



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA

PALOMA CORRÁ MARTINS

SENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO EM FOLHAS DE GRAFITE COM
TRATAMENTO DE PLASMA FRIO PARA A DETECÇÃO DE ATROPINA EM BEBIDAS.

Uberlândia
2024

PALOMA CORRÁ MARTINS

SENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO EM FOLHAS DE GRAFITE COM
TRATAMENTO DE PLASMA FRIO PARA A DETECÇÃO DE ATROPINA EM BEBIDAS.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como pré-requisito para obtenção do título de
Bacharel em Biotecnologia pelo curso de
Biotecnologia da Universidade Federal de
Uberlândia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo A. A. Muñoz.

PALOMA CORRÁ MARTINS

Sensor eletroquímico baseado em folhas de grafite com tratamento de plasma frio para a detecção de atropina em bebidas.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como pré-requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia pelo curso de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo A. A. Muñoz.

Uberlândia, 21 de novembro de 2024.

Prof. Dr. Rodrigo A. A. Muñoz
(Orientador)

Profa. Dra. Raquel Gomes Rocha
(Examinador)

Prof. Dr. André Luiz Squissato
(Examinador)

Uberlândia
2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA**

Coordenação do Curso de Graduação em
Biotecnologia -Uberlândia

Av. Pará, 1720, Bloco 2E, Sala 205 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902 Telefone:
(34)3225-8441 - www.ibtec.ufu.br - cbiotec@ibtec.ufu.br



ATA DE DEFESA - GRADUAÇÃO

Curso de Graduação em:	Biotecnologia				
Defesa de:	Trabalho de conclusão de curso II - GBT094				
Data:	21/11/2024	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	09:40
Matrícula do Discente:	12021BTC016				
Nome do Discente:	Paloma Corrá Martins				
Título do Trabalho:	Sensor eletroquímico baseado em folhas de grafite com tratamento de plasma frio para a detecção de atropina em bebida				
A carga horária curricular foi cumprida integralmente?		(x) Sim () Não			

Reuniu-se no Anfiteatro do Programa de Pós graduação em Química, **Bloco5 I**, Campus Santa Mônica, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Curso de Graduação em Biotecnologia, assim composta: Professores: Dra. Raquel Gomes Rocha - IQ/UFU; Dr. André Luiz Squissato - IQ/UFU; Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Munoz - IQ/UFU, orientador(a) do(a)candidato(a).

Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa, Dr(a). Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Munoz, **apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao discente a palavra, para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do curso.**

A seguir o(a) 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):

(X) Aprovado(a) Nota [90] (Somente números inteiros)

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Alejandro Abarza Munoz**, **Professor(a) do Magistério Superior**, em 21/11/2024, às 09:34, 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 **Raquel Gomes da Rocha**, **Usuário Externo**, em 21/11/2024, às 09:36, 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 **Andre Luiz Squissato**, **Professor(a) Substituto(a) do Magistério Superior**, em 21/11/2024, às 09:37, 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 **5890805** e o código CRC **CC66F755**.

RESUMO

A atropina, um alcaloide extraído da planta *Atropa belladonna*, é amplamente reconhecida por suas propriedades farmacológicas, sendo utilizada no tratamento de diversas condições médicas, porém a atropina também é frequentemente empregada como droga de abuso, especialmente em situações de violência sexual. Este trabalho apresenta o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para a detecção de atropina em amostras de bebidas, utilizando folhas de grafite como eletrodo de trabalho. As folhas de grafite foram submetidas a tratamentos com plasma frio de CO₂ e O₂ para avaliar o efeito sobre a sensibilidade e a eficiência do sensor. O uso de tratamento com plasma demonstrou ser eficaz para aumentar a sensibilidade, sendo a folha tratada com CO₂ a que apresentou melhor desempenho em sensibilidade e menor limite de detecção (LOD = 3,0 µmol L⁻¹) em relação às tratadas com O₂ e não tratadas, 3,1 e 4,1 µmol L⁻¹, respectivamente. Foi avaliado o impacto do pH na atividade da atropina, sendo determinado que o pH 11 proporcionou o melhor desempenho eletroquímico. A técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV) foi escolhida por sua alta sensibilidade e capacidade de detecção em concentrações baixas de atropina. Testes de precisão intra e inter-eletrodos demonstraram boa reprodutibilidade, com desvios padrão relativos de 8,91% e 3,8%, respectivamente. Os testes indicaram que o sensor otimizado apresentou limites de detecção e quantificação adequados para a identificação de atropina em concentrações abaixo do nível tóxico, com recuperações superiores a 97% em amostras de cachaça. Estudos de interferência mostraram que compostos como ácido ascórbico, glicose e benzodiazepínicos não comprometeram a seletividade do método. Conclui-se que o sensor desenvolvido representa uma alternativa prática, de baixo custo e portátil, com possível aplicação em campo para análises rápidas e confiáveis.

Palavras-chave: atropina, drogas de abuso, sensor eletroquímico, tratamento com plasma frio, análise forense, boa noite cinderela.

ABSTRACT

Atropine, an alkaloid extracted from the *Atropa belladonna* plant, is widely recognized for its pharmacological properties and is used in the treatment of several medical conditions. However, atropine is also frequently used as a drug of abuse, especially in situations of sexual violence. This work presents the development of an electrochemical sensor for the detection of atropine in beverage samples, using graphite sheets as the working electrode. The graphite sheets were subjected to cold plasma treatments of CO₂ and O₂ to evaluate the effect on the sensitivity and efficiency of the sensor. The use of plasma treatment proved to be effective in increasing sensitivity, with the sheet treated with CO₂ showing the best performance in sensitivity and the lowest limit of detection (LOD = 3.0 µmol L⁻¹) in relation to those treated with O₂ and untreated, 3.1 and 4.1 µmol L⁻¹, respectively. The impact of pH on atropine activity was evaluated, and it was determined that pH 11 provided the best electrochemical performance. The differential pulse voltammetry (DPV) technique was chosen due to its high sensitivity and detection capacity at low atropine concentrations. Intra- and inter-electrode precision tests demonstrated good reproducibility, with relative standard deviations of 8.91% and 3.8%, respectively. The tests indicated that the optimized sensor presented detection and quantification limits suitable for the identification of atropine at concentrations below the toxic level, with recoveries above 97% in cachaça samples. Interference studies showed that compounds such as ascorbic acid, glucose and benzodiazepines did not compromise the selectivity of the method. It is concluded that the developed sensor represents a practical, low-cost and portable alternative, with possible field application for rapid and reliable analyses.

Keywords: atropine, abuse drugs, electrochemical sensor, cold plasma treatment, forensic analysis, date-rape drug

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Planta beladona (<i>Atropa belladonna</i>) que contém atropina e sua estrutura química	12
Figura 2. Representação esquemática do sistema de deposição de vapor químico aprimorado por plasma de micro-ondas.....	15
Figura 3. Representação esquemática da célula eletroquímica	20
Figura 4. Gráfico corrente-potencial da voltametria cíclica com adição de atropina dos 100 aos 700 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em BR 0,12 mol L^{-1} (pH 10) em folha de grafite sem tratamento. Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV	23
Figura 5. Folha de grafite sem tratamento em DPV com concentrações de 1 a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina e um tampão BR 0,12 mol L^{-1} com pH 10. Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV	24
Figura 6. Folha de grafite tratada com CO_2 em DPV com concentrações de 1 a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina e um tampão BR 0,12 mol L^{-1} com pH 10. Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV	24
Figura 7. Folha de grafite tratada com O_2 em DPV com concentrações de 1 a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina e um tampão BR 0,12 mol L^{-1} com pH 10. Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV	25
Figura 8. Gráfico da atividade de pHs em atropina com folha tratada com plasma de CO_2 em DPV e a relação entre corrente de pico, o pH e o potencial. Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV	26
Figura 9. Gráfico obtido da técnica SWV com concentrações de 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em folhas de grafite tratadas com plasma de CO_2 e BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11). Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV	27
Figura 10. Gráfico obtido da técnica DPV com concentrações de 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em folhas de grafite tratadas com plasma de CO_2 e BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11). Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV	28
Figura 11. Amplitude em DPV com concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em folhas de grafite tratadas com plasma de CO_2 e BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11) em uma faixa de 10 a 100 mV	29

Figura 12. Incremento de potencial em DPV com concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em folhas de grafite tratadas com plasma de CO_2 e BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11) em uma faixa de 1 a 10 mV	29
Figura 13. Tempo de modulação em DPV com concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em folhas de grafite tratadas com plasma de CO_2 e BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11) em uma faixa de 10 a 90 ms.....	30
Figura 14. Curva de calibração da ATP (atropina) na faixa de concentração entre 5 e 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11). Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV.....	31
Figura 15. Precisão inter-eletrodos usando 3 folhas de grafite tratadas com plasma frio de CO_2 com 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11). Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV.....	32
Figura 16. Precisão intra-eletrodos através de 10 repetições de um eletrodo de folha de grafite tratada com plasma frio de CO_2 com 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11). Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV	32
Figura 17. Primeira duplicata da amostra de cachaça diluída em 200 vezes na adição de padrão de atropina em DPV com eletrodo de folha de grafite tratada com plasma frio de CO_2 em BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11). Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV	34
Figura 18. Segunda duplicata da amostra de cachaça diluída em 200 vezes na adição de padrão de atropina em DPV com eletrodo de folha de grafite tratada com plasma frio de CO_2 em BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11). Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV	34
Figura 19. Efeitos da presença dos interferentes AA, GLI, BRZ, DIA e MID em atropina (ATP) usando BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11) no eletrodo de folha de grafite tratado em plasma frio de CO_2 . Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros analíticos encontrados na curva da folha não tratada, folha tratada com plasma de CO ₂ e de O ₂	25
Tabela 2. LOD e LOQ calculados de cada folha	26
Tabela 3. Parâmetros escolhidos para a otimização da atropina	30
Tabela 4. Parâmetros analíticos encontrados na curva analítica e LOD e LOQ após a otimização da folha tratada com plasma de CO ₂	31
Tabela 5. Desvio padrão relativo da precisão inter-eletrodo e da precisão intra-eletrodo	33
Tabela 6. Valores obtidos das duplicatas de cachaça na adição de padrão	34

SUMÁRIO

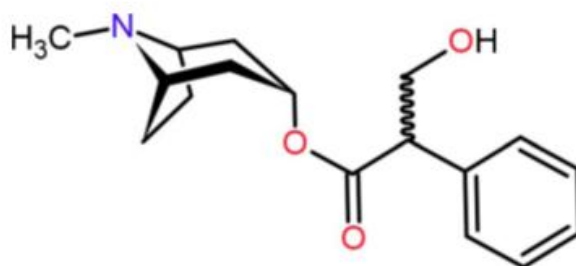
1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Utilização da atropina e droga de abuso	12
1.2 Métodos analíticos utilizados na determinação de atropina	13
1.3 Folhas de grafite	14
1.4 Tratamento com plasma frio.....	15
2 OBJETIVO GERAL	18
2.1 Objetivos específicos.....	18
3 METODOLOGIA.....	19
3.1 Reagentes e soluções	19
3.2 Preparação dos eletrodos	19
3.3 Medidas eletroquímicas	20
3.4 Comparação de técnicas	21
3.5 Otimização dos parâmetros	21
3.6 Precisão intra-eletrodos e inter-eletrodos	21
3.7 Testes em amostras de bebidas	22
3.8 Interferentes	22
4 RESULTADOS	23
4.1 Voltametria cíclica da atropina.....	23
4.2 Comparação de folhas de grafite	24
4.3 Teste de pH.....	26
4.4 Comparação de técnicas	27
4.5 Otimização dos parâmetros	28
4.6 Curva analítica.....	30
4.7 Precisão intra-eletrodos e inter-eletrodos	32
4.8 Testes em amostras de bebidas	33
4.9 Interferentes	35
5 DISCUSSÃO	37
6 CONCLUSÃO.....	39
7 REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

1.1 Utilização da atropina como fármaco e droga de abuso

A atropina (fórmula molecular: $C_{17}H_{23}NO_3$) é um alcaloide extraído da família de plantas Solanaceae, especialmente da *Atropa belladonna* (beladona), representada na figura 1, uma das espécies mais comuns para a extração dessa substância (Zeng *et al.*, 2021). Trata-se de um composto anticolinérgico que atua como antagonista competitivo e reversível dos receptores muscarínicos (McLendon e Preuss, 2023). A atropina é amplamente utilizada em tratamentos para paradas cardíacas, como medicamento em procedimentos anestésicos, para intoxicações por organofosforados e no tratamento de bradicardia, sendo administrada por vias intravenosa, intramuscular, oftálmica e oral (Basha e Sathiswara, 2017). No entanto, fora da dosagem terapêutica otimizada (0,5–2 mg a cada 20 minutos para adultos), a atropina pode ser tóxica, acarretando efeitos colaterais antimuscarínicos, tais como dilatação das pupilas, pele quente e seca, taquicardia, tremor, ataxia, delírio e, em casos graves, podendo levar à morte por paralisia respiratória (Zhang *et al.*, 2014; Cikla *et al.*, 2011).

Figura 1 – Planta beladona (*Atropa belladonna*) que contém atropina e sua estrutura química.



Fonte: Cikla *et al.*, 2011; Matias *et al.*, 2023.

O mecanismo de ação da atropina ocorre pela inibição competitiva dos receptores de acetilcolina, resultando na inibição parassimpática desses receptores no músculo liso. Esse efeito permite que a estimulação simpática preexistente predomine, aumentando o débito cardíaco e ocasionando outros efeitos nocivos associados (McLendon; Preuss, 2023). A dose fatal é de aproximadamente 100 mg para adultos e 0,2 mg/kg para crianças, o que torna sua toxicidade um fator de risco relevante (João *et al.*, 2021; Kwakye *et al.*, 2018).

Por esse seu efeito, a atropina também é utilizada como droga de abuso em casos de violência sexual, sendo administrada, de forma voluntária ou involuntária, em substâncias

intoxicantes (Skov *et al.*, 2022). Estima-se que 75% dos estupros envolvam o uso de drogas e/ou álcool, sendo os depressores do sistema nervoso central, como o ácido γ -hidroxibutírico (GHB) e o flunitrazepam (Rohypnol), os mais comuns, além de antidepressivos, relaxantes musculares, opioides e benzodiazepínicos (Busardò *et al.*, 2019). Essas drogas de abuso são frequentemente empregadas em crimes de violência sexual devido à curta meia-vida e à dificuldade de detecção em investigações toxicológicas (Mognetti *et al.*, 2022).

Um caso notório do uso de atropina em crime ocorreu em 1994, quando o Dr. Paul Agutter envenenou sua esposa, Alexandra Agutter, com atropina. Como biólogo da Universidade Napier, no Reino Unido, ele tinha acesso ao sulfato de atropina, o qual obteve de um frasco aberto. Para administrá-la, envenenou garrafas de água tônica, uma bebida que sua esposa apreciava. Após o consumo de metade da bebida, Alexandra Agutter apresentou alucinações e perdeu a consciência. Apesar dos esforços de Agutter para não ser descoberto, ele foi preso e condenado por tentativa de assassinato, tendo cumprido pena e posteriormente atuado como palestrante em filosofia e ética na Universidade de Manchester (Ramdani *et al.*, 2013; Emsley, 2008).

1.2 Métodos analíticos utilizados na determinação de atropina

Os métodos mais comuns para a determinação de atropina incluem a cromatografia líquida e a espectrometria de massas. No entanto, esses métodos apresentam limitações como alto custo, várias etapas analíticas e impossibilidade de realização de análises no local (João *et al.*, 2021). Sensores eletroquímicos surgem como alternativa vantajosa, oferecendo baixo custo, portabilidade para aplicações em campo, miniaturização e necessidade de baixo volume de amostra (Ramdani *et al.*, 2013).

A tecnologia de impressão 3D tem ganhado espaço na área de Eletroquímica e Química Analítica. Desenvolvida em 1986 por Charles Hull, a impressão 3D se popularizou recentemente, sendo utilizada pela indústria de construção e pela indústria médica, onde permite a produção de implantes a partir de imagens de tomografia computadorizada (Ngo *et al.*, 2018). Desde seu primeiro uso a impressão tridimensional continuou a expandir as suas aplicações. Inicialmente reservada às indústrias automóvel e aeroespacial, a sua utilização interessa agora a um público mais vasto, diminuindo os custos de impressão (Claudic *et al.*, 2023).

Logo, a tecnologia de impressão 3D tornou-se cada vez mais popular em diferentes áreas da ciência e da engenharia devido às suas vantagens únicas, como prototipagem rápida, liberdade de design, baixa demanda energética, produção em larga escala e impressoras 3D acessíveis,

especialmente pela modelagem por deposição fundida (FDM). A eletroquímica e a química analítica estão entre as áreas que foram beneficiados pela impressão 3D com aplicações em sensores eletroquímicos (Rocha *et al.*, 2021).

1.3 Folhas de grafite

Materiais de carbono, como grafeno, grafite e nanotubos de carbono, são amplamente utilizados em sensores eletroquímicos (Pereira *et al.*, 2019). Eletrodos de carbono tem uma grande aplicação na produção de metais, armazenamento de anergia em baterias e para suportes de catalisadores. O que faz o carbono ser tão versátil em matérias de eletrodos é pelo seu polimorfismo estrutural, estabilidade química e fortes ligações carbono-carbono (McCreery, 2008).

Grafite é uma estrutura de carbono em camadas onde cada átomo exibe hibridização sp^2 e está conectado a outros três átomos no plano de camada. Essa disposição atômica resulta na formação de folhas de grafeno (Silva, 2021). O grafite consiste em partículas policristalinas ou grânulos, independentemente de ser sintética ou natural, e essa estrutura cristalina pode ser chamada de camadas paralelas de anéis hexagonais (Silva, 2021). As vantagens do uso de eletrodos de folha de grafite e que justifica seu grande uso perante aos outros é o seu baixo custo, sua alta condutividade, tamanho reduzido e alta sensibilidade (Pereira *et al.*, 2019).

Eletrodos de folha de grafite já foi relatada para a aplicação de detecção de peróxido de hidrogênio, de cádmio e chumbo, zinco, ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico (Liu *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2016; Oliveira, Munoz e Angnes, 2010; Cai *et al.*, 2013). Porém, limitações referentes a materiais de carbono sem tratamento vem sendo citados, como uma reprodutibilidade limitada dependendo do lote das folhas, a dificuldade de obter uma descrição abrangente dos materiais da maioria dos fabricantes e a tendência em formar complexos estáveis com moléculas orgânicas (Scida *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2018).

O grafite apresenta em sua estrutura formação de planos de camada ou folhas de grafeno que apresenta duas divisões estruturais o plano basal e a borda (Silva, 2021). A borda, perpendicular ao plano, apresenta uma linha gráfica defeituosa de átomos de carbono com radicais livres imobilizados, ligações pendentes e grupos funcionais, enquanto o plano basal, superfície paralela aos planos de grafeno, há átomos de carbono conjugado alinhados bidimensionalmente, caracterizado por sua regularidade atômica e baixa densidade de defeitos (Kannan *et al.*, 2016).

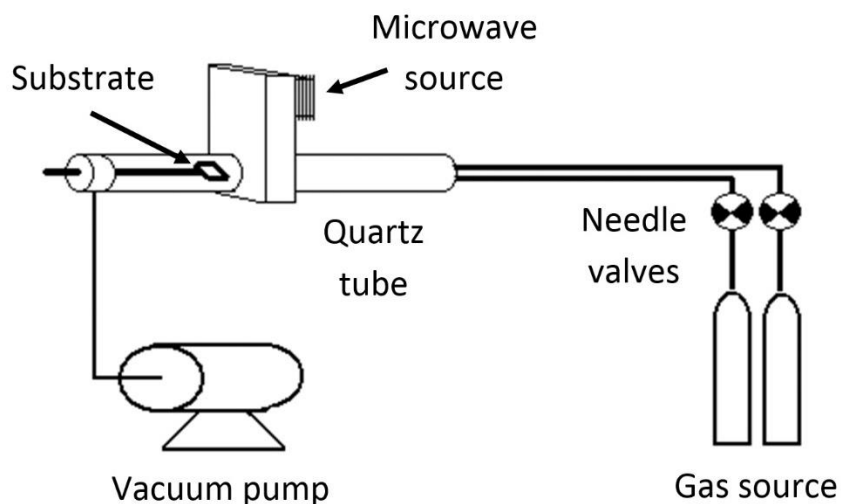
No entanto, o grafeno pode conter uma resistência elétrica que pode ser causado por dobras, rugas, defeitos pontuais, rasgos e rachaduras que promovem um mau desempenho do eletrodo (Patil *et al.*, 2016). Além disso, nas interfaces grafeno-metal há um aumento da resistência de contato, obstruindo a transmissão de transportador entre eletrodo-eletrólito, impedindo que dispositivos de grafeno tenham um desempenho eficiente (Yue *et al.*, 2014).

1.4 Tratamento com plasma frio

Na natureza, a matéria pode ser encontrada nos estados sólido, líquido, gasoso e plasma. O plasma é gerado quando um gás neutro recebe energia suficiente para formar portadores de carga. Esse processo ocorre quando elétrons com uma energia suficiente colidem com os átomos e moléculas neutras no gás de alimentação, produzindo elétrons e íons. Existem várias maneiras de fornecer energia necessária a um gás neutro para a geração de plasma, como: energia térmica, compressão adiabática do gás e aplicação de campo elétrico (Conrads; Schmidt, 2000).

O plasma frio é um plasma que não atinge o equilíbrio termodinâmico, mantendo-se em temperaturas mais baixas, em torno de 110°C (Zhuang *et al.*, 2024; Pereira, 2023). Geralmente, sua produção é realizada em um sistema de deposição de vapor químico aprimorado por plasma de micro-ondas, composto por um reator de quartzo, um gerador de micro-ondas, uma bomba de vácuo, uma fonte de gás e um medidor de pressão, conforme ilustrado na Figura 2 (Carvalho *et al.*, 2015).

Figura 2 – Representação esquemática do sistema de deposição de vapor químico aprimorado por plasma de micro-ondas.



Fonte: Carvalho *et al.*, 2015.

Na literatura esse sistema para a geração de plasma pode ser encontrado em gases como CO₂, O₂, Ar e N₂ (Pereira *et al.*, 2019; Pereira *et al.*, 2021; Patil *et al.*, 2016; Nourbakhsh *et al.*, 2010; Yue *et al.*, 2014; Ramdani *et al.*, 2015). O tratamento das folhas de grafite com plasma introduz diferentes grupos funcionais na superfície, modificando a estrutura química da superfície levando a uma melhor adsorção das moléculas no analito, além de reduzir a resistência de contato e aumentar a taxa de reação de transferência de elétrons entre eletrodo-eletrólito, criando defeitos de borda controlados e ligações pendentes (Kannan *et al.*, 2016). Pereira e coautores mostraram eletrodos tratados com plasma de O₂ e CO₂ apresentam maior sensibilidade à detecção de dopamina, com maior superfície de área e menor resistência à transferência de carga (Pereira *et al.*, 2019).

Dentro da área de química forense, as folhas de grafite também demonstraram grande potencial de aplicação no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. A 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA) é uma droga de abuso, conhecida como ecstasy, e está entre as drogas mais consumidas no mundo. A presença de MDMA e de novas substâncias psicoativas tem sido amplamente denunciada em amostras forenses apreendidas (Pereira *et al.*, 2023). Pereira e coautores mostraram que as folhas de grafite tratadas com plasma de oxigênio permitiram quantificar metanfetaminas em amostras de interesse forense. O estudo de interferência com outras drogas normalmente encontradas em comprimidos de ecstasy apreendidos mostrou alta seletividade, o que possibilitou a detecção de MDMA na saliva humana (coletada em festas e festivais de música eletrônica) e em amostras apreendidas. Os autores deste trabalho concluíram que as folhas de grafite tratadas com plasma podem ser usadas como um dispositivo de triagem simples, rápido, de baixo custo e portátil para aplicação em amostras forenses do mundo real (Pereira *et al.*, 2023).

O presente trabalho visa a crescente preocupação pela segurança e saúde pública, especialmente no que diz respeito ao uso indevido de substâncias químicas em bebidas. A atropina, um alcaloide com propriedades farmacológicas significativas, tem sido associada a casos de intoxicação e abuso, o que torna sua detecção em matrizes complexas, como bebidas, uma questão de relevância social e científica.

A pesquisa também visa contribuir para o avanço das técnicas de análise eletroquímica, promovendo a comparação entre diferentes tipos de eletrodos e suas performances na detecção de atropina. A avaliação da precisão e estabilidade do método proposto é fundamental para garantir a confiabilidade dos resultados, o que pode ter implicações diretas na prevenção de intoxicações e na promoção da saúde pública.

Dessa forma, este trabalho não apenas busca preencher a lacuna referente à falta de sensores eletroquímicos de baixo custo, alta sensibilidade e portabilidade para a detecção de atropina em bebidas, mas também se propõe a oferecer uma ferramenta prática para essa finalidade, contribuindo para a segurança e bem-estar da população.

2 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal deste trabalho é avaliar o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para a detecção de atropina em amostras de bebidas através de eletrodos de folhas de grafite antes e após o tratamento com plasma frio de CO₂ e O₂.

2.1 Objetivos específicos

- Avaliar a precisão e estabilidade do método em determinar a atropina em bebidas.
- Comparar o desempenho eletroquímico dos eletrodos antes e após o tratamento com plasma frio de CO₂ e O₂.
- Avaliar como possíveis substâncias interferem na resposta analítica da atropina.
- Avaliar o melhor desempenho da atropina em folha de grafite em relação a técnica, pH e parâmetros de otimização.
- Investigar o fenômeno de transporte de massa no processo de oxidação da atropina.

3 METODOLOGIA

3.1 Reagentes e soluções

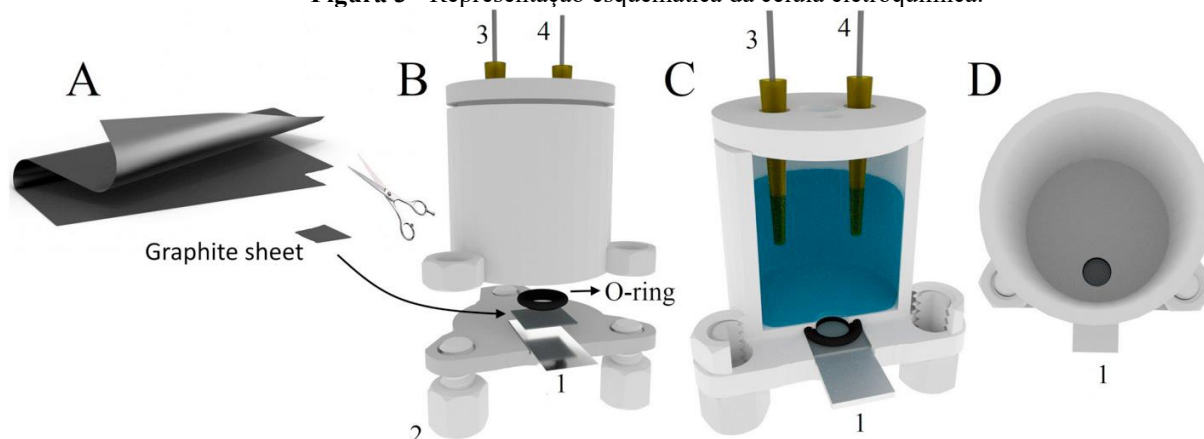
Todos os reagentes utilizados nos experimentos foram de pureza analítica (PA) e todas as soluções foram preparadas em água deionizada ($R \geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) obtida de um sistema de purificação Q (Millipore–DirectQ, Bedford, MA, USA). Hidróxido de sódio (98%) e ácido bórico (99%) foram adquiridos da AppliChem Panreac (Barcelona, Espanha), já o ácido fosfórico (85%) e ácido acético (99%) da Synth (Diadema, Brasil). A folha de grafite foram obtidos da Panasonic (Texas, EUA), já o CO_2 (99,99%) e O_2 (99,99%) da White Martins Co (Brasil). A glicose foi obtida da Henrifarma (São Paulo, Brasil) e o ácido ascórbico (99%) da Vetec (Rio de Janeiro, Brazil). E, por fim, o sulfato de atropina foi adquirido da Sigma Aldrich (EUA).

Para o teste de interferentes, foram utilizados compostos benzodiazepínicos, como bromazepam, midazolam e diazepam (Pharma mostra, Campinas, Brasil). As soluções dos benzodiazepínicos foram preparadas em etanol. Já as soluções de glicose e ácido ascórbico foram preparados por dissolução em eletrólito de suporte $\text{BR } 0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 11).

Uma solução tampão Britton-Robinson (BR) $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ foi usada como eletrólito de suporte para a determinação da atropina e os pHs das soluções tampões BR foi ajustado com solução de hidróxido de sódio. O tampão Britton-Robinson (BR) foi preparado pela mistura de ácido bórico, ácido acético e fosfórico. As amostras de bebidas usadas (cachaça), foram adquiridas em supermercados locais (Uberlândia, MG, Brasil) e diluídas em eletrólito de suporte.

3.2 Preparação dos eletrodos

As folhas de grafite foram cortadas em formato quadrado e posicionadas em um anel de borracha (O-ring) para evitar o vazamento da solução na parte inferior da célula eletroquímica, a qual foi confeccionada por impressão 3D. Em seguida, as folhas de grafite foram fixadas à parte inferior da célula com parafusos (Figura 3).

Figura 3 - Representação esquemática da célula eletroquímica.

Legenda: (A) folha de grafite; (B) posicionamento de um pedaço de folha de grafite no O-ring da célula impressa em 3D; (C) visão interna da célula impressa em 3D; (D) vista superior da célula impressa em 3D com a folha de grafite como eletrodo de trabalho na parte inferior da célula. (1) Base em placa metálica para contato elétrico do eletrodo de trabalho; (2) parafusos impressos em 3D; (3) eletrodo auxiliar (fio de platina); (4) eletrodo de referência miniaturizado (Ag/AgCl). Fonte: Silva *et al.*, 2018.

3.3 Medidas eletroquímicas

As análises eletroquímicas foram realizadas com o potenciostato AUT51505, controlado pelo software NOVA 2.1.7, utilizando um sistema de três eletrodos. O eletrodo de referência foi Ag|AgCl|KCl_(sat.) em todas medidas eletroquímicas realizados; um fio de platina foi usado como eletrodo auxiliar; e as folhas de grafite foram usadas como eletrodo de trabalho.

Inicialmente, realizou-se uma voltametria cíclica para avaliar o comportamento eletroquímico da molécula e do eletrodo, com adição de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em incrementos de concentração, variando de 100 a 700 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Em seguida, realizou-se a voltametria diferencial de pulso (DPV) em folhas de grafite sem tratamento e com tratamento de plasma de CO₂ e O₂, utilizando concentrações de 1 a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina e um tampão BR 0,12 mol L⁻¹ com pH 10. Esse tipo de voltametria mede a diferença entre a corrente antes e após a aplicação do pulso, sendo amplamente empregada por sua sensibilidade (Kurbanoglu *et al.*, 2017). O objetivo dessas medições foi comparar as atividades eletroquímicas dos diferentes eletrodos, a fim de determinar o melhor desempenho.

A partir da DPV, determinou-se o limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) para cada tipo de eletrodo. O LOD corresponde à menor concentração detectável com certa confiança, e o LOQ, à menor concentração quantificável com precisão (Mocak *et al.*, 1997). Os valores de LOD e LOQ foram calculados de acordo com definições da IUPAC e o desvio do branco foi obtido a partir do desvio do coeficiente linear das curvas de calibração.

$$\text{LOD} = 3 \times \frac{\text{desvio do coeficiente linear}}{\text{coeficiente angular}} \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \frac{\text{desvio do coeficiente linear}}{\text{coeficiente angular}} \quad (2)$$

Posteriormente, avaliou-se o efeito do pH no comportamento eletroquímico da atropina, utilizando tampão BR 0,12 mol L⁻¹ e 20 µmol L⁻¹ de atropina com pH variando de 8,0 a 13,0, em DPV, para investigar o pH ideal para máxima atividade da atropina.

3.4 Comparação de técnicas

Para obter maior sensibilidade no desempenho eletroquímico, compararam-se as técnicas de voltametria de pulso: DPV e voltametria de onda quadrada (SWV), usando concentrações de 10 e 20 µmol L⁻¹ de atropina. A SWV é caracterizada pela diferença entre a corrente no final dos pulsos e mais rápida do que outros métodos devido aos seus pulsos mais curtos e sua frequência mais rápida (Kurbanoglu *et al.*, 2017). Aumentos na frequência reduzem a constante de tempo e aumentam a corrente faradaica, melhorando a sensibilidade (Deroco *et al.*, 2020).

3.5 Otimização dos parâmetros

Visando otimizar o desempenho analítico, ajustaram-se os parâmetros de tempo de modulação (10 ms – 90 ms), amplitude (10 mV – 100 mV) e incremento de potencial (1 mV – 100 mV), utilizando 10 µmol L⁻¹ de atropina em tampão BR 0,12 mol L⁻¹ com pH 11. Após a otimização, foi construída uma curva analítica para a faixa de concentração de 5 a 40 µmol L⁻¹, a fim de investigar o intervalo linear de resposta do método.

3.6 Precisão intra-eletrodos e inter-eletrodos

A avaliação da precisão inter e intra-eletrodos foi realizada com três eletrodos distintos e 10 repetições de medidas em um mesmo eletrodo, respectivamente, ambos em DPV, com concentração de 20 µmol L⁻¹ de atropina em tampão BR 0,12 mol L⁻¹ com pH 11. O desvio padrão relativo foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{Desvio padrão relativo} = \frac{\text{desvio padrão}}{\bar{x}} \times 100 \quad (3)$$

Desvio padrão = desvio das correntes

$\bar{x}$ = média das correntes adquiridas

3.7 Testes em amostras de bebidas

Foram analisadas amostras de cachaça fortificadas com $1,38 \text{ mmol L}^{-1}$ de atropina, concentração equivalente à dose fatal média em 250 ml de bebida e diluídas 200 vezes em tampão BR com pH 11 (Matias *et al.*, 2023). A determinação de atropina na amostra fortificada foi realizada pelo método de adição de padrão em duplicata, com acréscimos sucessivos de 10, 15, 20 e $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de soluções padrão na célula eletroquímica.

3.8 Interferentes

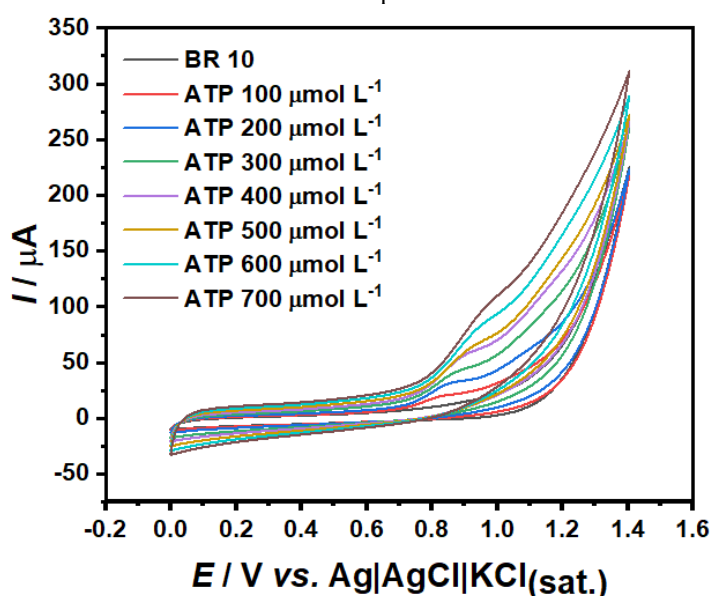
Foi conduzido um estudo de interferências para substâncias como ácido ascórbico (AA), glicose (GLI), diazepam (DZP), bromazepam (BRZ) e midazolam (MDZ). A proporção utilizada foi de 1:1 ($20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina e $20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de cada agente interferente). AA e GLI foram dissolvidos em tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 11, enquanto DZP, BRZ e MDZ foram solubilizados em etanol.

4 RESULTADOS

4.1 Voltametria cíclica da atropina

A voltametria cíclica obtida evidenciou a interação da atropina com as folhas de grafite, observando-se um aumento significativo na corrente de pico à medida que se adicionava atropina, como ilustrado na Figura 4.

Figura 4 – Gráfico corrente-potencial da voltametria cíclica com adição de atropina dos 100 aos 700 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em BR 0,12 mol L^{-1} (pH 10) em folha de grafite sem tratamento. Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV.



Nas diferentes concentrações de atropina, observou-se um processo de oxidação irreversível entre +0,8 e +1,4 V, caracterizando um comportamento dependente da concentração de atropina. À medida que a atropina foi adicionada, o sinal de resposta aumentou, confirmando que o sinal registrado corresponde à presença de atropina, e que as folhas de grafite são sensíveis e adequadas para essa detecção.

O potencial de oxidação da atropina foi identificado em até 1,4 V, resultado que está diretamente relacionado à janela de potencial do eletrodo utilizado. Materiais que possuem janelas de potencial mais amplas permitem a exploração de um maior número de moléculas, aumentando a versatilidade e a aplicação do sensor, essa propriedade depende das características intrínsecas do material do eletrodo (Muhammad *et al.*, 2015).

4.2 Comparação de folhas de grafite

Utilizando a técnica de voltametria diferencial de pulso (DPV), foi avaliado o desempenho dos três tipos de folha de grafite: sem tratamento e com tratamento de CO_2 e O_2 . Os resultados são apresentados nas Figuras 5, 6 e 7.

Figura 5 - Folha de grafite sem tratamento em DPV com concentrações de 1 a $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina e um tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 10. Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV.

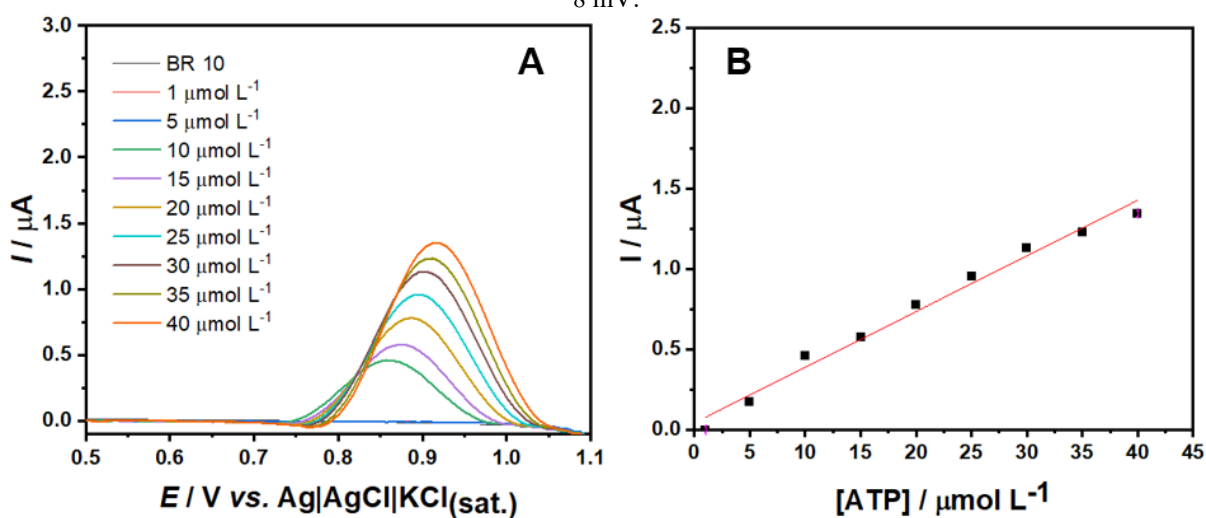


Figura 6 – Folha de grafite tratada com CO_2 em DPV com concentrações de 1 a $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina e um tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 10. Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV.

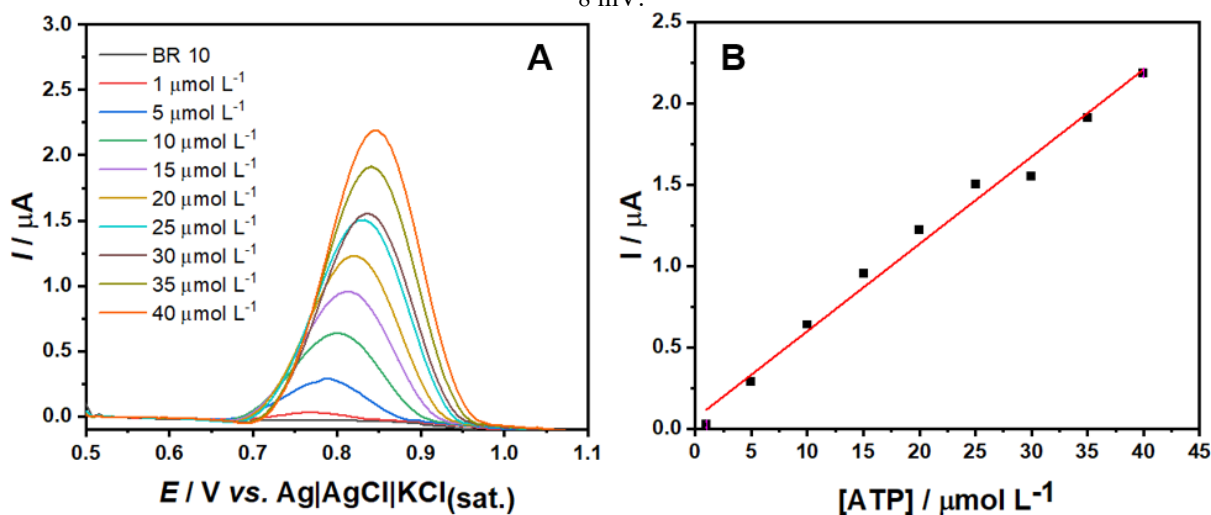
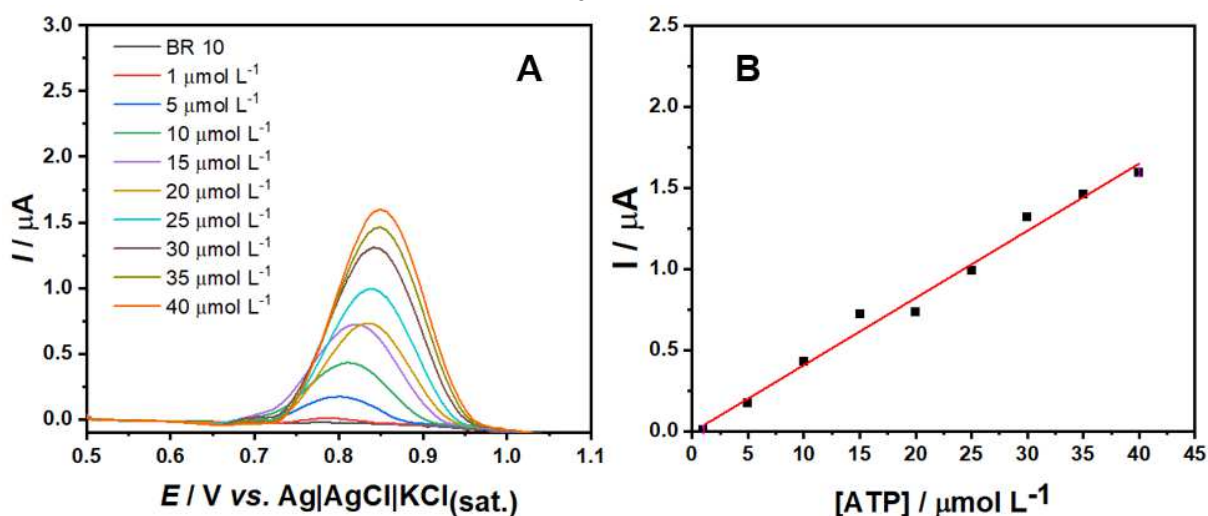


Figura 7 – Folha de grafite tratada com O₂ em DPV com concentrações de 1 a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina e um tampão BR 0,12 mol L⁻¹ com pH 10. Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV.



Nas Figuras 5A, 6A e 7A, observa-se que a folha de grafite tratada com CO₂ apresentou o maior pico de corrente, 2,2 μA , enquanto as folhas tratadas com O₂ e as não tratadas apresentaram picos de 1,6 μA e 1,35 μA , respectivamente. Esses dados indicam que a folha de grafite tratada com CO₂ proporciona uma resposta eletroquímica superior na detecção de atropina em comparação com os demais tratamentos.

Com as curvas apresentadas nas figuras 5B, 6B e 7B foi possível conseguir o coeficiente angular, o coeficiente linear junto com seu desvio e o r^2 , conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros analíticos encontrados na curva da folha não tratada, folha tratada com plasma de CO₂ e de O₂.

Folhas	coeficiente linear (μA)	coeficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	r^2
CO ₂	$0,065 \pm 0,054$	$0,0536 \pm 0,0022$	0,9876
O ₂	$-0,0056 \pm 0,0430$	$0,0414 \pm 0,0018$	0,9868
Não tratada	$0,06154 \pm 0,047$	$0,0340 \pm 0,0016$	0,9823

Em todos os r^2 apresenta um valor próximo de 1, significando que as curvas obtidas apresentam baixa quantidade de variância dos dados com os do modelo linear, expressando confiabilidade.

Com base no coeficiente angular, coeficiente linear e desvio, foi calculado o LOD e o LOQ utilizando as equações (1), (2) e representados na Tabela 2.

Tabela 2 – LOD e LOQ calculados de cada folha.

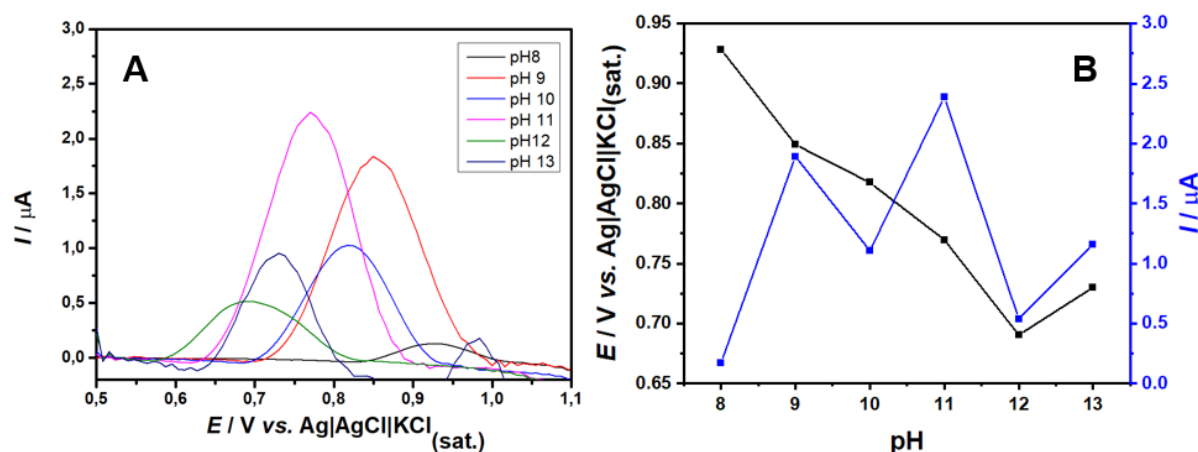
<i>Folhas</i>	<i>LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)</i>	<i>LOQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)</i>
<i>CO₂</i>	3,0	10,0
<i>O₂</i>	3,1	10,3
<i>Não tratada</i>	4,1	13,7

A folha não tratada foi a que apresentou menor coeficiente angular, enquanto ao contrário da folha tratada com plasma de CO₂ que apresentou o maior coeficiente angular, apresentando maior sensibilidade que os demais. Dessa forma, a folha de CO₂ é a mais sensível, uma vez que conseguiu detectar e determinar as menores concentrações de atropina. Assim, a folha escolhida e que foi usada para os procedimentos seguintes foi a folha tratada com plasma de CO₂.

4.3 Teste de pH

Para uma melhor atividade da atropina nas folhas de CO₂ foi feito o teste de qual pH a atropina melhor se adapta, sendo retratados os resultados na figura 8.

Figura 8 – Gráfico da atividade de pHs em atropina com folha tratada com plasma de CO₂ em DPV e a relação entre corrente de pico, o pH e o potencial. Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV.



Na Figura 8B, observa-se que, à medida que o pH aumenta, o potencial diminui, enquanto a corrente aumenta entre os pHs 8 e 11, atingindo o pico, para então decrescer nos pHs 12 e 13. Em uma relação linear entre o potencial e o pH entre os pHs 8 e 12 foi alcançado o valor do coeficiente angular de 55 mV pH^{-1} , próximo ao valor teórico de 59 mV pH^{-1} , indicando que os mesmos números de elétrons e de prótons estão envolvidos na etapa de

oxidação (Topal, 2012). Assim, o pH escolhido e que foi usado nas etapas seguintes foi o pH 11, a medida que apresenta o melhor desempenho para a atropina, ao que aponta a maior corrente e um menor potencial.

4.4 Comparação de técnicas

Visando uma melhor sensibilidade para a atropina, foi testado qual técnica apresentaria o melhor desempenho, a DPV ou a SWV. Portanto, utilizando as mesmas concentrações de 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina nas duas técnicas, foi possível comparar elas através da figura 9 e 10.

Figura 9 – Gráfico obtido da técnica SWV com concentrações de 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em folhas de grafite tratadas com plasma de CO_2 e BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11). Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV.

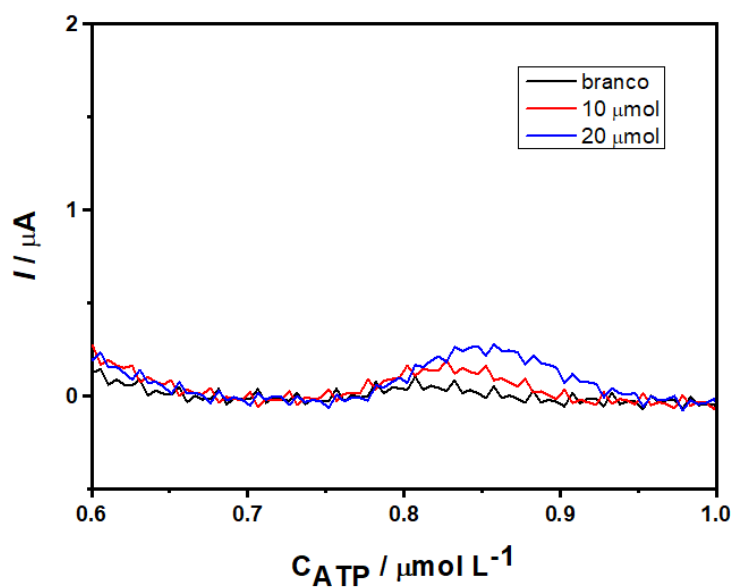
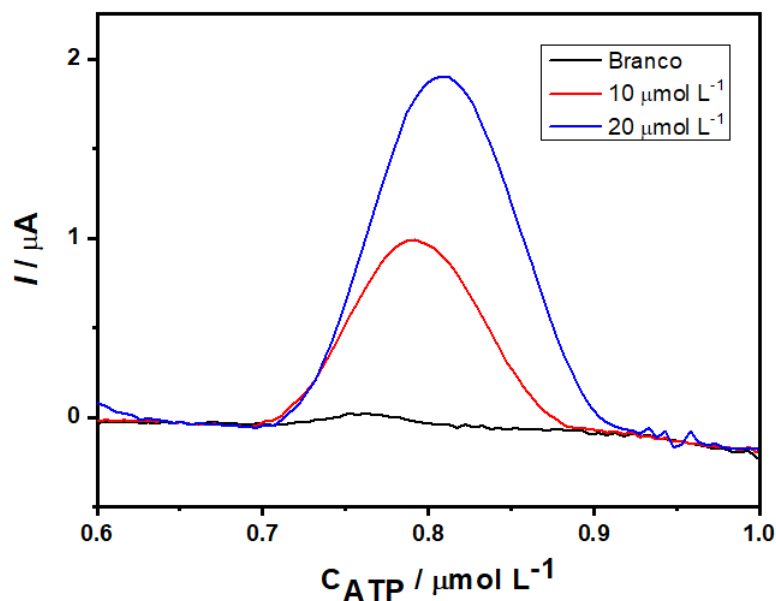


Figura 10 – Gráfico obtido da técnica DPV com concentrações de 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em folhas de grafite tratadas com plasma de CO_2 e BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11). Tempo de modulação: 80 ms, amplitude: 80 mV e incremento de potencial: 8 mV.



Em ambas as técnicas o sinal aumenta com a presença da atropina e continua a crescer com a adição dela. Porém, há uma diferença perceptível entre as duas, enquanto em DPV a medida que a concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ atingiu aproximadamente 1 μA e a de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ atingiu aproximadamente 2 μA , em SWV, a concentração de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ não alcançou 0,5 μA . Esses dados indicam que a DPV apresenta uma melhor resposta analítica a atropina, sendo a técnica escolhida e usada para as próximas etapas.

4.5 Otimização dos parâmetros

A fim de alcançar o melhor desempenho analítico para a atropina, foram otimizados os parâmetros tempo de modulação, amplitude e incremento de potencial em DPV. Os valores selecionados para a otimização foram baseados na resposta para a detecção de atropina, como a intensidade da corrente e sensibilidade apresentados nas figuras 11, 12 e 13.

Figura 11 – Amplitude em DPV com concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em folhas de grafite tratadas com plasma de CO_2 e BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 11$) em uma faixa de 10 a 100 mV.

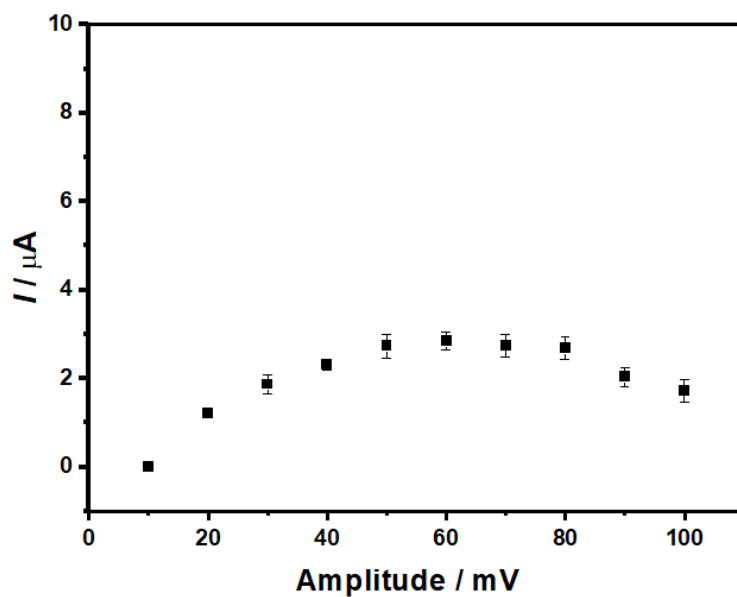


Figura 12 – Incremento de potencial em DPV com concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em folhas de grafite tratadas com plasma de CO_2 e BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 11$) em uma faixa de 1 a 10 mV.

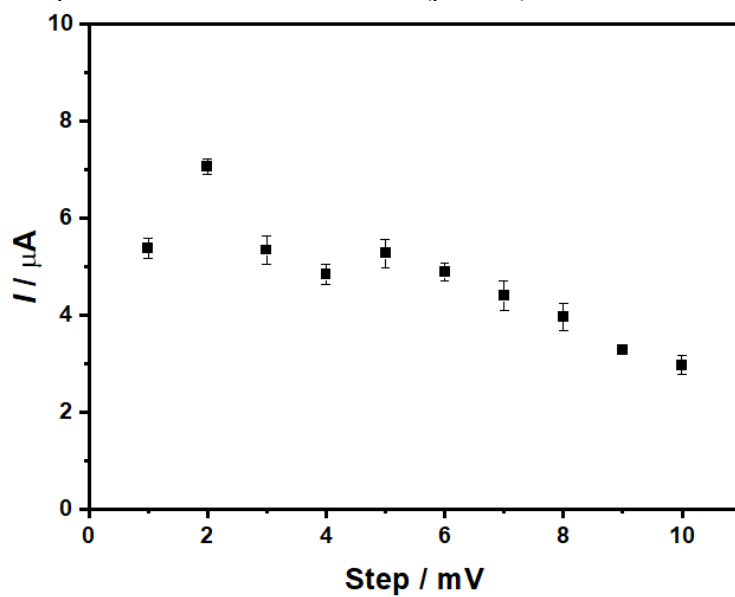
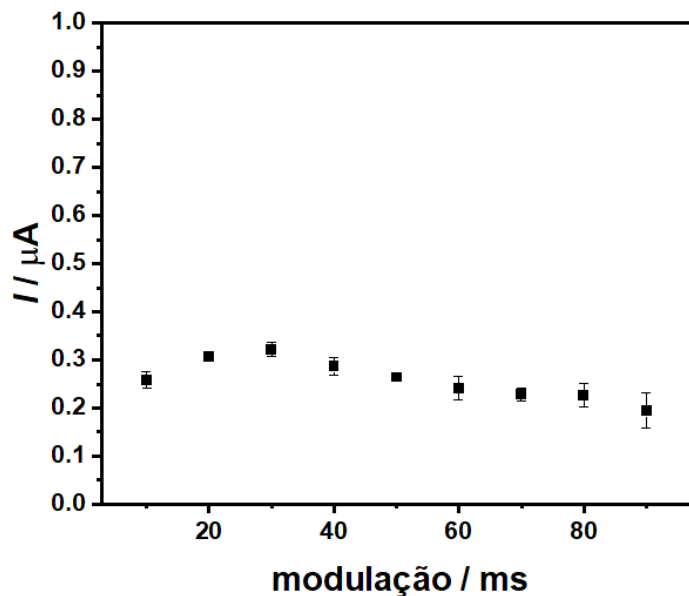


Figura 13 – Tempo de modulação em DPV com concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em folhas de grafite tratadas com plasma de CO_2 e BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 11) em uma faixa de 10 a 90 ms.



Perante as Figuras 11, 12 e 13 foram selecionados os valores de cada parâmetro que mostraram apresentaram uma maior intensidade de corrente e sensibilidade, ilustrados na tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros escolhidos para a otimização da atropina.

<i>Parâmetros</i>	<i>Valores</i>
<i>Amplitude</i>	60 mV
<i>Incremento de potencial</i>	2 mV
<i>Tempo de modulação</i>	30 ms

4.6 Curva analítica

Após a otimização e com os parâmetros ajustados, construiu-se uma curva analítica para a atropina, obtendo-se um comportamento linear na faixa de concentração de 5 a $40 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Figura 14 – Curva de calibração da ATP (atropina) na faixa de concentração entre 5 e 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 11). Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV.

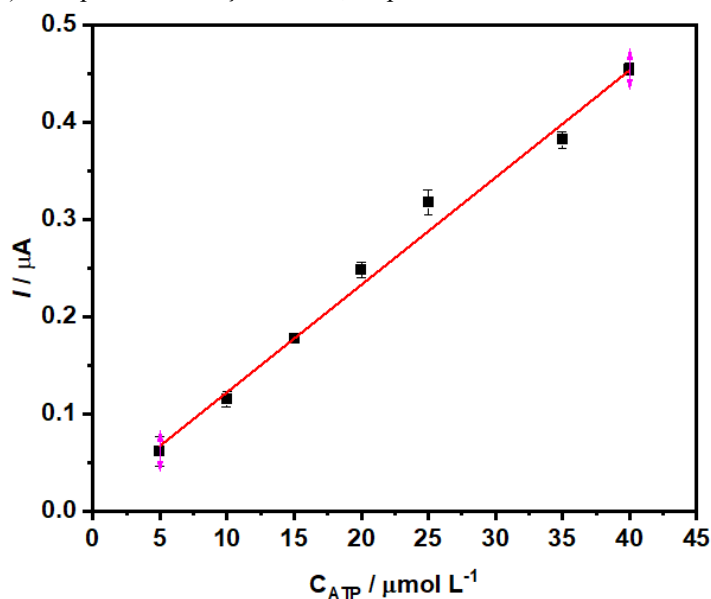


Tabela 4 – Parâmetros analíticos encontrados na curva analítica e LOD e LOQ após a otimização da folha tratada com plasma de CO_2 .

Folhas	CO_2
Coeficiente linear (μA)	$1,196 \times 10^{-8} \pm 5,365 \times 10^{-9}$
Coeficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	$1,104 \times 10^{-8} \pm 3,425 \times 10^{-10}$
r^2	0,995
LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	1,46
LOQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	4,86

A curva analítica foi construída para a observação da faixa de trabalho da atropina, apresentando um r^2 de 0,995, expressando confiabilidade. Assim, tem-se que as concentrações a serem trabalhadas com a atropina estejam entre esta faixa linear para um resultado desejado e preciso.

Além disso, com os parâmetros analíticos da curva, foi calculado novos valores de LOD e LOQ para a folha de grafite tratada com plasma de CO_2 após a otimização utilizando as equações (1) e (2), todos estabelecidos na tabela 4. Os valores calculados encontrados foram menores do que os valores calculados antes da otimização, significando que após a otimização dos parâmetros a folha de grafite tratada com plasma de CO_2 apresentou ainda mais sensibilidade a resposta da atropina.

4.7 Precisão intra-eletrodos e inter-eletrodos

Para testar a precisão dos eletrodos, foram realizados testes intra-eletrodo (10 repetições no mesmo eletrodo) e inter-eletrodo (3 eletrodos diferentes), ambos com $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina e tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 11, encontrando os resultados das Figuras 15 e 16.

Figura 15 – Precisão inter-eletrodos usando 3 folhas de grafite tratadas com plasma frio de CO_2 com $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 11). Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV.

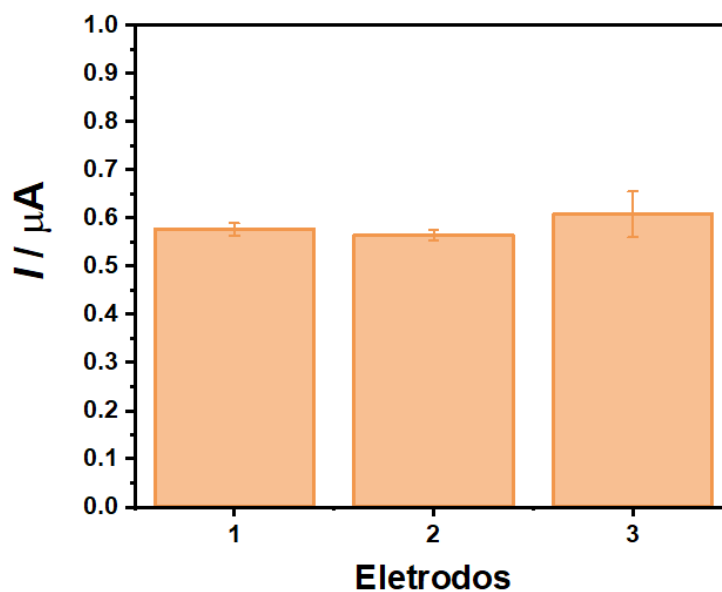


Figura 16 – Precisão intra-eletrodos através de 10 repetições de um eletrodo de folha de grafite tratada com plasma frio de CO_2 com $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de atropina em BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 11). Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV.

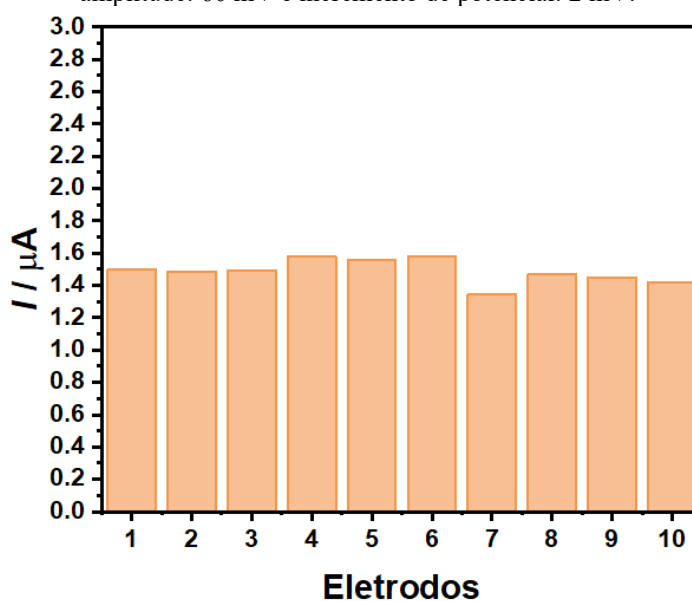


Tabela 5 – Desvio padrão relativo da precisão inter-eletrodo e da precisão intra-eletrodo.

<i>Precisão</i>	<i>Desvio padrão relativo</i>
<i>Intra-eletrodo</i>	4,9%
<i>Inter-eletrodo</i>	3,8%

Através das Figuras 15 e 16 foi possível calcular o desvio padrão relativo pela equação (3), representados na Tabela 4. Esses resultados demonstram que a resposta eletroquímica para os processos de oxidação no eletrodo são repetíveis e reprodutíveis, apresentando precisão, estabilidade, portanto conferindo uma boa confiabilidade para a identificação de atropina.

4.8 Testes em amostras de bebidas

Foi empregado teste de adição e recuperação para a avaliação da precisão do método em determinar a atropina em bebidas, uma vez que há uma grande relação entre álcool e drogas de abuso. Seu consumo pode facilitar formas de abuso físico, ao que a ação desinibidora do álcool pode diminuir as capacidades perceptivas e de reação de defesa da vítima (Mognetti *et al.*, 2022).

A adição de padrão em cachaça em duplicata (n=2) diluída em 200 vezes fortificadas com 1,38 mmol L⁻¹ de atropina, sendo essa concentração a dose fatal em 250 ml de bebida (Matias *et al.*, 2023). As Figura 17 e 18 apresentam curvas de adição de padrão para análises da bebida fortificada.

Figura 17 – Primeira duplicata da amostra de cachaça diluída em 200 vezes na adição de padrão de atropina em DPV com eletrodo de folha de grafite tratada com plasma frio de CO₂ em BR 0,12 mol L⁻¹ (pH = 11). Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV.

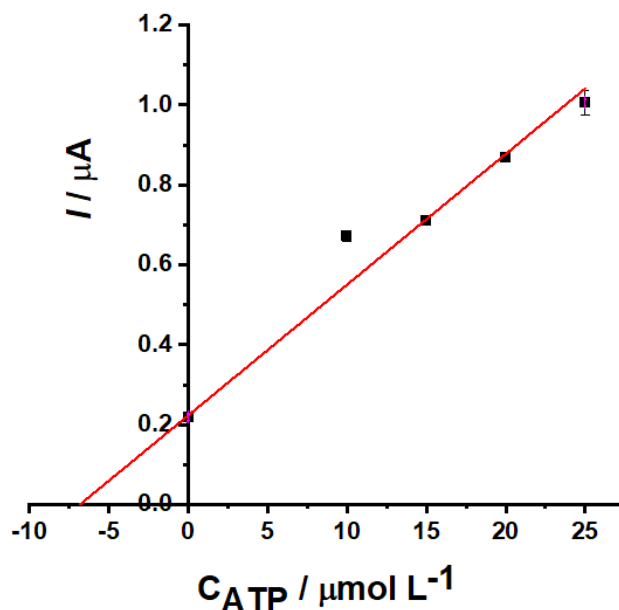


Figura 18 – Segunda duplicata da amostra de cachaça diluída em 200 vezes na adição de padrão de atropina em DPV com eletrodo de folha de grafite tratada com plasma frio de CO₂ em BR 0,12 mol L⁻¹ (pH = 11). Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV.

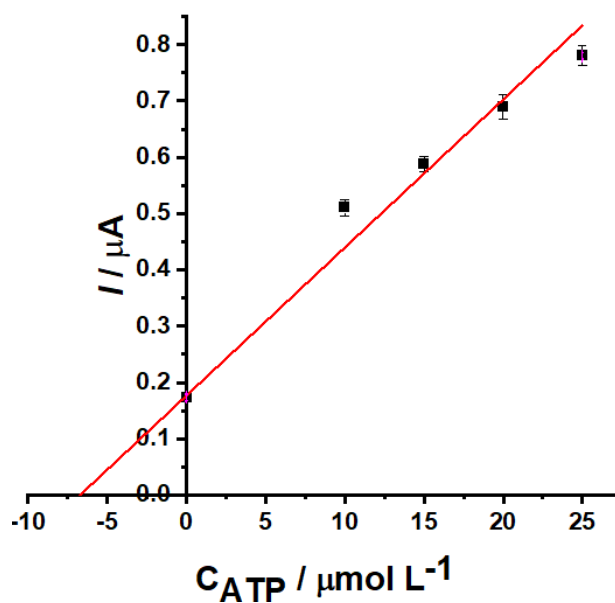


Tabela 6 – Valores obtidos das duplicatas de cachaça na adição de padrão.

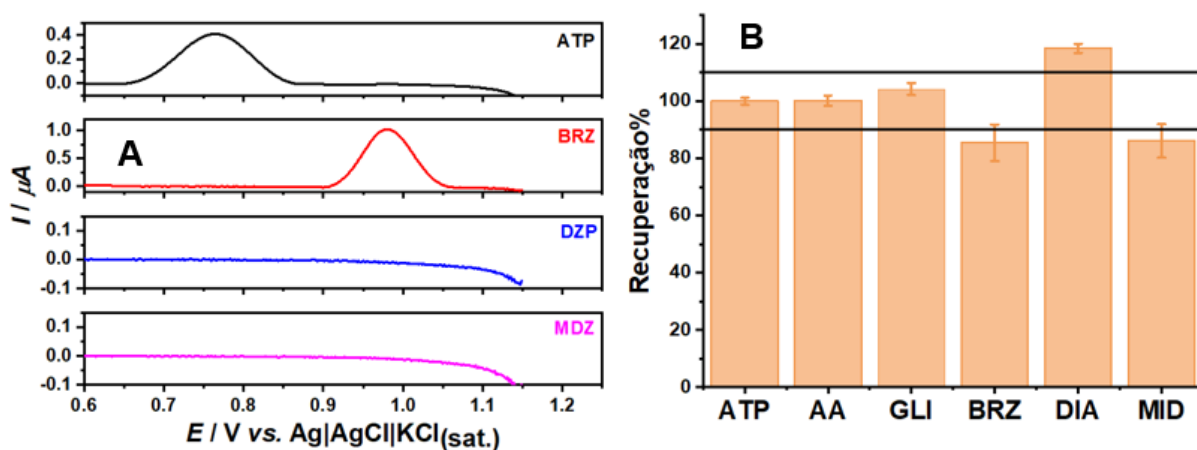
Duplicata	Coeficiente angular (μA)	Coeficiente linear ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	r^2
Primeira	$2,229 \times 10^{-7} \pm 2,068 \times 10^{-8}$	$3,272 \times 10^{-8} \pm 1,778 \times 10^{-9}$	0,9912
Segunda	$1,765 \times 10^{-7} \pm 1,261 \times 10^{-8}$	$2,631 \times 10^{-8} \pm 1,784 \times 10^{-9}$	0,9864

Através das Figuras 17 e 18 foi obtido o coeficiente angular, o coeficiente linear e o r^2 , representados na Tabela 5. O r^2 encontrados apresentam valores próximos a 1, expressando confiabilidade dos valores encontrados. Com a razão do o coeficiente linear e o coeficiente angular vezes a quantidade de diluição foi possível calcular a porcentagem de recuperação comparado a concentração de fortificação da atropina. A primeira apresentou uma recuperação de 98,5% e a segunda de 97,1%, portanto, foram adquiridos valores de recuperação satisfatórios (entre 80 e 120%) chegando a quase 100% de recuperação.

4.9 Interferentes

Finalmente, foram avaliadas as interferências de ácido ascórbico (AA), glicose (GLI), bromazepam (BRZ), diazepam (DIA) e midazolam (MID) na detecção de atropina, com seus respectivos percentuais de recuperação calculados.

Figura 19 – Efeitos da presença dos interferentes AA, GLI, BRZ, DIA e MID em atropina (ATP) usando BR 0,12 mol L⁻¹ (pH = 11) no eletrodo de folha de grafite tratado em plasma frio de CO₂. Tempo de modulação: 30 ms, amplitude: 60 mV e incremento de potencial: 2 mV.



Na Figura 19A, observam-se sinais para benzodiazepínicos e as faixas de potencial de cada um, além da atropina, que apresenta oxidação em uma faixa de potencial diferente dos benzodiazepínicos, não interferindo na resposta da atropina. Já na Figura 19B, observa-se a porcentagem de recuperação após a adição do interferente para a avaliação da interferência de cada substância. AA e GLI mostraram que não são interferentes na presença na atropina. Já para os benzodiazepínicos, como o BRZ e MID, também não foi verificado nenhuma interferência. Por sua vez, o DIA apresentou certa interferência na resposta, com um desvio superior a 10%. Contudo, considerando a Figura 19A, é observado que os benzodiazepínicos

não apresentam resposta eletroquímica na faixa trabalhada, possibilitando então a determinação simultânea desta classe de compostos na presença de atropina.

5 DISCUSSÃO

A *Atropa belladonna* é uma planta herbácea relevante para a ciência farmacêutica por produzir alcaloides tropânicos com propriedades anticolinérgicas, como hiosciamina, anisodamida e escopolamina, que são utilizados no tratamento de arritmias, envenenamento por organofosforados, choque infeccioso e espasmos vasculares (Zeng *et al.*, 2021). Entretanto, devido aos seus efeitos psicoativos, esses alcaloides são frequentemente utilizados em práticas criminosas, como abuso sexual, gerando graves efeitos colaterais que podem levar à morte em decorrência da alta toxicidade da atropina (João *et al.*, 2021).

O tratamento de folhas de grafite com plasma frio demonstrou melhorias significativas no desempenho do sensor, proporcionando maior sensibilidade, reprodutibilidade e eficiência na transferência de elétrons, em comparação com folhas de grafite sem tratamento, que apresentam maior resistência de contato (Kannan *et al.*, 2016).

Conforme ilustrado nas Figuras 5, 6 e 7, a análise das folhas de grafite tratadas com plasma de CO₂ e O₂ e das folhas sem tratamento evidência diferenças significativas no desempenho desses materiais na detecção de atropina. Observa-se que o eletrodo de grafite tratado com plasma de CO₂ apresenta maior sensibilidade para a atropina, sendo o mais adequado como sensor para essa aplicação. Os valores de LOD (limite de detecção) e LOQ (limite de quantificação) da folha tratada com CO₂ (Tabela 2) mostram que o LOD obtido é 138 vezes menor do que a concentração fatal de atropina, estabelecida em 1,38 mmol L⁻¹ em 250 ml de bebida. Esses resultados confirmam a adequação do sensor com tratamento de plasma de CO₂ para a detecção segura e precisa de atropina em amostras de bebidas.

O pH do eletrólito de suporte exerce um impacto significativo na resposta eletroquímica em várias determinações analíticas, devido à sua relação direta com o perfil corrente versus potencial (Topal, 2012). Na Figura 8B, verifica-se uma dependência do pH entre 8 e 12, enquanto a partir do pH 13 o comportamento torna-se independente do pH. O pH 11 foi escolhido como o eletrólito de suporte ideal para a análise de atropina, pois é o ponto no qual a corrente de pico atinge o máximo e o potencial se apresenta mais baixo.

A cachaça, uma bebida alcoólica tradicional brasileira, é produzida por meio da fermentação e destilação da cana-de-açúcar e apresenta semelhança com o rum. É a segunda bebida mais consumida no Brasil e a terceira no mundo (Ratkovich *et al.*, 2023). Seus principais componentes são água e álcool, mas também possui, em menores concentrações, açúcar, cobre e ácidos voláteis que influenciam seu sabor e aroma (Mathews *et al.*, 2023). A avaliação de amostras de cachaça com adição padrão de atropina, conforme os dados da Tabela 5, revela

recuperações próximas de 100%, indicando que o método desenvolvido apresenta elevada precisão, confiabilidade e ausência de interferência da matriz para a determinação de atropina em cachaça.

Para os testes de interferentes, selecionaram-se as substâncias ácido ascórbico (AA), glicose (GLI), diazepam (DZP), midazolam (MDZ) e bromazepam (BRZ) com o objetivo de verificar a interferência desses compostos na detecção de atropina em eletrodos de grafite tratados com plasma de CO₂. O ácido ascórbico, ou vitamina C, é uma substância presente no organismo humano e na dieta alimentar, sendo comum em alimentos e bebidas (Ensafi et al., 2010). A glicose, igualmente abundante no organismo e em alimentos, desempenha um papel essencial na geração de energia e é amplamente utilizada pela indústria alimentícia para realçar texturas e sabores de alimentos e bebidas (Gutiérrez *et al.*, 2022). Benzodiazepínicos são medicamentos encontrados na forma de comprimidos e cápsulas, podem induzir confusão, sonolência e tontura, além disso, também usados como droga de abuso (Busardò *et al.*, 2019). Benzodiazepínicos podem ter uma rápida absorção e solubilidade em soluções aquosas, assim, quando consumido com álcool tem-se um efeito sinérgico, potencializando seus efeitos sedativos (Rocha *et al.*, 2019). Para este estudo, selecionaram-se diazepam, midazolam e bromazepam como representativos dos benzodiazepínicos para os testes de interferência, juntamente com ácido ascórbico e glicose.

Os resultados dos testes de interferência, ilustrados na figura 19A, indicam que os picos de corrente dos benzodiazepínicos não interferem na resposta da atropina. No entanto, na figura 19B, observou-se que as recuperações de benzodiazepínicos não atingiram a faixa ideal de 90 a 110%, possivelmente devido às condições experimentais, como pH e concentrações utilizadas. Os picos dos benzodiazepínicos são influenciados pelo pH, com melhor desempenho em pH 7. Aumentos de pH reduzem a interação de hidrogênio entre os monômeros e as moléculas-alvo, o que diminui o desempenho em condições mais alcalinas (Panahi *et al.*, 2018). Além disso, o pH básico dificulta a obtenção de picos de redução satisfatórios, pois o potencial desloca-se para valores mais negativos (Panahi *et al.*, 2018).

Outra possível causa das variações é a concentração dos benzodiazepínicos. Em baixas concentrações, o sensor apresenta alta sensibilidade, enquanto em concentrações elevadas ocorre saturação, reduzindo a sensibilidade (Panahi *et al.*, 2018). Dessa forma, o pH e a concentração dos benzodiazepínicos podem ter influenciado as respostas observadas, resultando em valores abaixo do esperado para os testes de interferência na detecção de atropina em folhas de grafite tratadas com plasma frio de CO₂.

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para a detecção de atropina em amostras de bebidas, utilizando eletrodos de folhas de grafite tratados com plasma frio de CO₂ e O₂ e sem tratamento. A aplicação de tratamentos com plasma nas folhas de grafite mostrou-se eficaz para melhorar a resposta eletroquímica do sensor, com o tratamento com CO₂ destacando-se por proporcionar maior sensibilidade e melhor desempenho analítico, especialmente na técnica de voltametria diferencial de pulso (DPV). Esse resultado confirma que o tratamento com plasma pode ser uma estratégia promissora para aumentar a reatividade de eletrodos de carbono, favorecendo a interação com o analito.

A avaliação de interferentes demonstrou que a resposta do sensor à atropina não foi significativamente afetada pela presença de outras substâncias comumente encontradas em bebidas ou utilizadas em casos de abuso de drogas, reforçando a seletividade do método desenvolvido.

Além disso, a pesquisa ressaltou a importância da detecção de atropina em contextos de segurança pública e saúde, especialmente considerando seu potencial uso indevido em crimes de violência sexual e intoxicações. A capacidade de identificar rapidamente a presença de atropina em bebidas pode contribuir para a prevenção de incidentes relacionados ao abuso de substâncias, promovendo a proteção das vítimas e a responsabilização dos agressores.

Portanto, o sensor eletroquímico desenvolvido tem potencial para ser utilizado na análise de atropina em bebidas, oferecendo uma ferramenta importante para investigações toxicológicas e forenses. A continuidade da pesquisa nessa área é essencial para o desenvolvimento de métodos cada vez mais eficazes e acessíveis, que possam ser utilizados em diferentes contextos, garantindo a segurança e a saúde da população.

7 REFERÊNCIAS

- BASHA, S.; SATHISWARA. Atropine Induced Psychosis: A Report of Two Cases. **International Journal of Health Sciences & Research (www.ijhsr.org)**, v. 7, p. 12, 2017.
- BUSARDÒ, F. P. *et al.* Drug-facilitated sexual assaults (DFSA): a serious underestimated issue. **European review for medical and pharmacological sciences**, v. 23, n. 24, 2019.
- CAI, W. *et al.* Electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid based on an exfoliated graphite paper electrode: A high performance flexible sensor. **Sensors and Actuators B Chemical**, v. 193, p. 492–500, 8 dez. 2013.
- CARVALHO, F. H. O. *et al.* Syntesis of Carbon Nanostructures Near Room Temperature Using Microwave PECVD. **Materials Research**, v. 18, n. 4, p. 860–866, ago. 2015.
- CIKLA, U. *et al.* An *Atropa belladonna* L. poisoning with acute subdural hematoma. **Human & Experimental Toxicology**, v. 30, n. 12, p. 1998–2001, 3 maio 2011.
- CLAUDIC, Y. *et al.* Current use of 3D printing in plastic surgery. **Annals of 3D Printed Medicine**, v. 11, p. 100119–100119, 16 jun. 2023.
- CONRADS, H.; SCHMIDT, M. Plasma generation and plasma sources. **Plasma Sources Science and Technology**, v. 9, n. 4, p. 441–454, 31 out. 2000.
- DEROCO, P. B. *et al.* Paper-based electrochemical sensing devices. **Comprehensive analytical chemistry**, p. 91–137, 1 jan. 2020.
- EMSLEY, John. Molecules of Murder. **Cambridge:: Royal Society of Chemistry**, 2008.
- ENSAFI, A. A. *et al.* Highly selective determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid by differential pulse voltammetry using poly(sulfonazo III) modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B Chemical**, v. 147, n. 1, p. 213–221, 20 fev. 2010.
- GUTIÉRREZ. O. A. *et al.* Paper-Based Enzymatic Electrochemical Sensors for Glucose Determination. **Sensors**, v. 22, n. 16, p. 6232–6232, 19 ago. 2022.
- JOÃO, A. F. *et al.* 3D-printing in forensic electrochemistry: Atropine determination in beverages using an additively manufactured graphene-poly(lactic acid) electrode. **Microchemical Journal**, v. 167, p. 106324–106324, 1 ago. 2021.
- KANNAN, P. K. *et al.* The electrochemical 4-chlorophenol sensing properties of a plasma-treated multilayer graphene modified photolithography patterned platinum electrode. **RSC Advances**, v. 6, n. 107, p. 105920–105929, 1 jan. 2016.
- KHARE, R. T. *et al.* Enhanced field emission of plasma treated multilayer graphene. **Applied Physics Letters**, v. 107, n. 12, 21 set. 2015.
- KURBANOGU, S. *et al.* Carbon-based nanostructures for electrochemical analysis of oral medicines. **Nanostructures for Oral Medicine**, Elsevier, p. 885-938, 2017.

KWAKYE, G. F. *et al.* Atropa belladonna neurotoxicity: Implications to neurological disorders. **Food and Chemical Toxicology**, v. 116, p. 346–353, 10 abr. 2018.

LIU, R. *et al.* A disposable expanded graphite paper electrode with self-doped sulfonated polyaniline/antimony for stripping voltammetric determination of trace Cd and Pb. **Analytical Methods**, v. 8, n. 7, p. 1618–1625, 1 jan. 2016.

LIU, W. *et al.* A non-enzymatic hydrogen peroxide sensor based on vertical NiO nanosheets supported on the graphite sheet. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 749, p. 62–67, 2 maio 2015.

MATHEWS *et al.* Using colorimetric spot test and digital imaging-based technique for volatile acidity determination in cachaça with the aid of a smartphone. **Microchemical Journal**, v. 187, p. 108416–108416, 11 jan. 2023.

MATIAS, T. A. *et al.* 3D-printed electrochemical cells with laser engraving: developing portable electroanalytical devices for forensic applications. **Microchimica Acta**, v. 190, n. 8, 18 jul. 2023.

MCCREERY, R. L. Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 7, p. 2646–2687, 17 jun. 2008.

MCLENDON, K.; PREUSS, C. V. Atropine. **StatPearls**, StatPearls Publishing, 23 June 2023.

MOCÁK, J. *et al.* 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 and Applied Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 297–328, 28 fev. 1997.

MOGNETTI, B. *et al.* Sexual Harassments Related to Alcohol and Drugs Intake: The Experience of the Rape Centre of Turin. **International journal of environmental research and public health**, v. 19, n. 22, p. 15090, 2022.

MUHAMMAD *et al.* A limited anodic and cathodic potential window of MoS₂: limitations in electrochemical applications. **Nanoscale**, v. 7, n. 7, p. 3126–3129, 1 jan. 2015.

NGO, T. D. *et al.* Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. **Composites Part B Engineering**, v. 143, p. 172–196, 1 jun. 2018.

NOURBAKHS, A. *et al.* Bandgap opening in oxygen plasma-treated graphene. **Nanotechnology**, v. 21, n. 43, p. 435203–435203, 4 out. 2010.

OLIVEIRA, A. G.; MUNOZ, R. A. A.; ANGLES, L. Disposable Graphite Foil Based Electrodes and Their Application in Pharmaceutical Analysis. **Electroanalysis**, v. 22, n. 12, p. 1290–1296, jun. 2010.

PANAHI, Y. *et al.* High sensitive and selective nano-molecularly imprinted polymer based electrochemical sensor for midazolam drug detection in pharmaceutical formulation and human urine samples. **Sensors and Actuators B Chemical**, v. 273, p. 1579–1586, 20 jul. 2018.

PATIL, U. V. *et al.* Effect of plasma treatment on multilayer graphene: X-ray photoelectron spectroscopy, surface morphology investigations and work function measurements. **RSC Advances**, v. 6, n. 54, p. 48843–48850, 1 jan. 2016.

PEREIRA, J. F. S. *et al.* Improved electrochemical performance of pyrolytic graphite paper: Electrochemical versus reactive cold-plasma activation. **Electrochemistry Communications**, v. 105, p. 106497–106497, 19 jul. 2019.

PEREIRA, J. F. S. *et al.* Oxygen plasma-treated graphite sheet electrodes: A sensitive and disposable sensor for methamphetamines. **Electrochimica Acta**, v. 467, p. 143089–143089, 27 ago. 2023.

PEREIRA, J. F. S. *et al.* Reactive oxygen plasma treatment of 3D-printed carbon electrodes towards high-performance electrochemical sensors. **Sensors and Actuators B Chemical**, v. 347, p. 130651–130651, 25 ago. 2021.

PEREIRA, J. F. S. Understanding the influence of cold plasma treatment on the electroanalytical performance of carbon-based electrodes. **Repositorio.ufu.br**, 2023.

RAMDANI, O. *et al.* Forensic electrochemistry: sensing the molecule of murder atropine. **The Analyst**, v. 138, n. 4, p. 1053–1053, 1 jan. 2013.

RATKOVICH, N. *et al.* The Spirit of Cachaça Production: An Umbrella Review of Processes, Flavour, Contaminants and Quality Improvement. **Foods**, v. 12, n. 17, p. 3325–3325, 4 set. 2023.

ROCHA, R. G. *et al.* 3D-printing for forensic chemistry: voltammetric determination of cocaine on additively manufactured graphene–polylactic acid electrodes. **Analytical Methods**, v. 13, n. 15, p. 1788–1794, 1 jan. 2021.

ROCHA, R. G. *et al.* Investigation of midazolam electro-oxidation on boron doped diamond electrode by voltammetric techniques and density functional theory calculations: Application in beverage samples. **Talanta**, v. 207, p. 120319–120319, 4 set. 2019.

SCIDA, K. *et al.* Recent applications of carbon-based nanomaterials in analytical chemistry: Critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 691, n. 1-2, p. 6–17, 17 fev. 2011.

SILVA, L. Desenvolvimento, caracterização e aplicações de folhas condutoras de grafite como eletrodos de trabalho. **Repositorio.ufu.br**, 2021.

SILVA, L. *et al.* Evaluation of graphite sheets for production of high-quality disposable sensors. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 833, p. 560–567, 19 dez. 2018.

SKOV, K. *et al.* A review on the forensic toxicology of global drug-facilitated sexual assaults. **DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals)**, v. 26, n. 1, p. 183–197, 1 jan. 2022.

TOPAL, B. D. Electrooxidative behavior and determination of trifluoperazine at multiwalled carbon nanotube-modified glassy carbon electrode. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 17, n. 4, p. 1059–1066, 14 dez. 2012.

YUE, D. W. *et al.* Edge contacts of graphene formed by using a controlled plasma treatment. **Nanoscale**, v. 7, n. 2, p. 825–831, 20 nov. 2014.

ZENG, L. *et al.* Development of *Atropa belladonna* L. Plants with High-Yield Hyoscyamine and without Its Derivatives Using the CRISPR/Cas9 System. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1731–1731, 9 fev. 2021.

ZENG, L. *et al.* Development of *Atropa belladonna* L. Plants with High-Yield Hyoscyamine and without Its Derivatives Using the CRISPR/Cas9 System. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1731–1731, 9 fev. 2021.

ZHANG, P. *et al.* Simultaneous determination of atropine, scopolamine, and anisodamine from *Hyoscyamus niger* L. in rat plasma by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry and its application to a pharmacokinetics study. **Journal of Separation Science**, v. 37, n. 19, p. 2664–2674, 21 ago. 2014.

ZHUANG, H. *et al.* Effects of in-package cold plasma treatment on poultry breast meat packaged in high CO₂ atmosphere. **Poultry Science**, v. 103, n. 10, p. 104085–104085, 10 jul. 2024.