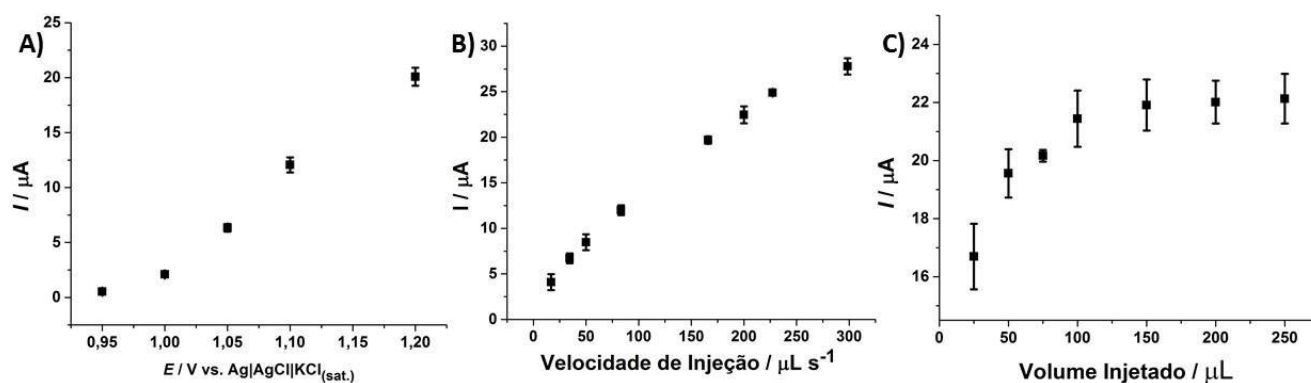


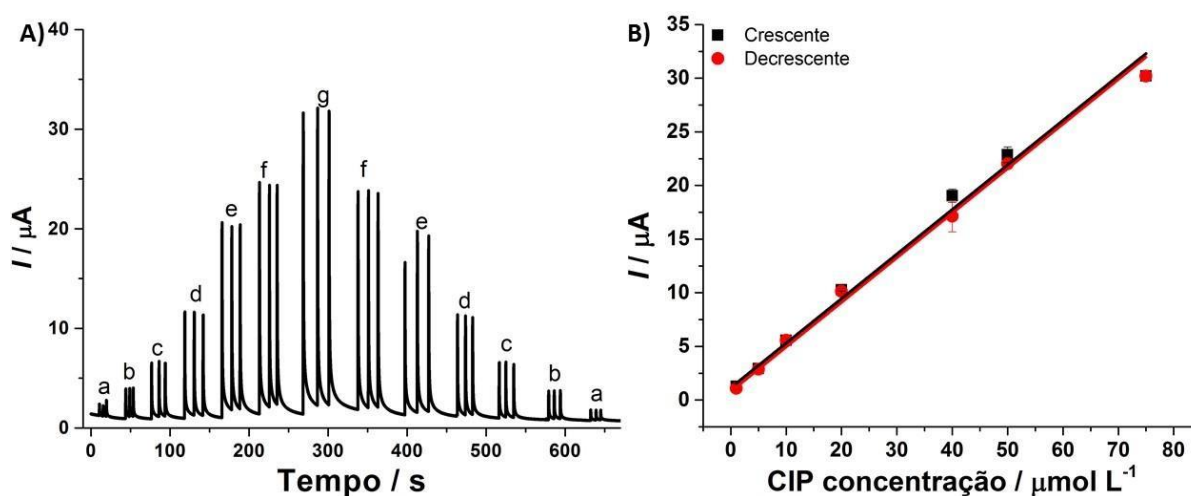
Tabela 7. Faixa estudada e valores otimizados selecionados para a determinação de CIP usando BIA com detecção amperométrica.

Parâmetros	Faixa Estudada	Valor Otimizado
Potencial vs. $\text{Ag AgCl KCl}_{(\text{sat.})}$ / V	+0,95 - +1,20	+1,20
Velocidade de injeção / $\mu\text{L s}^{-1}$	17-300	227
Volume / μL	25-250	100

O registro amperométrico (**Figura 15A**) obtido usando LIG (configuração contendo apenas o eletrodo de trabalho) montado em uma célula BIA na qual uma micropipeta eletrônica realiza a injeção de $100 \mu\text{L}$ de soluções padrão de CIP de 1 a $75 \mu\text{mol L}^{-1}$. O sensor LIG apresentou uma resposta estável à oxidação de CIP dentro de uma ampla faixa linear. Valores de inclinação estaticamente semelhantes ($0,415 \pm 0,021$

e $0,416 \pm 0,013 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$) foram obtidos para soluções injetadas em ordem crescente e decrescente de concentrações de CIP (**Figura 15B** mostra os gráficos de calibração).

Figura 15. A) Amperograma obtido pelo sistema BIA para injeções de CIP ($n = 3$) em concentrações de (a) 1; (b) 5; (c) 10; (d) 20; (e) 40; (f) 50; (g) $75 \mu\text{mol L}^{-1}$, usando o eletrodo LIG. **B)** Curvas analíticas com concentrações de CIP crescentes e decrescentes. Eletrólito de suporte: $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ tampão BR ($\text{pH} = 5,0$); taxa de dispensação: $227 \mu\text{Ls}^{-1}$; volume de injeção: $100 \mu\text{L}$; potencial aplicado: $+1,2 \text{ V}$ (vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat.})}$).



Os parâmetros analíticos do método BIA usando um eletrodo LIG são apresentados na **Tabela 8**, com um limite de detecção de $0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ e uma alta frequência analítica (216 h^{-1}). Esta é a primeira demonstração de um eletrodo LIG submetido a condições de alto fluxo do sistema BIA. Além disso, esta é a primeira vez que um eletrodo LIG é aplicado para a determinação deste composto antibiótico que pode ser encontrado como resíduos em amostras de leite [44, 68].

Tabela 8. Parâmetros analíticos obtidos para a detecção de ciprofloxacina por BIA com detecção amperométrica usando sensor LIG.

Parâmetros Analíticos	CIP
LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,2
Sensibilidade / $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$	$0,415 \pm 0,021$
Coeficiente Linear / μA	0,794
Faixa Linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	1 – 75
RSD (n = 20) / %	5,97* e 2,97**
Frequência analítica / a h^{-1}	216

*Estudo de repetibilidade usando CIP ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$)

**Estudo de repetibilidade usando CIP ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$)

a h^{-1} : análise por hora

Eletrodos LIG usando poli-imida como substrato têm sido produzidos com laser de emissão na região do infravermelho [4, 8, 9, 15]. Nesse sentido, foi comparado o desempenho analítico de eletrodos LIG obtidos por fontes de laser no infravermelho e no visível (**Figura 16**), usando CIP como a espécie alvo.

Figura 16: Curva de calibração para a concentração crescente de CIP (1-50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) obtida para eletrodos IV-LIG (linha vermelha) e visível-LIG (linha preta). Condições de detecção amperométrica BIA: **Tabela 9.**

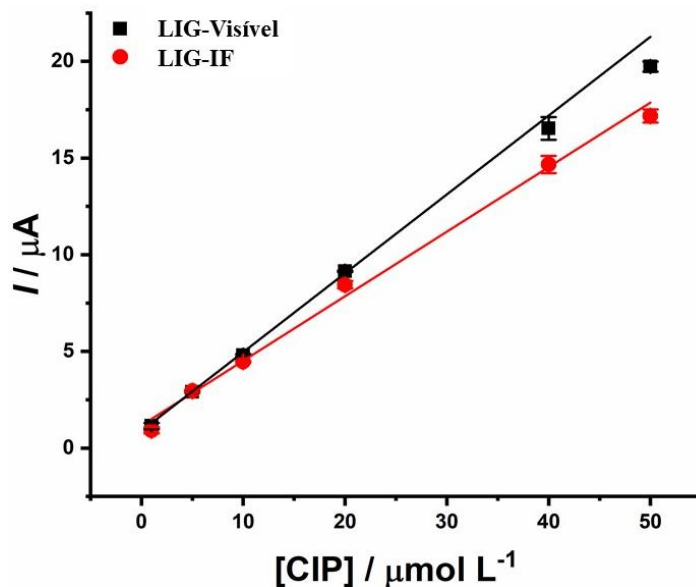


Tabela 9: Comparação entre alguns parâmetros analíticos para determinação de CIP usando BIA com detecção amperométrica.

Parâmetros Analíticos	IV-LIG	Visível-LIG
R^2	0,995	0,998
Coefficiente Linear / μA	$1,17 \pm 0,18$	$0,88 \pm 0,19$
Sensibilidade / $\mu\text{A L}$ μmol^{-1}	$0,33 \pm 0,2$	$0,41 \pm 0,01$
LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,3	0,2

O equipamento desenvolvido e apresentado neste trabalho que emprega um laser de emissão na região do visível não é tão rápido quanto os sistemas comerciais que empregam o laser infravermelho de CO₂ (duas vezes mais rápido) para fabricar os eletrodos LIG. Usando uma velocidade de 20 mm s⁻¹ com o equipamento proposto, 12 plataformas de três eletrodos são produzidas por hora. A maior velocidade de aplicação do laser não gerou faixas de grafeno de alta qualidade com propriedades ideais para o sensoriamento eletroquímico, portanto, mais estudos são necessários para acelerar o processo, mantendo o desenvolvimento de sensores de alto desempenho. Adicionalmente, é importante mencionar que o equipamento desenvolvido construído com uma impressora 3D e um laser de emissão no visível apresenta um custo menor e é mais compacto do que as máquinas de corte/gravura a laser no IR, mostrando-se mais vantajoso para a obtenção de sensores eletroquímicos.

A aplicabilidade do eletrodo LIG também foi avaliada para a determinação de CIP no leite. O registro amperométrico (**Figura 17**) para injeções de soluções padrão para obter um gráfico de calibração (a - f) seguido de injeções de amostras de leite diluídas em eletrólito suporte (de A a A_{F3}). Amostras de leite puro e enriquecido com três níveis de concentração foram analisadas e os valores de recuperação ficaram entre 84% e 98% (ver **Tabela 10**). Tais valores de recuperação indicam que os eletrodos LIG estão livres da interferência de matriz da amostra e que não estão sujeitos do efeito de memória, uma vez que os valores de recuperação são decrescentes ao aumentar a concentração do analito.

De acordo com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) o valores máximos de resíduos de CIP em leite é de 100 µg/kg [69] e o LD do LIG para este analito é de 99 µg/kg se mostrando um excelente sensor.

Figura 17. Amperograma obtido pelo sistema BIA para determinação de CIP em amostra de leite **A)** e leite enriquecido (A_{F1} , A_{F2} , A_{F3}). **B)** Curva analítica: (a) 1, (b) 5, (c) 10, (d) 20, (e) 40 e (f) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Condições experimentais: Eletrólito de suporte: 0,12 mol L^{-1} tampão BR (pH = 5.0); taxa de dispensação: 227 μLs^{-1} ; volume de injeção: 100 μL ; potencial aplicado: +1, 2 V (vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat.})}$).

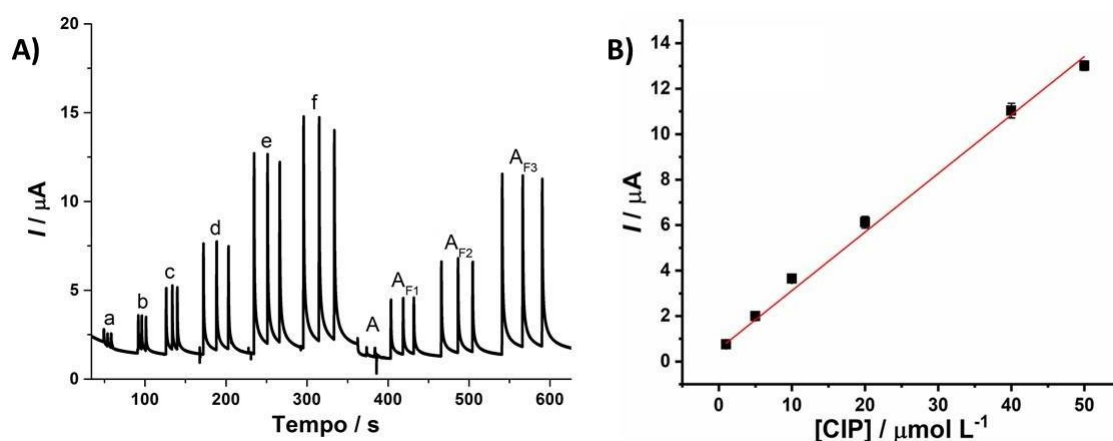


Tabela 10. Resultados obtidos pelo sistema BIA-AD para determinação de CIP em amostra de leite.

Fortificado / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Encontrado / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação / %
10,0	$9,8 \pm 0,3$	98 ± 2
20,0	$17,2 \pm 0,5$	86 ± 2
40,0	$33,7 \pm 1,2$	84 ± 3

Além disso, o desempenho analítico (LD e faixa linear) do LIG foi semelhante a outros eletrodos relatados na literatura para detecção de CIP (**Tabela 11**). Conforme observado, alguns sensores descritos requerem modificação de superfície com nanomateriais (nanotubos, grafeno de óxido reduzido e nanopartículas de ouro). No entanto, esses materiais são caros, e o processo de modificação é trabalhoso (envolve várias etapas) sendo demorado. Ao contrário disso, a construção dos eletrodos LIG é

simples, rápida (etapa única) e de baixo custo, e não requer solventes para fornecer dispersões de modificadores químicos. Assim, esta aplicação pioneira de eletrodos LIG combinada com o sistema portátil BIA [70] pode abrir muitas oportunidades para aplicações no controle de qualidade de amostras complexas e em campo.

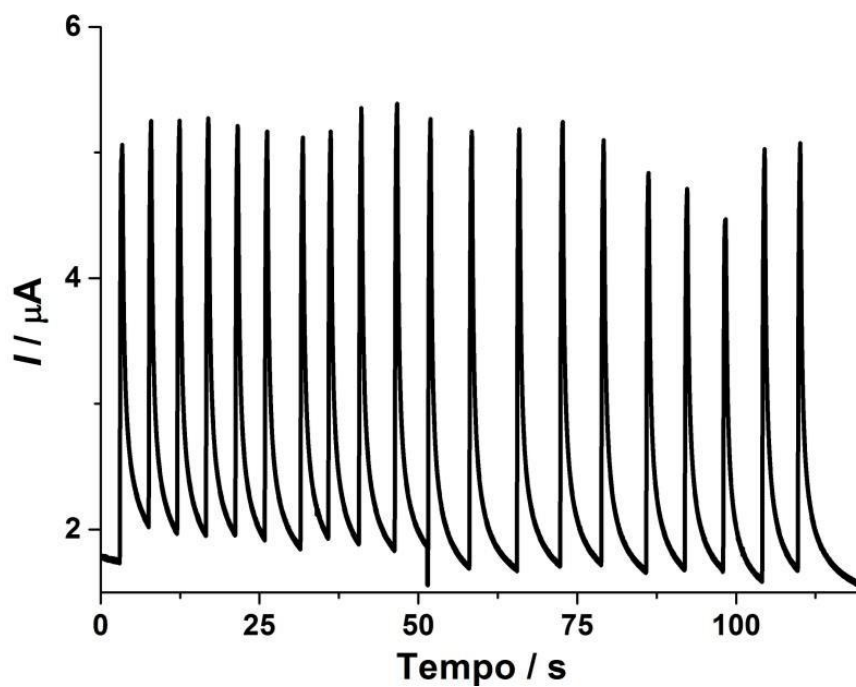
Tabela 11. Comparação do desempenho analítico do LIG com outros sensores relatados na literatura para determinação de CIP.

Eletrodo	Método	LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Faixa Linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Referências
rGO/GCE	FIA-AD	0,1	1-100	[71]
GCE/LaSH	DPV	0,3	10-110	[72]
TiO ₂ /AuNPs/CMK-3/Nafion/GE	VC	0,1	1-10	[73]
AuNP- β -CD-RGO/GCE	DPV	0,003	0,01-120	[74]
SPE	CA	0,3	14-135	[75]
rGO/PPR/GCE	DPV	0,002	0,002-0,05	[76]
PDA/MWCNT-GCE	DPV	0,04	0,08-10	[77]
LIG	BIA-AD	0,2	1-50	Este Trabalho

rGO/GCE: eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido; GCE/LaSH: eletrodo de carbono vítreo GCE modificado por um filme fino de laponita funcionalizada com tiol; TiO₂/AuNPs/CMK 3/Nafion/GE: eletrodo de grafite modificado com sol de dióxido de titânio enriquecido com carbono mesoporoso, nanopartículas de ouro e Nafion; AuNP- β -CD-RGO/GCE: nanocompósito de óxido de grafeno reduzido funcionalizado com β -ciclodextrina revestida com nanopartículas de ouro; SPE: eletrodo impresso; rGO/PPR/GCE: eletrodo de carbono vítreo modificado com vermelho de fenol e óxido de grafeno reduzido; PDA/MWCNT GCE: eletrodo de carbono vítreo modificado composto de nanotubos de polidopamina de parede múltipla;

Com a finalidade de aferir a precisão dos eletrodos LIG foi feito um estudo de repetibilidade utilizando CIP $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e 20 injeções pelo sistema BIA. Na **Figura 18**, é possível observar que as respostas são reprodutíveis.

Figura 18. Amperograma obtido pelo sistema BIA para estudo de repetibilidade com injeções de CIP ($n = 20$) em concentrações de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, usando o eletrodo LIG.



5. Conclusão

Foi demonstrado que a partir de uma impressora 3D combinada com uma fonte de laser de emissão no visível é possível fabricar eletrodos LIG a partir de folhas de PI flexíveis em diferentes designs para sensoriamento eletroquímico. O equipamento permite a produção de sensores descartáveis reproduzíveis (cada dispositivo custa menos de US\$ 0,01) considerando apenas o custo das folhas de poli-imida. A plataforma LIG de três eletrodos permitiu a análise de biomarcadores em uma única gota de solução (100 μ L). A eletrodeposição de filmes de PB no eletrodo LIG de trabalho resultou em um sensor estável e sensível para H_2O_2 com desempenho comparável ou melhor do que as sofisticadas plataformas eletroquímicas descritas anteriormente.

A associação de um eletrodo de trabalho LIG a um sistema BIA permitiu a determinação rápida e sensível de um resíduo de antibiótico em amostras de leite. A alta vazão empregada pelo sistema BIA promove maior detectabilidade e atestou a estabilidade do grafeno formado por laser visível em folhas PI. Ao utilizar a impressora 3D, este trabalho abre muitas perspectivas, como por exemplo, a fabricação de eletrodos miniaturizados com alta reprodutibilidade que podem gerar sensores versáteis e biossensores. O sistema pode ser mecanizado se for necessária uma produção em larga escala. Muitas outras aplicações usando eletrodos LIG podem ser previstas para o desenvolvimento de sistemas eletroanalíticos aprimorados.

6. Referências

1. Brownson DAC, Banks CE (2010) Graphene electrochemistry: an overview of potential applications. *Analyst* 135:2768. <https://doi.org/10.1039/c0an00590h>
2. Brownson DAC, Kampouris DK, Banks CE (2012) Graphene electrochemistry: Fundamental concepts through to prominent applications. *Chem Soc Rev* 41:6944–6976. <https://doi.org/10.1039/c2cs35105f>
3. Novoselov KS, Geim AK, Morozov S V., et al (2004) Electric field in atomically thin carbon films. *Science* (80-) 306:666–669. <https://doi.org/10.1126/science.1102896>
4. Lin J, Peng Z, Liu Y, et al (2014) Laser-induced porous graphene films from commercial polymers. *Nat Commun* 5:5–12. <https://doi.org/10.1038/ncomms6714>
5. da Silva FD, Rocha RG, Rocha DP, et al (2020) In situ electrochemical exfoliation of embedded graphite to superficial graphene sheets for electroanalytical purposes. *Electrochim Acta* 354:136762. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136762>
6. Bláha M, Bouša M, Valeš V, et al (2021) Two-Dimensional CVD-Graphene/Polyaniline Supercapacitors: Synthesis Strategy and Electrochemical Operation. *ACS Appl Mater Interfaces* 13:34686–34695. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c05054>
7. Chua CK, Pumera M (2014) Chemical reduction of graphene oxide: a synthetic chemistry viewpoint. *Chem Soc Rev* 43:291–312. <https://doi.org/10.1039/C3CS60303B>
8. Muzyka K, Xu G (2021) Laser-Induced Graphene in Facts, Numbers, and Notes in View of Electroanalytical Applications: A Review. *Electroanalysis* n/a: <https://doi.org/10.1002/elan.202100425>
9. Pereira SO, Santos NF, Carvalho AF, et al (2021) Electrochemical response of glucose oxidase adsorbed on laser-induced graphene. *Nanomaterials* 11: <https://doi.org/10.3390/nano11081893>
10. Singh SP, Li Y, Be'Er A, et al (2017) Laser-Induced Graphene Layers and Electrodes Prevents Microbial Fouling and Exerts Antimicrobial Action. *ACS Appl Mater Interfaces* 9:18238–18247. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b04863>

11. Iacopino D, Vaughan E, Larrigy C, et al (2020) Visible laser scribing fabrication of porous graphitic carbon electrodes: Morphologies, electrochemical properties, and applications as disposable sensor platforms. *ACS Appl Electron Mater* 2:3279–3288. <https://doi.org/10.1021/acsaelm.0c00612>
12. Cardoso AR, Marques AC, Santos L, et al (2019) Molecularly-imprinted chloramphenicol sensor with laser-induced graphene electrodes. *Biosens Bioelectron* 124–125:167–175. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.10.015>
13. Behrent A, Griesche C, Sippel P, Baeumner AJ (2021) Process-property correlations in laser-induced graphene electrodes for electrochemical sensing. *Microchim Acta* 188:159. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-04792-3>
14. Liu J, Ji H, Lv X, et al (2022) Laser-induced graphene (LIG)-driven medical sensors for health monitoring and diseases diagnosis. *Microchim Acta* 189:54. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-05157-6>
15. Santos NF, Pereira SO, Moreira A, et al (2021) IR and UV Laser-Induced Graphene: Application as Dopamine Electrochemical Sensors. *Adv Mater Technol* 6:2100007. <https://doi.org/10.1002/admt.202100007>
16. Nasraoui S, Al-Hamry A, Teixeira PR, et al (2021) Electrochemical sensor for nitrite detection in water samples using flexible laser-induced graphene electrodes functionalized by CNT decorated by Au nanoparticles. *J Electroanal Chem* 880:114893. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114893>
17. Soares RRA, Hjort RG, Pola CC, et al (2020) Laser-Induced Graphene Electrochemical Immunosensors for Rapid and Label-Free Monitoring of *Salmonella enterica* in Chicken Broth. *ACS Sensors* 5:1900–1911. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b02345>
18. Andriianov VS, Mironov VS, Smikhovskaia A V., et al (2020) Laser-induced synthesis of carbon-based electrode materials for non-enzymatic glucose detection. *Opt Quantum Electron* 52:1–8. <https://doi.org/10.1007/s11082-019-2155-7>
19. Zhu B, Yu L, Beikzadeh S, et al (2021) Disposable and portable gold nanoparticles modified - laser-scribed graphene sensing strips for electrochemical, non-enzymatic detection of glucose. *Electrochim Acta* 378:138132. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2021.138132>

20. Johnson ZT, Williams K, Chen B, et al (2021) Electrochemical Sensing of Neonicotinoids Using Laser-Induced Graphene. *ACS Sensors* 6:3063–3071. <https://doi.org/10.1021/acssensors.1c01082>
21. Yagati AK, Behrent A, Beck S, et al (2020) Laser-induced graphene interdigitated electrodes for label-free or nanolabel-enhanced highly sensitive capacitive aptamer-based biosensors. *Biosens Bioelectron* 164:112272. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112272>
22. Settu K, Chiu P-T, Huang Y-M (2021) Laser-Induced Graphene-Based Enzymatic Biosensor for Glucose Detection. *Polymers (Basel)* 13:2795. <https://doi.org/10.3390/polym13162795>
23. Slonczewski JC, Weiss PR (1958) Band structure of graphite. *Phys. Rev.* 109:272–279
24. Nossol E, Alejandro R, Muñoz A, et al (2021) *Sensing Materials : Graphene*. Elsevier Inc.
25. Novoselov KS, Jiang Z, Zhang Y, et al (2007) Room-temperature quantum hall effect in graphene. *Science* (80-) 315:1379. <https://doi.org/10.1126/science.1137201>
26. Zhang Y, Tan YW, Stormer HL, Kim P (2005) Experimental observation of the quantum Hall effect and Berry's phase in graphene. *Nature* 438:201–204. <https://doi.org/10.1038/nature04235>
27. Balandin AA, Ghosh S, Bao W, et al (2008) Superior Thermal Conductivity of Single-Layer Graphene 2008
28. Lee C, Wei X, Kysar JW, Hone J (2008) of Monolayer Graphene. *Science* (80-) 321:385–388
29. Zhang X, Li K, Li H, et al (2014) Graphene nanosheets synthesis via chemical reduction of graphene oxide using sodium acetate trihydrate solution. *Synth Met* 193:132–138. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2014.04.007>
30. Min BH, Kim DW, Kim KH, et al (2014) Bulk scale growth of CVD graphene on Ni nanowire foams for a highly dense and elastic 3D conducting electrode. *Carbon N Y* 80:446–452. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2014.08.084>
31. Kong X, Gai P, Ge L, Li F (2020) Laser-Scribed N - Doped Graphene for Integrated

Flexible Enzymatic Biofuel Cells. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c03051>

32. Nasraoui S, Al-Hamry A, Teixeira PR, et al (2021) Electrochemical sensor for nitrite detection in water samples using flexible laser-induced graphene electrodes functionalized by CNT decorated by Au nanoparticles. *J Electroanal Chem* 880:114893. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114893>
33. PS G, Swamy BE K (2016) Poly (Patton and Reeder's) Modified Carbon Paste Electrode Sensor for Folic Acid. *J Biosens Bioelectron* 07:1–5. <https://doi.org/10.4172/2155-6210.1000199>
34. ZHANG YM, HUANG HP, XU L (2020) A Novel Electrochemical Sensor Based on Au-Dy₂(WO₄)₃ Nanocomposites for Simultaneous Determination of Uric Acid and Nitrite. *Chinese J Anal Chem* 48:e20032–e20037. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(20\)60005-6](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(20)60005-6)
35. Caetano LP, Lima AP, Tormin TF, et al (2018) Carbon-nanotube Modified Screen-printed Electrode for the Simultaneous Determination of Nitrite and Uric Acid in Biological Fluids Using Batch-injection Amperometric Detection. *Electroanalysis* 30:1862–1871. <https://doi.org/10.1002/elan.201800189>
36. Sebranek JG, Bacus JN (2007) Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Sci* 77:136–147. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.025>
37. Bryan NS, Alexander DD, Coughlin JR, et al (2012) Ingested nitrate and nitrite and stomach cancer risk: An updated review. *Food Chem Toxicol* 50:3646–3665. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.07.062>
38. Asiri AM, Adeosun WA, Rahman MM (2020) Development of highly efficient non-enzymatic nitrite sensor using La₂CuO₄ nanoparticles. *Microchem J* 159:105527. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105527>
39. Nossaman VE, Nossaman BD, Kadowitz PJ (2010) Nitrates and nitrites in the treatment of ischemic cardiac disease. *Cardiol Rev* 18:190–197. <https://doi.org/10.1097/CRD.0b013e3181c8e14a>
40. Mirhashemi S, Afzali E, Rostami P, Suri M (2018) Intentional ingestion of hydrogen peroxide. *Trauma Mon* 23:4–7. <https://doi.org/10.5812/traumamon.65808>

41. Aroutiounian VM (2021) Hydrogen Peroxide Semiconductor Sensors. *J Contemp Phys* 56:332–351. <https://doi.org/10.3103/S1068337221040046>
42. Yayehrad AT, Wondie GB, Marew T (2022) Different Nanotechnology Approaches for Ciprofloxacin Delivery Against Multidrug-Resistant Microbes. *Infect Drug Resist* 15:413–426. <https://doi.org/10.2147/IDR.S348643>
43. Sharma D, Patel RP, Zaidi STR, et al (2017) Interplay of the quality of ciprofloxacin and antibiotic resistance in developing countries. *Front Pharmacol* 8:1–7. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00546>
44. de Faria LV, Lisboa TP, Campos N da S, et al (2021) Electrochemical methods for the determination of antibiotic residues in milk: A critical review. *Anal Chim Acta* 1173:338569. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338569>
45. Shan J, Liu Y, Li R, et al (2015) Indirect electrochemical determination of ciprofloxacin by anodic stripping voltammetry of Cd(II) on graphene-modified electrode. *J Electroanal Chem* 738:123–129. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2014.11.031>
46. Anacleto S da S, Borges MMC, de Oliveira HL, et al (2018) Evaluation of physicochemical properties as supporting information on quality control of raw materials and veterinary pharmaceutical formulations. *J Pharm Anal* 8:168–175. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2018.01.001>
47. Liu JM (1982) Simple technique for measurements of pulsed Gaussian-beam spot sizes. *Opt Lett* 7:196. <https://doi.org/10.1364/OL.7.000196>
48. Katic V, dos Santos PL, dos Santos MF, et al (2019) 3D Printed Graphene Electrodes Modified with Prussian Blue: Emerging Electrochemical Sensing Platform for Peroxide Detection. *ACS Appl Mater Interfaces* 11:35068–35078. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b09305>
49. Karyakin AA, Karyakina EE (1999) Prussian Blue-based 'artificial peroxidase' as a transducer for hydrogen peroxide detection. Application to biosensors. *Sensors Actuators B Chem* 57:268–273. [https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(99\)00154-9](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(99)00154-9)
50. Cardoso RM, Mendonça DMH, Silva WP, et al (2018) 3D printing for electroanalysis: From multiuse electrochemical cells to sensors. *Anal Chim Acta* 1033:49–57.

<https://doi.org/10.1016/J.ACA.2018.06.021>

51. Romero FJ, Salinas-Castillo A, Rivadeneyra A, et al (2018) In-depth study of laser diode ablation of Kapton polyimide for flexible conductive substrates. *Nanomaterials* 8:517. <https://doi.org/10.3390/nano8070517>
52. Settu K, Lai Y-C, Liao C-T (2021) Carbon nanotube modified laser-induced graphene electrode for hydrogen peroxide sensing. *Mater Lett* 300:130106. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.130106>
53. Xu G, Jarjes ZA, Desprez V, et al (2018) Sensitive, selective, disposable electrochemical dopamine sensor based on PEDOT-modified laser scribed graphene. *Biosens Bioelectron* 107:184–191. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.02.031>
54. Aikens DA (1983) Electrochemical methods, fundamentals and applications. *J Chem Educ* 60:A25. <https://doi.org/10.1021/ed060pA25.1>
55. Nicholson RS (1965) Theory and Application of Cyclic Voltammetry for Measurement of Electrode Reaction Kinetics. 37:1351–1355
56. Brett A, Maria ANA, Ra O (1994) BOOK REVIEWS METHODS AND. 39:854
57. Freitas JM, Oliveira T da C, Munoz RAA, Richter EM (2019) Boron Doped Diamond Electrodes in Flow-Based Systems. *Front Chem* 7:. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00190>
58. Shoukat R, Khan MI (2021) Carbon nanotubes: a review on properties, synthesis methods and applications in micro and nanotechnology. *Microsyst Technol* 27:4183–4192. <https://doi.org/10.1007/s00542-021-05211-6>
59. Poh HL, Pumera M (2012) Nanoporous carbon materials for electrochemical sensing. *Chem - An Asian J* 7:412–416. <https://doi.org/10.1002/asia.201100681>
60. Tang L, Wang Y, Li Y, et al (2009) Preparation, Structure, and Electrochemical Properties of Reduced Graphene Sheet Films. *Adv Funct Mater* 19:2782–2789. <https://doi.org/10.1002/adfm.200900377>
61. Granger MC, Witek M, Xu J, et al (2000) Standard electrochemical behavior of high-quality, boron-doped polycrystalline diamond thin-film electrodes. *Anal Chem* 72:3793–3804. <https://doi.org/10.1021/ac0000675>

62. Santos NF, Pereira SO, Fernandes AJS, et al (2019) Physical Structure and Electrochemical Response of Diamond–Graphite Nanoplatelets: From CVD Synthesis to Label-Free Biosensors. *ACS Appl Mater Interfaces* 11:8470–8482. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b00352>
63. Figueiredo-Filho LCS, Brownson DAC, Fatibello-Filho O, Banks CE (2014) Electroanalytical Performance of a Freestanding Three-Dimensional Graphene Foam Electrode. *Electroanalysis* 26:93–102. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elan.201300363>
64. Valota AT, Kinloch IA, Novoselov KS, et al (2011) Electrochemical Behavior of Monolayer and Bilayer Graphene. *ACS Nano* 5:8809–8815. <https://doi.org/10.1021/nn202878f>
65. Mocak J, Bond AM, Mitchell S, Scollary G (1997) A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: application to voltammetric and stripping techniques (technical report). *Pure Appl Chem* 69:297–328
66. O'Halloran MP, Pravda M, Guilbault GG (2001) Prussian Blue bulk modified screen-printed electrodes for H₂O₂ detection and for biosensors. *Talanta* 55:605–611. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00469-6](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00469-6)
67. Zhang Y, Sun X, Zhu L, et al (2011) Electrochemical sensing based on graphene oxide/Prussian blue hybrid film modified electrode. *Electrochim Acta* 56:1239–1245. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2010.11.011>
68. Yuan Y, Zhang F, Wang H, et al (2018) A Sensor Based on Au Nanoparticles/Carbon Nitride/Graphene Composites for the Detection of Chloramphenicol and Ciprofloxacin. *ECS J Solid State Sci Technol* 7:M201–M208. <https://doi.org/10.1149/2.0111812jss>
69. Lima TAS, Aquino AM de, Vargas RM de, Rauber TL (2018) Limites Máximos de Resíduo de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal. *Anvisa* 136
70. Rocha DP, Cardoso RM, Tormin TF, et al (2018) Batch-injection Analysis Better than ever: New Materials for Improved Electrochemical Detection and On-site Applications. *Electroanalysis* 30:1386–1399. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elan.201800042>
71. Faria LV, Lisboa TP, Alves GF, et al (2020) Electrochemical Study of Different

Sensors for Simple and fast Quantification of Ciprofloxacin in Pharmaceutical Formulations and Bovine Milk. *Electroanalysis* 32:2266–2272.
<https://doi.org/10.1002/elan.202060211>

72. Tajeu KY, Eburnang DVT, Tonleu RCT, et al (2021) Electroanalytical application of thiol-grafted laponite to the sensitive quantification of ciprofloxacin antibiotic. *J Appl Electrochem* 51:435–446. <https://doi.org/10.1007/s10800-020-01508-y>
73. Pollap A, Baran K, Kuszewska N, Kochana J (2020) Electrochemical sensing of ciprofloxacin and paracetamol in environmental water using titanium sol based sensor. *J Electroanal Chem* 878:114574. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114574>
74. Pham TSH, Mahon PJ, Lai G, Yu A (2018) Reduced Graphene Oxide Nanocomposite Modified Electrodes for Sensitive Detection of Ciprofloxacin. *Electroanalysis* 30:2185–2194. <https://doi.org/10.1002/elan.201700738>
75. Ganta D, Trevino N, Montes W (2019) Disposable chronoamperometric sensor for detecting ciprofloxacin. *Eng Res Express* 1:15031. <https://doi.org/10.1088/2631-8695/ab3d68>
76. Chauhan R, Gill AAS, Nate Z, Karpoormath R (2020) Highly selective electrochemical detection of ciprofloxacin using reduced graphene oxide/poly(phenol red) modified glassy carbon electrode. *J Electroanal Chem* 871:114254.
<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114254>
77. Sabeti M, Ensafi AA, Mousaabadi KZ, Rezaei B (2021) A Selective Electrochemical Sensor Based on a Modified-Glassy Carbon Electrode Using f-MWCNTs-Polydopamine for Ciprofloxacin Detection. *IEEE Sens J* 21:19714–19721.
<https://doi.org/10.1109/JSEN.2021.3100251>