UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

HABDIAS DE ARAUJO SILVA NETO

Manufatura aditiva circular: utilizando e reciclando materiais termoplásticos para desenvolver sensores analíticos

Goiânia

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

[ ] Dissertação [X] Tese [ ] Outro*:_____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Habdias de Araújo Silva Neto

3. Título do trabalho

Manufatura aditiva circular: utilizando e reciclando materiais termoplásticos para desenvolver sensores analíticos

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento [X] SIM [ ] NÃO[1]

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:
a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.
Casos de embargo:
- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.

Documento assinado eletronicamente por **Wendell Karlos Tomazelli Coltro**, **Professor do Magistério Superior**, em 18/06/2024, às 16:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Documento assinado eletronicamente por **Habdias De Araújo Silva Neto**, **Usuário Externo**, em 24/06/2024, às 17:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4611973** e o código CRC **FB4849BA**.

HABDIAS DE ARAUJO SILVA NETO

Manufatura aditiva circular: utilizando e reciclando materiais termoplásticos para desenvolver sensores analíticos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Goiás (UFG) como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química.

Área de concentração: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro

Goiânia

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Silva Neto, Habdias de Araujo
Manufatura aditiva circular: utilizando e reciclando materiais termoplásticos para desenvolver sensores analíticos [manuscrito] / Habdias de Araujo Silva Neto. - 2024.
xiii, 137 f.

Orientador: Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química (IQ), Programa de Pós-Graduação em Química, Goiânia, 2024.
Bibliografia.
Inclui abreviaturas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Extrusão de materiais. 2. Sensores de carbono. 3. Materiais reciclados. 4. Economia circular. 5. Análises eletroquímicas. I. Coltro, Wendell Karlos Tomazelli, orient. II. Título.

CDU 54

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

ATA IQ 174/2024

Ata nº **174** da sessão da Defesa de Doutorado de **Habdias de Araújo Silva Neto**, que confere o título de **Doutor em Química**, na área de concentração em **Química**.

Aos **5 (cinco) dias do mês de fevereiro de 2024 (dois mil e vinte e quatro)**, a partir das **08h30m**, **via videoconferência**, realizou-se a sessão pública da Defesa de Doutorado intitulada **"Manufatura aditiva circular: utilizando e reciclando materiais termoplásticos para desenvolver sensores analíticos"**. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, **Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro (IQ/UFG)**, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Prof. Dr. Emanuel Carrilho (IQSC/USP), Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz (IQ/UFU), Prof. Dr. Bruno Campos Janegitz (DCNME/UFSCar) e Profª. Drª. Andréa Rodrigues Chaves (IQ/UFG)**. Durante a arguição os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Defesa de Doutorado, tendo sido o candidato **aprovado** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos 5 (cinco) dias do mês de fevereiro de 2024 (dois mil e vinte e quatro).

Documento assinado eletronicamente por **Wendell Karlos Tomazelli Coltro**, **Professor do Magistério Superior**, em 05/02/2024, às 12:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .

Documento assinado eletronicamente por **Bruno Campos Janegitz**, **Usuário Externo**, em 05/02/2024, às 12:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Documento assinado eletronicamente por **Andrea Rodrigues Chaves**, **Professor do Magistério Superior**, em 05/02/2024, às 12:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .

Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Alejandro Abarza Munoz**, **Usuário Externo**, em 05/02/2024, às 12:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4356053** e o código CRC **E9C852A2**.

Referência: Processo nº 23070.001667/2024-87 SEI nº 4356053

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

DESPACHO

Atesto, na condição de presidente da banca examinadora, conforme o item 04 da instrução normativa da PRPG nº 001, de 27 de março de 2020, que o **Prof. Dr. Emanuel Carrilho (USP)** participou como membro avaliador da banca examinadora de qualificação de doutorado intitulada **"Manufatura aditiva circular: utilizando e reciclando materiais termoplásticos para desenvolver sensores analíticos"**, ocorrida ao dia 5 (cinco) do mês de janeiro de 2024 (dois mil e vinte quatro). Essa declaração se fez necessária em virtude da indisponibilidade da assinatura do professor supracitado no Sistema Eletrônico de Informações (SEI) da UFG.

Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro (UFG)

Presidente da Banca Examinadora

Documento assinado eletronicamente por **Wendell Karlos Tomazelli Coltro**, **Professor do Magistério Superior**, em 05/02/2024, às 12:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4360314** e o código CRC **A966E464**.

Referência: Processo nº 23070.001667/2024-87 SEI nº 4360314

“Sem pretender ser gênio, teimei em ser um grande paciente. As invenções são, sobretudo, o resultado de um trabalho teimoso, em que não deve haver lugar para o esmorecimento.”

Alberto Santos-Dumont

Dedicatória

A Deus e aos meus pais Sandra Araujo Silva e Manoel Ximendes Silva (*in memoriam*). Aos meus avós maternos Vanda e Francisco (*in memoriam*) e os paternos Abidias (*in memoriam*) e Luzia (*in memoriam*). A minha namorada Danielly e seus familiares. As minhas irmãs Adrihane, Kathiane e Sammarah. Aos meus sobrinhos Sammuel, Guilherme, Misael, Laura, Miguel e Caleb. Pelos ensinamentos, carinho, cuidado e amor. Eu venho encontrando em cada um de vocês, a motivação necessária para enfrentar as adversidades e continuar prospectando oportunidades.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pelas diferentes formas de benções recebidas em nossas vidas. Obrigado senhor também pela energia, paciência, sabedoria e o respeito ao próximo.

Aos meus pais, Sandra e Manoel que fizeram tanto por nossa família, ainda que o papai Manel tenha falecido quando éramos crianças. A dona Sandra seguiu em frente, batalhando incansavelmente para prover nosso sustento e educação. Obrigado ao vovô Paulino também, que por muitos anos foi a minha única figura paterna, agradeço pelos cuidados, carinho e conselhos.

As minhas irmãs Adrihane, Kathiane e Sammarah por cuidarem de mim, seus conselhos e orações foram fundamentais nesta trajetória. Assim como, a amizade e os puxões de orelha nos momentos de instabilidade.

A minha avó Vanda pelo carinho, amor, cuidado e conselhos inesquecíveis em momentos de alegria e de dificuldade.

Aos meus sobrinhos Sammuel, Guilherme, Misael, Laura, Miguel e Caleb pelo carinho e brincadeiras. Obrigado por serem crianças alegres e arteiras.

A minha namorada Danielly pelas orações, conselhos, incentivo, amizade, carinho e amor. Você me fez perceber que as adversidades são insignificantes quando se sonha junto. Assim como, o apoio e carinho de sua família, dona Sônia, seu Roldão e a cunhada Elysama.

Ao professor Wendell pelos incontáveis dias discutindo experimentos, escrita de artigos e projetos. Obrigado por sua orientação durante toda a minha trajetória na pós-graduação.

Aos amigos egressos do grupo de Ecotoxicologia e Química Ambiental, Gizelda, Natália, Emmanuel, Ariana, Frederico e Dênia pelos conselhos construtivos e passeios. Aos colegas, amigos, visitantes e egressos do GME. Obrigado pelas sugestões, colaborações em artigos e discussões durante experimentos no laboratório. Assim como, pelas brincadeiras e os momentos de lazer, os quais incluem churrascos, cinema, pescaria, jogos de futebol e basquete.

Aos professores Evandro Piccin e Paulo Barbeira por terem me orientado durante o período de intercâmbio acadêmico na Universidade Federal de Minas Gerais.

Aos professores que se dedicam a sua profissão e aos que contribuíram em minha educação, em especial, a professora Jandira por ajudar minha mãe durante a transferência escolar de Marabá para Goiânia, e ao professor Dr. Antônio Nonato que prospectou uma oportunidade de estágio no Laboratório de Qualidade do Leite da UFG.

As instituições de fomento FAPEG, CAPES, PETROBRAS e CNPq pelas bolsas de estudo durante a graduação e pós-graduação.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS i

LISTA DE TABELAS viii

LISTA DE ABREVIATURAS ix

RESUMO xiii

PREFÁCIO 1

1.1 INTRODUÇÃO 4

1.1.1 INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA PORTÁTIL 4

1.1.2 MÉTRICA AMBIENTAL DE MÉTODOS ANALÍTICOS 11

1.2 REFERÊNCIAS 16

2.1 INTRODUÇÃO 19

2.2 OBJETIVOS 24

2.2.1 Objetivo Geral 24

2.2.2 Objetivos específicos 24

2.3 SEÇÃO EXPERIMENTAL 25

2.3.1 Reagentes e materiais 25

2.3.2 Instrumentação 25

2.3.3 Fabricação do sensor eletroquímico e ativação 25

2.3.4 Experimentos eletroquímicos 26

2.3.5 Caracterizações 28

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 29

2.4.1 Fabricação e ativação do sensor 29

2.4.2 Caracterizações morfológica e estrutural 31

2.4.3 Estabilidade e reprodutibilidade do sensor 34

2.4.4 Desempenho analítico, aplicações e métrica ecológica 35

2.5 CONCLUSÃO 40

2.6 REFERÊNCIAS 41

3.1 INTRODUÇÃO 48

3.2 OBJETIVOS 51

3.2.1 Objetivo Geral 51

3.2.2 Objetivos específicos 51

3.3 SEÇÃO EXPERIMENTAL 52

3.3.1 Reagentes e materiais 52

3.3.2 Instrumentação 52

3.3.3 Impressão 3D, integração e ativação dos eletrodos 53

3.3.4 Experimentos eletroquímicos usando a célula BIA 55

3.3.5 Caracterização morfológica 56

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 56

3.4.1 Fabricação da plataforma analítica integrada com múltiplos eletrodos 56

3.4.2 Caracterização morfológica 58

3.4.3 Otimização das condições operacionais da célula BIA 59

3.4.4 Repetibilidade e reprodutibilidade dos eletrodos 63

3.4.5 Desempenho analítico, análise de adrenalina em urina e métrica verde 64

3.5 CONCLUSÕES 68

3.6 REFERÊNCIAS 68

4.1 INTRODUÇÃO 75

4.2 OBJETIVOS 77

4.2.1 Objetivo Geral 77

4.2.2 Objetivos específicos 77

4.3 SEÇÃO EXPERIMENTAL 78

4.3.1 Reagentes e materiais 78

4.3.2 Instrumentação 79

4.3.3 Coleta de resíduo termoplástico, tinta de carbono e fabricação do sensor 79

4.3.4 Modificação da superfície do sensor 81

4.3.5 Experimentos eletroquímicos 81

4.3.6 Detecção indireta de CysNO e análise comparativa 82

4.3.7 Caracterização 82

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 83

4.4.1 Fabricação do sensor em substrato de papel 83

4.4.2 Caracterização morfológica, estrutural e eletroquímica 84

4.4.3 Modificação do sensor e detecção de nitrito 87

4.4.4 Desempenho analítico, análises e metragem ambiental 89

4.5 CONCLUSÕES 92

4.6 REFERÊNCIAS 93

5.1 INTRODUÇÃO 100

5.2 OBJETIVOS 103

5.2.1 Objetivo Geral 103

5.2.2 Objetivos específicos 103

5.3 SEÇÃO EXPERIMENTAL 104

5.3.1 Reagentes e materiais 104

5.3.2 Instrumentação 104

5.3.3 Impressão 3D e ativação dos eletrodos 105

5.3.4 Experimentos eletroquímicos 106

5.3.5 Amostra de suco 107

5.3.6 Determinação de ácido fólico e estudo comparativo 108

5.3.7 Monitoramento da fotoestabilidade 108

5.3.8 Caracterização morfológica e impacto ambiental 109

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 110

5.4.1 Aspectos morfológico e eletroquímico do sensor 110

5.4.2 Comportamento redox do ácido fólico 112

5.4.3 Desempenho analítico 115

5.4.4 Reprodutibilidade, repetibilidade e seletividade 117

5.4.5 Análise de ácido fólico em suco e impacto ambiental 119

5.4.6 Estudo de fotodegradação em amostra de suco comercial 124

5.5 CONCLUSÕES 126

5.6 REFERÊNCIAS 127

6.1 CONCLUSÕES PARCIAIS 132

6.2 PRÓXIMAS ETAPAS 135

7 SÚMULA CURRICULAR 137

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática ilustrando os princípios da química verde e da economia circular em todo o ciclo de vida de um denominado produto.

Figura 2. Representação esquemática de uma célula eletroquímica miniaturizada, a qual contém eletrodos de trabalho (ET), referência (ER) e auxiliar (EA).

Figura 3. Levantamento bibliográfico na plataforma *Web of Science* usando as palavras-chave: (A) *electrochemical paper-based analytical devices*; (B) *3D-printed electrodes*. O período de busca utilizado foi de 2018 – 2023.

Figura 4. (A) Representação do pictograma colorido que pode ser obtido no *software* AGREE. (B) Levantamento bibliográfico na plataforma *Web of Science* usando a palavra-chave: *AGREE metric*. O período de busca utilizado foi de 2020 – 2023.

Figura 5. Representação esquemática ilustrando os principais exemplos de técnicas de impressão 3D aditiva.

Figura 6. (A) *Layouts* 1 e 2 do sensor eletroquímico; (B) Impressora 3D durante a fabricação de eletrodos. Eletrodo de referência (ER), eletrodo de trabalho (ET) e eletrodo auxiliar (EA).

Figura 7. Voltamograma cíclico registrado na presença de $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ 1,0 mmol L^{-1} preparado em KCl 0,1 mol L^{-1} usando eletrodo sem pré-tratamento, tratado via abordagem eletroquímica (EC), processo de Fenton e ativação eletroquímica/Fenton. Os resultados apresentados em (B) mostram o efeito dos processos de pré-tratamento nos sinais obtidos de i_p e ΔE_p

Figura 8. Imagem obtida de MEV para eletrodos impressos em 3D (A) antes e (B) após o pré-tratamento eletroquímico/Fenton.

Figura 9. (A) Espectros Raman registrados antes e depois do pré-tratamento; (B) diagramas de Nyquist registrados usando eletrodo tratado e SPCE comercial.

Figura 10. VCs registrados na ausência e presença de PAR 1,0 mmol L^{-1} preparados em KCl 0,1 mol L^{-1} usando sensor impresso em 3D. (A) respostas eletroquímicas do estudo de estabilidade usando sensor não ativado; (B) medidas eletroquímicas para o estudo de estabilidade usando sensor ativado

Figura 11. Respostas alcançadas de SWASV em diferenças concentrações de Cd e Pb e as curvas analíticas (A-B). Tempo de acumulação de 150 s aplicando uma diferença de potencial de -1,4 V *vs* Ag.

Figura 12. Resultados obtidos de SWV para as detecções de midazolam (A-B) e ácido úrico (C-D) e as respectivas curvas analíticas. Todos os experimentos foram realizados utilizando eletrodos impressos em 3D.

Figura 13. Pictograma obtido na ferramenta AGREE associado com as análises de metais (A), midazolam (B) e ácido úrico (C). Os números informados entre 1 e 12 correspondem aos 12 princípios da química analítica verde.

Figura 14. Esquema ilustrativo demostrando a montagem da célula BIA impressa em 3D com eletrodos integrados. (A) (I) adaptador para micropipeta, (II) tampa superior, (III) corpo da célula, (IV) anel impresso flexível, (V) corpo da célula com múltiplos eletrodos integrados; (B) vista superior da célula impressa em 3D e mecanismo para selecionar os eletrodos com base no alinhamento entre as partes (i) e (ii).

Figura 15. Representação esquemática do método de polimento. (A) folha de lixa impregnada em objeto impresso; (B) polimento das superfícies dos eletrodos com base na rotação no sentido horário; (C) superfície impressa após o método de polimento.

Figura 16. *Layouts* da célula BIA. (A) Segmentos 1 e 2 antes da combinação no *software* de modelagem; (B) segmento celular do corpo combinado com múltiplos eletrodos; (C) dimensões dos segmentos impressos em 3D; (D) Três momentos diferentes (i, ii e iii) demostrando o fatiamento da fabricação do segmento central da célula BIA (*Layouts* 1 e 2).

Figura 17. Representação esquemática da plataforma analítica em perspectiva transversal e as imagens obtidas de MEV. (A) Visão frontal do ET; (B) apresentação da deposição das camadas do ET integrado na parede da célula BIA (corte transversal); (C) superfície do ET após ser submetido a etapa de ativação; (D) interface entre as estruturas do PLA e PLA-flexível (flex); (E) superfície do ER após deposição da tinta de Ag.

Figura 18. VCs obtidos na ausência e presença de $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ 1 mmol L^{-1} preparado em KCl 0,1 mol L^{-1} usando eletrodo impresso em 3D não ativado e ativado a 50 mV s^{-1}.

Figura 19. Otimização das condições operacionais da célula BIA. Amperogramas registrados para $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ 1 mmol L^{-1} (A) sem e (B) com agitação (80 rpm). Efeito da (C) velocidade de injeção e (D) volume de injeção na corrente de pico do mediador redox. Em (A-B), os dados foram registrados usando uma velocidade de injeção de 9,0 µL s^{-1} e volume de injeção de 2,0 µL. Em (C) e (D), o volume de injeção e a velocidade de injeção foram de 2,0 µL e 9,0 µL s^{-1}, respectivamente. Eletrólito suporte: solução 0,1 mol L^{-1} de KCl. Todos os experimentos foram registrados aplicando 0,25 V *vs* CB/PLA.

Figura 20. Apresentação do desempenho eletroquímico em termos de repetibilidade e reprodutibilidade para ADR usando eletrodos impressos em 3D. (A) Amperogramas obtidos demonstrando a detecção de ADR em oito eletrodos diferente e (B) valores obtidos de corrente de pico associados a oxidação da ADR

Figura 21. Amperograma demonstrando a resposta registrada para ADR em diferentes concentrações usando o sistema BIA-DA e (B) curva analítica exibindo a faixa de concentração linear para ADR. Figura S9. (C) Respostas amperométricas obtidas para análise de ADR em amostra artificial de urina (n=3).

Figura 22. Resultado obtido da análise AGREE. (1) tratamento de amostra, (2) quantidade de amostra, (3) posicionamento do dispositivo, (4) etapas de preparação da amostra, (5) automação-miniaturização, (6) derivatização, (7) resíduos, (8) rendimento da análise, (9) consumo de energia, (10) fonte de reagentes, (11) toxicidade, (12) segurança do operador.

Figura 23. Representação esquemática demonstrando a fabricação do eletrodo. Coleta de resíduo de ABS e preparação de tinta à base de carbono (A); (i) Ilustração 3D de estruturas de grafite (ii) estireno, (iii) butadieno e (iv) acrilonitrila. Preparação do sensor (B); (i) O processo de pintura manual do eletrodo de referência com tinta Ag e barreira hidrofóbica com esmalte de unha.

Figura 24. Resultados de MEV usando um corte transversal na tinta de grafite(A), interface entre o substrato e a tinta à base de carbono (B), interface entre as superfícies do eletrodo não ativado (C) e ativado (D) espectros Raman do material condutor otimizado (E).

Figura 25. Resultados de VCs obtidos em diferentes velocidades de varredura (A) e respectivos gráficos de corrente de pico versus raiz quadrada da velocidade de varredura (B), as barras de erro estão associadas ao desvio padrão de três experimentos diferentes. Análise de reprodutibilidade (C) e repetibilidade (D).

Figura 26. Comportamento eletroquímico do nitrito antes e depois da modificação da superfície usando PES (A) e sensor impresso em 3D (B).

Figura 27. Influência de diferentes velocidades de varredura no sinal de corrente de pico da oxidação do nitrito (A) e plotagem da intensidade da corrente de pico *vs* velocidade de varredura (B) usando o eletrodo. As barras de erro estão associadas ao desvio padrão de três experimentos.

Figura 28. Cronoamperogramas registrados na ausência e presença de diferentes concentrações de CySNO (A). Respostas analíticas variando as concentrações de 10 a 125 µmol L^{-1} (B). As barras de erro estão associadas ao desvio padrão de três experimentos diferentes.

Figura 29. Análise AGREE para o uso do espectrofotômetro (A) e PES (B). (1) tratamento de amostra, (2) quantidade de amostra, (3) posicionamento do dispositivo, (4) etapas de preparação da amostra, (5) automação-miniaturização, (6) derivatização, (7) resíduos, (8) rendimento da análise, (9) consumo de energia, (10) fonte de reagentes, (11) toxicidade, (12) segurança do operador.

Figura 30. (A) Os dois *Layouts* construídos utilizando o *software* de modelagem. (B) Imagem obtida no *software* de fatiamento durante a criação do arquivo GCODE. (C) Imagem do dispositivo fabricado pronto para uso. Eletrodos de referência (ER), auxiliar (EA) e de trabalho (ET).

Figura 31. Representação esquemática das amostras de bebidas que foram submetidas a uma etapa de preparo de amostra e diluição em solução de PBS (i) visando a detecção eletroquímica de AF. #1 e #2 são amostras de suco de maça; #3 e #4 são amostras de suco de laranja e água de coco, respectivamente.

Figura 32. Resultados obtidos de MEV para eletrodo impresso em 3D. (A) vista superior do eletrodo de trabalho (ET) após ampliação de 30 vezes. (B) Superfície do ET após uma ampliação de 1500x, (C) após ampliação de 30.000x e (D) após ampliação de 150.000x.

Figura 33. (A) Representação esquemática da ordem utilizada no experimental de VC. (B) Resultado obtido de VC na ausência e presença de azul de metileno 1,0 mmol L^{-1} preparado em KCl 0,1 mol L^{-1} (i). (C) 1,0 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ preparado em KCl 0,1 mol L^{-1} (ii). (D) 1,0 mmol L^{-1} de nitrofenol preparado em KCl 0,1 mol L^{-1} (iii). Todos os experimentos eletroquímicos foram realizados aplicando uma diferença de potencial *vs* CB/PLA.

Figura 34. (A) Resultados obtidos de VC na ausência e presença de AF 1 mmol L^{-1}. (B) Respostas alcançadas de VC utilizando AF 1 mmol L^{-1} preparado em diferentes eletrólitos suporte. (C) Respostas obtidas de VC para AF utilizando diferentes velocidades de varredura. (D) Sinais obtidos de corrente de pico *vs* raiz quadrada da velocidade de varredura.

Figura 35. (A) Resultados obtidos para experimento de amperometria na presença de três níveis diferentes de AF. (B) Curva obtida envolvendo a inclinação *vs* diferentes concentrações de AF. As barras de erro são associadas ao valor de DP de três experimentos diferentes.

Figura 36. (A) Resultados obtidos de SWV na ausência e presença de diferentes concentrações de AF. (B) Respostas analíticas correspondentes ao gradiente de concentração utilizado. (C) Resultados espectrofotométricos obtidos na ausência e presença de diferentes níveis de AF e (D) curva analítica alcançada utilizando diferentes concentrações de AF. Uma variação de concentração entre 10 e 100 µmol L^{-1} foram utilizadas em ambos os experimentos.

Figura 37. (A) Resultados obtidos de repetibilidade para detecção de AF utilizando eletrodo impresso em 3D. (B) Sinal de corrente de pico de AF empregando cinco eletrodos diferentes. (C) Estudo de interferência do método proposto na presença de cinco

potenciais interferentes distintos, (i) glicose, (ii) ácido tartárico, (iii) nitrato, (iv) ácido ascórbico e (v) ácido cítrico.

Figura 38. Representação esquemática em 3D da molécula de AF e da possível clivagem entre a ligação C – N devido a presença de radiação UV, a qual foi investigada utilizando experimentos eletroquímicos.

Figura 39. Respostas eletroquímicas obtidas para o estudo de adição e recuperação empregando amostra #4 (água de coco).

Figura 40. Perfil AGREE obtido para o método proposto (A) e análise comparativa (B), os quais envolvem a detecção de AF em amostras de sucos. (1) tratamento da amostra, (2) quantidade da amostra, (3) posicionamento do dispositivo, (4) etapas de preparação da amostra, (5) miniaturização automatizada, (6) derivatização, (7) desperdício, (8) rendimento da análise, (9)) consumo de energia, (10) fonte de reagentes, (11) toxicidade, (12) segurança do operador.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Detecção eletroquímica de metais potencialmente tóxicos, midazolam e ácido úrico no MP, bebidas e fluidos biológicos, respectivamente (n = 3).

Tabela 2. Características da plataforma analítica proposta em comparação com os dados de outros métodos eletroquímicos usados para a detecção de ADR.

Tabela 3. Experimento de recuperação envolvendo amostras de soro dopadas com CysNO em diferentes concentrações com o microdispositivo de papel e o método Griess (n = 3).

Tabela 4. Respostas obtidas envolvendo a otimização do método SWV visando detecção de ácido fólico.

Tabela 5. Resumida comparação dos aspectos analíticos em termos de eletrodos, método e limite de detecção para ácido fólico.

Tabela 6. Resultados obtidos de concentração de AF para quatro bebidas comerciais diferentes utilizando abordagem SWV e método espectrofotométrico UV-Vis (n = 3).

Tabela 7. Desempenho obtido para os métodos analíticos desenvolvidos no projeto de doutorado usando eletrodos de carbono, bem como, a metragem verde.

LISTA DE ABREVIATURAS

3D - Tridimensional

3DPE – Dispositivo Eletroquímico Impresso em 3D

AA - Ácido Ascórbico

ABS – Acrilonitrila, Butadieno, Estireno

ADR – Adrenalina

AF – Ácido Fólico

Ag – Prata

AGREE – Metragem Verde de Método Analítico

ASSURED – Acessível, Sensível, Específico, Fáceis de usar, Rápidos, Robustos, Sem Equipamentos e Entregues aos Usuários Finais

BIA – Análise por Injeção em Batelada

CB – Partículas de Negro de Fumo

Cd – Cádmio

Cu – Cobre

CysNO – S-nitroso-cisteína

DA – Detecção Amperométrica

D_{AF} - Coeficiente de Difusão do Ácido Fólico

DMF – Dimetilformamida

DPR – Desvio Padrão Relativo

DPV – Voltametria de Pulso Diferencial

EA – Eletrodo Auxiliar

EC – Abordagem Eletroquímica

EC - Eletroforese capilar

EIE – Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

ELISA - Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

PES – Dispositivo Eletroquímico de Papel

ER – Eletrodo de Referência

ET – Eletrodo de Trabalho

FA – Frequência Analítica

FDM – Modelagem de Deposição por Fusão

Fe – Ferro

FIA – Análise por Injeção em Fluxo

Flex – Flexível

FPT - *6-formylptrtin*

GAC - Química Analítica Verde

GOx – Glicose Oxidase

HPLC-MS - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada com Espectrômetro de Massas

ICP-MS - Espectrômetro de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado

ICP-OES - Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente

Ip – Corrente de Pico

LD – Limite de Detecção

LED - Diodo Emissor de Luz

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MP – Material Particulado Atmosférico

NED – N(1-naftil)etilenodiamina

NO – Óxido de Nitrogênio

NTC – Nanotubo de Carbono

OG – Oxido de Grafeno

OMS - Organização Mundial da Saúde

PAR – Paracetamol

Pb – Chumbo

PBS - Tampão Fosfato Salino

PES – Sensor Eletroquímico de Papel

PET – Tereftalato de Polietileno

PGA - p-aminobenzoil-L-glutâmico

PLA – Ácido Polilático

POA – Processo Oxidativo Avançado

POCT – Adequado para Uso no Local de Atendimento

RPM – Rotações por Minuto

RSNO – S-nitrosotióis

SPCE – Eletrodo de Carbono Serigrafado

STL – Estereolitografia

SWASV – Voltametria de Redissolução Anódica

SWV – Voltametria de Onda Quadrada

USD - Moeda dos Estados Unidos

UV – Radiação Ultravioleta

VC – Voltametria Cíclica

WAC - Química Analítica Branca

ΔEp – Separação entre os Potenciais de Pico

RESUMO

As tecnologias de manufatura aditiva surgiram como ferramentas poderosas para o desenvolvimento de instrumentação analítica portátil incluindo sensores eletroquímicos. Antes de utilizar os dispositivos manufaturados, métodos de pré-tratamento são frequentemente necessários para melhorar o desempenho catalítico. Além disso, a impressão aditiva faz uso de polímeros termoplásticos que podem ser prejudiciais ao meio ambiente. Neste projeto de doutorado, desenvolvemos cinco estratégias diferentes para construir sensores eletroquímicos, utilizando a tecnologia de impressão aditiva, e tivemos o cuidado em reciclar materiais termoplásticos com a finalidade de fabricar eletrodos de papel, visando adequação aos conceitos de economia circular. O impacto ambiental dos métodos desenvolvidos também foi investigado. Uma ativação foi proposta mediante o uso de reagentes de Fenton, H_2O_2 (15%, v/v) e Fe (10 mg L^{-1}) na presença de radiação ultravioleta (5 minutos), seguido de uma oxidação eletroquímica na presença de ácido acético (1,8 V *vs* C por 200 s). O método de ativação utiliza reagentes de baixa toxicidade e apresentou considerável melhora no desempenho eletroquímico com estabilidade a longo prazo (~ 2 meses). Os diferentes métodos analíticos desenvolvidos apresentaram baixos valores de limites de detecção (em níveis de µmol L^{-1}) para diferentes analitos, incluindo metais como Cd(II) (0,009; 1,01 µg L^{-1}) e Pb(II) (0,006; 1,24 µg L^{-1}), maleato de midazolam (0,54), ácido úrico (0,71), adrenalina (0,61), S-nitrosocisteína (4,1) e ácido fólico (5,1). As metodologias descritas apresentaram excelente desempenho ecológico segundo os 12 princípios da Química Analítica Verde.

Palavras-chaves: Extrusão de materiais, sensores de carbono, materiais reciclados, economia circular, análises eletroquímicas, bioanálises.

ABSTRACT

Additive printing technologies have emerged as powerful tools for the development of portable analytical instrumentation including electrochemical sensors. Before using the device, pre-treatment methods are required to improve the electrochemical performance. Additionally, the additive printing method used thermoplastic polymers that can be harmful to the environment compartments. In this report, we successfully developed five different strategies to manufacture 3D-printed electrodes and have also introduced an initiative for recycling thermoplastic materials in order to create electrodes on paper substrate, contributing to the circular economy. The ecological impact of each proposed method was evaluated also. An activation process was performed by using Fenton's reagents, H_2O_2 (15%, v/v) and Fe (10 mg L^{-1}) in the presence of ultraviolet radiation (5 min), followed by an electrochemical oxidation step in the presence of acetic acid (1.8 V vs C for 200 s). The proposed activation method has used non-toxic reagents and showed excellent improvement in the electrochemical responses with long-term stability (~ 2 months). The manufactured 3D-printed electrodes have exhibited suitable values of limit of detection (at µmol L^{-1} levels) for different analytes, including metals such as Cd(II) (0.009; 1.01 µg L^{-1}) and Pb(II) (0.006; 1.24 µg L^{-1}), midazolam maleate (0.54) , uric acid (0.71), adrenaline (0.61), S-nitroso-cysteine (4.1) and folic acid (5.1). In addition, the analytical methodologies described here also demonstrated an excellent ecological profile according to the 12 principles of Green Analytical Chemistry.

Keywords: Material extrusion, carbon-based sensors, recycled materials, circular economy, electrochemical analysis, bioanalyses.

PREFÁCIO

Este prefácio foi cuidadosamente projetado na tentativa de organizar a apresentação dos resultados obtidos na tese de doutorado. O projeto desenvolvido utiliza desde *softwares* de modelagem tridimensional (3D), *softwares* de fatiamento 3D, impressão de objetos 3D, até a reciclagem de resíduos impressos em 3D para o desenvolvimento de sensores analíticos. O impacto ambiental de cada metodologia analítica também foi investigado. A monografia referente a tese está dividida em seis capítulos, conforme apresentado a seguir:

Capítulo 1, **Instrumentação analítica portátil e métrica ambiental**; apresenta uma breve introdução da área de Instrumentação Analítica portátil associada aos sensores miniaturizados, bem como o impacto ambiental do uso dessas ferramentas analíticas.

Capítulo 2, **Impressão 3D de célula eletroquímica e rápida ativação para uso em eletroanalítica**; exibe o desenvolvimento do projeto e impressão 3D de um sensor com tempo de fabricação de 6 minutos (por sensor) e apresenta uma etapa adicional para ativação dos eletrodos com o intuito de melhorar o desempenho eletroquímico.

Capítulo 3, **Impressão 3D de célula BIA integrada com múltiplos eletrodos de negro de fumo**; mostra o projeto 3D e a fabricação de uma plataforma analítica totalmente integrada com oito sensores diferentes.

Capítulo 4, **Reciclagem de resíduos impressos em 3D para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos em papel**; expõe uma possibilidade de reciclar os resíduos de impressão 3D com a finalidade de construir sensores eletroquímicos em substrato de papel.

Capítulo 5, **Impressão 3D de sensor eletroquímico para monitoramento de ácido fólico em amostra de suco**; apresenta um protocolo de fabricação de eletrodos

utilizando outro modelo de impressora 3D para monitorar o impacto da radiação UV na estabilidade do ácido fólico em amostras de sucos.

Capítulo 6, **Conclusões parciais e Próximas etapas**; exibe um compilado dos principais achados da tese de doutorado, bem como, as perspectivas associadas ao uso da microfabricação aditiva circular para o desenvolvimento de aparatos analíticos com potencialidade para serem sustentáveis.

CAPÍTULO 1

INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA PORTÁTIL E MÉTRICA AMBIENTAL

RESUMO

Este capítulo descreve, uma breve contextualização da área de instrumentação analítica portátil, incluindo células eletroquímicas construídas em substrato de papel e eletrodos impressos em 3D. Aspectos importantes como arrecadação global anual envolvendo a instrumentação química e os prováveis motivos que deram origem ao desenvolvimento da química analítica verde também são apresentados. Embora os sensores eletroquímicos miniaturizados sejam extremamente promissores devido a simplicidade instrumental, baixo consumo de amostra, mínimo tempo de análise e portabilidade. O impacto ecológico do uso dessas ferramentas analíticas ainda é pouco explorado. Desta maneira, este capítulo demonstra também que é possível aferir o quão ambientalmente amigável é uma metodologia analítica usando *softwares* disponíveis sem nenhum custo, tais como o AGREE. Essa abordagem emprega os 12 princípios da química analítica verde e o diagnóstico obtido é denominado como "metragem verde do método analítico". Os valores alcançados usando essa ferramenta podem variar de 0 – 1,0, sendo os melhores desempenhos ecológicos para os métodos com resultados próximos de 1.

1.1 INTRODUÇÃO

Os sistemas analíticos descartáveis podem ser fabricados através de diferentes estratégias, incluindo a serigrafia, desenho a lápis, gravação a laser, e mais recentemente, empregando o método de manufatura aditiva. Essas distintas opções de processos de fabricação de sensores analíticos apresentam algumas características em comum, incluindo a versatilidade, mínimo consumo de recursos, energia e os aparatos analítico podem ser construídos sem a necessidade do uso de sala limpa. E o mais importante, não empregam solventes potencialmente tóxicos, em alguns casos. Os métodos supramencionados podem ser classificados como manuais para os casos de desenho a lápis, semiautomáticos para serigrafia, e automáticos para as abordagens de gravação a laser e impressão 3D. Os subtópicos a seguir apresentam mais informações associadas ao impacto comercial e ecológico da instrumentação analítica portátil. [1-5]

1.1.1 INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA PORTÁTIL

O mercado global envolvendo a instrumentação analítica está avaliado em ~ USD 53,42 bilhões, e espera-se que o comércio desta área aumente a uma taxa de crescimento anual de ~3,53% até 2030.[1] Os principais setores que estão contribuindo para alavancar o mercado mencionado acima são: separação, purificação, identificação e quantificação de compostos orgânicos, inorgânicas e artificiais. Além disso, a fabricação, venda e distribuição de ferramentas e equipamentos para laboratório, como reagentes, vidrarias, cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com espectrômetro de massas (HPLC-MS), espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES),

espectrofotômetro UV-Vis, leitor de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), detectores colorimétricos e eletroquímicos. [2–5]

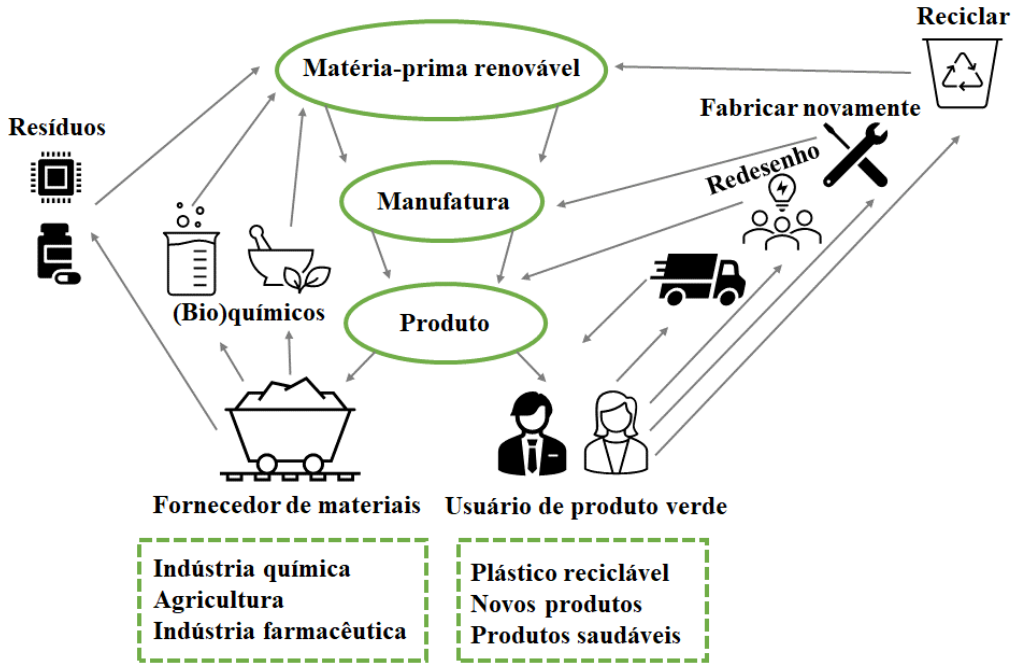
Outro ponto importante a ser mencionado é que as ferramentas analíticas e os métodos de testagem também precisam ser sustentáveis em termos de materiais e consumo de energia. O conceito de química sustentável, também denominada de química verde, começou a ser discutido na década 90, visando almejar a implementação de estratégias para prevenção de riscos associados a produtos químicos, redução do impacto ambiental e aumento de benefícios econômicos. [6] Inicialmente, o conceito mencionado acima começou a ser lapidado por cientistas, que estavam envolvidos em processos industriais voltados para a fabricação de produtos químicos. Nessas mesmas indústrias, diversos produtos foram desenvolvidos com sucesso, intensificando a qualidade de vida da população. Exemplos de produtos incluem medicamentos, polímeros sintéticos, alimentos e embalagem para conservação de alimentos. [6] Entretanto, ao mesmo tempo que os benefícios aumentavam, a produção de resíduos, risco de dispersão e poluição também ameaça o meio ambiente. [6]

Nesta perspectiva, diversas iniciativas foram então discutidas em convenções internacionais, visando a consolidação da química sustentável, as quais incluem (i) a declaração de Dubai sobre a necessidade de uma boa gestão de produtos químicos; (ii) convenção Basileia para o controle transfronteiriço de resíduos perigosos e sua eliminação; (iii) convenção de Estocolmo para a restrição de poluentes orgânicos persistentes; (iv) declaração do Rio sobre ambiente, desenvolvimento da qualidade ambiental e o esgotamento dos recursos naturais; (v) convenção de Roterdão sobre responsabilidades na importação de produtos químicos potencialmente tóxicos; e (vi) sistema globalmente harmonizado de classificação e rotulagem de produtos químicos ou produtos químicos potencialmente tóxicos. [6,7] Recentemente, o tratado de Paris (2016)

foi assinado por diversos líderes de países desenvolvidos e em desenvolvimento, objetivando mitigar as emissões de gases do efeito estufa. [6,7]

Outra estratégia que vem sendo implementada é a economia circular, também denominada de economia linear, a qual tem como principal função, a manutenção de um balanço entre crescimento econômico, eficiência energética e conservação ambiental.[8] Na prática, dentro de uma cadeia de produção, a proposta é ter mínima geração de resíduos. O termo circular vai de encontro também em reduzir ao máximo, o efeito do material produzido em um ambiente, restaurando boa parte do dano causado na aquisição de um determinado produto industrial.[8] Na Figura 1 é possível observar um compilado dos conceitos de economia circular e química verde.

Figura 1. Representação esquemática ilustrando os princípios da química verde e da economia circular em todo o ciclo de vida de um denominado produto.



Fonte: autoria própria.

Algumas iniciativas interessantes em termos de sustentabilidade vem sendo desempenhas também dentro da área de Instrumentação Analítica. [9-11] Tais esforços incluem o desenvolvimento de análise por injeção em fluxo, microssistemas de análises totais e sistema de microextração (em fase solida e líquida), por exemplo. [10-11] O emprego das estratégias mencionadas acima vem reduzindo drasticamente o consumo de amostras, reagentes, energia e tempo de análise. Além disso, o uso combinado de amostragem, preparo de amostras e ferramentas analíticas miniaturizadas também vem proporcionando a redução das quantidades de resíduos. [9]

As tendências supracitadas acima contribuíram para o surgimento do conceito da Química Analítica Verde (do inglês *Green Analytical Chemistry*, GAC), e essa abordagem tem forte correlação com o acentuado crescimento comercial e popular da Instrumentação Analítica. [12-14] Atualmente, o conceito GAC possui 12 princípios importantes que estão interconectados com aspectos ecológicos, segurança do analista, até o uso de métodos analíticos. [9,15] Há também a utilização do termo *White Analytical Chemistry* (WAC) que tem sido empregado como uma extensão do GAC. [9] WAC faz uso de três importantes conceitos, os quais podem ser representados por cores. Aspectos associados a eficiência analítica, recebe a cor vermelha. O segundo aspecto, a segurança ambiental, é representada pela cor verde. A última cor é a azul, a qual está associada com aspectos econômicos. A cor resultante da mistura dessas três cores (vermelho, verde e azul) é a branca (do inglês *White*), a qual representa o equilíbrio entre metodologia analítica e aplicação. [9]

Com o intuito de tornar possível a metragem ambiental de um método analítico, alguns estudos reportados na literatura fazem uso de modelos específicos de *softwares* (por exemplo, NEMI, Analytical Eco-Scale, GAPI, Hexagon e AGREE). [15-16] Esses exemplos de ferramentas fazem uso das principais preocupações da GAC com o objetivo

de medir o quão ecológico é uma plataforma analítica e os métodos de testagem, e as informações obtidas podem ser representadas como uma pontuação ecológica usando pictogramas coloridos, em alguns casos (mais informações são apresentadas na secção 1.2).

A partir dessa perspectiva mencionada acima, exemplos de plataformas analíticas que podem ser utilizadas são os sensores alternativos fabricados em escala micro, tais como células eletroquímicas impressas em 3D e sensores baseados em papel, por exemplo. Esses dispositivos apresentam potencialidade para serem ferramentas analíticas ambientalmente amigáveis. [17–19] Acredita-se que a popularização do uso de *softwares* específicos desenvolvidos para calcular a metragem verde de um método analítico pode ser uma rota interessante para a área de sensores analíticos.

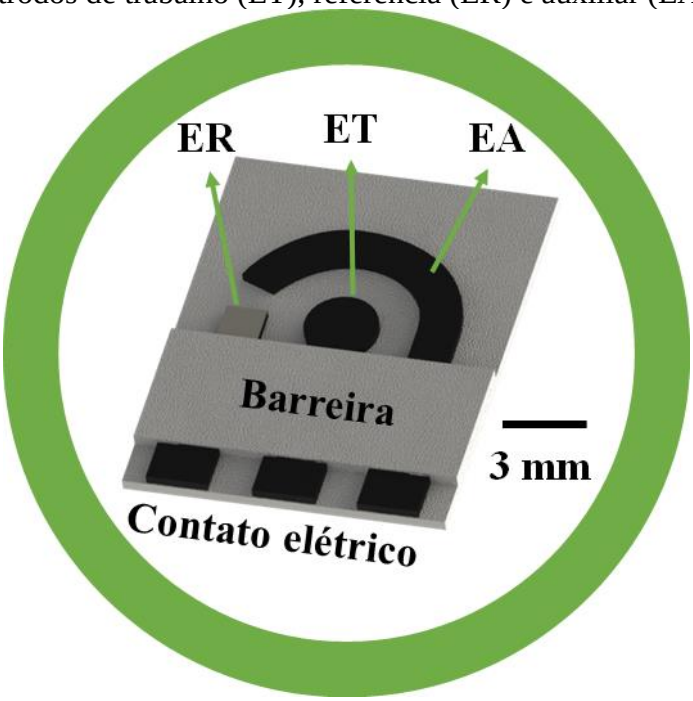
Um fato importante para destacar é que esses dispositivos podem ser associados com outras duas tendências analíticas importantes, o critério ASSURED (acessíveis, sensíveis, específicos, fáceis de usar, rápidos, robustos, sem equipamento e entregues aos usuários finais) e adequação para uso diretamente no local de atendimento (do inglês *point-of-care testing*, POCT). [20,22] O protagonismo dos sensores pode ser explicado devido à sua associação com detectores analíticos portáteis, incluindo detecção colorimétrica usando apenas a percepção visual do analista, bem como os detectores colorimétricos e eletroquímicos. [22-23] Caso seja necessário obter informações analíticas com acentuada seletividade e sensibilidade, os modelos de detectores eletroquímicos são preferíveis, e esses dispositivos são nomeados como sensores eletroquímicos baseados em papel (do inglês *electrochemical paper-based analytical devices*, ePADs) ou (do inglês *paper-based electrochemical sensor*, PES). Outra opção são os eletrodos de manufatura aditiva, também denominado como eletrodos impressos em 3D (do inglês *3D-printed electrodes*, 3DPE). [18-20]

Tradicionalmente, as células eletroquímicas miniaturizadas mais usuais vêm sendo construídas empregando três eletrodos diferentes com os respectivos conectores elétricos, os quais são separados por uma barreira hidrofóbica. Os eletrodos são denominados como eletrodo de referência (ER), trabalho (ET) e auxiliar (EA). Dentre os eletrodos destacados acima, o ET e ER são os que mais necessitam de atenção especial, pois são responsáveis por catalisar as reações desejadas e assegurar a estabilidade das respostas obtidas, respectivamente. Evidentemente que o EA também tem sua parcela de contribuição no princípio de trabalho da célula eletroquímica, tal componente vem sendo fundamental no processo de escoamento do fluxo de elétrons, proveniente das reações eletroquímicas, a qual pode ser coletada por um potenciostato portátil. [23-25] Os alótropos de carbono são os materiais mais utilizados para construir eletrodos dessa natureza, os quais incluem grafite, negro de fumo, grafeno e nanotubos. Para assegurar melhores desempenhos em termos de estabilidade das respostas analíticas, o ER pode ser incorporado com tinta de Ag ou até mesmo com misturas entre Ag e AgCl. É importante destacar que os eletrodos indicados acima apresentam limitada estabilidade físico-química e por esse motivo são considerados descartáveis. [23-25]

O material empregado como barreira hidrofóbica também precisa ser quimicamente estável, ao menos para os solventes/soluções aquosa empregado nas aplicações desejadas. Exemplos de materiais hidrofóbicos incluem, por exemplo, fita adesiva, cola epóxi, filamentos termoplásticos, verniz vitral e esmalte de unha. [20,24,25] Caso o material hidrofóbico não apresente tal característica, a região de interesse da célula eletroquímica poderá ser comprometida, resultando em baixa reprodutibilidade do sensor ou até mesmo, em casos mais extremos, a formação de curto-circuito, prejudicando a qualidade do sinal analítico da célula eletroquímica.

O contato elétrico tem sua parcela de contribuição no desempenho do sensor, o qual pode ser composto pelo mesmo material dos eletrodos, ou por outros condutores elétricos de baixo custo, tais como o cobre. É importante destacar que, para casos de contatos elétricos à base de carbono, quanto menor o comprimento do contato, melhor o desempenho do sensor. Esse comportamento pode estar associado a resistência elétrica, que é diretamente proporcional ao comprimento do material. [26] Na Figura 2 é apresentado um modelo usual de célula eletroquímica miniaturizada.

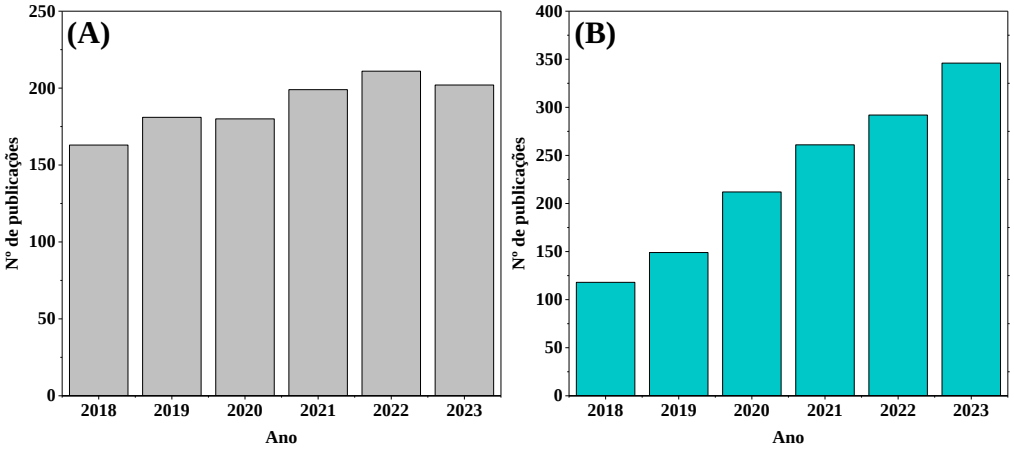
Figura 2. Representação esquemática de uma célula eletroquímica miniaturizada, a qual contém eletrodos de trabalho (ET), referência (ER) e auxiliar (EA).



Fonte: autoria própria.

Um marco histórico do ponto de vista do quantitativo de publicações associadas aos setores informados acima é apresentado na Figura. 3. Por meio dessa busca na literatura é possível observar uma tendência crescente nas publicações em ambas as áreas investigadas da instrumentação analítica portátil.

Figura 3. Levantamento bibliográfico na plataforma *Web of Science* usando as palavras-chave: (A) *electrochemical paper-based analytical devices*; (B) *3D-printed electrodes*. O período de busca utilizado foi de 2018 – 2023.



Fonte: Autoria própria.

Os sensores portáteis também podem ser modificados com distintas classes de estruturas, como enzimas, antígenos, aptâmeros com a finalidade de construir (bio) sensores com acentuado ganho de seletividade analítica. [27-29] Exemplos de aplicações envolvendo o uso de PES e 3DPE incluem forense, farmacêutica, alimentos, ambiental e clínica. [27-31]

Entretanto, a literatura tem apresentado poucas informações demonstrando o quanto esses eletrodos alternativos são ambientalmente amigáveis quando empregados para aplicações de sensoriamento.

1.1.2 MÉTRICA AMBIENTAL DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Nos últimos anos, algumas abordagens matemáticas foram introduzidas com base nas informações da GAC, e as ferramentas desenvolvidas têm como objetivo inferir o

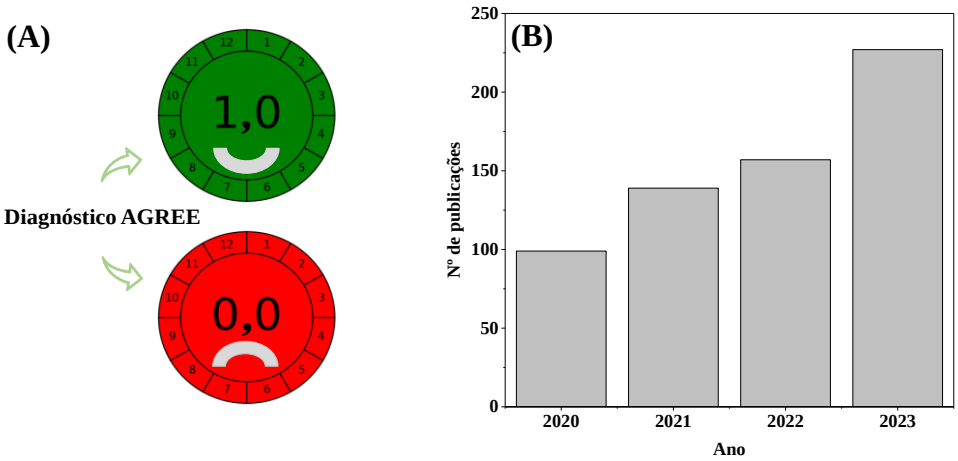
quão ecológico é um procedimento analítico. [9] Os 12 princípios da GAC são apresentados abaixo: (1) técnicas analíticas diretas devem ser aplicadas para evitar o tratamento da amostra; (2) mínima quantidade de amostra; (3) medições *in-situ* devem ser realizadas; (4) integração de processos e operações analíticas economiza energia e reduz o uso de reagentes; (5) métodos automatizados e miniaturizados devem ser selecionados; (6) a derivatização deve ser evitada; (7) a geração de um grande volume de resíduos deve ser evitada e o gerenciamento adequado de resíduos analíticos deve ser fornecido; (8) métodos com detecções simultâneas são preferíveis versus métodos que fornecem uma detecção por vez; (9) o uso de energia deve ser minimizado; (10) reagentes obtidos de fonte renovável devem ser preferidos; (11) os reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos e (12) a segurança do operador deve ser aumentada. [6]

Para tornar uma análise ecológica mais representativa, a pontuação métrica postulada precisa ser interconectada com as tendências da GAC, no entanto, o processo para converter todos os 12 princípios em um perfil ecológico não é tão trivial devido a parâmetros multivariados e complexos. [9] É importante ressaltar que a utilização dessa calculadora métrica ainda é desconhecida, ou pouco explorada. Por esse motivo, sua usabilidade deve ser amplamente fomentada na literatura para promover a popularização do uso de *softwares* de métricas verde. Essa abordagem pode ser de grande utilidade principalmente em países em desenvolvimento, onde a fabricação de sensores alternativos vem recebendo notável atenção. Duas ferramentas diferentes são consideradas pioneiras e são identificadas como (i) Índice Nacional de Métodos Ambientais (do inglês *National Environmental Methods Index*, NEMI) e (ii) escala analítica ecológica (do inglês *Analytical Eco-Scale*). [10,12] A abordagem (i) utiliza um pictograma que pode ser obtido a partir de informações associadas aos reagentes usados e resíduos. (ii) É associada a uma

pontuação métrica que leva em consideração os pontos de penalidade envolvendo a utilização de reagentes potencialmente tóxicos, resíduos e energia consumível.

Recentemente, Pena-Pereira *et al.* [17] propuseram uma ferramenta disponível gratuitamente que também pode ser utilizada para inferir o impacto ecológico de um método analítico, denominado AGREE. Diferentemente dos estudos pioneiros, a abordagem AGREE faz uso de todos os princípios da GAC o que pode aumentar a sensibilidade da informação obtida. O diagnóstico AGREE é baseado em um pictograma circular com pontuações que variam de 0 a 1. As cores verde, amarelo e vermelho também são observadas com o objetivo de informar a perspectiva geral da metodologia desejada. A partir da Figura 4 é possível observar uma representação do diagnostico AGREE e a quantidade de estudos que vem utilizando essa ferramenta nos últimos 4 anos.

Figura 4. (A) Representação do pictograma colorido que pode ser obtido no *software* AGREE. (B) Levantamento bibliográfico na plataforma *Web of Science* usando a palavra-chave: *AGREE metric*. O período de busca utilizado foi de 2020 – 2023.



Fonte: Autoria própria.

As bases de dados que são empregadas no *software* AGREE são apresentadas abaixo. Presença de preparo da amostra (1); quantidade de amostra (2); posicionamento

do dispositivo (3); etapas de preparo de amostras (4); automação e miniaturização (5); derivatização (6); resíduos (7); quantidade de análises (8); consumo de energia (9); fontes de reagentes (10); toxicidade (11) e segurança do operador (12). [17] o perfil resultante gerado na ferramenta AGREE é derivado de um resultado geral associado aos 12 aspectos destacados acima. Para o pré-tratamento da amostra (princípio 1), há a possiblidade de selecionar dez critérios diferentes. Por exemplo, se o procedimento de tratamento da amostra usa um grande número de etapas, a pontuação obtida é próxima do número zero, enquanto se o sensoriamento for remoto e sem danos à amostra, a pontuação obtida será bem próximo de 1. Para obter uma cor verde do princípio 2, a deteção analítica utilizada deve consumir um volume de amostra ≤100 μL. Resultados adequados usando o princípio 3 podem ser obtidos mediante o uso de experimentos no POCT. No entanto, quando o experimento de deteção do analito de interesse é realizado fora da região de coleta ou no laboratório, as pontuações obtidas são 0,33 e 0,00, respectivamente.

O conceito 4 do AGREE, que está associada à integração do procedimento analítico, pode apresentar valores de respostas apreciáveis quando empregada a análise desejada usando três ou menos etapas. Outros princípios 5, 6 e 7 estão interligados à automação, derivatização e quantidade de resíduos gerados, respectivamente, os quais também podem impactar negativamente na pontuação final, caso a plataforma analítica não seja portátil e apresente alto consumo de solventes e gases. O princípio 8 pode apresentar resultados formidáveis (próximo de 1,0) se forem utilizadas análises multiplexadas no método analítico desejado. Para obter pontuações de 0,0, 0,5, 0,9 e 1,0 no *software*, é necessário registrar valores de 1, 10, 50 e 70 detecções por hora, respectivamente. Os princípios 9, 10 e 11 podem ser impactados positivamente quando o consumo mínimo de energia (0,05 kW/análise), reagentes e materiais tóxicos são empregados, respectivamente. O critério 12 pode conter resultados próximos de 1,0, em

casos em que o ambiente de trabalho esteja livre de materiais potencialmente danoso à saúde do analista, tais como compostos tóxicos, altamente inflamáveis, oxidáveis, corrosivos ou explosivos. [17]

Conforme apresentado acima, o uso de aparatos analíticos portáteis vem demonstrando ser uma importante estratégia devido à sua capacidade de identificar e monitorar diferentes substâncias químicas. Entretanto, o perfil ecológico das análises eletroquímicas usando eletrodos impressos em 3D e eletrodos de papel, ainda é pouco explorado na literatura, tornando-se importante a introdução da ferramenta AGREE.

Diante do exposto, os objetivos principais do projeto de doutorado incluem o desenvolvimento de sensores eletroquímicos usando a tecnologia de impressão 3D, bem como o reaproveitamento de resíduos termoplásticos provenientes dessa tecnologia. Além disso, de forma pioneira, este projeto de doutorado também teve como objetivo uma avaliação das métricas verdes dos métodos analíticos desenvolvidos e otimizados para aplicações diversas.

1.2 REFERÊNCIAS

[1] Analytical Instrumentation Market Size & Growth Report, 2030, (n.d.). https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/analytical-instrumentation-market-report

(accessed June 15, 2023).

[2] I.T. Gug, M. Tertis, O. Hosu, C. Cristea, Salivary biomarkers detection: Analytical and

immunological methods overview, TrAC - Trends in Analytical Chemistry. 113 (2019) 301–316.

https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.020.

[3] M. Corte-Rodríguez, R. Álvarez-Fernández, P. García-Cancela, M. Montes-Bayón, J. Bettmer, Single cell ICP-MS using on line sample introduction systems: Current developments and remaining challenges, TrAC Trends in Analytical Chemistry. 132 (2020) 116042.

https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2020.116042.

[4] P. Peng, C. Liu, Z. Li, Z. Xue, P. Mao, J. Hu, F. Xu, C. Yao, M. You, Emerging ELISA derived technologies for in vitro diagnostics, TrAC Trends in Analytical Chemistry. 152 (2022) 116605. https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2022.116605.

[5] R.S. Plumb, L.A. Gethings, P.D. Rainville, G. Isaac, R. Trengove, A.M. King, I.D. Wilson,

Advances in high throughput LC/MS based metabolomics: A review, TrAC Trends in Analytical Chemistry. 160 (2023) 116954. https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2023.116954.

[6] Tse-Lun Chen, Hyunook Kim, Shu-Yuan Pan, Po-Chih Tseng, Yi-Pin Lin, Pen-Chi Chiang, Implementation of green chemistry principles in circular economy system towards sustainable development goals: Challenges and perspectives, Science of The Total Environment. 716 (2020) 136998. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136998.

[7] Alan Murray, Keith Skene, Kathryn Haynes, The Circular Economy: An Interdisciplinary Exploration of the Concept and Application in a Global Context, Journal of Business Ethics. 140 (2015) 369-380. https://doi.org/10.1007/s10551-015-2693-2.

[8] Roger A. Sheldon, Michael Norton, Green chemistry and the plastic pollution challenge: towards a circular economy, Green Chemistry. 22 (2020) 6310-6322. https://doi.org/10.1039/D0GC02630A.

[9] A. Gałuszka, Z. Migaszewski, J. Namieśnik, The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices, TrAC - Trends in Analytical

Chemistry. 50 (2013) 78–84. https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010.

[10] C.M. Hussain, C.G. Hussain, R. Keçili, White analytical chemistry approaches for analytical and bioanalytical techniques: Applications and challenges, TrAC - Trends in Analytical Chemistry. 159 (2023) 116905. https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116905.

[11] F.W. McLafferty, Trends in Analytical Instrumentation, Science (1979). 226 (1984) 251–253. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.6484571.

[12] A. Kurowska-Susdorf, M. Zwierżdżyński, A.M. Bevanda, S. Talić, A. Ivanković, J. Płotka Wasylka, Green analytical chemistry: Social dimension and teaching, TrAC - Trends in Analytical Chemistry. 111 (2019) 185–196. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.022.

[13] W. Wojnowski, M. Tobiszewski, F. Pena-Pereira, E. Psillakis, AGREEprep – Analytical greenness metric for sample preparation, TrAC - Trends in Analytical Chemistry. 149 (2022) 116553. https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116553.

[14] L.H. Keith, L.U. Gron, J.L. Young, Green analytical methodologies, Chem Rev. 107 (2007) 2695–2708. https://doi.org/10.1021/cr068359e.

[15] J. Płotka-Wasylka, A new tool for the evaluation of the analytical procedure: Green Analytical Procedure Index, Talanta. 181 (2018) 204–209. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.013.

[16] M. Sajid, J. Płotka-Wasylka, Green analytical chemistry metrics: A review, Talanta. 238 (2022). https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.123046.

[17] F. Pena-Pereira, W. Wojnowski, M. Tobiszewski, AGREE - Analytical GREEnness Metric

Approach and Software, Anal Chem. 92 (2020) 10076–10082. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01887.

[18] A.W. Martinez, S.T. Phillips, G.M. Whitesides, E. Carrilho, Diagnostics for the Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices, Anal Chem. 82 (2010) 3–10.

https://doi.org/10.1021/ac9013989.

[19] W. Dungchai, O. Chailapakul, C.S. Henry, Electrochemical Detection for Paper-Based

Microfluidics, Anal Chem. 81 (2009) 5821–5826. https://doi.org/10.1021/ac9007573.

[20] H.A. Silva-Neto, I.V.S. Arantes, A.L. Ferreira, G.H.M. do Nascimento, G.N. Meloni, W.R. de Araujo, T.R.L.C. Paixão, W.K.T. Coltro, Recent advances on paper-based microfluidic devices for bioanalysis, TrAC Trends in Analytical Chemistry. 158 (2023) 116893. https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2022.116893.

[21] W.H. Organization, Accessible quality-assured diagnostics. 2009 Annual Report, (2010) 36. https://www.who.int/tdr/publications/about-tdr/annual-reports/bl7-annual-report/en/.

[22] S. Smith, J.G. Korvink, D. Mager, K. Land, The potential of paper-based diagnostics to meet the ASSURED criteria, RSC Adv. 8 (2018) 34012–34034. https://doi.org/10.1039/C8RA06132G.

[23] D.M. Cate, J.A. Adkins, J. Mettakoonpitak, C.S. Henry, Recent developments in paper-based microfluidic devices, Anal Chem. 87 (2015) 19–41. https://doi.org/10.1021/ac503968p.

[24] K.M.P. Pinheiro, B.G.S. Guinati, N.S. Moreira, W.K.T. Coltro, Low-Cost Microfluidic Systems for Detection of Neglected Tropical Diseases, Annual Review of Analytical Chemistry. (2023). https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-091522.

[25] J. Hu, S.Q. Wang, L. Wang, F. Li, B. Pingguan-Murphy, T.J. Lu, F. Xu, Advances in paper-based point-of-care diagnostics, Biosens Bioelectron. 54 (2014) 585–597. https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2013.10.075.

[26] Matthew J. Whittingham, Nicholas J. Hurst, Robert D. Crapnell, Alejandro Garcia-Miranda Ferrari, Elias Blanco, Trevor J. Davies, Craig E. Banks, Electrochemical Improvements Can Be Realized via Shortening the Length of Screen-Printed Electrochemical Platforms, Analytical Chemistry. 49 (2021) 16481-16488. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c03601

[27] V.N. Ataide, L.F. Mendes, L.I.L.M. Gama, W.R. De Araujo, T.R.L.C. Paixaõ, Electrochemical paper-based analytical devices: ten years of development, Analytical Methods. 12 (2020) 1030–1054. https://doi.org/10.1039/C9AY02350J.

[28] T. Gebretsadik, T. Belayneh, S. Gebremichael, W. Linert, M. Thomas, T. Berhanu, Recent

advances in and potential utilities of paper-based electrochemical sensors: Beyond qualitative

analysis, Analyst. 144 (2019) 2467–2479. https://doi.org/10.1039/c8an02463d.

[29] S. Cinti, D. Moscone, F. Arduini, Preparation of paper-based devices for reagentless

electrochemical (bio)sensor strips, Nat Protoc. 14 (2019) 2437–2451. https://doi.org/10.1038/s41596-019-0186-y.

[30] X. Ge, A.M. Asiri, D. Du, W. Wen, S. Wang, Y. Lin, Nanomaterial-enhanced paper-based

biosensors, TrAC - Trends in Analytical Chemistry. 58 (2014) 31–39. https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.03.008.

[31] D.D. Liana, B. Raguse, J. Justin Gooding, E. Chow, Recent advances in paper-based sensors, Sensors. 12 (2012) 11505–11526. https://doi.org/10.3390/s120911505.

CAPÍTULO 2

IMPRESSÃO 3D DE CÉLULA ELETROQUÍMICA E RÁPIDA ATIVAÇÃO PARA USO EM ELETROANALÍTICA

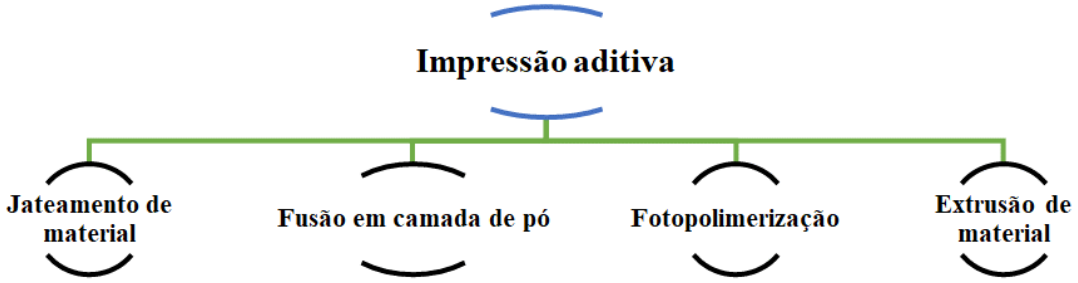
RESUMO

Este capítulo descreve o desenvolvimento de eletrodos impressos em 3D usando partículas de negro de fumo como opção de material condutível. Adicionalmente, um método de ativação que não emprega reagentes potencialmente tóxicos também é apresentado. O pré-tratamento proposto envolve uma combinação de processos de oxidação fotoquímica e eletroquímica para degradar o excesso de material aglutinante impregnado na superfície do eletrodo. Essa estratégia é simples, rápida e expõe as nanopartículas de negro de fumo, intensificando o desempenho eletroquímico do sensor. Os eletrodos ativados apresentaram estabilidade a longo prazo (~ 2 meses) e notável acréscimo para o desempenho catalítico (353 ± 13%) quando comparado aos sensores não ativados, destacando a potencialidade desses sensores para aplicações eletroanalíticas. Considerando o desempenho analítico para três diferentes aplicações, o eletrodo ativado exibiu baixos valores de limites de detecção (em níveis de µmol L^{-1}) para metais potencialmente tóxicos como Cd(II) (0,009) e Pb(II) (0,006). Outros analitos detectados foram maleato de midazolam (0,54) e ácido úrico (0,71). As faixas lineares obtidas nos métodos foram 0,04 a 0,89 e 0,02 a 0,48 µmol L^{-1} para os metais Cd(II) e Pb(II), respectivamente. Para midazolam e ácido úrico, os valores calculados foram de 1,0 a 15 e 1,0 a 25 µmol L^{-1}, respectivamente. Os métodos analíticos empregados também apresentaram resultados ambientalmente aceitáveis. Com base nos resultados alcançados, a célula eletroquímica totalmente impressa em 3D demonstrou ser promissora para o uso em aplicações eletroanalíticas.

2.1 INTRODUÇÃO

A impressão tridimensional (3D) é uma tecnologia emergente de criação de objetos sólidos que vem revolucionando o processo de prototipagem rápida em vários setores da indústria e pesquisa científica. Essa tecnologia tem levado vantagem sobre as técnicas convencionais de fabricação devido à sua capacidade de projetar, modelar e construir estruturas sólidas em poucos minutos, sem o auxílio de inúmeros equipamentos e/ou complexos procedimentos de manufatura. [1–3] As principais opções de impressão 3D aditiva incluem jateamento de material, fusão em camada de pó, fotopolimerização e extrusão de material (Figura 5).

Figura 5. Representação esquemática ilustrando os principais exemplos de técnicas de impressão 3D aditiva.



Fonte: autoria própria.

Nos últimos anos, a tecnologia de modelagem de deposição por fusão (do inglês *fused deposition modeling*, FDM), que faz parte da classe de extrusores de material, tornou-se um dos métodos de impressão 3D mais populares devido à sua simplicidade instrumental, baixo custo de produção e fidelidade na replicação de objetos quando comparada à versão do projeto digital. Este método baseia-se na deposição de materiais termoplásticos em uma plataforma de impressão, onde o objeto sólido é construído mediante a inserção de uma camada sobre outra camada.

O princípio de trabalho do método FDM pode ser compilado em três etapas: (i) a criação do projeto auxiliado por computador (do inglês *Computer Aided Design*, CAD), o qual é convertido para arquivo STL (estereolitografia); (ii) a etapa de seleção dos parâmetros de impressão empregando softwares de fatiamento, possibilitando a conversão do projeto para o formato GCODE; e (iii) impressão do objeto desenvolvido. [3,4] Em casos em que a peça solida obtida necessite de um acabamento, uma etapa adicional utilizando tratamento físico-químico poderá ser empregado, tais como polimento mecânico e suavização da peça usando acetona, por exemplo.

O processo de impressão FDM pode apresentar alta versatilidade permitindo a combinação de diferentes opções de filamentos termoplásticos. Os modelos de impressoras 3D que apresentam modo multimaterial com dois ou mais bicos extrusores podem permitir que seja construído objetos com diferentes propriedades físico-químicas. Os componentes gerais de uma impressora 3D incluem (i) cabeça de impressão; (ii) mesa de impressão; (iii) motor de passo; (iv) sensor de temperatura; (v) e filamentos termoplásticos. [5,6]

Todas as vantagens apresentadas acima tornaram o método FDM uma tecnologia de fabricação amplamente utilizada em várias áreas, incluindo os renomados setores da engenharia, catálise e instrumentação analítica. No entanto, algumas desvantagens podem ser observadas, as quais incluem comportamento anisotrópico, baixa resolução para estruturas $\leq$ 300 μm e dificuldade para obter superfícies lisas. [5,6] Com o desenvolvimento de compósitos condutores imprimíveis, o uso da tecnologia de impressão FDM tem sido considerada como uma tendência promissora para a fabricação rápida de sensores eletroquímicos. [13-15]

A maioria dos compósitos usados para o desenvolvimento de eletrodos impressos envolve o uso de alótropos de carbono, incluindo grafeno [16-18], nanotubos de carbono [19,20] e negro de fumo (do inglês *carbon black*, CB). [21-24] Na grande maioria de exemplos, o material condutor escolhido é incorporado a uma matriz polimérica, tais como ácido polilático (do inglês *polylactic acid*, PLA) e acrilonitrila butadieno estireno (do inglês *acrylonitrile butadiene styrene*, ABS). [12,25,26] Eletrodos baseados em materiais de carbono são um dos mais utilizados para aplicações eletroquímicas, pois podem dispor de apreciáveis aspectos com destaque para resistividade elétrica, superfície de contato e ampla faixa operacional para varredura de potencial (~ -1,2 a 1,2 V *vs* eletrodo de referência). [27,28]

O filamento de PLA dopado com CB (CB/PLA) tem sido amplamente utilizado para a fabricação de sensores eletroquímicos devido ao baixo custo e acessibilidade. Além disso, os parâmetros operacionais de fabricação 3D como velocidade de impressão, densidade da camada, padrão de preenchimento e orientação da impressora podem melhorar drasticamente a condutividade elétrica dos eletrodos impressos. [5,6] Eletrodos impressos em 3D preparados com CB podem fornecer resultados analíticos promissores para a detecção de dopamina, metais potencialmente tóxicos, cafeína e paracetamol. [12,21,23,24]

Por outro lado, pode ser desafiador construir células eletroquímicas 3D em uma única etapa, contendo os eletrodos de trabalho (ET), referência (ER), auxiliar (EA) e a área de delimitação geométrica do sensor. Outro detalhe importante para mencionar é que os eletrodos impressos em 3D possuem em sua composição grandes quantidades de matriz polimérica não condutora. O excesso de matriz polimérica na superfície do eletrodo pode impedir a exposição de partículas condutores, podendo reduzir o desempenho analítico. [29-31] Palenzuela *et al*. [32] reportaram a fabricação de ET

impresso em 3D e uma etapa de ativação da superfície do eletrodo via imersão em dimetilformamida (DMF) por 10 minutos. A estratégia empregada foi utilizada para dissolver parcialmente a matriz polimérica isolante (PLA) que estava dopada com grafeno. O método de pré-tratamento empregou uma opção de solvente potencialmente tóxico (DMF), uma limpeza adicional com solução de etanol e um processo de secagem dos eletrodos por 24 h. O método efetuado de ativação apresentou uma melhora notável na resposta eletroquímica, possibilitando a detecção de ácido pícrico e ácido ascórbico. Desde então, várias outras estratégias de tratamento foram desenvolvidas com o objetivo de melhorar o desempenho eletroquímico de eletrodos impressos em 3D.

Exemplos de ativações incluem desde o uso de solventes, [33] polimento mecânico, [34,35] ativação eletroquímica, [31] pré-tratamento eletroquímico/químico, [16] eletroquímico/químico/polimento pré-tratamento, [24,36] pré-tratamento eletroquímico/térmico, [37] bem como usando processo de pirólise que não faz uso de solventes. [39,40] Até onde sabemos, a estabilidade de eletrodos impressos em 3D por longos períodos (semanas ou meses) ainda não foi satisfatoriamente explorada na literatura. O desenvolvimento de sensores estáveis pode ser interessante do ponto de vista comercial, pois eletrodos que apresentam essa característica podem apresentar sinais analíticos com mínimas variações por longos períodos.

Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo descrever a fabricação de uma célula eletroquímica impressa em 3D via tecnologia FDM. A estratégia selecionada utiliza uma impressora multimaterial e filamentos ABS e CB/PLA. A célula eletroquímica foi impressa em arranjo convencional de três eletrodos, contendo eletrodos ET, EA e ER, sendo totalmente construído utilizando apenas uma etapa durante ~ 7 minutos (por dispositivo). Para melhorar o desempenho analítico, uma opção de ativação foi desenvolvida por meio de dois processos oxidativos, um envolvendo a reação de

Fenton e o outro via tratamento eletroquímico. A reação foto-Fenton é um processo oxidativo avançado (POA) que tem como principal utilidade, a capacidade de promover a degradação de compostos orgânicos complexos. [41] Este método baseia-se na utilização de peróxido de hidrogénio (H_2O_2), radiação UV e Fe(II), onde os sais de ferro atuam como fotocatalisadores. E a presença de H_2O_2 tem como finalidade, a geração de radicais hidroxila ($^{\bullet}OH$) que atua com agente oxidante. Através da presença do radical, a matéria orgânica complexa pode ser convertida em moléculas menores (dióxido de carbono e água). Por esse motivo, o método de Fenton é amplamente utilizado no tratamento de efluentes e pode ser considerado como uma estratégia verde.

As condições de pré-tratamento e caracterização (estrutural, morfológica e eletroquímica) foram investigadas. Bem como, os estudos de reutilização, estabilidade e reprodutibilidade, considerando sensor impresso em 3D antes e depois do pré-tratamento. Como prova de conceito, a viabilidade do sensor foi demonstrada através da detecção de metais potencialmente tóxicos [23] (Cd e Pb) em amostra de aerossol, drogas sedativas [42] (maleato midazolam) em bebidas populares e ácido úrico (biomarcador de aterosclerose e gota [43]) em diferentes amostras biológicas. Ademais, o impacto ecológico do método analítico também foi investigado utilizando a ferramenta AGREE, [44] que faz uso dos 12 princípios da química analítica verde.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo Geral

- ❖ Desenvolvimento de sensor eletroquímico utilizando a técnica de impressão 3D e otimização de um processo de ativação dos eletrodos para uso em três diferentes áreas de aplicações analíticas.

2.2.2 Objetivos específicos

- Uso dos *softwares SolidWorks* e *PrusaSlicer* para desenvolver os *layouts* dos eletrodos.
- Impressão 3D do sensor eletroquímico e otimização da etapa de ativação usando os processos Fenton e oxidação eletroquímica.
- Estudos de caracterização morfológica, reprodutibilidade, repetibilidade e estabilidade eletroquímica do sensor 3D.
- Desenvolver três diferentes métodos eletroanalíticos para realizar as detecções: (i) Cd e Pb em aerossol atmosférico; (ii) maleato de midazolam em amostras de vinho, vodka e suco de laranja; (iii) ácido úrico em amostras de urina, saliva e suor.
- Avaliar o impacto ecológico dos métodos desenvolvidos por meio da ferramenta AGREE.

2.3 SEÇÃO EXPERIMENTAL

2.3.1 Reagentes e materiais

Ácido acético, sulfato de ferro(II) hexahidratado, peróxido de hidrogênio, paracetamol, cloreto de potássio, nitrato de cádmio(II) tetrahidratado, nitrato de chumbo(II), fosfato de sódio dibásico, fosfato de sódio monobásico, acetato de sódio, ácido úrico, maleato de midazolam hexacianoferrato (II) de potássio trihidratadoe hexacianoferrato (III) de potássio foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EUA). Soluções estoque e padrão foram preparadas com água ultrapura processada utilizando um sistema de purificação de água (Direct-Q®3, Millipore, Darmstadt, Alemanha) com resistividade elétrica ≤ 18,2 MΩ.cm. Os filamentos termoplásticos (Ø = 1,75 mm) ABS e CB/PLA foram adquiridos da 3DFila (Belo Horizonte, MG, Brasil) e Protoplant (Vancouver, BC, Canadá), respectivamente. Os modelos utilizados de lâmpada halógena (500 W) e tinta de prata foram adquiridos da Taschibra (Indaial, SC, Brasil) e MG Chemicals (Burlington, ON, Canadá), respectivamente.

2.3.2 Instrumentação

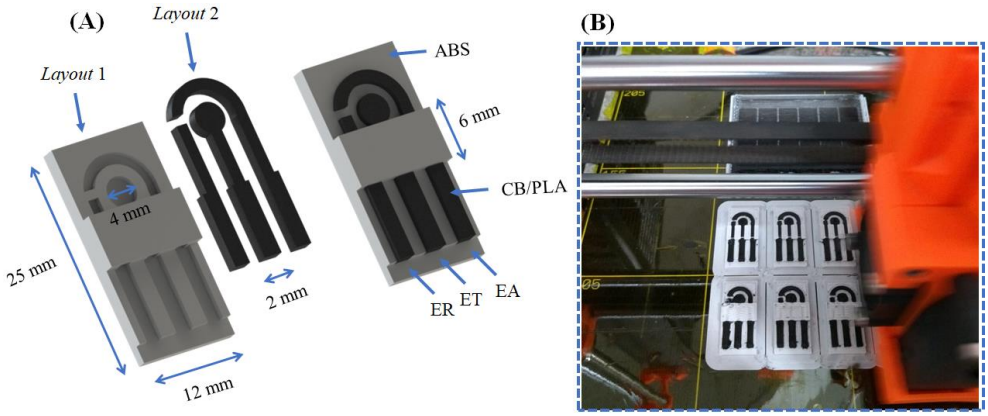
A célula eletroquímica impressa em 3D foi fabricada usando uma impressora 3D multimaterial modelo *I3 MK3* da Prusa Research (Praga, República Tcheca). As medidas eletroquímicas foram realizadas usando um bipotenciostato/galvanostato portátil modelo *µStat 400* equipado com o software *DropView*® da DropSens S.L. (Oviedo, Espanha).

2.3.3 Fabricação do sensor eletroquímico e ativação

O *layout* proposto da célula eletroquímica impressa em 3D foi projetado por meio de um *software SolidWorks*® contendo um ET (ø = 4 mm), EA e ER (Figura 6). A impressão 3D do sensor foi realizada via método FDM. [25,26] Para efetuar a fabricação do dispositivo, o *software PrusaSlicer* 2.3.0 foi empregado e os valores selecionados de temperatura para a mesa da impressora e bico foram de 110 ºC e 220 ºC, respectivamente.

A etapa de ativação da superfície do sensor foi decorrida mediante a adição de uma alíquota de 100 µL contendo (Fe(II) 10 mg L^{-1}) e (15% de H_2O_2, v/v) na região da célula eletroquímica, e então expostos à luz UV/Vis por 5 min (comprimento de onda ~ 430 nm). Em seguida, uma etapa de oxidação eletroquímica foi realizada aplicando 1,8 V *vs* CB/PLA por 200 s na presença de ácido acético 6 mol L^{-1} (pH 2,1) como eletrólito suporte. Após finalizar a etapa mencionada acima, o ER do sensor foi pintado manualmente com tinta de prata (Ag).

Figura 6. (A) *Layouts* 1 e 2 do sensor eletroquímico; (B) Impressora 3D durante a fabricação de eletrodos. Eletrodo de referência (ER), eletrodo de trabalho (ET) e eletrodo auxiliar (EA).



Fonte: Autoria própria.

2.3.4 Experimentos eletroquímicos

Para avaliar o impacto do pré-tratamento eletroquímico/Fenton na superfície do ET, diferentes medidas de voltametria cíclica (VC) foram realizadas na presença de 100 µL de solução composta por $[Fe(CN)6]^{4-/3-}$ 1,0 mmol L^{-1} preparado em KCl 0,1 mol L^{-1}.

Os estudos que envolvem a estabilidade e reprodutibilidade do dispositivo também foram realizados usando experimentos de VC. Para cada experimento, uma solução de paracetamol (PAR) 1,0 mmol L^{-1} preparada em KCl 0,1 mol L^{-1} foi empregada com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} e janela de potencial variando de 0 a 1,2 V *vs* CB/PLA. Uma etapa adicional de limpeza eletroquímica via VC na presença de KCl 0,1 mol L^{-1} também foi realizada entre cada análise de PAR.

As curvas analíticas utilizadas para a detecção simultânea dos metais potencialmente tóxicos (Cd e Pb) foram realizadas mediante o uso de experimentos de voltametria de onda quadrada de redissolução anódica (do inglês *square-wave anodic stripping voltammetry*, SWASV).[47] A solução contendo Cd e Pb foi preparada em tampão acetato (0,1 mol L^{-1}, pH 4,5) em KCl 0,1 mol L^{-1}. A pré-concentração dos metais foi realizada aplicando -1,4 V por 150 s. Em seguida, voltamogramas de onda quadrada foram registrados usando *step* de 5 mV, amplitude de 25 mV, frequência de 15 Hz e janela de potencial variando de - 1,4 a -0,7 V *vs* Ag. Dois outros analitos (midazolam e ácido úrico) foram detectados usando o método de voltametria de onda quadrada (do inglês *square-wave voltammetry*, SWV). [48,49] Para realizar a detecção de midazolam, a janela de potencial de -0,6 a -1,2 V *vs* Ag, *step* de 2 mV, amplitude de 4 mV e frequência de 15 Hz usando tampão acetato (0,1 mol L^{-1}, pH 4,5) preparado em KCl 0,1 mol L^{-1} foi selecionado. As análises de ácido úrico foram realizadas usando janela de potencial de 0,1 a 0,8 V *vs* Ag, *step* de 2 mV, amplitude de 5 mV e frequência de 15 Hz em PBS (0,1 mol L^{-1}, pH 7,0) preparado em KCl 0,1 mol L^{-1}.

Os experimentos de SWV dedicados às análises de íons metálicos, midazolam e ácido úrico foram realizados em amostra de material particulado atmosférico (MP), bebidas (vodca, suco e vinho) e fluidos biológicos (saliva artificial, suor e urina artificial), respectivamente. As etapas usufruídas para preparar todas as amostras mencionadas acima foram adaptadas de estudos recentes. [47–49] Todas as medidas eletroquímicas foram registradas em temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Para avaliar o impacto ecológico dos métodos eletroquímicos, a ferramenta AGREE foi utilizada. [44]

2.3.5 Caracterizações

A superfície do eletrodo impresso em 3D foi caracterizada utilizando as técnicas: (i) microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia Raman, ângulo de contato (AC), espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). A análise MEV foi registrada com um microscópio modelo *JSM-6610* da JEOL (Akishima, Tóquio, Japão). Os experimentos de MEV foram realizados no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic/UFG). A espectroscopia Raman foi realizada em um espectrômetro confocal Raman modelo *LabRAM HR Evolution* da HORIBA (Kyoto, Japão). As medidas de EIE foram realizadas na presença de $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ 1,0 mmol L^{-1} preparado em KCl 0,1 mol L^{-1}, empregando um potenciostato/galvanostato modelo *PGSTAT-101* da Metrohm.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

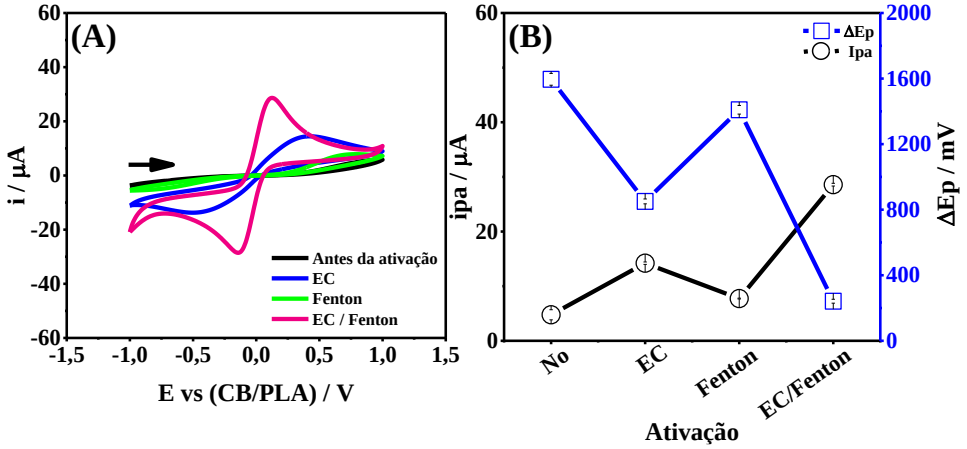
2.4.1 Fabricação e ativação do sensor

O processo de fabricação da célula eletroquímica apresentada nesse capítulo envolveu a combinação de ABS e CB/PLA sem o uso de solventes ou múltiplas etapas operacionais. [25] Recentemente, Browne *et al*.[16] desenvolveram um ET impresso em 3D usando filamento de PLA dopado com grafeno. Para completar a célula eletroquímica, os autores utilizaram ER de Ag/AgCl e fio de platina como EA. Richter *et al.*[24] fabricaram uma plataforma eletroquímica 3D (ET, ER e EA) e os filamentos comerciais utilizados foram de CB/PLA e ABS. Para vedar o sistema proposto e delimitar a região para detecção, um anel de borracha comercial foi usado. Katseli *et al.*[21] reportaram um sensor totalmente impresso em 3D usando também os filamentos de CB/PLA e ABS. Nesta célula miniaturizada, os autores precisaram depositar ouro na superfície do sensor para poder melhorar o desempenho analítico. Silva *et al*.[17] desenvolveram uma célula eletroquímica montável empregando materiais de grafeno/PLA e PLA. Esses componentes 3D foram montados manualmente e foi preciso usar uma cola para realizar a fixação e vedação dos eletrodos na célula eletroquímica. Para efetuar os experimentos eletroquímicos, um volume de 30 mL de amostra foi necessário.

Tendo em vista os estudos recentes brevemente revisados acima, o sensor impresso em 3D proposto neste estudo é totalmente integrado diretamente na mesa de impressão em um curto intervalo de tempo (~ 7 minutos), evitando assim o uso de componentes comerciais como ER e EA, anéis de vedação ou líquidos poliméricos. Também é importante destacar que o sensor fabricado é compacto e requer um volume de amostra de 100 µL para cada medida eletroquímica.

Materiais à base de carbono têm sido amplamente utilizados para o desenvolvimento de sensores impressos em 3D. No entanto, a estruturas termoplásticas frequentemente usado para impregnar materiais de carbono (ABS e PLA) requerem etapas de pré-tratamento para melhorar as propriedades catalíticas do sensor [29]. Por essa razão mencionada acima, uma etapa adicional para ativar a superfície do eletrodo foi desenvolvida. As etapas de ativação envolvem a utilização da reação fotoquímica de Fenton seguida de oxidação eletroquímica na presença de ácido acético. Para observar o impacto da ativação no desempenho do sensor, experimentos de VC foram empregados na presença de $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ usando eletrodo ativado e não ativado (Figura 7). A condição de Fenton utilizada foi mediante uma solução de 10 mg L^{-1} de Fe(II) com 15% de H_2O_2 (v/v) e tempo de exposição UV de 5 minutos. E posterior oxidação eletroquímica aplicando um potencial de 1,8 V *vs* CB/PLA por 200 s na presença de 6 mol L^{-1} de ácido acético.

Figura 7. (A) Voltamograma cíclico registrado na presença de $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ 1,0 mmol L^{-1} preparado em KCl 0,1 mol L^{-1} usando eletrodo sem pré-tratamento, tratado via abordagem eletroquímica (EC), processo de Fenton e ativação eletroquímica/Fenton. Os resultados apresentados em (B) mostram o efeito dos processos de pré-tratamento nos sinais obtidos de i_p e ΔE_p. Velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}.



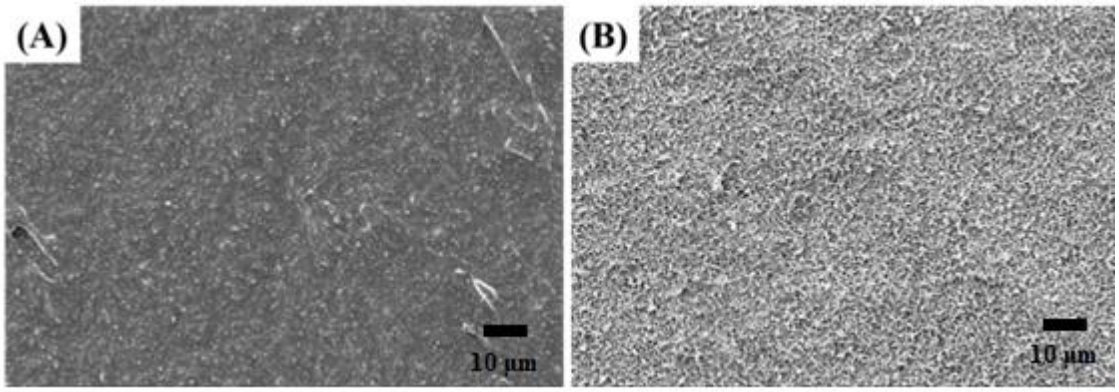
Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [45] com permissão.

A partir das informações obtidas nos voltamogramas foi possível calcular os valores de corrente de pico (i_p) e separação entre os potenciais de pico (ΔE_p) associados a atividade redox do mediador eletroquímico $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$. Após a obtenção dos resultados de i_p e ΔE_p usando eletrodos sem ativação e ativado foi possível observar um aumento considerável no desempenho catalítico para o sensor ativado (aumento da i_p 443 ± 28% e ΔE_p = 182 ± 5 mV), quando comparado ao sensor que não foi submetido a uma etapa de ativação (i_p ~ 4 µA e ΔE_p ~1414,4 mV**)**. Os resultados alcançados usando eletrodo ativado sugere que o processo de transferência de elétrons foi drasticamente intensificado. A melhora do desempenho eletroquímico pode estar associada com a remoção do excesso de PLA presente na superfície do sensor e consequente exposição das nanopartículas de CB.

2.4.2 Caracterizações morfológica e estrutural

Os estudos de caracterizações morfológica e estrutural do sensor foram empregadas antes e depois do pré-tratamento proposto (Figura 8). Com base nas imagens obtidas de MEV, uma superfície bem definida foi observada antes do processo de pré-tratamento, conforme demonstrado na Figura 5A. Após o pré-tratamento, notou-se a presença de algumas deformações na superfície do sensor, provavelmente associada a degradação superficial do PLA (Figura 5B). A etapa de remoção parcial de PLA na superfície impressa pode expor uma quantidade significativa de partículas condutoras de CB, intensificando o desempenho eletroquímico do sensor.

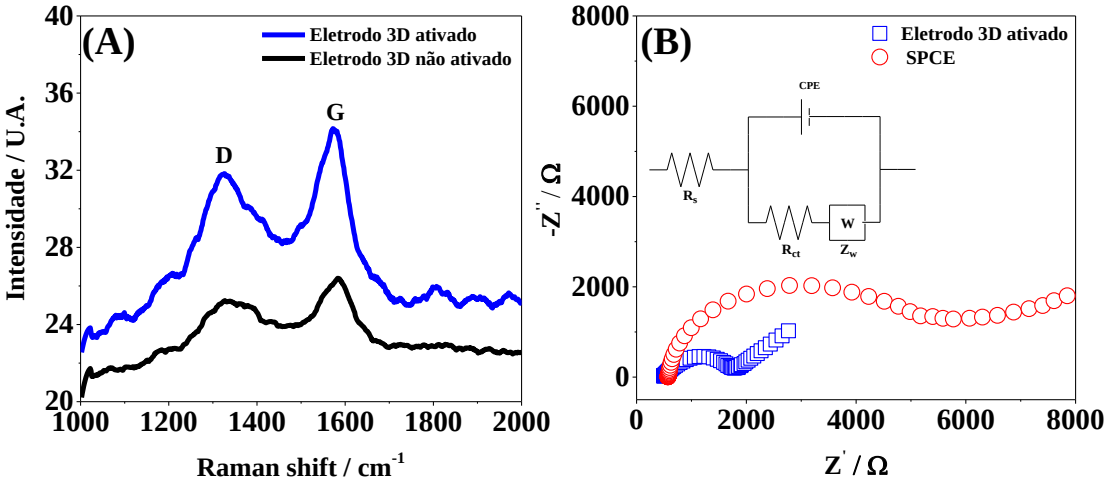
Figura 8. Imagem obtida de MEV para eletrodos impressos em 3D (A) antes e (B) após o pré-tratamento eletroquímico/Fenton.



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [45] com permissão.

Os materiais à base de carbono têm numerosos alótropos tais como grafite, grafeno e CB e podem ser encontrados em amplas formas desordenadas. Portanto, análises espectroscópicas como Raman podem ser extremamente úteis para esclarecer os diferentes arranjos estruturais e informações sobre os tipos de orbitais híbridos sp^3 e sp^2 do carbono. [57] Os espectros Raman para eletrodo antes e após o processo de pré-tratamento foram obtidos entre 1000 e 2000 cm^{-1} (Figura 9A).

Figura 9. (A) Espectros Raman registrados antes e depois do pré-tratamento; (B) diagramas de Nyquist registrados usando eletrodo tratado e SPCE comercial.



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [45] com permissão.

Os resultados alcançados exibiram respostas em 1326 e 1581 cm^{-1} que correspondem às bandas D e G, respectivamente. A banda D é atribuída à fase mista sp^2-sp^3 e a banda G ao carbono sp^2. Com base na razão entre as intensidades das bandas D e G (I_D/I_G), os defeitos estruturais foram calculados e apresentaram valores de 0,66 e 0,63 para eletrodos não tratados e tratados, respectivamente. Como os dois valores obtidos de I_D/I_G não diferiram estatisticamente (p=0,05), pode-se inferir que o processo de ativação não promove defeitos adicionais significativos no material de carbono. Mohan *et al.*[60] relataram espectros Raman para materiais de CB e observaram bandas D e G em 1328 e 1597 cm^{-1}, respectivamente. O defeito estrutural calculado com base na relação I_D/I_G apresentou valor de 0,58, o qual é semelhante ao valor obtido no presente estudo.

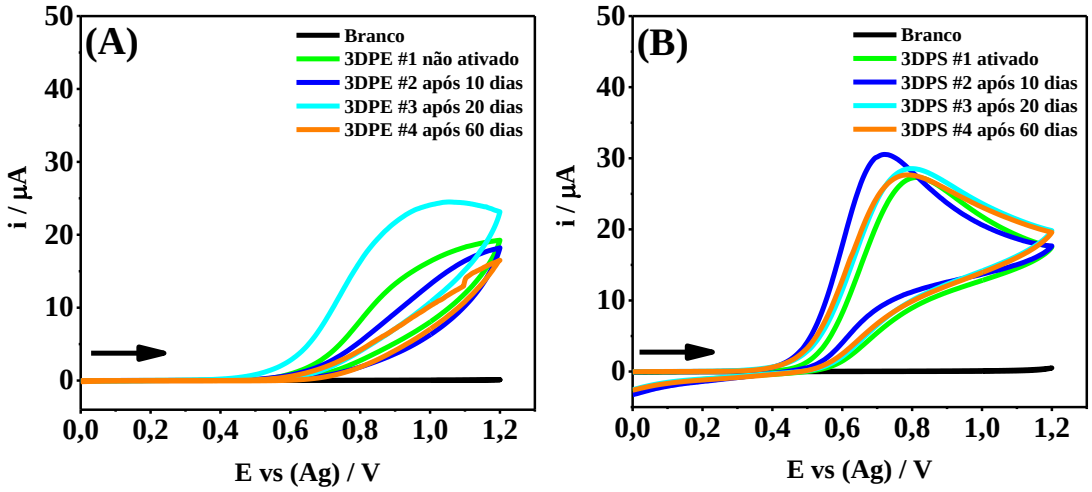
O comportamento eletroquímico do eletrodo impresso em 3D também foi investigado usando experimentos baseados em EIE na presença de sonda $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ redox. Para o estudo de EIE, o sensor impresso em 3D tratado foi comparado com SPCE (modelo 110; Metrohm), e os valores da resistência de transferência de carga (Rtc) e resistência não compensada da solução (Rs) foram calculados para os dois experimentos (Figura 9B).

Com base no circuito equivalente de Randles que foi obtido usando o diagrama de Nyquist, os resultados obtidos de Rtc foram de 1376 ± 10 e 5277 ± 33 Ω para eletrodo tratado e SPCE, respectivamente. Os valores alcançados de Rs para ambos os eletrodos variaram de 520 a 540 Ω. Os resultados apresentados acima indicam que a resistência à transferência de carga foi ~ 5 vezes menor quando comparada ao SPCE. Marzo *et al.*[18] relataram a fabricação de eletrodos de grafeno impressos em 3D e usaram ativação com DMF, seguida de oxidação eletroquímica. Os autores também modificaram o eletrodo com nanopartículas de ouro e enzima peroxidase para detecção de H_2O_2. Os valores relatados de Rtc antes e depois da modificação foram ~ 7500 e 5200 kΩ, respectivamente.

2.4.3 Estabilidade e reprodutibilidade do sensor

Os estudos de estabilidade e reprodutibilidade do sensor foram avaliados usando eletrodos não ativado e ativado. Antes de realizar os experimentos eletroquímicos, ambos os dispositivos foram armazenados em frascos plásticos contendo sílica gel. A estabilidade foi investigada usando eletrodos imediatamente após a etapa de ativação, 10, 20 e 60 dias após realizar o tratamento. Quatro sensores diferentes foram utilizados para avaliar a precisão intermediaria. A oxidação do paracetamol foi empregada como reação padrão, e os VCs obtidos estão indicados nas Figuras 10A e 7B.

Figura 10. VCs registrados na ausência e presença de PAR 1,0 mmol L^{-1} preparados em KCl 0,1 mol L^{-1} usando sensor impresso em 3D. (A) respostas eletroquímicas do estudo de estabilidade usando sensor não ativado; (B) medidas eletroquímicas para o estudo de estabilidade usando sensor ativado. Velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}.



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [45] com permissão.

Considerando os resultados alcançados antes e após o pré-tratamento, o aumento observado no sinal de i_p foi de 353 ± 13%, quando comparado ao dispositivo não ativado. O eletrodo não ativado apresentou também uma baixa estabilidade eletroquímica (redução no sinal de i_p ~ 40%), evidenciando assim que a superfície do sensor ativado

oferece maior estabilidade eletroquímica. Além disso, o material condutor que foi ativado apresentou aceitável reprodutibilidade (DPR = 6%; n = 4).

O adequado desempenho do sensor ativado pode estar associado com a remoção de resíduos de $^{\bullet}OH$ que estavam presentes na superfície do eletrodo após o pré-tratamento eletroquímico de Fenton. A remoção de $^{\bullet}OH$ ocorreu devido a presença de outra fonte de material orgânico na superfície do sensor, o ácido acético na etapa de limpeza eletroquímica. Em POA que usam reagentes de Fenton, substâncias orgânicas são adicionadas aos reagentes de Fenton para interromper reações radicalares especificas. Maciel *et al.*[46] relataram o uso do POA empregando reagentes de Fenton para degradar compostos fenólicos em efluentes salinos. Depois de garantir a remediação dos compostos fenólicos, os autores interromperam o processo de oxidação adicionando MeOH 0,1 mol L^{-1} às amostras de efluentes.

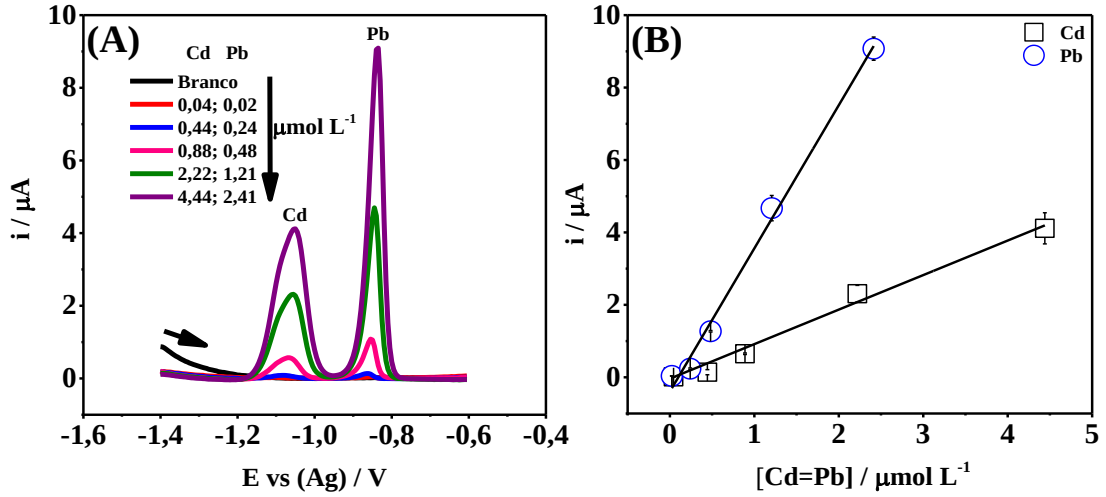
2.4.4 Desempenho analítico, aplicações e métrica ecológica

Como prova de conceito, o sensor desenvolvido foi utilizado em três áreas diferentes da eletroanalítica, incluindo ambiental (i), forense (ii) e biológica (iii). Para a aplicação (i): Poluentes ambientais tais como metais potencialmente tóxicos (Cd e Pb, por exemplo) não podem ser degradados naturalmente, e podem estar presentes em compartimentos hídricos, solo e atmosfera na forma de material particulado (MP). [64] (ii) A investigação forense vem sendo utilizada como ferramenta crucial para auxiliar na resolução de crimes. O maleato de midazolam, por exemplo, é uma das principais substâncias utilizadas em crimes facilitados por drogas, e seu uso inadequado muitas vezes em bebidas pode ocasionar ao usuário, sonolência o que pode facilitar o roubo e/ou agressão sexual. [49] (iii) Doenças neurológicas, como aterosclerose e gota, podem ser

diagnosticadas por meio dos níveis de ácido úrico presentes em fluidos biológicos, como saliva, soro, suor e urina. [48]

Para investigar o desempenho analítico do dispositivo proposto, a resposta analítica *vs* concentração do analito alvo foi investigada usando os sensores impressos em 3D. Para medições simultâneas de Cd e Pb, o método analítico apresentou comportamento linear nas faixas de concentração de 0,04 a 0,89 e 0,02 a 0,48 µmol L^{-1}, respectivamente (condição (i); Figura 11). Para melhorar a sensibilidade dos métodos, os íons metálicos foram pré-concentrados por eletrodeposição na superfície do ET e está etapa foi realizada aplicando uma diferença de potencial de -1,4 V *vs* Ag durante 150 s. As equações analíticas obtidas para as detecções dos metais foram i (µA) = -0,106 + 3,25[Cd; µmol L^{-1}] e i (µA) = -0,073 + 4,66[Pb; µmol L^{-1}].

Figura 11. Respostas alcançadas de SWASV em diferenças concentrações de Cd e Pb e as curvas analíticas (A-B). Tempo de acumulação de 150 s aplicando uma diferença de potencial de -1,4 V *vs* Ag.

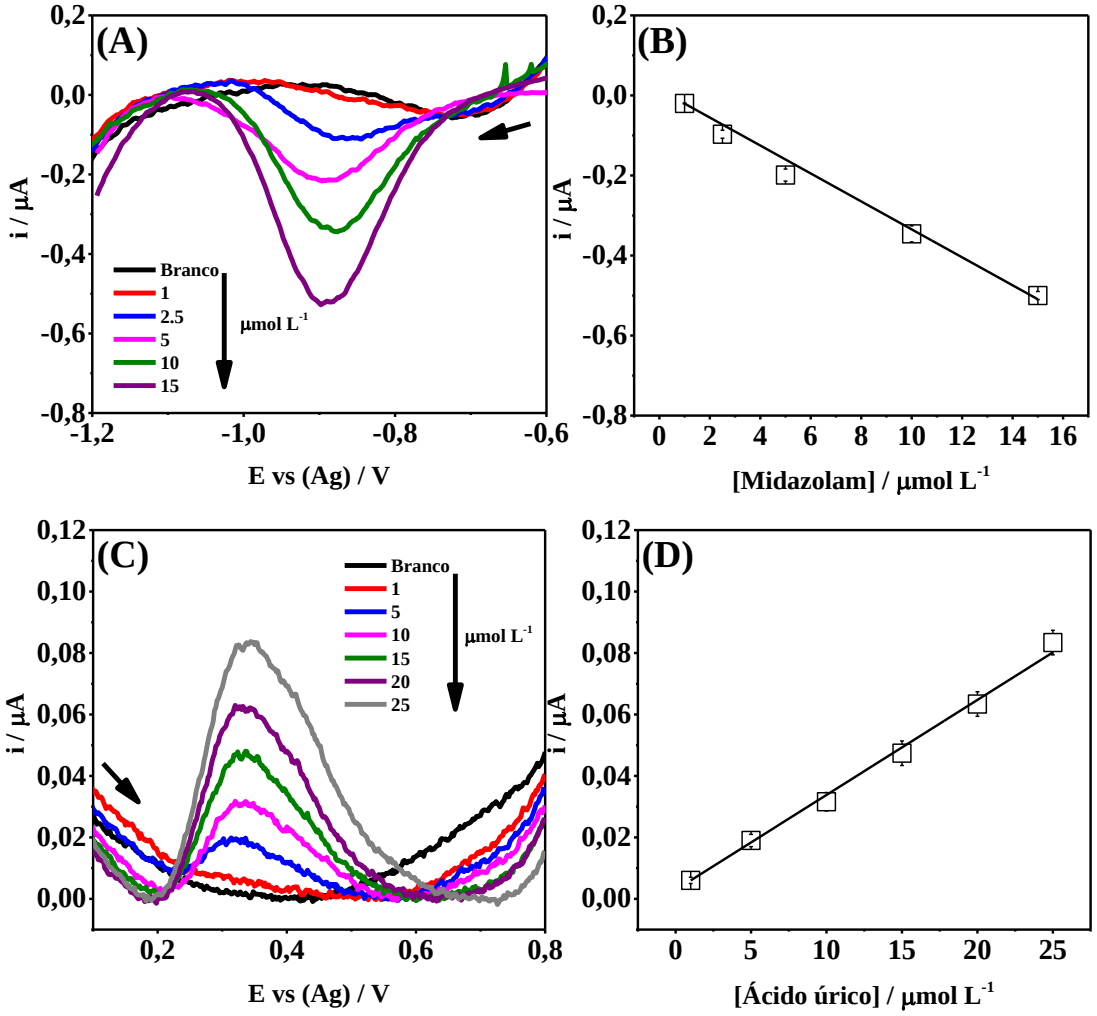


Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [45] com permissão.

Para a detecção de midazolam, um perfil de resposta linear para a faixa de concentração entre 1 e 15 µmol L^{-1} foi observado. Além disso, o dispositivo proposto

revelou linearidade adequada para a detecção de ácido úrico usando a faixa de concentração de 1 a 25 µmol L^{-1}. Os gráficos de regressão linear indicaram uma correlação satisfatória ($R^2 \geq 0,99$). Os resultados eletroquímicos obtidos, bem como todas as curvas analíticas para as aplicações (ii e iii) são apresentados na Figura 12. As equações analíticas obtidas para as detecções de midazolam e ácido úrico foram i (µA) = 0,014-0,035[midazolam; µmol L^{-1}] e i (µA) = 0,003+0,003[ácido úrico; µmol L^{-1}].

Figura 12. Resultados obtidos de SWV para as detecções de midazolam (A-B) e ácido úrico (C-D) e as respectivas curvas analíticas. Todos os experimentos foram realizados utilizando eletrodos impressos em 3D.



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [45] com permissão.

Com base em cada curva analítica, o limite de detecção (LD) foi calculado com base na razão 3xDP/inclinação da curva. Para as detecções de Cd e Pb, os valores calculados de LD foram 0,009 e 0,006 µmol L^{-1}, respectivamente. Ao realizar a conversão dos resultados de LD para partes por bilhão (ppb, µg L^{-1}), os valores alcançados foram de 1,01 ppb (Cd) e 1,24 ppb (Pb). Esses valores de LDs apresentaram desempenho melhor quando comparados com estudos reportados recentemente por de Oliveira *et al.* [65] e Rocha *et al.* [23], que fabricaram eletrodos de CB usando uma caneta 3D e impressora convencional, respectivamente. A partir dos métodos propostos para as determinações de midazolam e ácido úrico, os valores obtidos de LD foram 0,54 e 0,71 µmol L^{-1}, respectivamente. É importante mencionar que o método analítico apresentado acima dedicado para a análise de midazolam é o primeiro na literatura empregando sensores impressos em 3D.

Cardoso *et al.* [66] desenvolveram uma célula BIA impressa em 3D integrada com eletrodo de grafeno. Os autores utilizaram detector amperométrico para analisar ácido úrico em amostras de urina e saliva. O método reportado apresentou valor de LD de 0,02 µmol L^{-1}. Quando correlatado o eletrodo proposto neste estudo com outros sensores descartáveis à base de carbono, os valores obtidos de LD para as aplicações (i, ii e iii) são semelhantes ou melhores ao relatado em outros estudos. [42,48,49] Com o intuito de assegurar que o sensor proposto pode ser utilizado para detectar os analitos mencionados acima em diferentes amostras, três estudos de recuperação foram realizados usando MP (i), bebidas (ii) e amostras de fluido biológico (iii) (Tabela 1).

Para as detecções eletroquímicas dos metais Cd e Pb em MP, a concentração obtida para Cd foi de 2,9 ± 0,5 ng m^{-3} (0,10 ± 0,02 µmol L^{-1}). O íon metálico Pb não foi detectado em MP, muito provavelmente porque a concentração estava ≤ LD. Posteriormente, a mesma amostra foi adicionada com 0,7 µmol L^{-1} (Cd) e 0,3 µmol L^{-1}

(Pb) e os valores obtidos de recuperação para Cd e Pb foram 0,77 ± 0,03 e 0,26 ± 0,02 µmol L^{-1}, respectivamente. Os valores de recuperação variaram de 87 a 95%.

Tabela 1. Detecção eletroquímica de metais potencialmente tóxicos, midazolam e ácido úrico no MP, bebidas e fluidos biológicos, respectivamente (n = 3).

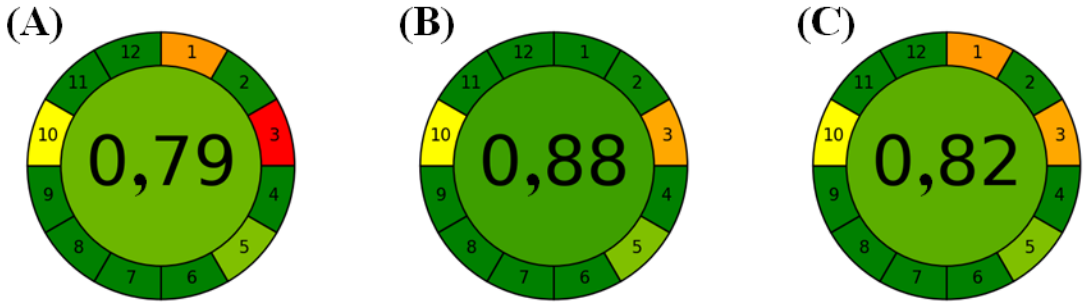
Amostra	Analito	Determinado (µmol L^{-1})	Adicionado (µmol L^{-1})	Detectado (µmol L^{-1})	Recuperação (%)
MP	Cd	0,10 ± 0,02	0,7	0,77 ± 0,03	95
	Pb	≤ LD	0,3	0,26 ± 0,02	87
Vinho	Midazolam	≤ LD	10	11,5 ± 0,2	115
Suco		≤ LD	10	8,2 ± 0,7	82
Vodka		≤ LD	10	8,1 ± 0,4	81
Urina	Ácido úrico	≤ LD	10	9,7 ± 3	97
Saliva		≤ LD	10	11,9 ± 3	119
Suor		≤ LD	10	8,2 ± 3	82

Para as análises de midazolam, amostras de vinho, suco e vodca foram adicionadas com 10 µmol L^{-1} e as concentrações obtidas foram 11,5 ± 0,2, 8,2 ± 0,7 e 8,1 ± 0,4 µmol L^{-1} para as amostras de vinho, suco e vodca, respectivamente. Os valores de recuperação variaram de 81 a 115%. Para a detecção de ácido úrico, urina artificial, saliva artificial e amostras de suor foram adicionadas com 10 µmol L^{-1}. As concentrações calculadas de ácido fólico foram 9,7 ± 3, 11,9 ± 3 e 8,2 ± 3 µmol L^{-1}, e os valores de recuperação variando de 97 a 119%.

O desempenho analítico do sensor 3D aqui proposto apresentou resultados satisfatórios para três diferentes aplicações, de acordo com a resolução normativa da agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA) Nº 166/2017, podendo ser empregado para analisar Cd e Pb em amostras de aerossóis, midazolam em bebidas populares e ácido úrico em matrizes biológicas. O impacto ambiental do uso do método analítico também foi investigado com base nas informações de metragem verde que podem ser obtidas

usando o *software* AGREE. [44] Os pictogramas coloridos juntamente com os valores calculados da metragem verde podem ser observados na Figura 13.

Figura 13. Pictograma obtido na ferramenta AGREE associado com as análises de metais (A), midazolam (B) e ácido úrico (C). Os números informados entre 1 e 12 correspondem aos 12 princípios da química analítica verde.



Fonte: Autoria própria.

Conforme demonstrado na Figura 9, os resultados calculados de metragem verde para os métodos analíticos empregados variaram entre 0,79 e 0,88. Informações AGREE com valores superiores a 0,5 sugerem que os métodos analíticos usados são ambientalmente amigáveis. Entretanto, os princípios 1 (amostragem), 3 (posicionamento do sensor) e 10 (reagentes obtidos de fontes renováveis) fazem parte dos pontos ambientais que mais precisam de melhorias.

2.5 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou com sucesso o desenvolvimento de sensores eletroquímicos impressos em 3D usando materiais híbridos termoplásticos de negro de fumo dopado em ácido polilático (PLA). O desempenho analítico foi alcançado por meio de um novo pré-tratamento envolvendo protocolo eletroquímico/Fenton para ativar os eletrodos impressos em 3D. O pré-tratamento proposto faz uso de reagentes de Fenton,

promovendo a geração de $^{\bullet}OH$ (*in situ*), que permite a degradação do excesso de PLA incorporado na superfície impressa em 3D. Essa estratégia aliada à oxidação eletroquímica na presença de ácido acético garantiu a remoção do material termoplástico e dos resíduos de Fenton.

O processo de ativação proposto ofereceu características interessantes para os sensores. Conforme destacado neste capítulo, o processo de tratamento (i) é simples e rápido; (ii) emprega reagentes de baixa toxicidade; (iii) intensifica o desempenho analítico (aumento entre 312 e 353%); (iv) proporciona uma estabilidade eletroquímica de dois meses.

O sensor 3D foi usado para a detecção de metais potencialmente tóxicos em amostra de aerossol atmosférico, midazolam em bebidas populares e ácido úrico em fluidos biológicos. E os resultados obtidos revelaram aceitável sensibilidade para as aplicações demonstradas. Por fim, o sensor é totalmente impresso em 3D, miniaturizado e as metodologias analíticas descritas são ambientalmente amigáveis de acordo com a ferramenta AGREE. Desta forma, o sensor impresso em 3D pode ser utilizado em diversas aplicações eletroanalíticas devido ao desempenho promissor em termos de estabilidade, sensibilidade e reprodutibilidade.

2.6 REFERÊNCIAS

[1] B.C. Gross, J.L. Erkal, S.Y. Lockwood, C. Chen, D.M. Spence, Evaluation of 3D Printing and Its Potential Impact on Biotechnology and the Chemical Sciences, Analytical Chemistry. (2014) 3240–3253. https://doi.org/10.1021/ac403397r.

[2] T.D. Ngo, A. Kashani, G. Imbalzano, K.T.Q. Nguyen, D. Hui, Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges, Composites Part B: Engineering. 143 (2018) 172–196. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.02.012.

[3] G.D.O. Neil, Toward single-step production of functional electrochemical devices using 3D printing : Progress , challenges , and opportunities, Current Opinion in Electrochemistry. 20 (2020) 60–65. https://doi.org/10.1016/j.coelec.2020.02.023.

[4] B. Gross, S.Y. Lockwood, D.M. Spence, Recent advances in analytical chemistry by 3D printing, Analytical Chemistry. 89 (2017) 57–70. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04344.

[5] X. Wang, M. Jiang, Z. Zhou, J. Gou, D. Hui, 3D printing of polymer matrix composites : A review and prospective, Composites Part B. 110 (2017) 442–458. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2016.11.034.

[6] V. Katseli, A. Economou, C. Kokkinos, Single-step fabrication of an integrated 3D-printed device for electrochemical sensing applications, Electrochemistry Communications. 103 (2019) 100–103. https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.05.008.

[7] A. Lambert, S. Valiulis, Q. Cheng, Advances in Optical Sensing and Bioanalysis Enabled by 3D Printing, ACS Sensors. 3 (2018) 2475–2491. https://doi.org/10.1021/acssensors.8b01085.

[8] X. Min, C. Bao, W.S. Kim, Additively Manufactured Digital Microfluidic Platforms for Ion-Selective Sensing, ACS Sensors. 4 (2019) 918–923. https://doi.org/10.1021/acssensors.8b01689.

[9] C. Parra-cabrera, C. Achille, S. Kuhn, R. Ameloot, C. Parra-cabrera, 3D printing in chemical engineering and catalytic technology: structured catalysts, mixers and reactors Cesar, Chem. Soc. Rev. 47 (2018) 209–230. https://doi.org/10.1039/c7cs00631d.

[10] A. Ambrosi, M. Pumera, 3D-printing technologies for electrochemical applications, Chemical Society Reviews. 45 (2016) 2740–2755. https://doi.org/10.1039/c5cs00714c.

[11] A.A. Dias, C.L.S. Chagas, H.A. Silva-Neto, E.O. Lobo-Junior, L.F. Sgobbi, W.R. de Araujo, T.R.L.C. Paixaõ, W.K.T. Coltro, Environmentally Friendly Manufacturing of Flexible Graphite Electrodes for a Wearable Device Monitoring Zinc in Sweat, ACS Applied Materials and Interfaces. 11 (2019) 39484–39492. https://doi.org/10.1021/acsami.9b12797.

[12] V. Katseli, A. Economou, C. Kokkinos, A novel all-3D-printed cell-on-a-chip device as a useful electroanalytical tool: Application to the simultaneous voltammetric determination of caffeine and paracetamol, Talanta. 208 (2020) 120388. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120388.

[13] J.L. Erkal, A. Selimovic, B.C. Gross, S.Y. Lockwood, E.L. Walton, S. Mcnamara, R. Scott, D.M. Spence, 3D printed microfluidic devices with integrated versatile and reusable electrodes, Lab on a Chip. 14 (2014) 2023–2032. https://doi.org/10.1039/c4lc00171k.

[14] S. Waheed, J.M. Cabot, N.P. Macdonald, T. Lewis, R.M. Guijt, B. Paull, M.C. Breadmore, 3D printed microfluidic devices: Enablers and barriers, Lab on a Chip. 16 (2016) 1993–2013. https://doi.org/10.1039/c6lc00284f.

[15] R.M. Cardoso, C. Kalinke, R.G. Rocha, P.L. dos Santos, D.P. Rocha, P.R. Oliveira, B.C. Janegitz, J.A. Bonacin, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Additive-manufactured (3D-printed) electrochemical sensors: A critical review, Analytica Chimica Acta. 1118 (2020) 73–91. https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.03.028.

[16] M.P. Browne, F. Novotny, Z. Sofer, M. Pumera, 3D Printed Graphene Electrodes ' Electrochemical Activation˘, ACS Applied Materials and Interfaces. (2018). https://doi.org/10.1021/acsami.8b14701.

[17] V.A.O.P. Silva, W.S. Fernandes-Junior, D.P. Rocha, J.S. Stefano, R.A.A. Munoz, J.A. Bonacin, B.C. Janegitz, 3D-printed reduced graphene oxide/polylactic acid electrodes: A new prototyped platform for sensing and biosensing applications, Biosensors and Bioelectronics. 170 (2020). https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112684.

[18] A.M. López Marzo, C.C. Mayorga-Martinez, M. Pumera, 3D-printed graphene direct electron transfer enzyme biosensors, Biosensors and Bioelectronics. 151 (2020). https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111980.

[19] L.C. Duarte, C.L.S. Chagas, L.E.B. Ribeiro, W.K.T. Coltro, 3D printing of microfluidic devices with embedded sensing electrodes for generating and measuring the size of microdroplets based on contactless conductivity detection, Sensors and Actuators, B: Chemical. 251 (2017) 427–432. https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.05.011.

[20] K. Gnanasekaran, T. Heijmans, S. van Bennekom, H. Woldhuis, S. Wijnia, 3D printing of CNT- and graphene-based conductive polymer nanocomposites by fused deposition modeling, Applied Materials Today. 9 (2017) 21–28. https://doi.org/10.1016/j.apmt.2017.04.003.

[21] V. Katseli, N. Thomaidis, A. Economou, C. Kokkinos, Chemical Miniature 3D-printed integrated electrochemical cell for trace voltammetric Hg (II) determination, Sensors & Actuators: B. Chemical. 308 (2020) 127715. https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127715.

[22] A. Abdalla, H.H. Hamzah, O. Keattch, D. Covill, B.A. Patel, Augmentation of conductive pathways in carbon black / PLA 3D-printed electrodes achieved through varying printing parameters, Electrochimica Acta. 354 (2020) 136618. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136618.

[23] D.P. Rocha, L. Squissato, S.M. Silva, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Improved electrochemical detection of metals in biological samples using 3D-printed electrode : Chemical / electrochemical treatment exposes carbon-black conductive sites, Electrochimica Acta. 335 (2020) 1–11. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.135688.

[24] E.M. Richter, D.P. Rocha, R.M. Cardoso, E.M. Keefe, C.W. Foster, R.A.A. Munoz, C.E. Banks, Complete Additively Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensing Platform, Analytical Chemistry. 91 (2019) 12844–12851. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02573.

[25] Z. Rymansaib, P. Iravani, E. Emslie, M. Medvidović-Kosanović, M. Sak-Bosnar, R. Verdejo, F. Marken, All-Polystyrene 3D-Printed Electrochemical Device with Embedded Carbon Nanofiber-Graphite-Polystyrene Composite Conductor, Electroanalysis. 28 (2016) 1517–1523. https://doi.org/10.1002/elan.201600017.

[26] A. Ambrosi, J. Guo, S. Moo, M. Pumera, Helical 3D-Printed Metal Electrodes as Custom-Shaped 3D Platform for Electrochemical Devices, Advanced Functional Materials. (2016) 698–703. https://doi.org/10.1002/adfm.201503902.

[27] F. Arduini, S. Cinti, V. Mazzaracchio, V. Scognamiglio, A. Amine, D. Moscone, Carbon black as an outstanding and affordable nanomaterial for electrochemical (bio) sensor design, Biosensors and Bioelectronics. 156 (2020) 112033. https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112033.

[28] F. Arduini, D. Nardo, A. Amine, L. Micheli, G. Palleschi, D. Moscone, Carbon Black-Modified Screen-Printed Electrodes as Electroanalytical Tools, Electroanalysis. 24 (2012) 743–751. https://doi.org/10.1002/elan.201100561.

[29] E.J. Carrasco-correa, E.F. Simó-alfonso, J. Manuel, M. Miró, The emerging role of 3D printing in the fabrication of detection systems, Trends in Analytical Chemistry. (2020) 116177. https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116177.

[30] C.L.M. Palenzuela, M. Pumera, (Bio) Analytical chemistry enabled by 3D printing : Sensors and biosensors, TrAC - Trends in Analytical ChemistryTrends in Analytical Chemistry. 103 (2018) 110–118. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.03.016.

[31] P.L. Santos, V. Katic, H.C. Loureiro, M.F. Santos, D.P. Santos, A.L.B. Formiga, J.A. Bonacin, Chemical Enhanced performance of 3D printed graphene electrodes after electrochemical pre-treatment : Role of exposed graphene sheets, Sensors & Actuators: B. Chemical. 281 (2019) 837–848. https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.11.013.

[32] C.L.M. Palenzuela, F. Novotny, P. Krupička, Z. Sofer, M. Pumera, 3D-Printed Graphene/Polylactic Acid Electrodes Promise High Sensitivity in Electroanalysis, Analytical Chemistry. (2018) 5753–5757. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00083.

[33] R. Gusmão, M.P. Browne, Z. Sofer, M. Pumera, The capacitance and electron transfer of 3D-printed graphene electrodes are dramatically influenced by the type of solvent used for pre-treatment, Electrochemistry Communications. 102 (2019) 83–88. https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.04.004.

[34] R.M. Cardoso, D.M.H. Mendonça, W.P. Silva, M.N.T. Silva, E. Nossol, R.A.B. da Silva, E.M. Richter, R.A.A. Muñoz, 3D printing for electroanalysis: From multiuse electrochemical cells to sensors, Analytica Chimica Acta. 1033 (2018) 49–57. https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.021.

[35] G.D.O. Neil, S. Ahmed, K. Halloran, J.N. Janusz, A. Rodríguez, I.M.T. Rodríguez, Single-step fabrication of electrochemical flow cells utilizing multi-material 3D printing, Electrochemistry Communications. 99 (2019) 56–60. https://doi.org/10.1016/j.elecom.2018.12.006.

[36] J. Alves, Comparison of activation processes for 3D printed PLA-graphene electrodes: electrochemical properties and application for sensing of dopamine†, Analyst. 145 (2020) 1207–1218. https://doi.org/10.1039/c9an01926j.

[37] F. Novotny, V. Urbanova, J. Plutnar, M. Pumera, Preserving Fine Structure Details and Dramatically Enhancing Electron Transfer Rates in Graphene 3D-Printed Electrodes via Thermal Annealing: Toward Nitroaromatic Explosives Sensing, ACS Applied Materials and Interfaces. (2019) 35371–35375. https://doi.org/10.1021/acsami.9b06683.

[38] C.L. Manzanares-Palenzuela, S. Hermanova, Z. Sofer, M. Pumera, Proteinase-sculptured 3D-printed graphene/polylactic acid electrodes as potential biosensing platforms: Towards enzymatic modeling of 3D-printed structures, Nanoscale. 11 (2019) 12124–12131. https://doi.org/10.1039/c9nr02754h.

[39] D.P. Rocha, V.N. Ataide, A. de Siervo, J.M. Gonçalves, R.A.A. Muñoz, T.R.L.C. Paixão, L. Angnes, Reagentless and sub-minute laser-scribing treatment to produce enhanced disposable electrochemical sensors via additive manufacture, Chemical Engineering Journal. 425 (2021) 1–12. https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.130594.

[40] M.J. Glowacki, M. Cieslik, M. Sawczak, A. Koterwa, I. Kaczmarzyk, R. Jendrzejewski, L. Szynkiewicz, T. Ossowski, R. Bogdanowicz, P. Niedzialkowski, J. Ryl, Helium-assisted, solvent-free electro-activation of 3D printed conductive carbon-polylactide electrodes by pulsed laser ablation, Applied Surface Science. 556 (2021) 149788. https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2021.149788.

[41] H.J.H. Fenton, 16 Oxidation of Tartatic Acid in Presence of Iron, Journal of the Chemical Society, Transactions. 65 (1894) 899–910.

[42] Y. Panahi, A. Motaharian, M.R.M. Hosseini, O. Mehrpour, 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. 273 (2018) 1579–1586. https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.07.069.

[43] X. Zhang, Y.C. Zhang, L.X. Ma, One-pot facile fabrication of graphene-zinc oxide composite and its enhanced sensitivity for simultaneous electrochemical detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid, Sensors and Actuators, B: Chemical. 227 (2016) 488–496. https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.12.073.

[44] F. Pena-Pereira, W. Wojnowski, M. Tobiszewski, AGREE - Analytical GREEnness Metric

Approach and Software, Anal Chem. 92 (2020) 10076–10082. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01887.

[45] Silva-Neto, H. A.; Santhiago, M.; Duarte, L. C.; Coltro, W. K. T. Fully 3D Printing of Carbon Black-Thermoplastic Hybrid Materials and Fast Activation for Development of Highly Stable Electrochemical Sensors. Sens Actuators B Chem. *349* (2021**)** 130721. https://doi.org/10.1016/J.SNB.2021.130721.

[46] R. MacIel, G.L. Sant'Anna, M. Dezotti, Phenol removal from high salinity effluents using Fenton's reagent and photo-Fenton reactions, Chemosphere. 57 (2004) 711–719. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.07.032.

[47] H.A. Silva-Neto, T.M.G. Cardoso, W.K.T. Coltro, R.C. Urban, Determination of bioavailable lead in atmospheric aerosols using unmodified screen-printed carbon electrodes, Analytical Methods. 11 (2019) 4875–4881. https://doi.org/10.1039/c9ay01301f.

[48] J. Kim, S. Imani, W.R. de Araujo, J. Warchall, G. Valdés-Ramírez, T.R.L.C. Paixão, P.P. Mercier, J. Wang, Wearable salivary uric acid mouthguard biosensor with integrated wireless electronics, Biosensors and Bioelectronics. 74 (2015) 1061–1068. https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.07.039.

[49] A.A. Dias, T.M.G. Cardoso, C.L.S. Chagas, V.X.G. Oliveira, R.A.A. Munoz, C.S. Henry, M.H.P. Santana, T.R.L.C. Paixão, W.K.T. Coltro, Detection of Analgesics and Sedation Drugs in Whiskey Using Electrochemical Paper-based Analytical Devices, Electroanalysis. 30 (2018) 2250–2257. https://doi.org/10.1002/elan.201800308.

[50] R.S. Nicholson, I. Shain, Theory of Stationary Electrode Polarography Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible , Irreversible , and Kinetic Systems, Analytical Chemistry. 36 (1964) 706–723. https://doi.org/10.1021/ac60210a007.

[51] I. Lavagnini, R. Antiochia, F. Magno, An Extended Method for the Practical Evaluation of the Standard Rate Constant from Cyclic Voltammetric Data, Electroanalysis. 16 (2004) 505–506. https://doi.org/10.1002/elan.200302851.

[52] A. Babuponnusami, K. Muthukumar, A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment, Journal of Environmental Chemical Engineering. 2 (2014) 557–572. https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.10.011.

[53] R.L. McCreery, Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry, Chemical Reviews. 108 (2008) 2646–2687. https://doi.org/10.1021/cr068076m.

[54] P. Chen, R.L. McCreery, Control of Electron Transfer Kinetics at Glassy Carbon Electrodes by Specific Surface Modification, Analytical Chemistry. 68 (1996) 3958–3965. https://doi.org/10.1021/ac960492r.

[55] M. Santhiago, M. Strauss, M.P. Pereira, A.S. Chagas, C.C.B. Bufon, Direct Drawing Method of Graphite onto Paper for High-Performance Flexible Electrochemical Sensors, ACS Applied Materials and Interfaces. 9 (2017) 11959–11966. https://doi.org/10.1021/acsami.6b15646.

[56] T. Palomäki, N. Wester, L. Johansson, M. Laitinen, H. Jiang, K. Arstila, T. Sajavaara, J.G. Han, J. Koskinen, T. Laurila, Characterization and Electrochemical Properties of Oxygenated Amorphous Carbon (a-C) Films, Electrochimica Acta. 220 (2016) 137–145. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.10.063.

[57] L. Bokobza, J. Bruneel, M. Couzi, Raman spectroscopic investigation of carbon-based materials and their composites. Comparison between carbon nanotubes and carbon black, Chemical Physics Letters. 590 (2013) 153–159. https://doi.org/10.1016/j.cplett.2013.10.071.

[58] C.H.A. Wong, A. Ambrosi, M. Pumera, Thermally reduced graphenes exhibiting a close relationship to amorphous carbon, Nanoscale. 4 (2012) 4972–4977. https://doi.org/10.1039/c2nr30989k.

[59] K.J. Klunder, Z. Nilsson, J.B. Sambur, C.S. Henry, Patternable Solvent-Processed Thermoplastic Graphite Electrodes, Journal of the American Chemical Society. 132 (2017) 12623–12631. https://doi.org/10.1021/jacs.7b06173.

[60] A.N. Mohan, B. Manoj, A. v. Ramya, Probing the nature of defects of graphene like nano-carbon from amorphous materials by raman spectroscopy, Asian Journal of Chemistry. 28 (2016) 1501–1504. https://doi.org/10.14233/ajchem.2016.19739.

[61] L.G. Caṇado, K. Takai, T. Enoki, M. Endo, Y.A. Kim, H. Mizusaki, A. Jorio, L.N. Coelho, R. Magalhães-Paniago, M.A. Pimenta, General equation for the determination of the crystallite size la of nanographite by Raman spectroscopy, Applied Physics Letters. 88 (2006) 1–4. https://doi.org/10.1063/1.2196057.

[62] F. Hof, K. Kampioti, K. Huang, P. Poulin, H. Yusof, T. White, K. Koziol, A. Derr, C. Paukner, P. Alain, Conductive inks of graphitic nanoparticles from a sustainable carbon feedstock, Carbon. 111 (2017) 142–149. https://doi.org/10.1016/j.carbon.2016.09.052.

[63] J.E.B. Randles, A cathode ray polarograph. part 11.-the current-voltage curves, (1947).

[64] J. Mehta, S.K. Bhardwaj, N. Bhardwaj, A.K. Paul, P. Kumar, K.H. Kim, A. Deep, Progress in the biosensing techniques for trace-level heavy metals, Biotechnology Advances. 34 (2016) 47–60. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.001.

[65] F.M. de Oliveira, E.I. de Melo, R.A.B. da Silva, 3D Pen: A low-cost and portable tool for manufacture of 3D-printed sensors, Sensors and Actuators, B: Chemical. 321 (2020) 128528. https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128528.

[66] R.M. Cardoso, P.R.L. Silva, A.P. Lima, D.P. Rocha, T.C. Oliveira, T.M. do Prado, E.L. Fava, O. Fatibello-Filho, E.M. Richter, R.A.A. Muñoz, 3D-Printed graphene/polylactic acid electrode for bioanalysis: Biosensing of glucose and simultaneous determination of uric acid and nitrite in biological fluids, Sensors and Actuators, B: Chemical. 307 (2020) 127621. https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127621.

CAPÍTULO 3

IMPRESSÃO 3D DE CÉLULA BIA INTEGRADA COM MÚLTIPLOS ELETRODOS DE NEGRO DE FUMO

RESUMO

Este capítulo descreve a impressão em 3D de um sistema analítico completo e portátil composto por uma plataforma eletroquímica integrada com oito sensores. O aparato analítico desenvolvido apresenta um formato de uma célula BIA e pode ser fabricado em aproximadamente 3,4 h usando uma impressora multimaterial. A construção da plataforma analítica ocorreu usando filamentos termoplásticos diferentes contendo propriedades isolantes, flexíveis e condutores ao custo de ~ 1,2 USD, por unidade. A célula BIA foi utilizada mantendo a solução sob agitação a 80 rpm, velocidade de dispensação de 9,0 µL s^{-1} e volume de injeção de 2,0 µL. A prova de conceito do dispositivo para aplicações bioanalíticas foi avaliada usando adrenalina (ADR) como analito alvo. O sistema analítico forneceu desempenho analítico adequado em termos de repetibilidade e reprodutibilidade (DPR ≤ 6%), faixa de concentração linear (5 a 40 µmol L^{-1}; R^2 = 0,99), limite de detecção (0,61 µmol L^{-1}) e frequência analítica (494 ± 13 h^{-1}). Amostras de urina artificial foram dopadas com três concentração diferentes de ADR e os resultados alcançados para o estudo de recuperação variaram de 87 a 118%. As análises de ADR em urina usando o sistema proposto também apresentaram apreciável desempenho ambiental, considerando os 12 princípios da química analítica verde. Com base nos desempenhos analítico e ecológico apresentados neste capítulo, o dispositivo analítico totalmente impresso em 3D pode ser uma ferramenta versátil para diferentes análises eletroquímicas.

3.1 INTRODUÇÃO

A revolução tecnológica da modelagem digital e da fabricação assistida por computador permitiu a popularização da impressão 3D aditiva. [1–3] Este método pode oferecer vantagens interessantes como instrumentação de baixo custo (custo entre 200 - 3.000 USD), fidelidade entre o valor planejado e o real observado após a impressão (90 - 98%), simplicidade operacional e possibilidade de combinar diferentes opções de filamentos. [8, 9] Nos últimos anos, filamentos à base de metais, polímeros e carbono com propriedades químicas, mecânicas e elétricas relevantes, como baixa toxicidade, flexibilidade e resistividade (≤ 15 ohm cm), tornaram-se disponíveis comercialmente. [10-12]

A implementação da impressão 3D na área da Instrumentação Analítica vem alcançando resultados positivos, principalmente dentro das divisões de preparo de amostra e química analítica, por exemplo.[13-18] Estudos recentes vêm demostrando que tanto dispositivos miniaturizados para extração em fase sólida, [19] misturadores de soluções, [20,[21] suportes para espectrometria de massa, [22] separações analíticas, [23, 24] bem como sensores colorimétricos [25] e eletroquímicos [10] podem ser manufaturados utilizando o método de impressão 3D. Os sensores eletroquímicos 3D têm sido uma das opções mais interessantes devido a disponibilidade de diferentes modelos de filamentos condutores, mínimo requisito instrumental e satisfatório desempenho analítico. [11, 12, 16, 26] O uso de sensores em conjunto com a injeção da amostra em fluxo (do inglês *flow injection analysis*, FIA) e injeção em batelada (do inglês *batch injection analysis*, BIA) permite que seja adicionado a célula eletroquímica menores volumes de amostras (da ordem de nL – µL) com reprodutibilidade satisfatória, baixa interferência envolvendo a evaporação da amostra, renovação da superfície eficiente, múltiplas análises e obtenção rápida de respostas eletroquímicas. [27–29] Quando

comparado ao modulo FIA, os sistemas BIA associados a micropipetas eletrônicas podem assegurar melhor desempenho analítico, uma vez que não apresentam problemas como vazamento de solução e presença de bolhas. [28, 30–32]

Em relação aos eletrodos frequentemente integrados às células BIA, Tormin *et al.* [38] relataram o primeiro estudo que combina uma célula BIA com eletrodos alternativos de carbono que foram manufaturados via técnica de serigrafia (do inglês *screen-printed carbon electrodes*, SPCE). O sistema analítico apresentado acima foi desenvolvido com o objetivo de minimizar os problemas de vazamento de solução e presença de bolhas. Os autores demonstraram com sucesso a detecção eletroquímica de diclofenaco, peróxido de hidrogênio e metais potencialmente tóxicos.

Nos últimos cinco anos, diferentes autores exploraram a impressão 3D para criar células BIA-3D [39–41] integradas com eletrodos comerciais [32] ou também impressos em 3D, [40] como referência (ER), auxiliar (EA) e trabalho (ET) usando filamentos à base de acrilonitrila-butadieno-estireno (ABS), ácido polilático (PLA) e PLA dopados com negro de fumo (CB/PLA) ou grafeno. [17, 42] Recentemente, Richter *et al.* [41] projetou uma arquitetura interessante de BIA-3D que pode ser acoplada a diferentes exemplares de eletrodos ER, EA e ET. Esses segmentos plásticos foram construídos usando impressora em modo FDM e dois filamentos (PLA e CB/PLA). O desempenho analítico da plataforma foi avaliado por meio da análise voltamétrica de dopamina. Entretanto, é importante mencionar que foi utilizado um componente adicional (anel de borracha) não impresso em 3D, com a finalidade de assegurar a vedação da célula BIA e delimitar a região da área geométrica do ET. [41, 43] Além disso, a utilização de impressão 3D voltada para construir sistema BIA-3D totalmente integrado com múltiplos eletrodos ainda é pouco explorado na literatura.

Neste capítulo, relatamos pela primeira vez a fabricação de uma célula BIA impressa em 3D acoplada com oito diferentes regiões direcionadas para detecções eletroquímicas. O dispositivo analítico foi construído utilizando impressora 3D em modo multimaterial. E os segmentos da célula BIA podem ser rapidamente montados/desmontados através da estratégia de rosqueamento. A célula impressa em 3D contém eletrodos de CB/PLA (ET, EA e ER) e foi ativada por meio da combinação entre degradação de Fenton e oxidação eletroquímica, conforme relatado recentemente. [44]

A plataforma analítica associada à detecção amperométrica (BIA-DA) foi empregada para analisar adrenalina (ADR) em amostras de urina artificial. É importante mencionar que a ADR é uma substância neural e hormonal do grupo das catecolaminas. Sua presença no organismo humano pode estar associada a importantes funções biológicas como vasoconstrição, frequência cardíaca e regulação da pressão arterial. [45-47] O impacto ambiental do método analítico desenvolvido também foi investigando, segundos os princípios da química analítica verde (do inglês *Green Analytical Chemistry*, GAC).

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo Geral

- Fabricar uma célula BIA totalmente integrada com oito sensores eletroquímicos empregando a técnica de impressão em 3D e desenvolver um método analítico para detectar adrenalina em amostra de urina.

3.2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um projeto 3D e o fatiamento digital de uma plataforma analítica contendo múltiplos eletrodos.
- Fabricar a célula BIA empregando impressora 3D e filamentos de CB/PLA, PLA e PLA-flexível.
- Ativar a superfície dos eletrodos usando a reação de Fenton e otimizar os parâmetros operacionais da célula BIA.
- Desenvolver um método analítico usando técnica amperométrica para analisar adrenalina em amostra de urina artificial.
- Avaliar o impacto ambiental do método proposto usando a ferramenta AGREE.

3.3 SEÇÃO EXPERIMENTAL

3.3.1 Reagentes e materiais

Adrenalina (ADR), ácido acético, sulfato de amônio ferro(II) hexahidratado, ácido bórico, óxido de grafeno (OG), glicose oxidase (Aspergillus niger, 181 U mg^{-1}) (GOx), ácido clorídrico, peróxido de hidrogênio, cloreto de potássio, ácido fosfórico, hexacianoferrato(II) de potássio trihidratado, hexacianoferrato(III) de potássio, hidróxido de sódio, fosfato de sódio dibásico, fosfato de sódio monobásico e paracetamol foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EUA). Os reagentes foram usados sem prévio tratamento ou purificação. As soluções utilizadas foram preparadas usando água ultrapura, com características conforme apresentado no capítulo 2 (seção 2.3.1). Os filamentos termoplásticos utilizados (PLA e PLA-flex, Ø = 1,75 mm) foram adquiridos da 3DFila (Belo Horizonte, MG, Brasil). O filamento condutivo utilizado (CB/PLA) é do mesmo fornecedor que está apresentado no capítulo 2 (seção 2.3.1). Uma cabine portátil de LED (7 W) e uma caneta de tinta de prata foram adquiridas da Kiss NY Pro (Nova York, EUA) e MG Chemicals (Burlington, ON, Canadá), respectivamente.

3.3.2 Instrumentação

Os experimentos eletroquímicos foram realizados usando o mesmo aparato disposto no capítulo 2 (2.3.2). Para completar o sistema de detecção, a célula BIA foi combinada com uma micropipeta eletrônica modelo *E3 Combitips® advanced* equipada com dispensador plástico de 100 µL adquirida da Eppendorf (Hamburgo, Alemanha). A distância entre a ponta da micropipeta e a superfície do ET da célula eletroquímica foi fixada em ~ 2 mm. [21,23,28] Todos os experimentos eletroquímicos foram realizados em temperatura ambiente (25 ± 2ºC).

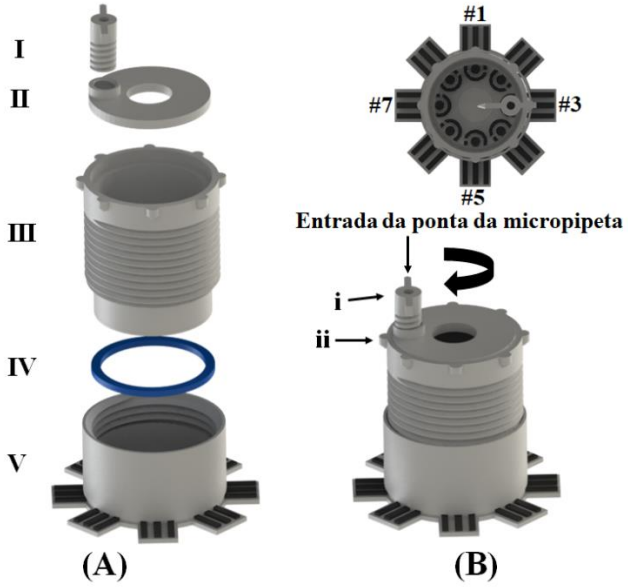
3.3.3 Impressão 3D, integração e ativação dos eletrodos

O projeto da célula BIA foi desenvolvido contendo oito sensores eletroquímicos integrados usando o mesmo *software* e impressora que estão descritos no capítulo 2 (seção 2.3.3). Cada sensor eletroquímico foi projetado em um arranjo convencional de três eletrodos, incluindo ET, ER e EA. O design e a montagem das peças individuais da célula BIA estão ilustrados no esquema da Figura 10. Para o processo de impressão, o arquivo *STL* foi convertido em arquivo *GCODE* através do uso do *software PrusaSlicer*. O método de fabricação do BIA foi realizado com base no processo FDM [10] selecionando os valores de temperatura do bico e da mesa em 230 ºC e 60 ºC, respectivamente.

A montagem dos principais segmentos do dispositivo 3D foi baseada na estratégia rosqueamento, conforme ilustrado na Figura 10. Primeiramente, os segmentos I e II são rosqueados formando a região desejada para inserir a ponta de micropipeta. Com base neste componente, é possível selecionar a melhor distância entre a ponta da seringa e ET. Posteriormente, as partes destacadas III, IV e V são montadas, formando a célula totalmente impressa em 3D integrada com oito sensores eletroquímicos. É importante ressaltar que o segmento IV (PLA-flexível) foi prensado entre as peças III e V durante a etapa de rosqueamento manual, assegurando a vedação do sistema BIA.

Para selecionar um sensor impresso em 3D, a ponta da micropipeta foi inserida na célula BIA e os segmentos (i) e (ii) foram então alinhados. A etapa mencionada acima é baseada em uma rotação no sentido horário, e permite que seja possível selecionar oito sensores diferentes dentro da mesma plataforma analítica (Figura 14).

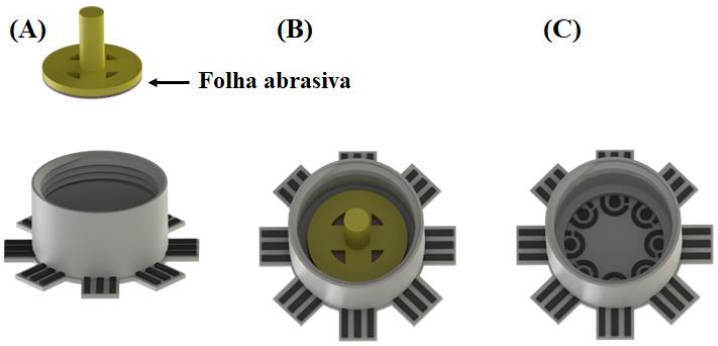
Figura 14. Esquema ilustrativo demostrando a montagem da célula BIA impressa em 3D com eletrodos integrados. (A) (I) adaptador para micropipeta, (II) tampa superior, (III) corpo da célula, (IV) anel impresso flexível, (V) corpo da célula com múltiplos eletrodos integrados; (B) vista superior da célula impressa em 3D e mecanismo para selecionar os eletrodos com base no alinhamento entre as partes (i) e (ii).



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [48] com permissão.

Para melhorar o desempenho eletroquímico, as superfícies de todos os eletrodos foram ativadas usando em sequência os métodos: (i) polimento mecânico usando folhas de lixa número 280 e 1500 que foram fixadas em uma peça impressa em 3D (Figura 15). (ii) A reação com os reagentes de Fenton e (iii) oxidação eletroquímica, conforme apresentado no capítulo 2 (seção 2.3.3). Em seguida, o ER foi pintado com tinta Ag.

Figura 15. Representação esquemática do método de polimento. (A) folha de lixa impregnada em objeto impresso; (B) polimento das superfícies dos eletrodos com base na rotação no sentido horário; (C) superfície impressa após o método de polimento.



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [48] com permissão.

3.3.4 Experimentos eletroquímicos usando a célula BIA

Os estudos de otimização das condições operacionais incluindo agitação, velocidade de injeção e volume de injeção foram realizados utilizando uma sonda redox $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ 1,0 mmol L^{-1} preparado em KCl 0,1 mol L^{-1}. Para realizar os experimentos eletroquímicos, uma alíquota de 40 mL de eletrólito suporte (KCl 0,1 mol L^{-1}) foi adicionado dentro da célula BIA. O potencial de 0,25 V *vs* CB/PLA foi usado no sistema BIA para realizar a detecção amperométrica. As medidas eletroquímicas ocorreram na ausência e presença de agitação a 80 rpm. Os parâmetros de detecção, velocidade de injeção e o volume de injeção foram otimizados usando as faixas entre 8,5 µL s^{-1} - 22 µL s^{-1} e 1 µL - 5 µL, respectivamente. Ambos os parâmetros foram avaliados mantendo constante a agitação (80 rpm).

Para efetuar a análise de ADR, as amostras foram injetadas após ter assegurado a estabilização da linha de base no cronoamperograma, aplicando um potencial de 0,4 V *vs* Ag. Soluções padrão de ADR foram preparadas em PBS 0,1 mol L^{-1} (pH 7,2) contendo 0,1 mol L^{-1} de KCl [46]. Para realizar o estudo de adição e recuperação, amostras de urina artificial foram dopadas com soluções de ADR em três níveis de concentração (10, 20 e 30 µmol L^{-1}). Para realizar o experimento, as amostras de urina foram preparadas na proporção de 1:1 (solução padrão:urina artificial). O método usado para preparar as amostras de urina artificial foi adaptado de acordo com outro protocolo descrito na literatura [51]. O *software* AGREE foi empregado com o objetivo de calcular a pontuação ecológica da análise de ADR em urina.

3.3.5 Caracterização morfológica

Os materiais termoplásticos (PLA, CB/PLA e PLA-Flex) empregues para desenvolver a célula BIA foram caracterizados utilizando a técnica de MEV. A descrição da instrumentação utilizada para o estudo de MEV é a mesma apresentada no capítulo 2 (seção 2.3.5). O estudo morfológico foi realizado capturando imagens da superfície do ET, por entre as camadas de CB/PLA e para as interfaces de PLA, PLA-Flex e Ag integradas à parede da célula BIA.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

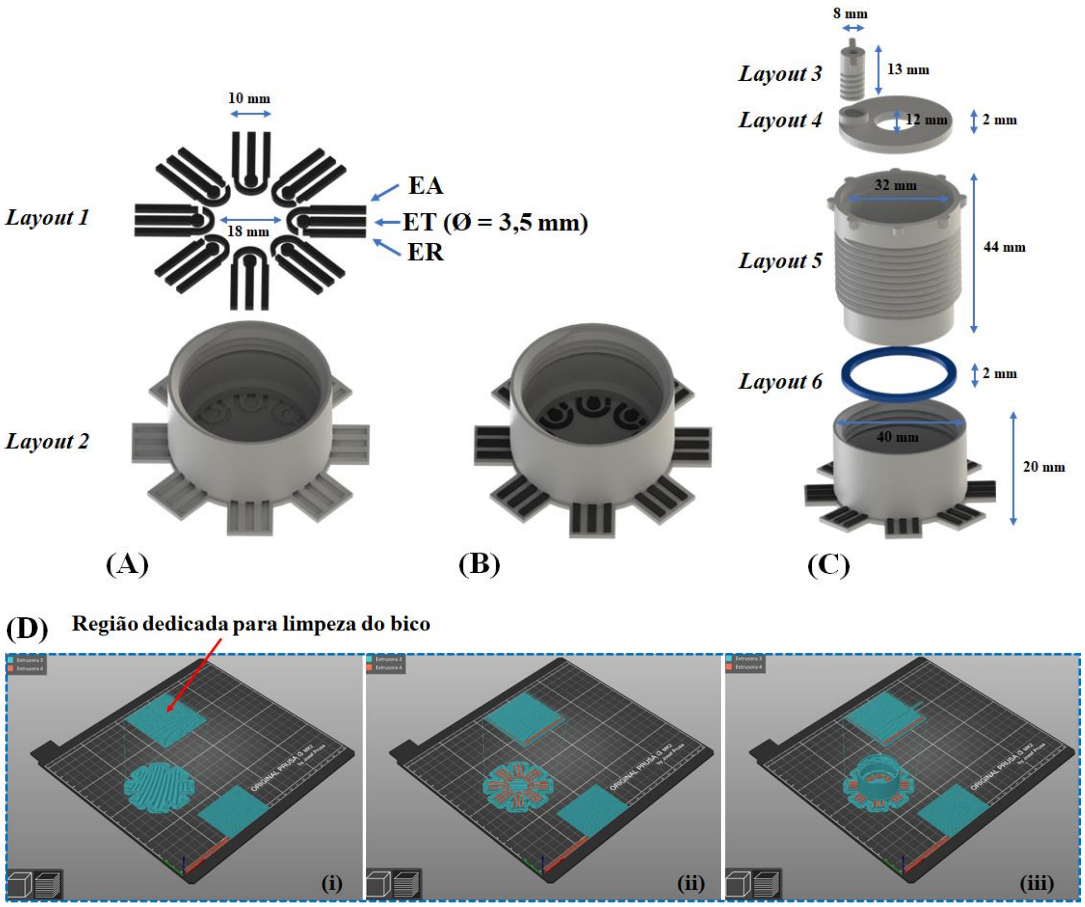
3.4.1 Fabricação da plataforma analítica integrada com múltiplos eletrodos

O uso da tecnologia de impressão 3D tem sido amplamente empregado para a fabricação de dispositivos analíticos portáteis [51, 52]. Uma impressora 3D pode ser equipada com filamentos termoplásticos condutores e não condutores, possibilitando que seja construído diversos sistemas analíticos, tais como uma célula BIA [40]. Recentemente, os sistemas BIA-3D que são reportados na literatura fazem uso de apenas uma célula eletroquímica integrada. O grupo Richter e Muñoz, por exemplo, reportou a fabricação de um BIA contendo eletrodos ER, EA e ET impressos em 3D [40, 41]. As impressoras 3D equipadas com multi filamentos permitem o uso de filamentos termoplásticos condutores, isolantes e flexíveis, tornando possível a fabricação de dispositivos analíticos integrado com múltiplos eletrodos. Entretanto, acredita-se que as etapas de modelagem e fatiamento do projeto 3D possam ser os principais obstáculos para desenvolver sensores dessa natureza.

Desta forma, o protocolo atual propõe a impressão de uma célula BIA integrada com múltiplos eletrodos. Para o desenvolvimento do projeto 3D do sensor, a modelagem

das estruturas condutora e isolante foram construídas separadamente, conforme ilustrado na Figura 16. Outro fato importante para mencionar é que durante o fatiamento do projeto 3D, os *layouts* 1 e 2 precisam ser alinhados cuidadosamente, evitando a presença de fendas. A presença de fendas na etapa mencionada acima poderá ocasionar o surgimento de irregularidades entre as camadas plásticas que são obtidas após a impressão, aumentando as chances de ocorrer escoamento de líquidos quando a célula BIA estiver em uso.

Figura 16. *Layouts* da célula BIA. (A) Segmentos 1 e 2 antes da combinação no *software* de modelagem; (B) segmento celular do corpo combinado com múltiplos eletrodos; (C) dimensões dos segmentos impressos em 3D; (D) Três momentos diferentes (i, ii e iii) demostrando o fatiamento da fabricação do segmento central da célula BIA (*Layouts* 1 e 2).



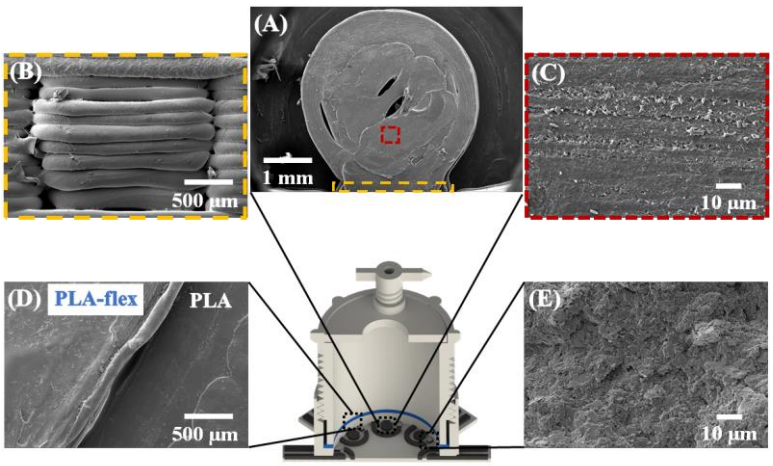
Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [48] com permissão.

É importante destacar também que a célula impressa em 3D pode ser montada/desmontada rapidamente explorando uma estratégia de rosqueamento. No geral, a estratégia proposta torna a montagem rápida, prática e simples. Além disso, abre oportunidades para permitir múltiplas análises eletroquímicas sem a necessidade de remover toda a solução da célula BIA. A plataforma de detecção é composta por 5 segmentos impressos em 3D e não requer outros componentes comerciais. Cada plataforma analítica pode ser manufaturada em ~ 3,4 h ao custo de ~ 1,2 USD.

3.4.2 Caracterização morfológica

O estudo da superfície do PLA, PLA-flexível, CB/PLA e tinta de prata foi realizado usando a técnica de MEV (Figura 17). Conforme apresentado na Figura mencionada acima, é possível observar toda a região superficial do ET (Figura 17A), as camadas de CB/PLA que foram incorporadas na parede da célula BIA (Figura 17B) e a superfície do ET (Figura 17C).

Figura 17. Representação esquemática da plataforma analítica em perspectiva transversal e as imagens obtidas de MEV. (A) Visão frontal do ET; (B) apresentação da deposição das camadas do ET integrado na parede da célula BIA (corte transversal); (C) superfície do ET após ser submetido a etapa de ativação; (D) interface entre as estruturas do PLA e PLA-flexível (flex); (E) superfície do ER após deposição da tinta de Ag.



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [48] com permissão.

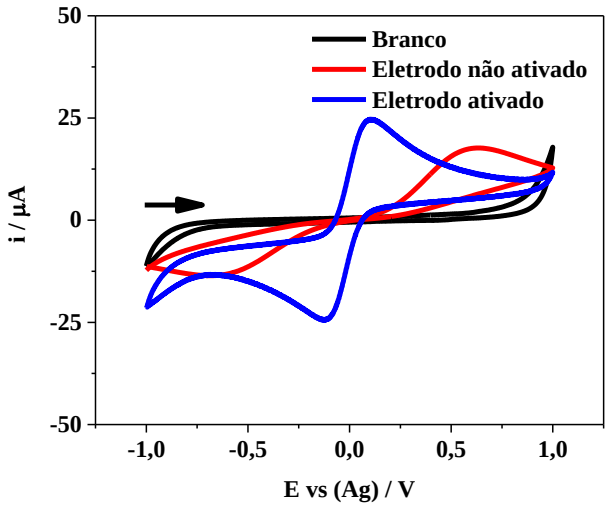
A análise morfológica da superfície do ET indicou a presença de nove camadas termoplásticas diferentes e bem definidas. Os valores calculados de diâmetro do ET e espessura das camadas do ET foram 3,55 ± 0,06 mm e 0,17 ± 0,02 mm, respectivamente. Os valores obtidos foram comparados com as dimensões teóricas observadas durante a modelagem 3D (ET, Ø = 3,5 mm; espessura = 0,18 mm) e demonstraram valores de fidelidade de 90 a 98%.

As Figuras 17D e 17E exibem os resultados de MEV detalhando a interface entre PLA e PLA-flexível, bem como a superfície do ER, respectivamente. De acordo com a Fig. 13D os materiais termoplásticos PLA e PLA-flexível estão alinhados próximo da região planejada para vedar a célula BIA. Por sua vez, na Figura 17E é possível visualizar a superfície do ER completamente incorporada com tinta de prata.

3.4.3 Otimização das condições operacionais da célula BIA

Acredita-se que o desempenho de uma célula BIA quando acoplada à detecção eletroquímica pode depender de parâmetros operacionais, incluindo agitação, velocidade de injeção e volume de injeção da amostra. E por esse motivo, os parâmetros mencionados acima foram otimizados com a finalidade de intensificar o desempenho eletroquímico do sensor. Entretanto, antes de otimizar as condições operacionais da célula BIA, experimentos de VC foram realizados utilizando eletrodos não ativado e ativado (Figura 18).

Figura 18. VCs obtidos na ausência e presença de $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ 1,0 mmol L^{-1} preparado em KCl 0,1 mol L^{-1} usando eletrodo impresso em 3D não ativado e ativado a 50 mV s^{-1}.



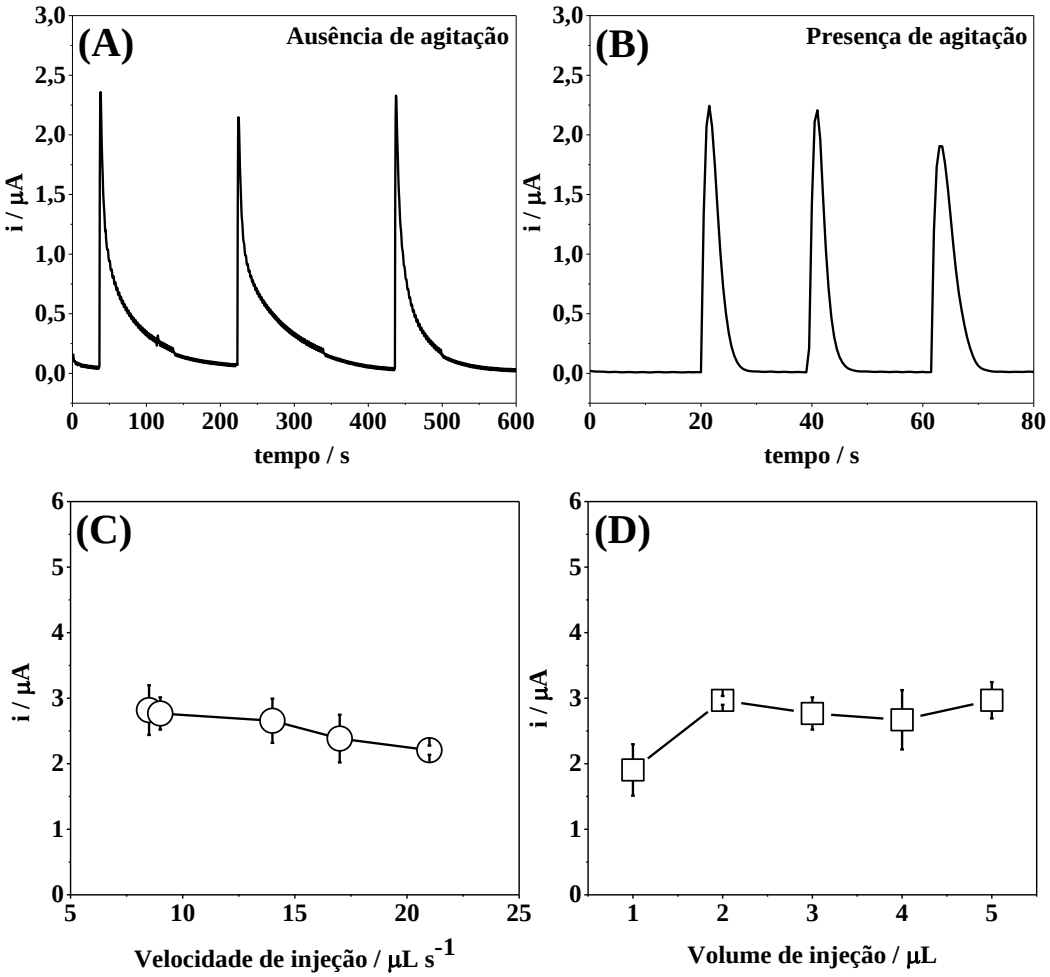
Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [48] com permissão.

A partir da Figura 18 foi possível observar um valor de separação entre os potenciais de pico (ΔE_p) ~ 1450 mV para o eletrodo não ativado. Por outro lado, ao utilizar um sensor ativado, o valor observado de ΔE_p foi de ~181 mV, o qual representa um ganho catalítico considerável. A melhora observada acima pode estar associada a maior exposição de nanopartículas de CB na superfície do material, proveniente do processo de ativação [48]. Após investigar o impacto da ativação no desempenho da célula eletroquímica, os experimentos de otimização das condições operacionais do sistema BIA proposto foram realizados, empregando eletrodos ativados na presença de sonda redox $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$.

É importante ressaltar que o processo de agitação pode influenciar diretamente no processo de transferência de massa do analito alvo na superfície do eletrodo e no sinal de corrente de fundo [1]. Para este estudo, a distância entre a ponta da micropipeta e o ET foi de ~ 2 mm, enquanto a velocidade de dispensação foi de 9,0 µL s^{-1} e o volume de

injeção de 1 µL. As respostas amperométricas registradas na ausência e presença de agitação são apresentados nas Figuras. 19A e B, respectivamente.

Figura 19. Otimização das condições operacionais da célula BIA. Amperogramas registrados para $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ 1,0 mmol L^{-1} (A) sem e (B) com agitação (80 rpm). Efeito da (C) velocidade de injeção e (D) volume de injeção na corrente de pico do mediador redox. Em (A-B), os dados foram registrados usando uma velocidade de injeção de 9,0 µL s^{-1} e volume de injeção de 2,0 µL. Em (C) e (D), o volume de injeção e a velocidade de injeção foram de 2,0 µL e 9,0 µL s^{-1}, respectivamente. Eletrólito suporte: solução 0,1 mol L^{-1} de KCl. Todos os experimentos foram registrados aplicando 0,25 V *vs* CB/PLA.



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [48] com permissão.

Como pode ser observado nas Figuras 19A-B, as intensidades de corrente de pico (I_{pa}) obtidas na ausência e presença de agitação foram 2,2 ± 0,1 e 2,1 ± 0,2 µA, respectivamente. Esses valores foram bastante semelhantes e nenhuma diferença estatística (teste t; p = 0,05) foi observada. Por outro lado, a frequência analítica (FA)

expressa como o número de injeções por hora foi significativamente afetado pela agitação da solução. A partir dos resultados obtidos de largura de pico, os valores de FA foram calculados 24 ± 6 e 550 ± 70 injeções por hora para experimentos na ausência e presença de agitação, respectivamente. Os valores alcançados de FA foram estatisticamente diferentes (teste-t; p = 0,05), indicando que a agitação da solução pode ser uma etapa fundamental no tempo de análise. A melhora obtida para FA, quando na presença de agitação, pode estar associado ao regime de difusão/convecção característico de sistemas hidrodinâmicos, conforme relatado em estudos anteriores [1–3].

É bem conhecido também que a injeção automática da amostra, fornecida por uma micropipeta eletrônica, pode assegurar excelente desempenho em termos de tempo de análise e dispersão da amostra [1,4]. Outros dois parâmetros operacionais da célula BIA-3D foram cuidadosamente otimizados, a velocidade de injeção e volume de injeção e os resultados obtidos são divulgados nas Figuras 19C e 14D.

Conforme exibido na Figura 19C, os valores utilizados de velocidade de injeção variaram de 8,5 a 21 µL s^{-1}. Para as menores velocidades de injeção (8,5 e 9,0 µL s^{-1}), os valores obtidos de I_{pa} variaram entre 2,8 ± 0,4 e 2,8 ± 0,2 µA. Considerando valores de velocidade de injeção maiores (14, 17 e 21 µL s^{-1}), os valores alcançados de I_{pa} variaram entre 2,7 ± 0,3 e 2,2 ± 0,1 µA. Para dar continuidade nos experimentos, a velocidade de dispersão de 9,0 µL s^{-1} foi selecionada, visto que apresentou maior ganho em termos de corrente de pico e DP. Posteriormente, o volume de injeção foi otimizado utilizando intervalo entre 1 e 5 µL. As respostas amperométricas obtidas são resumidas na Figura 19D.

Os valores alcançados de volume de injeção de 1 µL exibiu um sinal de I_{pa} de 1,9 ± 0,4 µA. A partir do acréscimo dos volumes de injeção para valores entre 2 e 5 µL, os

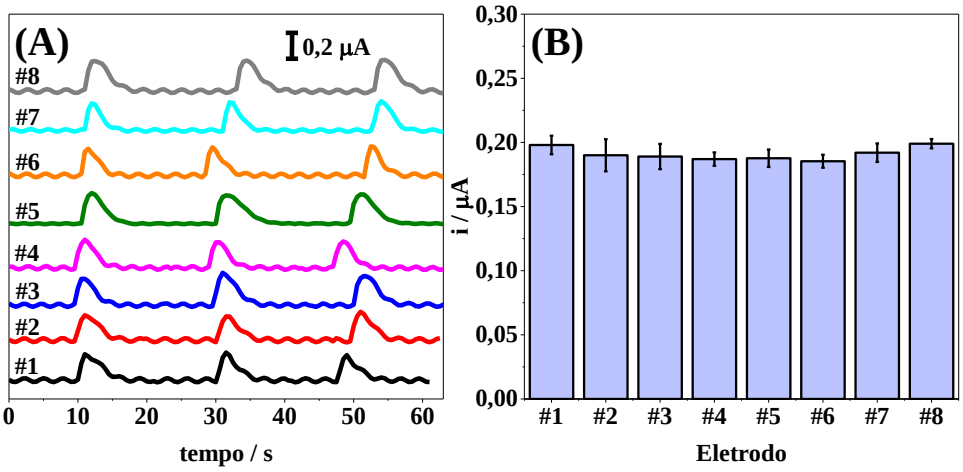
resultados atingidos variaram entre 2,7 e 3,0 µA. Entretanto, o volume de injeção de 2 µL revelou melhor desempenho eletroquímico considerando a relação entre sinal analítico e DP (3,0 ± 0,2 µA).

Considerando os dados obtidos nos experimentos, o melhor desempenho foi alcançado usando agitação de 80 rpm, velocidade de dispensação de 9 µL s^{-1} e volume de injeção de 2 µL. Portanto, os experimentos subsequentes usando a célula BIA foram realizados mediante as condições operacionais otimizadas.

3.4.4 Repetibilidade e reprodutibilidade dos eletrodos

Os experimentos de reprodutibilidade e repetibilidade para a detecção amperométrica de ADR foram realizados usando potencial 0,4 V *vs* Ag. Os experimentos foram realizados com sucessivas injeções em um mesmo eletrodo, bem como usando sucessivas adições de ADR em todos os oito eletrodos (Figura 20).

Figura 20. Apresentação do desempenho eletroquímico em termos de repetibilidade e reprodutibilidade para ADR usando eletrodos impressos em 3D. (A) Amperogramas obtidos demonstrando a detecção de ADR em oito eletrodos diferente e (B) valores obtidos de corrente de pico associados a oxidação da ADR.



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [48] com permissão.

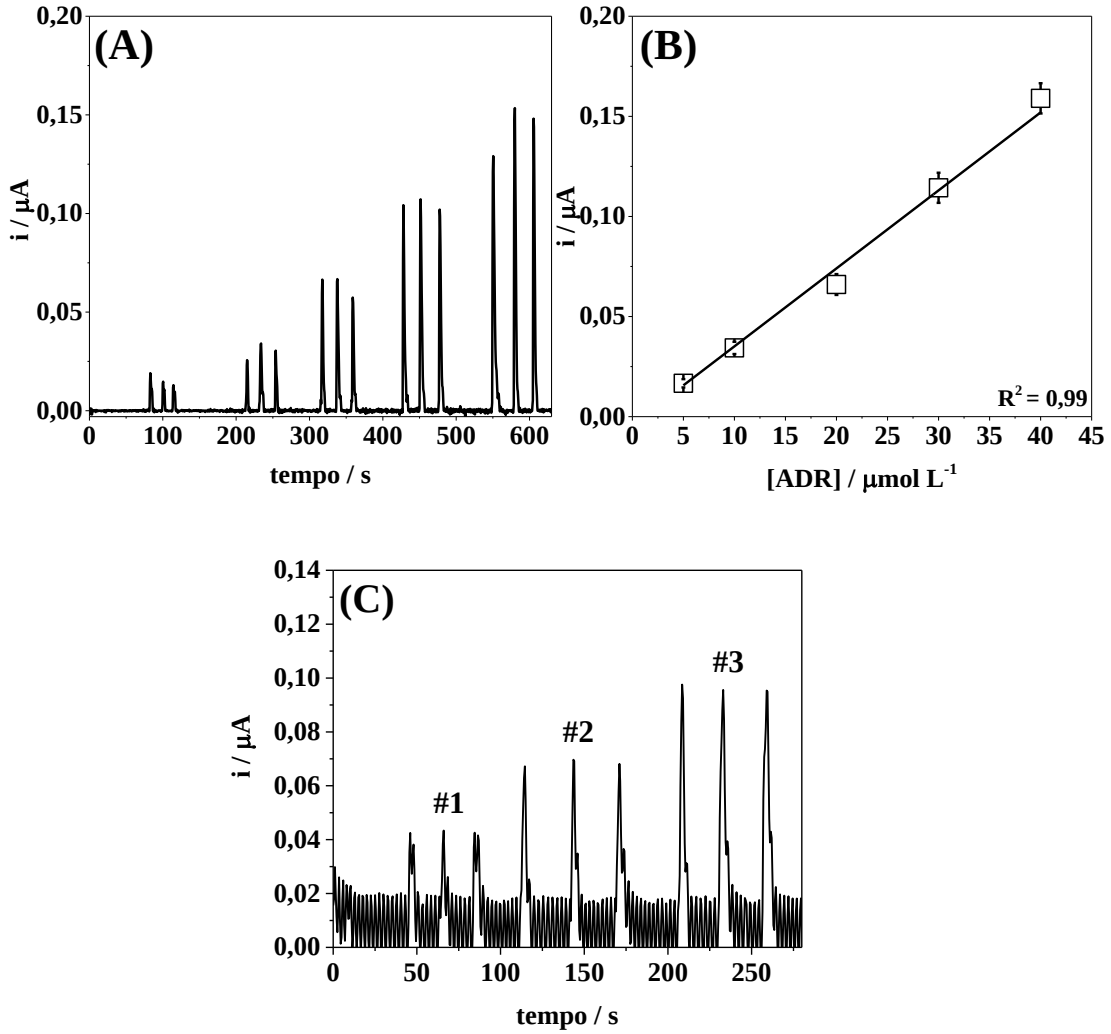
Conforme observado na Figura 20, o eletrodo 3D pode ser utilizado para realizar a oxidação da ADR e o sinal de pico obtido é bem definido. É importante mencionar que o potencial de detecção utilizado é semelhante a estudos reportados na literatura usando eletrodos à base de carbono [61, 62].

Os valores calculados de DPR para os experimentos relacionados à oxidação da ADR em um mesmo eletrodo e usando eletrodos diferentes variaram de 2 a 6%. Para investigar se havia flutuações estaticamente relevantes nas detecções de ADR usando eletrodos diferentes, uma análise ANOVA (fator único) foi realizada. O resultado calculado para F (1,30) foi menor que o valor obtido para F crítico (2,66), sugerindo que os múltiplos eletrodos integrados oferecem respostas eletroquímicas semelhantes.

3.4.5 Desempenho analítico, análise de adrenalina em urina e métrica verde

Como prova de conceito, a plataforma analítica impressa em 3D em associação com detecção amperométrica (BIA-DA) foi empregada para analisar ADR. A curva analítica foi construída usando diferentes injeções de 2,0 µL de ADR na célula BIA com concentrações variando entre 5 e 40 µmol L^{-1} (Figura 21). Com base nos resultados obtidos para as injeções de ADR, a equação analítica obtida i (µA) = -0,00383+0,00389[ADR; µmol L^{-1}], e os valores do coeficiente de determinação (R^2 = 0,99) e o limite de detecção (LD) ~ 0,61 µmol L^{-1} foram calculados.

Figura 21. Amperograma demonstrando a resposta registrada para ADR em diferentes concentrações usando o sistema BIA-DA e (B) curva analítica exibindo a faixa de concentração linear para ADR. Figura S9. (C) Respostas amperométricas obtidas para análise de ADR em amostra artificial de urina (n=3).



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [48] com permissão.

O valor de LD foi calculado com base na equação 3*DP/inclinação da curva analítica. A partir das informações do número de injeções de amostras por hora, a FA foi calculada em 494 ± 13 h^{-1}. O valor de FA demonstrado aqui é um dos melhores já reportados considerando sistemas BIA-3D. Entretanto, o valor obtido de FA pode ser reduzido, caso seja utilizado a somatória de largura de pico para três injeções em sequência (~ 21,9 s), resultando em ~ 164 análises h^{-1}. Além disso, os parâmetros

analíticos mencionados acima, incluindo faixa linear e LD, foram comparáveis aos valores relatados na literatura para a detecção de ADR. E a comparação obtida apresentou valores de LD com ordem de magnitude semelhante considerando eletrodos que não foram submetidos a etapas adicionais de modificações (Tabela 2).

Tabela 2. Características da plataforma analítica proposta em comparação com os dados de outros métodos eletroquímicos usados para a detecção de ADR.

Eletrodo	Método	Faixa linear ($\mu mol\ L^{-1}$)	LD ($\mu mol\ L^{-1}$)	Ref.
MXene	DA	0,02 - 10	0,009	[46]
Aço inoxidável	DA	5 - 1000	1,0	[61]
NiO/NTC	SWV	0,08 - 900	0,01	[62]
DDB	SWV	0,7 - 60	0,21	[63]
GCE/Grafeno/MIP	DPV	0,015 - 40	0,003	[64]
CQD	DA	0,02 – 0.8	0,006	[65]
$Ni_{3-x}Te_2$	SWV	4,0 - 31	0,35	[66]
Ouro	DA	100 - 2500	5,3	[67]
Au/GQD	DA	0,01 - 40	0,01	[68]
CB/PLA	DA	5 - 40	0,6	Este estudo

Diamante dopado com boro (DDB); nanotubo de carbono (NTC); *Carbon quantum dot* (CQD); *Graphene quantum dot* (GQD)*; Square wave voltammetry* (SWV); *Differential pulse voltammetry* (DPV); polímero molecularmente impresso (MIP)

Para demonstrar uma viabilidade bioanalítica, o sistema BIA-DA foi utilizada para analisar ADR em amostras de urina artificial. Este componente biológico é comumente utilizado em casos de asma, desfibrilação, parada cardíaca e ressuscitação cardiopulmonar [45, 46]. Os níveis recomendados em pacientes humanos adultos variam de 0,5 a 1,0 mg kg^{-1} de ADR [69]. Por esta razão, as amostras de urina foram dopadas

com soluções padrão de ADR em três níveis de concentrações (10, 20 e 30 µmol L^{-1}) (Figura 21C).

O estudo de recuperação da análise de ADR apresentou resultados com níveis de 87 a 118%, os quais são aceitáveis de acordo com a resolução Nº 166/2017 da ANVISA. Zaidi *et al.* [64] utilizaram GCE modificado com grafeno reduzido e polímero molecularmente impresso à base de nicotinamida para realizar seletiva detecção de ADR. Os autores reportaram valores de recuperação variando entre 96 e 98% para análises em amostras de urina.

É importante ressaltar que o método analítico empregado para detecção de ADR em amostra de urina exibiu desempenho promissor em termos de LD e FA, podendo ser usado para monitoramento de rotina em laboratórios clínicos. Considerando agora o desempenho ecológico do sistema BIA-DA, o pictograma colorido obtido usando a ferramenta AGREE pode ser visualizado na Figura 22.

Figura 22. Resultado obtido da análise AGREE. (1) tratamento de amostra, (2) quantidade de amostra, (3) posicionamento do dispositivo, (4) etapas de preparação da amostra, (5) automação-miniaturização, (6) derivatização, (7) resíduos, (8) rendimento da análise, (9) consumo de energia, (10) fonte de reagentes, (11) toxicidade, (12) segurança do operador.

Fonte: Autoria própria.

A métrica ambiental calculada para a análise de ADR apresentou valor de 0,88, sugerindo que o método analítico proposto apresenta adequado desempenho ambiental, segundo os 12 princípios da GAC. Entretanto, os princípios 3 e 10 que estão associados com o posicionamento do dispositivo analítico e a origem dos reagentes químicos usados podem ser ajustados em etapas posteriores.

3.5 CONCLUSÕES

Este estudo propôs com sucesso o desenvolvimento de uma célula BIA totalmente impressa em 3D e integrada com múltiplos eletrodos de carbono. O sistema analítico foi fabricado com materiais de baixo custo e seus componentes podem ser montados/desmontados rapidamente por meio de uma estratégia de rosqueamento manual. As características analíticas observadas da célula BIA incluem a possibilidade de usar múltiplos eletrodos com potencialidade para serem submetidos a diferentes modificações de superfície ou medições eletroquímicas sequenciais. Além disso, os eletrodos de negro de fumo quando associados à detecção amperométrica forneceram resposta rápida para medições de adrenalina em urina com desempenho analítico adequado e reduzido impacto ambiental. Com base nos resultados apresentados, a célula BIA impressa em 3D pode emergir como uma ferramenta portátil para análises de rotina e com alta frequência analítica.

3.6 REFERÊNCIAS

[1] Ambrosi A, Pumera M (2016) 3D-printing technologies for electrochemical applications†. Chem Soc Rev 2740–2755. https://doi.org/10.1039/c5cs00714c

[2] Chia HN, Wu BM (2015) Recent advances in 3D printing of biomaterials. Journal of Biological Engineering 1–14. https://doi.org/10.1186/s13036-015-0001-4

[3] Gross B, Lockwood SY, Spence DM (2017) Recent advances in analytical chemistry by 3D printing. Analytical Chemistry 89:57–70. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04344

[4] Waheed S, Cabot JM, Macdonald NP, et al (2016) 3D printed microfluidic devices: Enablers and barriers. Lab on a Chip 16:1993–2013. https://doi.org/10.1039/c6lc00284f

[5] O'Neil GD, Ahmed S, Halloran K, et al (2019) Single-step fabrication of electrochemical flow cells utilizing multi-material 3D printing. Electrochemistry Communications 99:56–60. https://doi.org/10.1016/j.elecom.2018.12.006

[6] Gross BC, Erkal JL, Lockwood SY, et al (2014) Evaluation of 3D Printing and Its Potential Impact on Biotechnology and the Chemical Sciences. Analytical Chemistry 3240–3253. https://doi.org/10.1021/ac403397r

[7] Erkal JL, Selimovic A, Gross BC, et al (2014) 3D printed microfluidic devices with integrated versatile and reusable electrodes. Lab on a Chip 14:2023–2032. https://doi.org/10.1039/c4lc00171k

[8] Kadimisetty K, Malla S, Bhalerao KS, et al (2018) Automated 3D-Printed Microfluidic Array for Rapid Nanomaterial-Enhanced Detection of Multiple Proteins. Analytical Chemistry 90:7569–7577. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b01198

[9] Glick CC, Srimongkol MT, Schwartz AJ, et al (2016) Rapid assembly of multilayer micro fl uidic structures via 3D-printed transfer molding and bonding. Microsystems & Nanoengineering 2:1–9. https://doi.org/10.1038/micronano.2016.63

[10] Wei X, Li D, Jiang W, et al (2015) 3D Printable Graphene Composite. Scientific Reports 5:1–7. https://doi.org/10.1038/srep11181

[11] O'Neil GD (2020) Toward single-step production of functional electrochemical devices using 3D printing: Progress, challenges, and opportunities. Current Opinion in Electrochemistry 20:60–65. https://doi.org/10.1016/j.coelec.2020.02.023

[12] Hamzah HH, Shafiee SA, Abdalla A, Patel BA (2018) 3D printable conductive materials for the fabrication of electrochemical sensors: A mini review. Electrochemistry Communications 96:27–31. https://doi.org/10.1016/j.elecom.2018.09.006

[13] Carrasco-correa EJ, Simó-alfonso EF, Manuel J, Miró M (2020) The emerging role of 3D printing in the fabrication of detection systems. Trends in Analytical Chemistry 116177. https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116177

[14] Carrasco-Correa EJ, Simó-Alfonso EF, Herrero-Martínez JM, Miró M (2021) The emerging role of 3D printing in the fabrication of detection systems. TrAC - Trends in Analytical Chemistry 136:116177. https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116177

[15] Muñoz J, Pumera M (2020) 3D-printed biosensors for electrochemical and optical applications. TrAC - Trends in Analytical Chemistry 128:. https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115933

[16] Yuk H, Lu B, Lin S, et al (2020) 3D printing of conducting polymers. Nature Communications 11:1–8. https://doi.org/10.1038/s41467-020-15316-7

[17] Cardoso RM, Kalinke C, Rocha RG, et al (2020) Additive-manufactured (3D-printed) electrochemical sensors : A critical review. Analytica Chimica Acta 1118:73–91. https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.03.028

[18] Dias AA, Chagas CLS, Silva-Neto HDA, et al (2019) Environmentally Friendly Manufacturing of Flexible Graphite Electrodes for a Wearable Device Monitoring Zinc in Sweat. ACS Applied Materials and Interfaces 11:39484–39492. https://doi.org/10.1021/acsami.9b12797

[19] Kataoka ÉM, Murer RC, Santos JM, et al (2017) Simple, Expendable, 3D-Printed Microfluidic Systems for Sample Preparation of Petroleum. Analytical Chemistry 89:3460–3467. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04413

[20] Parra-Cabrera C, Achille C, Kuhn S, Ameloot R (2018) 3D printing in chemical engineering and catalytic technology: Structured catalysts, mixers and reactors. Chemical Society Reviews 47:209–230. https://doi.org/10.1039/c7cs00631d

[21] Graham AD, Olof SN, Burke MJ, et al (2017) High-Resolution Patterned Cellular Constructs by Droplet-Based 3D Printing. Scientific Reports 1–11. https://doi.org/10.1038/s41598-017-06358-x

[22] Duarte LC, Pereira I, Maciel LIL, et al (2021) 3D printed microfluidic mixer for real-time monitoring of organic reactions by direct infusion mass spectrometry. Analytica Chimica Acta 1190:339252. https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.339252

[23] Beauchamp MJ, Nielsen A v., Gong H, et al (2019) 3D Printed Microfluidic Devices for Microchip Electrophoresis of Preterm Birth Biomarkers. Analytical Chemistry 91:7418–7425. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b01395

[24] Costa BMC, Coelho AG, Beauchamp MJ, et al (2021) 3D-printed microchip electrophoresis device containing spiral electrodes for integrated capacitively coupled contactless conductivity detection. Analytical and Bioanalytical Chemistry 5–8. https://doi.org/10.1007/s00216-021-03494-2

[25] Chan HN, Shu Y, Xiong B, et al (2016) Simple, Cost-Effective 3D Printed Microfluidic Components for Disposable, Point-of-Care Colorimetric Analysis. ACS Sensors 1:227–234. https://doi.org/10.1021/acssensors.5b00100

[26] Li F, Macdonald NP, Guijt RM, Breadmore MC (2019) Increasing the functionalities of 3D printed microchemical devices by single material, multimaterial, and print-pause-print 3D printing. Lab on a Chip 19:35–49. https://doi.org/10.1039/c8lc00826d

[27] Quintino MSM, Angnes L (2004) Batch injection analysis: An almost unexplored powerful tool. Electroanalysis 16:513–523. https://doi.org/10.1002/elan.200302878

[28] Wang J (2002) Electrochemical detection for microscale analytical systems: A review. Talanta 56:223–231. https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00592-6

[29] Wang J, Taha Z (1991) Batch Injection Analysis. Analytical Chemistry 63:1053–1056. https://doi.org/10.1021/ac00010a025

[30] Almeida ES, Richter EM, Munoz RAA (2014) On-site fuel electroanalysis: Determination of lead, copper and mercury in fuel bioethanol by anodic stripping voltammetry using screen-printed gold electrodes. Analytica Chimica Acta 837:38–43. https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.05.031

[31] Pereira PF, Marra MC, Munoz RAA, Richter EM (2012) Fast batch injection analysis system for on-site determination of ethanol in gasohol and fuel ethanol. Talanta 90:99–102. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.01.004

[32] Dias AA, Cardoso TMG, Cardoso RM, et al (2016) Paper-based enzymatic reactors for batch injection analysis of glucose on 3D printed cell coupled with amperometric detection. Sensors & Actuators: B Chemical 226:196–203. https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.11.040

[33] Tormin TF, Gimenes DT, Richter EM, Munoz RAA (2011) Fast and direct determination of butylated hydroxyanisole in biodiesel by batch injection analysis with amperometric detection. Talanta 85:1274–1278. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.06.008

[34] Stefano JS, Dias AC, Arantes IVS, et al (2019) Batch-injection Amperometric Analysis on Screen-printed Electrodes: Analytical System for High-throughput Determination of Pharmaceutical Molecules. Electroanalysis 31:518–526. https://doi.org/10.1002/elan.201800725

[35] Ferreira TP, de Sousa RA, Lowinsohn D (2016) Simultaneous determination of Pb and Cd in low-cost jewelry using differential pulse voltammetry. Anal Methods 8:8028–8032. https://doi.org/10.1039/C6AY02699K

[36] Wang J, Taha Z (1991) Batch injection with potentiometric detection. Analytica Chimica Acta 252:215–221. https://doi.org/10.1016/0003-2670(91)87218-V

[37] 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/10.1002/elan.201800042

[38] Tormin TF, Cunha RR, da Silva RAB, et al (2014) Combination of screen-printed electrodes and batch injection analysis: A simple, robust, high-throughput, and portable electrochemical system. Sensors and Actuators, B: Chemical 202:93–98. https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.04.096

[39] Garcia PT, Dias AA, Souza JAC, Coltro WKT (2018) Batch injection analysis towards auxiliary diagnosis of periodontal diseases based on indirect amperometric detection of salivary α-amylase on a cupric oxide electrode. Analytica Chimica Acta 1041:50–57. https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.08.039

[40] Cardoso RM, Mendonça DMH, Silva WP, et al (2018) 3D printing for electroanalysis: From multiuse electrochemical cells to sensors. Analytica Chimica Acta 1033:49–57. https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.021

[41] Richter EM, Rocha DP, Cardoso RM, et al (2019) Complete Additively Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensing Platform. Analytical Chemistry 91:12844–12851. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02573

[42] Palenzuela CLM, Novotny F, Krupička P, et al (2018) 3D-Printed Graphene/Polylactic Acid Electrodes Promise High Sensitivity in Electroanalysis. Analytical Chemistry 5753–5757. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00083

[43] Rocha DP, Squissato L, Silva SM, et al (2020) Improved electrochemical detection of metals in biological samples using 3D-printed electrode : Chemical / electrochemical treatment exposes carbon-black conductive sites. Electrochimica Acta 335:1–11. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.135688

[44] Silva-Neto HA, Santhiago M, Duarte LC, Coltro WKT (2021) Fully 3D printing of carbon black-thermoplastic hybrid materials and fast activation for development of highly stable electrochemical sensors. Sensors and Actuators B: Chemical 349:130721. https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130721

[45] Brown HF, Difrancesco D, Noble SJ (1979) How does adrenaline accelerate the heart? Nature 280:235–236

[46] Shankar SS, Shereema RM, Rakhi RB (2018) Electrochemical Determination of Adrenaline Using MXene/Graphite Composite Paste Electrodes. ACS Applied Materials and Interfaces 10:43343–43351. https://doi.org/10.1021/acsami.8b11741

[47] Mclean-tooke APC, Bethune CA, Fay AC, et al (2003) Adrenaline in the treatment of anaphylaxis : what is the evidence ? BMJ 327:8–11

[48] Silva-Neto HA, Dias AA, Coltro WKT: 3D-Printed electrochemical platform with multi-purpose carbon black sensing electrodes. Microchim Acta 2022, 189:235, https://doi.org/ 10.1007/s00604-022-05323-4.

[49] Adumitrăchioaie A, Tertiș M, Suciu M, et al (2019) A novel immunosensing platform for serotonin detection in complex real samples based on graphene oxide and chitosan. Electrochimica Acta 311:50–61. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.04.128

[50] Fava EL, Silva TA, Prado TM do, et al (2019) Electrochemical paper-based microfluidic device for high throughput multiplexed analysis. Talanta 203:280–286. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.081

[51] Sarigul N, Korkmaz F, Kurultak İ (2019) A New Artificial Urine Protocol to Better Imitate Human Urine. Scientific Reports 9:1–11. https://doi.org/10.1038/s41598-019-56693-4

[52] Ligon SC, Liska R, Gurr M, et al (2017) Polymers for 3D Printing and Customized Additive Manufacturing. Chemical Reviews 10212–10290. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00074

[53] Ngo TD, Kashani A, Imbalzano G, et al (2018) Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. Composites Part B: Engineering 143:172–196. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.02.012

[54] Rohaizad N, Mayorga-Martinez CC, Novotný F, et al (2019) 3D-printed Ag/AgCl pseudo-reference electrodes. Electrochemistry Communications 103:104–108. https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.05.010

[55] Sluyters JH (1960) On the Impedance of Galvanic Cells. Recueil 79:1092–1100. https://doi.org/10.1524/zpch.1967.52.1_4.089

[56] Sluyters JH, Oomen JJC (1960) On the impedance of galvanic cells: II. Experimental verification. Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas 79:1101–1110. https://doi.org/10.1002/recl.19600791014

[57] Heterogeneous A, Transfer E (2020) Nitrogen-Doped Graphene : The Influence of Doping Level on the Charge-Transfer Resistance and Apparent Heterogeneous Electron Transfer Rate. Sensors

[58] Periasamy AP, Chang Y, Chen S (2011) Amperometric glucose sensor based on glucose oxidase immobilized on gelatin-multiwalled carbon nanotube modi fi ed glassy carbon electrode. Bioelectrochemistry 80:114–120. https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2010.06.009

[59] Wilson R, Elizabeth Q (2016) Glucose oxidase : An ideal enzyme. Biosensors and Bioelectronic 5663:165–185

[60 Wang Y, Li Z, Wang J, et al (2011) Graphene and graphene oxide: Biofunctionalization and applications in biotechnology. Trends in Biotechnology 29:205–212. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.01.008

[61] García-Miranda Ferrari A, Amor-Gutiérrez O, Costa-Rama E, Fernández-Abedul MT (2017) Batch injection electroanalysis with stainless-steel pins as electrodes in single and multiplexed configurations. Sensors and Actuators, B: Chemical 253:1207–1213. https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.07.148

[62 Gupta VK, Mahmoody H, Karimi F, et al (2017) Electrochemical determination of adrenaline using voltammetric sensor employing NiO/CNTs based carbon paste electrode. International Journal of Electrochemical Science 12:248–257. https://doi.org/10.20964/2017.01.69

[63] Sochr J, Švorc Ľ, Rievaj M, Bustin D (2014) Electrochemical determination of adrenaline in human urine using a boron-doped diamond film electrode. Diamond and Related Materials 43:5–11. https://doi.org/10.1016/j.diamond.2014.01.005

[64] Zaidi SA (2018) Utilization of an environmentally-friendly monomer for an efficient and sustainable adrenaline imprinted electrochemical sensor using graphene. Electrochimica Acta 274:370–377. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.04.119

[65] Shankar SS, Shereema RM, Ramachandran V, et al (2019) Carbon Quantum Dot-Modified Carbon Paste Electrode-Based Sensor for Selective and Sensitive Determination of Adrenaline. ACS Omega 4:7903–7910. https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00230

[66] de Fatima Ulbrich K, Winiarski JP, Jost CL, Maduro de Campos CE (2020) Mechanochemical synthesis of a Ni3-xTe2 nanocrystalline composite and its application for simultaneous electrochemical detection of dopamine and adrenaline. Composites Part B: Engineering 183: https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107649

[67] Agustini D, Fedalto L, Agustini D, et al (2020) A low cost, versatile and chromatographic device for microfluidic amperometric analyses. Sensors and Actuators, B: Chemical 304:127117. https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127117

[68] Vinoth V, Natarajan LN, Mangalaraja RV, et al (2019) Simultaneous electrochemical determination of dopamine and epinephrine using gold nanocrystals capped with graphene quantum dots in a silica network. Microchimica Acta 186:. https://doi.org/10.1007/s00604-019-3779-9

[69] Riphagen S, Gomez X, Gonzalez-Martinez C, et al (2020) Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic. The Lancet 395:1607–1608. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31094-1

CAPÍTULO 4

RECICLAGEM DE RESÍDUOS IMPRESSOS EM 3D PARA O DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS EM PAPEL

RESUMO

Este capítulo descreve uma abordagem para reciclar resíduos termoplástico provenientes da tecnologia de impressão 3D, visando a fabricação de sensores eletroquímicos em substrato de papel. Para construir os eletrodos, resíduos de acrilonitrila-butadieno-estireno (ABS) foram triturados, solubilizados em acetona e incorporados com flocos de grafite, formando uma tinta de carbono. Os resultados obtidos nas caracterizações morfológica, estrutural e eletroquímica confirmaram que o eletrodo reciclado aqui proposto pode ser utilizado para experimentos eletroquímicos. Para realizar a detecção de nitrito, tanto o sensor proposto quanto os convencionais eletrodos impresso em 3D foram modificados com uma combinação de nanotubos de carbono, óxido de grafeno e cobre. Ambas as superfícies modificadas exibiram comportamento catalítico adequado para realizar a oxidação de nitrito a 0,6 e 0,5 V vs Ag, respectivamente. O dispositivo proposto foi empregado para a análise amperométrica de S-nitroso-cisteína (CysNO) em amostras de soro, exibindo uma faixa linear entre 10 – 125 µmol L^{-1} e limite de detecção de 4,1 µmol L^{-1}. O estudo de adição de CysNO em amostra de soro diluída apresentou valores de recuperação entre 90 e 105%. Além disso, o experimento mencionado acima também foi realizado empregando método espectrofotométrico. E a partir dessa análise comparativa foi possível comprovar que os resultados obtidos no estudo de recuperação são estatisticamente semelhantes (teste t, limite de confiança de 95%). O método analítico proposto para análise de CysNO também apresentou menor impacto ambiental (métrica verde ~ 0,79) quando comparado a metodologia comparativa (métrica verde ~ 0,62). Os resultados alcançados neste estudo em termos de desempenho analítico e apelo ambiental foram considerados satisfatórios, sugerindo que a estratégia aqui empregada para reciclar materiais termoplástico ocorreu com sucesso.

4.1 INTRODUÇÃO

A abordagem que emprega a manufatura aditiva vem fornecendo diversas contribuições para a área de materiais, incluindo a construção civil, medicina e odontologia, setor aeroespacial, tecnologia automobilística e instrumentação analítica.[1–4] A manufatura aditiva vem sendo utilizada com sucesso também para construir equipamentos de proteção individual com a finalidade de auxiliar na prevenção da contaminação por COVID-19, por exemplo [5]. As aplicações mencionadas acima podem ter relação direta com a popularidade e o faturamento industrial da área de impressão 3D. De acordo com a *GlobeNewswire*,[6] a demanda de materiais envolvendo filamentos termoplásticos movimentou ~ USD 968 milhões em 2021, indicando que a tecnologia de impressão 3D pode ser extremamente versátil e acessível.

Uma das opções de impressoras 3D mais usuais são aquelas que podem utilizar o método de modelagem de deposição por fusão (do inglês *fused deposition modeling*, FDM) e filamentos termoplásticos, como ácido polilático (PLA), tereftalato de polietileno (PET), acrilonitrila-butadieno-estireno (ABS). Sendo possível construir diversos objetos plásticos que podem ser usados na renomada área de instrumentação analítica. [7–10] Notavelmente, o uso de aparatos 3D em laboratórios de pesquisa e em indústrias vem se destacando devido a algumas peculiaridades, incluindo baixo custo, acessibilidade, versatilidade e resistência mecânica. [11–13] Entre os filamentos mencionados anteriormente, o PLA permite que seja construído objetos bem definidos e é uma opção de material biodegradável, porém apresenta baixa resistência mecânica e térmica. [14,15] Por outro lado, as opções de PET e ABS são mais eficientes em termos de resistência mecânica, química e térmica. O ABS é considerado também como um material potencialmente tóxico e não biodegradável. [14,16] Desta forma, pode ser importante propor estratégias para reciclar esses materiais termoplásticos seguindo os princípios da

química verde, que tem como uma de suas finalidades, a redução ou eliminar do uso ou geração de compostos potencialmente tóxicos. [17]

Os exemplos de estudos que vem apresentando acentuado destaque na literatura por proporem a reutilização de materiais poliméricos são: (i) reciclando fibras de carbono e usando-as como opção de material adicional no processo de fabricação de filamentos de PLA. [18] (ii) Reutilizando fibra de vidro obtida de pás de turbinas de avião para reforçar as propriedades mecânicas do PLA. [19] (iii) Reciclar PET e polipropileno visando fabricar filamentos com propriedades mecânicas semelhantes ao filamento comercial. [20] (iv) Combinar resíduos de PLA recuperados de cápsulas de café com poli(etileno)glicol e partículas de CB visando a fabricação de filamento 3D. [21,22] No entanto, até onde sabemos, os estudos destacados acima não exploram resíduos termoplástico como estruturas aglutinantes para fabricação sensores eletroquímicos descartáveis. A opção de sensor referida acima pode ser de grande valia para a área da Química Analítica, sendo empregada em aplicações forense,[23,24] farmacêutico,[13] ambiental,[25,26] alimentício e biológico. [27-32]

Neste estudo, propomos pela primeira vez uma abordagem reciclável usando resíduos de ABS como aglutinante para preparar tinta condutiva à base de carbono. A tinta desenvolvida foi utilizada para criar um sensor eletroquímico em substrato de papel (PES). Caracterizações morfológicas, estruturais e eletroquímicas foram realizadas. Para melhorar a resposta eletroquímica do sensor, duas estratégias foram empregadas na superfície do eletrodo: (i) remoção das estruturas isolantes de ABS utilizando oxidação eletroquímica; (ii) modificação da superfície do eletrodo com uma mistura de nanotubo de carbono (NTC), óxido de grafeno (OG) e cobre. [33]

A título de comparação, eletrodos 3D também foram fabricados e testados nas mesmas condições experimentais. O PES foi aplicado para a detecção amperométrica indireta de S-nitroso-cisteína (CysNO) em amostras de soro humano, e o impacto ecológico dessa análise também foi investigado usando a abordagem AGREE. A biomolécula mencionada acima é do grupo dos S-nitrosotióis (RSNOs) e pode desempenhar um papel essencial em vários processos fisiológicos e fisiopatológicos, atuando como biomarcador e doadores de NO. [34]

4.2 OBJETIVOS

4.2.1 Objetivo Geral

- Reutilizar resíduos de impressão 3D com a finalidade de sintetizar uma tinta condutiva à base de grafite e fabricar sensores eletroquímicos em substrato de papel.

4.2.2 Objetivos específicos

- Coletar e armazenar resíduos de materiais termoplásticos potencialmente tóxicos para desenvolver uma tinta de grafite.
- Utilizar a tinta condutiva para fabricar sensores eletroquímicos em substrato de papel e comparar o desempenho analítico com eletrodo impresso em 3D.
- Modificar o sensor com óxido de grafeno, nanotubo de carbono e cobre para melhorar o desempenho analítico para nitrito.
- Desenvolver um método eletroquímico usando detecção amperométrica de S-nitroso-cisteína em amostra de soro humano.
- Avaliar o impacto ambiental do método proposto empregando a ferramenta AGREE.

4.3 SEÇÃO EXPERIMENTAL

4.3.1 Reagentes e materiais

Ferrocianeto de potássio, ferricianeto de potássio, cloreto de potássio, ácido acético, acetonitrila, sulfato de cobre pentahidratado, ácido sulfúrico, sulfanilamida, N-(1-naftil)etilenodiamina (NED), nanotubos de carbono (NTC) (Ø = 6–9 nm, comprimento: 5 µm), óxido de grafeno (OG), sulfato de sódio, sulfato de ferro hexahidratado, ácido úrico, ácido clorídrico e cisteína foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EUA). Acetona, nitrito de sódio, nitrato de sódio e peróxido de hidrogênio foram adquiridos da Neon (Suzano, SP, Brasil). As informações associadas a qualidade da água ultrapura, bem como das soluções utilizadas são similares ao que foram descritas anteriormente no capítulo 2 (seção 2.3.1).

Papel vegetal (gramatura = 180 g m^{-2}), folha de poliéster termossensíveis (espessura = 250 µm) e esmalte líquido foram obtidos da Ecrisam (Goiânia, GO, Brasil), Yidu Group Co., (Hsi-Chih, TPE, Taiwan) e RISQUÈ® (São Paulo, SP, Brasil), respectivamente. Pó de grafite (Ø ≤ 50 µm), tinta de prata modelo *PC-9070/1* e folha de vinil adesivo foram fornecidos pela Synth (Diadema, SP, Brasil), Joint Metal (São Paulo, SP, Brasil) e Imprimax (São Paulo, SP, Brasil), respectivamente. Os filamentos termoplásticos (Ø = 1,75 mm) de ABS e CB/PLA utilizados foram obtidos pelos mesmos fornecedores que estão descritos no capítulo 2 (seção 2.3.1). O papel de cromatografia *Whatman*® grau 1 (espessura: 0,18 mm) foi adquirido junto a Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EUA).

4.3.2 Instrumentação

As máscaras de estêncil foram projetadas e recortadas em impressora de corte modelo *Cameo* (Silhouette, Belo Horizonte, MG, Brasil) equipada com *software Silhouette Studio*® (versão 4.1). Uma laminadora térmica (*101118415*) adquirido na Gazela (Divinópois, MG, Brasil) foi utilizado para selar os dispositivos. Para a fabricação do sensor 3D, o *layout* do eletrodo impresso em 3D foi projetado no *software SolidWorks* e fabricado usando uma impressora 3D (mesmo modelo apresentado no capítulo 2, seção 2.3.2). Uma cabine portátil integrada com LED UV (7 W) foi empregada para auxiliar no processo de ativação dos eletrodos e decompor amostras de CysNO em nitrito. Para efetuar os experimentos eletroquímicos, o mesmo equipamento descrito no capítulo 2 (seção 2.3.1) foi utilizado.

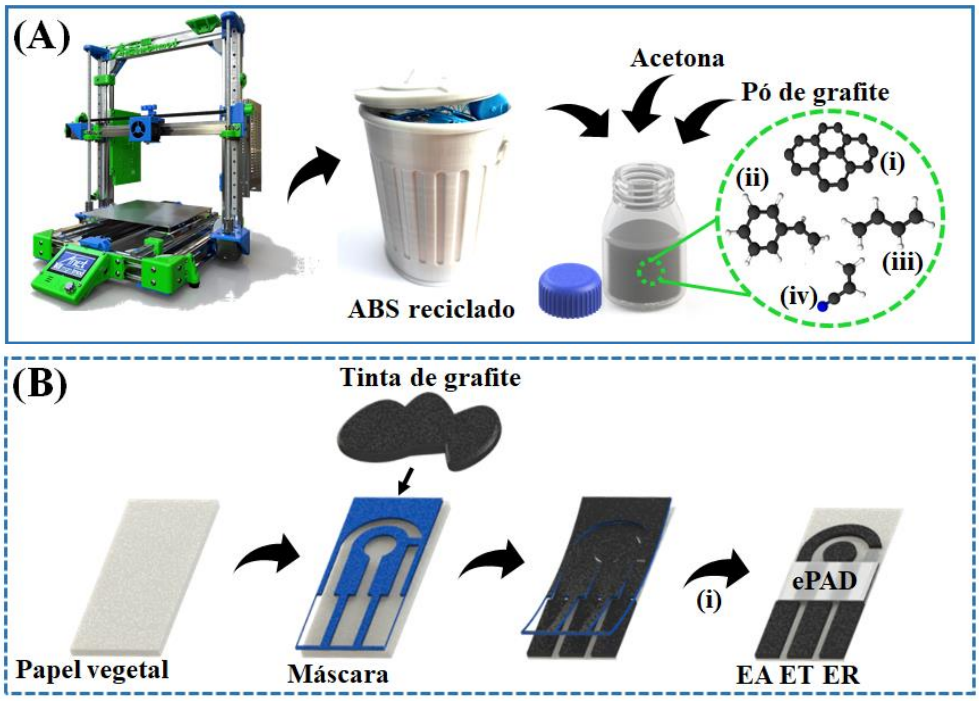
4.3.3 Coleta de resíduo termoplástico, tinta de carbono e fabricação do sensor

A etapa de reciclagem de ABS ocorreu coletando resíduos de duas fontes diferentes: (i) durante o surto de COVID-19, quando nosso grupo fabricou protetores faciais e suportes magnéticos com o objetivo de efetuar doações para hospitais locais; (ii) das sobras que foram coletadas durante as etapas de fabricação de dispositivos 3D. Os materiais termoplásticos foram triturados usando processador industrial (Mondial, São Paulo, Brasil) e armazenados em frasco plástico.

A tinta de carbono foi preparada a partir da combinação de pó de grafite e resíduos de ABS, e a fabricação dos eletrodos foi então realizada mediante o uso da técnica de impressão em estêncil. [36,37] O processo de desenvolvimento do sensor ocorreu em seis etapas. (i) A geometria do dispositivo contendo EA, ET (Ø = 4 mm) e ER foi projetada usando o *software CorelDraw*. Em seguida, (ii) máscaras de estêncil foram construídas

combinando o substrato de papel com folha de poliéster (prensa térmica a 120 °C por 5 s) e duas camadas de vinil autoadesivo. Para a realização da síntese da tinta condutiva (iii), uma mistura de 1,5 g de resíduo de ABS e 15 mL de acetona foi preparada e submetida a um processo de agitação contínua (700 rpm) por 30 min. Em seguida, 1,5 g de pó de grafite foi adicionado à mistura mencionada acima (700 rpm; 15 min). A tinta condutiva foi incorporada sobre o molde usando uma espátula (iv). Após secagem durante a noite (25 ± 2 ºC), as máscaras de vinil foram removidas. (v) A etapa de pintura manual do ER e com tinta de Ag e da barreira hidrofóbica com o uso de esmalte de unha foi realizada (Figura 23). Por fim, (vi) a superfície do eletrodo foi ativada usando uma etapa de oxidação eletroquímica na presença de solução de ácido acético (6 mol L^{-1}), aplicando potencial de 1,8 V *vs* Ag por 100 s.

Figura 23. Representação esquemática demonstrando a fabricação do eletrodo. Coleta de resíduo de ABS e preparação de tinta à base de carbono (A); (i) Ilustração 3D de estruturas de grafite (ii) estireno, (iii) butadieno e (iv) acrilonitrila. Preparação do sensor (B); (i) O processo de pintura manual do eletrodo de referência com tinta Ag e barreira hidrofóbica com esmalte de unha.



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [41] com permissão.

4.3.4 Modificação da superfície do sensor

A modificação da superfície do ET foi elaborada usando três etapas, conforme reportado na literatura. [33] (i) O compósito NTC/OG foi sintetizado pela dispersão de 1,0 mg de OG em 5,0 mL de água ultrapura e imersão em banho ultrassônico por 1 h. Em seguida, 1,0 mg de NCT foi adicionado (banho ultrassônico por 1 h). Uma alíquota de 10 µL da dispersão de NTC/OG foi adicionada na superfície do ET e deixada para secar durante a noite (25 ± 2 ºC). (ii) O eletrodo modificado com NTC/OG foi exposto a uma etapa de redução eletroquímica (-1,2 V *vs* Ag por 140 s na presença de H_2SO_4 0,1 mol L^{-1}). (iii) Uma outra solução de Cu(II) 10 mmol L^{-1} preparada em H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} foi adicionada na superfície do ET e um potencial de -0,7 V *vs* Ag por 200 s foi aplicado para a redução do Cu(II) em Cu(0).

4.3.5 Experimentos eletroquímicos

Os experimentos de voltametria cíclica (VC) e amperometria foram realizados na presença de $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ 1,0 mmol L^{-1} preparado em KCl 0,1 mol L^{-1} para verificar a repetibilidade e reprodutibilidade dos eletrodos. O desempenho eletroquímico do eletrodo modificado em termos de atividade redox, repetibilidade e reprodutibilidade foi estudado usando a oxidação de nitrito (1,0 mmol L^{-1} preparado em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1}). A detecção amperométrica de nitrito ocorreu aplicando 0,6 V *vs* por 50 s. Para desenvolver o estudo comparativo, a detecção eletroquímica de nitrito foi realizada usando eletrodos impressos em 3D, aplicando 0,5 V *vs* Ag por 30 s. O estudo de seletividade também foi executado usando uma solução padrão de nitrito 50 µmol L^{-1} dopado com interferentes diferentes (nitrato, ácido úrico, cloreto e Fe(II), 5 µmol L^{-1} de cada).

4.3.6 Detecção indireta de CysNO e análise comparativa

Para demonstrar a viabilidade analítica do método, os eletrodos modificados foram usados para análise de CysNO em amostras de soro. O soro artificial foi adquirido da Doles (Goiânia, GO, Brasil), e as etapas de preparação e decomposição da amostra de de CysNO foram realizadas conforme reportado literatura.[39] As amostras de soro artificial foram diluídas em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (proporção 1:5; v/v), e as amostras foram dopadas com CysNO previamente degradada nas concentrações de 20, 40 e 80 µmol L^{-1}. Todas os experimentos eletroquímicos foram realizados em temperatura ambiente (25 ± 2 ºC).

O estudo comparativo para realizar a detecção espectrofotométrica de CysNO foi empregado usando o método de Griess.[38] Os reagentes de Griess utilizados foram sulfanilamida 50 mmol L^{-1} e NED 4 mmol L^{-1} (solubilizado em ácido cítrico) na proporção 1:1 (v/v). Em seguida, alíquotas de 1,5 mL (solução de Griess) e 1,5 mL (amostra de soro) foram misturadas, e a detecção de nitrito ocorreu em comprimento de onda de 510 nm. A amostra de soro sintético foi dopada com CysNO previamente degradada (luz UV por 15 min) em três níveis de concentração (20, 40 e 80 µmol L^{-1}) e o resultado da recuperação foi comparado estatisticamente com os valores de CysNO obtidos pelo método proposto.

Para avaliar o impacto ambiental da análise de CysNO em amostra de soro, a ferramenta AGREE [40] foi utilizada com a finalidade de calcular a métrica verde do método proposto, bem como para mensurar a métrica da detecção comparativa de CysNO (espectrofotômetro).

4.3.7 Caracterização

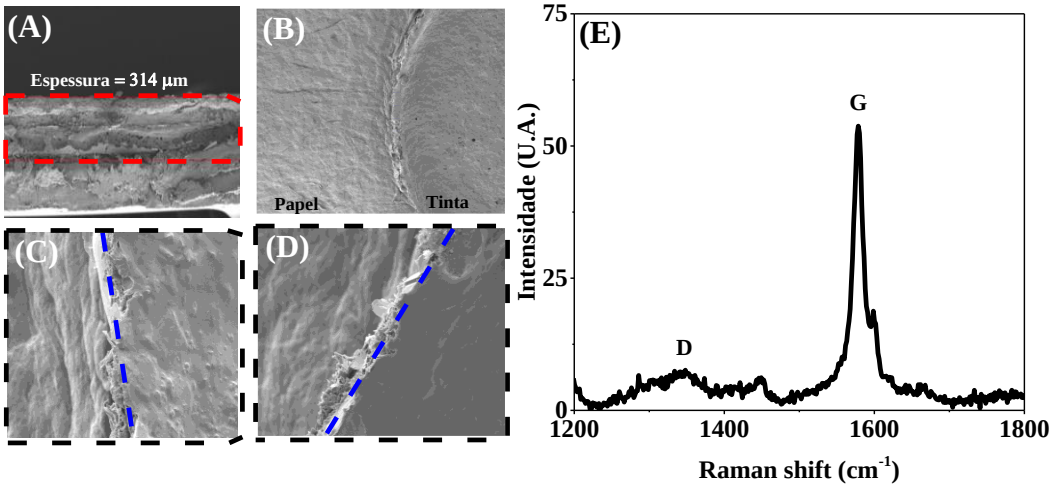
Os experimentos utilizados para investigar os aspectos físico-químico do material proposto foram: resistência elétrica (RE), análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia Raman e análise eletroquímica. Para obter o valor de RE do eletrodo, um multímetro digital modelo *MD-360* da INSTRUTHERM (São Paulo, Brasil) foi utilizado. Todas as outras informações adicionais de instrumentação empregada e concentração da sonda redox ($[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$) são as mesmas divulgadas no capítulo 2 (seção 2.3.5).

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 Fabricação do sensor em substrato de papel

Os eletrodos de papel foram construídos por meio da técnica de serigrafia usando uma tinta de grafite, papel vegetal e máscara adesiva. [42,43] Para calcular o valor da espessura da tinta sobre o substrato de papel e investigar também o desempenho catalítico do eletrodo, análises de MEV e VC foram realizadas usando eletrodos recentemente confeccionados. A imagem obtida de MEV para o material é exibida na Figura 24A-D.

Figura 24. Resultados de MEV usando um corte transversal na tinta de grafite(A), interface entre o substrato e a tinta à base de carbono (B), interface entre as superfícies do eletrodo não ativado (C) e ativado (D) espectros Raman do material condutor otimizado (E).



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [41] com permissão.

A partir das informações de microscopia, a espessura da tinta de grafite foi calculada em ~ 314 µm (Figura 24A). O resultado obtido de espessura do eletrodo pode ser explicado com base em duas hipóteses. (i) Acredita-se que o fato de ter usado duas camadas de adesivo plástico (espessura ~ 150 µm) como máscara de serigrafia, (ii) e o substrato de papel vegetal apresentar baixa porosidade. Esse aspecto do substrato pode estar associado a presença de parafina que é depositada na superfície do papel com a finalidade de assegurar impermeabilidade frente a fluidos líquidos contendo água em sua composição. [44–46]

4.4.2 Caracterização morfológica, estrutural e eletroquímica

Para realizar a caracterização físico-química do eletrodo de papel, a resistência elétrica, bem como MEV, Raman e análises eletroquímicas foram empregadas. O valor obtido para resistividade elétrica de 68 ± 10 Ω cm é consistente com a informação macroscópica tradicional encontrada na literatura para eletrodos de carbono (≤ 1000 Ω cm). [49,56,57] Esse comportamento pode estar associado às propriedades intrínsecas do material de grafite, como tamanho dos flocos, alta superfície de contato, profundidade de poros e maior mobilidade de elétrons, por exemplo. A elevada proporção de partículas condutoras (ø ≤ 50 µm) no aglutinante ABS (1:1; m/m) também pode estar relacionado com o bom desempenho observado para a resistividade elétrica do eletrodo.

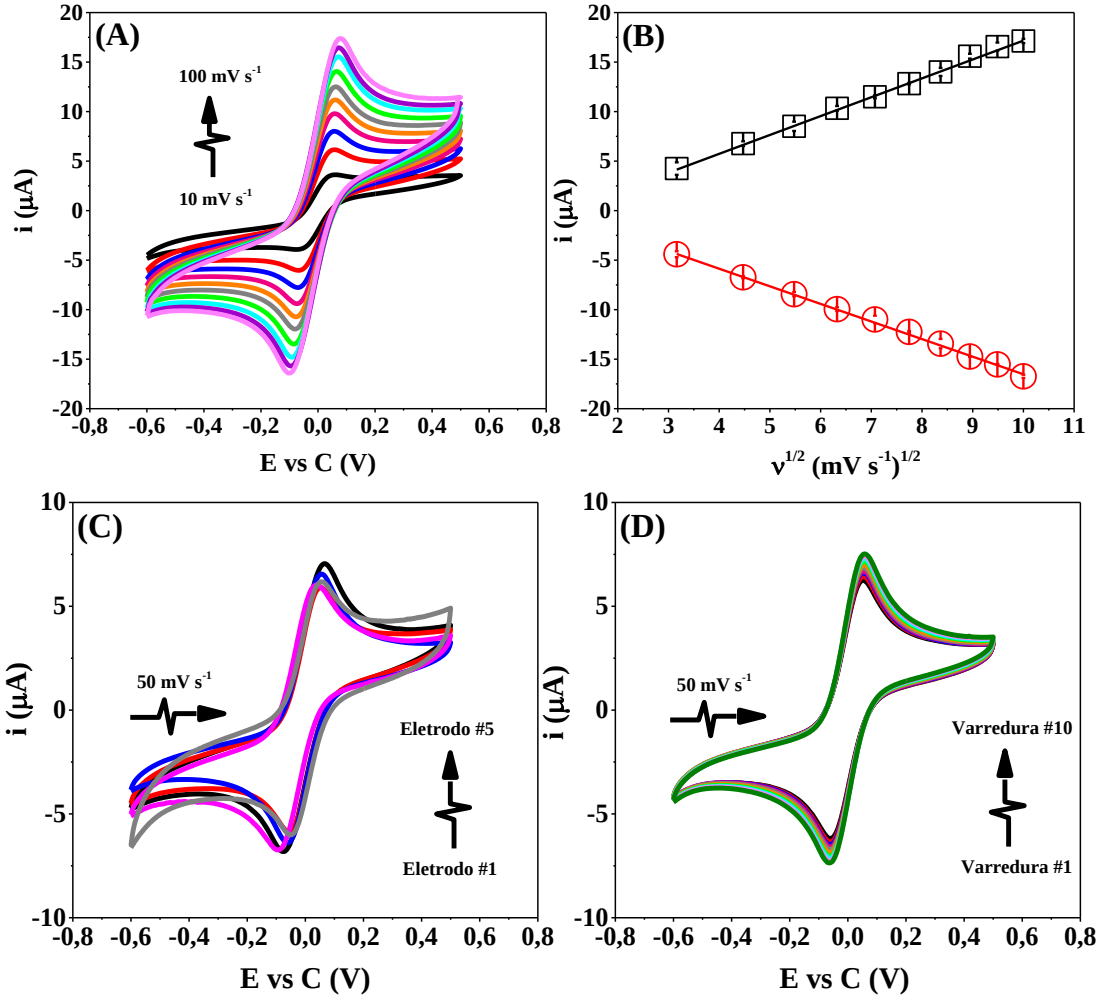
A Figura 24 exibe os resultados de MEV para a interface entre substrato e tinta condutiva (Figura 24B) e superfície do material antes (Figura 24C) e após (Figura 24D) o processo de limpeza eletroquímica. Através da análise de MEV foi possível demonstrar boa aderência da tinta de carbono sobre o papel vegetal, e que a etapa de limpeza

eletroquímica removeu resíduos de ABS que estavam fracamente aderidos na superfície do eletrodo. [26,58]

Os resultados obtidos de Raman são apresentados na Figura 24E com espectros variando de 1200 a 1800 cm^{-1} e dois diferentes picos em 1346 cm^{-1} e 1578 cm^{-1}. As intensidades de pico que são mencionadas acima são atribuídas as bandas D e G, respectivamente. [45] Esses picos podem ser atribuídos à hibridização sp^2 e sp^3 do átomo de carbono presente no compósito à base de grafite. Com base nos resultados obtidos para as bandas D e G, a proporção I_D/I_G foi calculada em 0,142, o que é similar a outros valores reportados na literatura para tintas alternativas à base de grafite. [47,59]

A Figura 25 resume os VCs utilizados para a caracterização eletroquímica. Os experimentos foram realizados em diferentes velocidades de varredura (10 a 100 mV s^{-1}) na presença de mediador redox de $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$. Considerando a velocidade de varredura em 10 mV s^{-1}, o valor encontrado de $\Delta E_p = 96 \pm 5$ mV é característico para um processo quasi-reversível. [60,61] O aceitável valor de regressão linear entre a velocidade de varredura e o sinal de corrente de pico ($R^2 = 0,99$) sugere que a transferência de elétrons na interface do eletrodo é governada por transporte difusional. [41]

Figura 25. Resultados de VCs obtidos em diferentes velocidades de varredura (A) e respectivos gráficos de corrente de pico versus raiz quadrada da velocidade de varredura (B), as barras de erro estão associadas ao desvio padrão de três experimentos diferentes. Análise de reprodutibilidade (C) e repetibilidade (D). As barras de erro estão associadas ao desvio padrão de três experimentos.



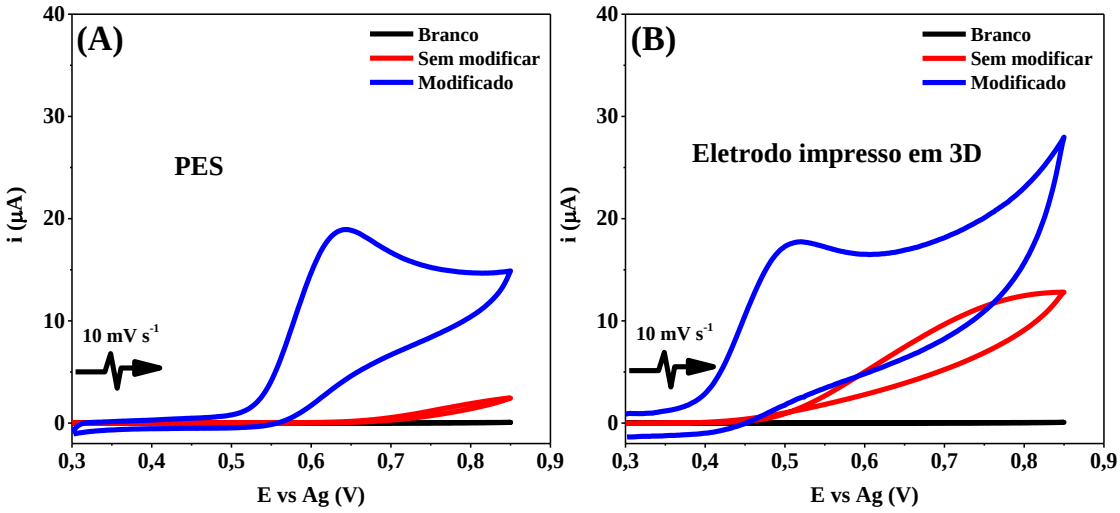
Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [41] com permissão.

A repetibilidade (número de ciclos) e a reprodutibilidade (usando diferentes dispositivos) da resposta eletroquímica foram então avaliadas usando o mesmo mediador redox ($[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$; Figuras 25C e 25D). Os resultados calculados para desvio padrão relativo (DPR) apresentam valores de 4,6% (repetibilidade; n=10) e 7,1% (reprodutibilidade; n=5). Além disso, uma análise ANOVA (n = 5) foi realizada nas respostas de reprodutibilidade, mostrando nenhuma diferença significativa entre todos os dispositivos fabricados (valor F = 1,33; F crítico = 3,88; nível de significância de 95%).

4.4.3 Modificação do sensor e detecção de nitrito

Os eletrodos quimicamente modificados com alótropos de carbono, tais como NTC e OG podem ser importantes opções de materiais eletrocatalisadores.[33] Além disso, a incorporação de carbono nanoestruturado com cobre pode melhorar o desempenho eletroquímico para nitrito, por exemplo.[33] Nesta vertente, o PES proposto foi modificado com Cu/NTC/OG com a finalidade de detectar nitrito (Figura 26).

Figura 26. Comportamento eletroquímico do nitrito antes e depois da modificação da superfície usando PES (A) e sensor impresso em 3D (B).

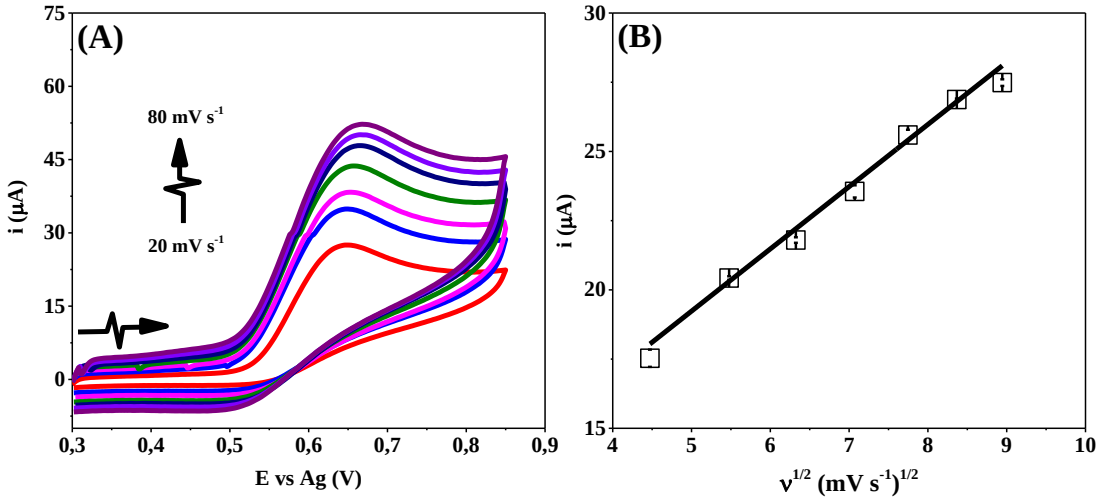


Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [41] com permissão.

Conforme observado nas Figuras 26, o comportamento eletroquímico avaliado indicou que ambos os dispositivos (PES e eletrodo 3D) apresentaram pico de oxidação para nitrito bem definido em 0,63 e 0,51 V *vs* Ag, respectivamente. Além disso, os sinais eletroquímicos dos eletrodos modificados aumentaram a resposta para nitrito em 6,3 e 4,8 vezes para o dispositivo proposto e eletrodo impresso em 3D, respectivamente. A melhora catalítica do eletrodo modificado pode estar associada com a maior área superficial, alto números de arestas e defeitos das nanoestruturas utilizadas. Bagheri *et*

al.[33] relataram o uso de eletrodo de carbono modificado com Cu/NTC/OG. Os autores demonstraram que o sensor modificado pode ser utilizado para a detecção simultânea de nitrito e nitrato. A título de comparação, a mesma estratégia de modificação de superfície também foi empregada usando sensor de carbono impresso em 3D (Figura 27).

Figura 27. Influência de diferentes velocidades de varredura no sinal de corrente de pico da oxidação do nitrito (A) e plotagem da intensidade da corrente de pico *vs* velocidade de varredura (B) usando o eletrodo.



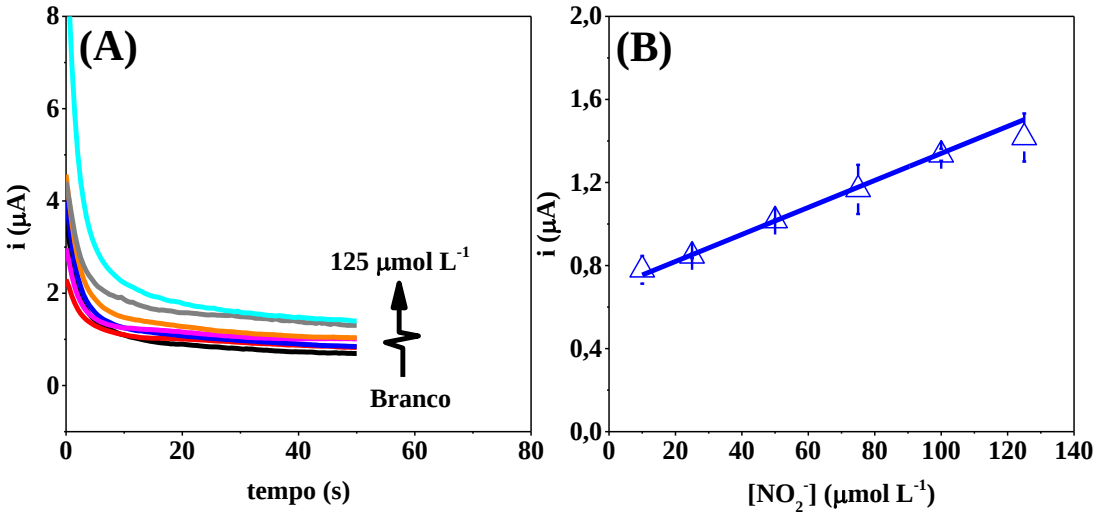
Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [41] com permissão.

Como pode ser observado nas Figuras 27A-B, os eletrodos modificados também foram utilizados para experimentos na presença de solução de nitrito em velocidades de varredura variando de 20 a 80 mV s^{-1}. Os resultados obtidos em termos de i_p versus raiz quadrada da velocidade de varredura apresentaram um comportamento linear aceitável (R^2 = 0,99), indicando que a transferência de massa envolvendo a oxidação do nitrito é governada por difusão. [41]

4.4.4 Desempenho analítico, análises e metragem ambiental

Como o eletrodo aqui proposto forneceu desempenho satisfatório para a oxidação de nitrito, essa propriedade redox foi utilizada para desenvolver um método analítico. O sensor modificado foi empregado para realizar a detecção amperométrica de RSNOs de baixo peso molecular. [66] RSNO pode ser convertido em nitrito por meio de várias estratégias de decomposição, tornando possível o uso de nitrito como um marcador indireto. Todas as respostas eletroquímicas foram realizadas em um potencial de detecção de 0,6 V vs Ag por 50 s com concentrações de nitrito variando de 10 a 125 µmol L^{-1} (Figura 28). A regressão linear associada à detecção indireta de CySNO exibiu um bom valor de R^2 (0,99) e sensibilidade analítica de 0,005 µA/µmol L^{-1}, indicando que o método eletroanalítico pode ser empregado para a análise indireta de CySNO. A equação analítica obtida foi de i (µA) = 0,689 + 0,006 [NO_2^-; µmol L^{-1}]. O valore obtido de LD para CySNO em amostra de soro foi de 4,1 µmol L^{-1}. O valor de LD foi calculado usando o $3*DP_{branco}$/inclinação da curva analítica. O LD alcançado foi comparado com outros valores obtidos em estudo reportados recentemente. [33,68]

Figura 28. Cronoamperogramas registrados na ausência e presença de diferentes concentrações de CySNO (A). Respostas analíticas variando as concentrações de 10 a 125 µmol L^{-1} (B). O sinal analítico foi obtido em tempo de 50 s.



Fonte: Adaptação de Silva-Neto *et al.* [41] com permissão.

Duarte-Junior *et al*. [67] propuseram um dispositivo microfluídico para separação e detecção de RSNOs, o valor calculado para LD foi de 20 µmol L^{-1}. Ismail *et al*.[39] construíram um dispositivo microfluídico em substrato de papel com a finalidade em detectar RSNOs, e o resultado obtido para LD foi de 4 µmol L^{-1}. Em outro estudo, Rebecca *et al*.[68] fabricaram um dispositivo microfluídico combinado com eletrodo de platina para análise indireta de RSNOs. A detecção indireta foi realizando degradando RSNOs em nitrito usando luz-UV e a análise reportada ocorreu em tempo inferior a 2 minutos com valor de LD ~ 73 nmol L^{-1}. Conforme apresentado acima, o sensor modificado proposto forneceu detectabilidade adequada para CySNO e o valor calculado de LD é melhor ou semelhante quando comparado a ferramentas analíticas de baixo custo. [66-70]

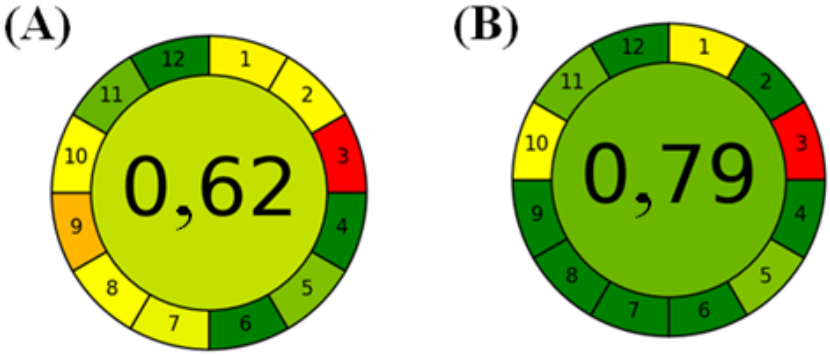
Para demonstrar uma viabilidade analítica do dispositivo, amostras de soro artificial foram dopadas com três diferentes concentrações de CySNO, 20, 40 e 80 µmol L^{-1}. Conforme apresentado na Tabela 3, todas as respostas amperométrica obtidas exibiram valores de recuperação variando de 90 a 105%. Experimentos similares foram realizados usando o método Griess. [38] As respostas obtidas em ambos os métodos mostraram níveis detectados de CysNO sem diferença estatística (teste t; p=0,05), indicando que o eletrodo reciclado proposto permite quantificação com desempenho equivalente ao método comparativo.

Tabela 3. Experimento de recuperação envolvendo amostras de soro dopadas com CysNO em diferentes concentrações com o microdispositivo de papel e o método Griess (n = 3).

Experimento	Adicionado ($\mu mol\ L^{-1}$)	Detectado ($\mu mol\ L^{-1}$)		Recuperação (%)
		PES	Griess-method	
#1	-	≤ LD	≤ LD	-
#2	20	18 ± 3	19,1 ± 0,5	90
#3	40	38 ± 4	37,4 ± 0,5	95
#4	80	84 ± 9	76,4 ± 0,5	105

Para investigar o impacto ecológico do método analítico, a ferramenta AGREE foi utilizada [40]. O sensor empregado para a detecção indireta de CysNO exibiu uma pontuação ecológica ~ 0,79 (Figura 29).

Figura 29. Análise AGREE para o uso do espectrofotômetro (A) e PES (B). (1) tratamento de amostra, (2) quantidade de amostra, (3) posicionamento do dispositivo, (4) etapas de preparação da amostra, (5) automação-miniaturização, (6) derivatização, (7) resíduos, (8) rendimento da análise, (9) consumo de energia, (10) fonte de reagentes, (11) toxicidade, (12) segurança do operador.



Fonte: Autoria própria.

O método comparativo apresentou uma pontuação AGREE de 0,62. Os benefícios ecológicos do uso do PES incluem baixo consumo de amostra (princípio 2), etapas mínimas na preparação da amostra (princípio 4), redução da produção de resíduos (princípio 7), rendimento da análise (princípio 8) e segurança do operador (princípio 12). O pictograma circular do método proposto apresentou maior tonalidade de verde. Alguns pontos de penalidade também foram observados nos princípios 3 e 10, influenciando negativamente na pontuação da métrica ambiental, a qual é representada pelas cores amarela e vermelha. Para o estudo comparativo, usando espectrofotômetro UV/VIS, os princípios 1, 2, 3, 7, 8, 9 e 10 impactaram negativamente da análise ecológica. Tal observação foi representada no pictograma AGREE por meio de cores em amarelo e vermelho.

4.5 CONCLUSÕES

O estudo apresentado demonstrou pela primeira vez o desenvolvimento de eletrodos combinando resíduos de ABS e partículas de grafite que emerge como um potencial protocolo para a reciclagem de (micro)plástico termoplástico. O compósito reciclado revelou: (i) Aspectos macroscópicos, microscópicos e eletroquímicos adequados; (ii) Aceitável concordância entre o sensor proposto e um dispositivo totalmente impresso em 3D, indicando que o eletrodo reciclado aqui proposto pode ser explorado na área de eletroanalítica; (iii) A ferramenta analítica proposta demonstrou com sucesso alto potencial para análise indireta de S-nitrosotiol em amostras de soro diluídas; (iv) O método proposto para a análise de S-nitrosotiol apresentou um satisfatório rendimento ambiental considerando os 12 princípios da química analítica verde.

Portanto, esta abordagem empregada para a reutilização de materiais termoplásticos apresentou enorme potencial para superar o grande número de resíduos de (micro)plásticos. Com relação ao processo de fabricação, observamos alguns pontos críticos que podem ser melhorados como o manuseio manual na etapa de preparação da tinta e do sensor. Esforços futuros serão focados em introduzir estratégias destinadas a tornar todos os processos de fabricação de PES mais rápidos e/ou automatizados. O método reciclável proposto para a fabricação de sensores à base de papel permite o uso de materiais de baixo custo e atende aos princípios da química verde, abrindo assim novas oportunidades na área de sensores químicos dedicados a aplicações bioanalíticas.

4.6 REFERÊNCIAS

[1] Furet, B.; Poullain, P.; Garnier, S. 3D Printing for Construction Based on a Complex Wall of Polymer-Foam and Concrete. *Addit Manuf* 2019, *28*, 58–64. https://doi.org/10.1016/j.addma.2019.04.002.

[2] Mirdamadi, E.; Tashman, J. W.; Shiwarski, D. J.; Palchesko, R. N.; Feinberg, A. W. FRESH 3D Bioprinting a Full-Size Model of the Human Heart. *ACS Biomater Sci Eng* 2020, 0–6. https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.0c01133.

[3] N, J.; P, S. Application of 3D Printed ABS Based Conductive Carbon Black Composite Sensor in Void Fraction Measurement. *Compos B Eng* 2019, *159*, 224–230. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.09.097.

[4] Ambrosi, A.; Webster, R. D.; Pumera, M. Electrochemically Driven Multi-Material 3D-Printing. *Appl Mater Today* 2020, *18*, 100530. https://doi.org/10.1016/j.apmt.2019.100530.

[5] Choong, Y. Y. C.; Tan, H. W.; Patel, D. C.; Choong, W. T. N.; Chen, C. H.; Low, H. Y.; Tan, M. J.; Patel, C. D.; Chua, C. K. The Global Rise of 3D Printing during the COVID-19 Pandemic. *Nat Rev Mater* 2020, *5* (9), 637–639. https://doi.org/10.1038/s41578-020-00234-3.

[6] *Global 3D Printing Filament Market is Anticipated to Grow*. https://www.globenewswire.com/en/news-release/2021/12/27/2358043/0/en/Global-3D-Printing-Filament-Market-is-Anticipated-to-Grow-at-a-CAGR-of-31-10-during-the-Forecast-Period-from-2021-to-2030-Quince-Market-Insights.html (accessed 2022-10-30).

[7] O'Neil, G. D. Toward Single-Step Production of Functional Electrochemical Devices Using 3D Printing: Progress, Challenges, and Opportunities. *Curr Opin Electrochem* 2020, *20*, 60–65. https://doi.org/10.1016/j.coelec.2020.02.023.

[8] Kalsoom, U.; Nesterenko, P. N.; Paull, B. Current and Future Impact of 3D Printing on the Separation Sciences. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **2018**, *105*, 492–502. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.06.006.

[9] Ambrosi, A.; Pumera, M. 3D-Printing Technologies for Electrochemical Applications. *Chem Soc Rev* 2016, *45* (10), 2740–2755. https://doi.org/10.1039/c5cs00714c.

[10] Cardoso, R. M.; Kalinke, C.; Rocha, R. G.; dos Santos, P. L.; Rocha, D. P.; Oliveira, P. R.; Janegitz, B. C.; Bonacin, J. A.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A. Additive-Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensors: A Critical Review. *Anal Chim Acta* 2020, *1118*, 73–91. https://doi.org/10.1016/J.ACA.2020.03.028.

[11] Mohamad Nasir, M. Z.; Pumera, M. Emerging Mono-Elemental 2D Nanomaterials for Electrochemical Sensing Applications: From Borophene to Bismuthene. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **2019**, *121*. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115696.

[12] Hamzah, H. H.; Shafiee, S. A.; Abdalla, A.; Patel, B. A. 3D Printable Conductive Materials for the Fabrication of Electrochemical Sensors: A Mini Review. *Electrochem commun* 2018, *96*, 27–31. https://doi.org/10.1016/j.elecom.2018.09.006.

[13] Katseli, V.; Economou, A.; Kokkinos, C. A Novel All-3D-Printed Cell-on-a-Chip Device as a Useful Electroanalytical Tool: Application to the Simultaneous Voltammetric Determination of Caffeine and Paracetamol. *Talanta* 2020, *208*, 120388. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120388.

[14] Mikula, K.; Skrzypczak, D.; Izydorczyk, G.; Warchoł, J.; Moustakas, K.; Chojnacka, K.; Witek-Krowiak, A. 3D Printing Filament as a Second Life of Waste Plastics—a Review. *Environmental Science and Pollution Research* 2021, *28* (10), 12321–12333. https://doi.org/10.1007/s11356-020-10657-8.

[15] Gkartzou, E.; Koumoulos, E. P.; Charitidis, C. A. Production and 3D Printing Processing of Bio-Based Thermoplastic Filament. *Manuf Rev (Les Ulis)* 2017, *4*. https://doi.org/10.1051/mfreview/2016020.

[16] Ligon, S. C.; Liska, R.; Gurr, M.; Mu, R.; Gmbh, H. B. F. D.; Bleiche, A. D. R.; D-, L. Polymers for 3D Printing and Customized Additive Manufacturing. *Chem Rev* 2017, No. 117, 10212–10290. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00074.

[17] Anastas, P.; Eghbali, N. Green Chemistry: Principles and Practice. *Chem Soc Rev* 2009, *39* (1), 301–312. https://doi.org/10.1039/B918763B.

[18] Tian, X.; Liu, T.; Wang, Q.; Dilmurat, A.; Li, D.; Ziegmann, G. Recycling and Remanufacturing of 3D Printed Continuous Carbon Fiber Reinforced PLA Composites. *J Clean Prod* 2017, *142*, 1609–1618. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.11.139.

[19] Rahimizadeh, A.; Kalman, J.; Fayazbakhsh, K.; Lessard, L. Recycling of Fiberglass Wind Turbine Blades into Reinforced Filaments for Use in Additive Manufacturing. *Compos B Eng* 2019, *175*, 107101. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107101.

[20] Zander, N. E.; Gillan, M.; Burckhard, Z.; Gardea, F. Recycled Polypropylene Blends as Novel 3D Printing Materials. *Addit Manuf* 2019, *25*, 122–130. https://doi.org/10.1016/J.ADDMA.2018.11.009.

[21] Wuamprakhon, P.; Crapnell, R. D.; Sigley, E.; Hurst, N. J.; Williams, R. J.; Sawangphruk, M.; Keefe, E. M.; Banks, C. E. Recycled Additive Manufacturing Feedstocks for Fabricating High Voltage, Low-Cost Aqueous Supercapacitors. *Adv Sustain Syst* 2023, *7*, 2200407. https://doi.org/10.1002/ADSU.202200407.

[22] Sigley, E.; Kalinke, C.; Crapnell, R. D.; Whittingham, M. J.; Williams, R. J.; Keefe, E. M.; Janegitz, B. C.; Bonacin, J. A.; Banks, C. E. Circular Economy Electrochemistry: Creating Additive Manufacturing Feedstocks for Caffeine Detection from Post-Industrial Coffee Pod Waste. *ACS Sustain Chem Eng* 2023. https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.2C06514

[23] Khorablou, Z.; Shahdost-fard, F.; Razmi, H.; Yola, M. L.; Karimi-Maleh, H. Recent Advances in Developing Optical and Electrochemical Sensors for Analysis of Methamphetamine: A Review. *Chemosphere* 2021, *278*, 130393. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.130393.

[24] de Araujo, W. R.; Cardoso, T. M. G.; da Rocha, R. G.; Santana, M. H. P.; Muñoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Paixão, T. R. L. C.; Coltro, W. K. T. Portable Analytical Platforms for Forensic Chemistry: A Review. *Anal Chim Acta* 2018, *1034*, 1–21. https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.014.

[25] Cate, D. M.; Noblitt, S. D.; Volckens, J.; Henry, C. S. Multiplexed Paper Analytical Device for Quantification of Metals Using Distance-Based Detection. *Lab Chip* 2015, *15* (13), 2808–2818. https://doi.org/10.1039/c5lc00364d.

[26] Silva-Neto, H. A.; Santhiago, M.; Duarte, L. C.; Coltro, W. K. T. Fully 3D Printing of Carbon Black-Thermoplastic Hybrid Materials and Fast Activation for Development of Highly Stable Electrochemical Sensors. *Sens Actuators B Chem* 2021, *349*, 130721. https://doi.org/10.1016/J.SNB.2021.130721.

[27] Bao, C.; Kaur, M.; Kim, W. S. Toward a Highly Selective Artificial Saliva Sensor Using Printed Hybrid Field Effect Transistors. *Sens Actuators B Chem* 2019, *285*, 186–192. https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.01.062.

[28] Song, Y.; Xu, T.; Xiu, J.; Zhang, X. Mini-Pillar Microarray for Individually Electrochemical Sensing in Microdroplets. *Biosens Bioelectron* 2020, *149*. https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111845.

[29] Chen, X.; Li, Y.; Wang, X.; Yu, H. Origami Paper-Based Stretchable Humidity Sensor for Textile-Attachable Wearable Electronics. *ACS Appl Mater Interfaces* 2022, *14* (31), 36227–36237. https://doi.org/10.1021/ACSAMI.2C08245.

[30] Ming, T.; Cheng, Y.; Xing, Y.; Luo, J.; Mao, G.; Liu, J.; Sun, S.; Kong, F.; Jin, H.; Cai, X. Electrochemical Microfluidic Paper-Based Aptasensor Platform Based on a Biotin-Streptavidin System for Label-Free Detection of Biomarkers. *ACS Appl Mater Interfaces* 2021, *13* (39), 46317–46324. https://doi.org/10.1021/ACSAMI.1C12716

[31] Dias, A. A.; Chagas, C. L. S.; Silva-Neto, H. A.; Lobo-Junior, E. O.; Sgobbi, L. F.; de Araujo, W. R.; Paixaõ, T. R. L. C.; Coltro, W. K. T. Environmentally Friendly Manufacturing of Flexible Graphite Electrodes for a Wearable Device Monitoring Zinc in Sweat. *ACS Appl Mater Interfaces* 2019, *11* (43), 39484–39492. https://doi.org/10.1021/acsami.9b12797.

[32] Liu, X.; Li, X.; Gao, X.; Ge, L.; Sun, X.; Li, F. A Universal Paper-Based Electrochemical Sensor for Zero-Background Assay of Diverse Biomarkers. *ACS Appl Mater Interfaces* 2019, *11* (17), 15381–15388. https://doi.org/10.1021/acsami.9b03860.

[33] Bagheri, H.; Hajian, A.; Rezaei, M.; Shirzadmehr, A. Composite of Cu Metal Nanoparticles-Multiwall Carbon Nanotubes-Reduced Graphene Oxide as a Novel and High Performance Platform of the Electrochemical Sensor for Simultaneous Determination of Nitrite and Nitrate. *J Hazard Mater* 2017, *324*, 762–772. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.11.055.

[34] Williams, D. L. Y. N. H. The Chemistry of S-Nitrosothiols. *Anal* Chem 1999, *32* (10), 869–876.

[35] Silva-Neto, H. A.; Duarte-Junior, G. F.; Silvério Bazílio, G.; Alves Parente-Rocha, J.; Colugnati, D. B.; Borges, C. L.; Coltro, W. K. T. IMPRESSÃO 3D DE SEPARADOR MAGNÉTICO: UMA ABORDAGEM ACESSÍVEL PARA O PREPARO DE AMOSTRAS NO DIAGNÓSTICO DA COVID-19. *Quim. Nova* 2023. https://doi.org/10.21577/0100-4042.20230023.

[36] Rocha, D.S.; Silva-Neto, H. A.; Oliveira, L.C.; Souza, S.; Santana, M.; Coltro, W.K.T. Disposable Stencil-Printed Carbon Electrodes for Electrochemical Analysis of Sildenafil Citrate in Commercial and Adulterated Tablets. *Brazilian Journal of Analytical Chemistry* 2021, *9* (34), 210–228. https://doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.ar-65-2021.

[37] Fava, E. L.; Silva, T. A.; Prado, T. M. do; Moraes, F. C. de; Faria, R. C.; Fatibello-Filho, O. Electrochemical Paper-Based Microfluidic Device for High Throughput Multiplexed Analysis. *Talanta* 2019, *203*, 280–286. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.081.

[38] Peterson, L. A.; Wagener, T.; Sies, H.; Stahl, W. Decomposition of S -Nitrosocysteine via S - to N -Transnitrosation. *Chem. Res. Toxicol.* 2007, 20 (5), 721–723. https://doi.org/10.1021/tx700095u

[39] Ismail, A.; Araújo, M. O.; Chagas, C. L. S.; Griveau, S.; D'Orlyé, F.; Varenne, A.; Bedioui, F.; Coltro, W. K. T. Colorimetric Analysis of the Decomposition of S-Nitrosothiols on Paper-Based Microfluidic Devices. *Analyst* 2016, *141* (22), 6314–6320. https://doi.org/10.1039/c6an01439a.

[40] Pena-Pereira F, Wojnowski W, Tobiszewski M (2020) AGREE - Analytical GREEnness metric approach and software. Anal Chem 2020, 92:10076–10082. https://doi.org/10.1021/acs.analchem. 0c01887

[41] Silva-Neto HA, Duarte-Junior GF, Rocha DS et al (2023) Recycling 3D printed residues for the development of disposable paper-based electrochemical sensors. ACS Appl Mater Interfaces 2023, 15:14111–14121. https://doi.org/10.1021/acsami.3c00370

[42] Stefano, J. S.; Orzari, L. O.; Silva-Neto, H. A.; de Ataíde, V. N.; Mendes, L. F.; Coltro, W. K. T.; Longo Cesar Paixão, T. R.; Janegitz, B. C. Different Approaches for Fabrication of Low-Cost Electrochemical Sensors. *Curr Opin Electrochem* 2022, *32*, 100893. https://doi.org/10.1016/j.coelec.2021.100893.

[43] Silva-Neto, H. A.; Rocha, D. S.; Pradela-Filho, L. A.; Paixão, T. R. L. C.; Coltro, W. K. T. (Bio)Electrodes on Paper Platforms as Simple and Portable Analytical Tools for Bioanalytical Applications. *Advances in Bioelectrochemistry Volume 5* 2023, 181–202. https://doi.org/10.1007/978-3-031-10832-7_6.

[44] Silva-Neto, H. A.; Arantes, I. V. S.; Ferreira, A. L.; do Nascimento, G. H. M.; Meloni, G. N.; de Araujo, W. R.; Paixão, T. R. L. C.; Coltro, W. K. T. Recent Advances on Paper-Based Microfluidic Devices for Bioanalysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2023, *158*, 116893. https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2022.116893.

[45] Camargo, J. R.; Andreotti, I. A. A.; Kalinke, C.; Henrique, J. M.; Bonacin, J. A.; Janegitz, B. C. Waterproof Paper as a New Substrate to Construct a Disposable Sensor for the Electrochemical Determination of Paracetamol and Melatonin. *Talanta* 2020, *208*, 120458. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120458.

[46] Silva-Neto, H. A.; Cardoso, T. M. G.; McMahon, C. J.; Sgobbi, L. F.; Henry, C. S.; Coltro, W. K. T. Plug-and-Play Assembly of Paper-Based Colorimetric and Electrochemical Devices for Multiplexed Detection of Metals. *Analyst* 2021, *146* (11), 3463–3473. https://doi.org/10.1039/D1AN00176K.

[47] Castro, L. F.; Silva-Neto, H. A.; Sousa, L. R.; de Araujo, W. R.; Coltro, W. K. T. Silicone Glue-Based Graphite Ink Incorporated on Paper Platform as an Affordable Approach to Construct Stable Electrochemical Sensors. *Talanta* 2023, *251*, 123812. https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2022.123812.

[48] Santhiago, M.; Corrêa, C. C.; Bernardes, J. S.; Pereira, M. P.; Oliveira, L. J. M.; Strauss, M.; Bufon, C. C. B. Flexible and Foldable Fully-Printed Carbon Black Conductive Nanostructures on Paper for High-Performance Electronic, Electrochemical, and Wearable

Devices. *ACS Appl Mater Interfaces* 2017, *9* (28), 24365–24372. https://doi.org/10.1021/acsami.7b06598.

[49] Silva, L. A. J.; da Silva, W. P.; Giuliani, J. G.; Canobre, S. C.; Garcia, C. D.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M. Use of Pyrolyzed Paper as Disposable Substrates for Voltammetric Determination of Trace Metals. *Talanta* 2017, *165*, 33–38. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.009.

[50] Mettakoonpitak, J.; Mehaffy, J.; Volckens, J.; Henry, C. S. AgNP/Bi/Nafion-Modified Disposable Electrodes for Sensitive Zn(II), Cd(II), and Pb(II) Detection in Aerosol Samples. *Electroanalysis* 2017, *29* (3), 880–889. https://doi.org/10.1002/elan.201600591.

[51] Rymansaib, Z.; Iravani, P.; Emslie, E.; Medvidović-Kosanović, M.; Sak-Bosnar, M.; Verdejo, R.; Marken, F. All-Polystyrene 3D-Printed Electrochemical Device with Embedded Carbon Nanofiber-Graphite-Polystyrene Composite Conductor. *Electroanalysis* 2016, *28* (7), 1517–1523. https://doi.org/10.1002/elan.201600017.

[52] Pradela-Filho, L. A.; Andreotti, I. A. A.; Carvalho, J. H. S.; Araújo, D. A. G.; Orzari, L. O.; Gatti, A.; Takeuchi, R. M.; Santos, A. L.; Janegitz, B. C. Glass Varnish-Based Carbon Conductive Ink: A New Way to Produce Disposable Electrochemical Sensors. *Sens Actuators B Chem* 2020, *305*, 127433. https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127433.

[53] Pradela-Filho, L. A.; Araújo, D. A. G.; Takeuchi, R. M.; Santos, A. L. Nail Polish and Carbon Powder: An Attractive Mixture to Prepare Paper-Based Electrodes. *Electrochim Acta* 2017, *258*, 786–792. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.11.127.

[54] Delgado, K. P.; Raymundo-Pereira, P. A.; Campos, A. M.; Oliveira, O. N.; Janegitz, B. C. Ultralow Cost Electrochemical Sensor Made of Potato Starch and Carbon Black Nanoballs to Detect Tetracycline in Waters and Milk. *Electroanalysis* 2018, *30* (9), 2153–2159. https://doi.org/10.1002/ELAN.201800294.

[55] Sameenoi, Y.; Mensack, M. M.; Boonsong, K.; Ewing, R.; Dungchai, W.; Chailapakul, O.; Cropek, D. M.; Henry, C. S. Poly(Dimethylsiloxane) Cross-Linked Carbon Paste Electrodes for Microfluidic Electrochemical Sensing. *Analyst* 2011, *136* (15), 3177–3184. https://doi.org/10.1039/c1an15335h.

[56] Rocha, D. S.; Duarte, L. C.; Silva-Neto, H. A.; Chagas, C. L. S.; Santana, P.; Filho, N. R. A.; Coltro, W. K. T. Sandpaper-Based Electrochemical Devices Assembled on a Reusable 3D-Printed Holder to Detect Date Rape Drug in Beverages. *Talanta* 2021, *232*. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122408.

[57] Petroni, J. M.; Neves, M. M.; de Moraes, N. C.; Bezerra da Silva, R. A.; Ferreira, V. S.; Lucca, B. G. Development of Highly Sensitive Electrochemical Sensor Using New Graphite/Acrylonitrile Butadiene Styrene Conductive Composite and 3D Printing-Based Alternative Fabrication Protocol. *Anal Chim Acta* 2021, *1167*. https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338566.

[58] Richter, E. M.; Rocha, D. P.; Cardoso, R. M.; Keefe, E. M.; Foster, C. W.; Munoz, R. A. A.; Banks, C. E. Complete Additively Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensing Platform. *Anal Chem* 2019, *91*, 12844–12851. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02573.

[59] Noviana, E.; McCord, C. P.; Clark, K. M.; Jang, I.; Henry, C. S. Electrochemical Paper-Based Devices: Sensing Approaches and Progress toward Practical Applications. *Lab Chip* 2020, *20* (1), 9–34. https://doi.org/10.1039/c9lc00903e.

[60] McCreery, R. L. Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry. *Chem Rev* 2008, *108* (7), 2646–2687. https://doi.org/10.1021/cr068076m.

[61] Nicholson, R. S.; Shain, I. Theory of Stationary Electrode Polarography Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible , Irreversible , and Kinetic Systems. *Anal Chem* 1964, *36* (4), 706–723. https://doi.org/10.1021/ac60210a007.

[62] Nicholson, R. S. Theory and Application of Cyclic Voltammetry for Measurement of Electrode Reaction Kinetics. *Anal Chem* 1965, *37* (11), 1351–1355. https://doi.org/10.1021/ac60230a016.

[63] Silva-Neto, H. A.; Dias, A. A.; Coltro, W. K. T. 3D-Printed Electrochemical Platform with Multi-Purpose Carbon Black Sensing Electrodes. *Microchimica Acta* 2022, *189* (6), 1–12. https://doi.org/10.1007/S00604-022-05323-4/TABLES/2.

[64] Browne, M. P.; Novotný, F.; Sofer, Z.; Pumera, M. 3D Printed Graphene Electrodes' Electrochemical Activation. *ACS Appl Mater Interfaces* 2018, *10* (46), 40294–40301. https://doi.org/10.1021/acsami.8b14701.

[65] Santos, W. J. R.; Sousa, A. L.; Luz, R. C. S.; Damos, F. S.; Kubota, L. T.; Tanaka, A. A.; Tanaka, S. M. C. N. Amperometric Sensor for Nitrite Using a Glassy Carbon Electrode Modified with Alternating Layers of Iron(III) Tetra-(N-Methyl-4-Pyridyl)-Porphyrin and Cobalt(II) Tetrasulfonated Phthalocyanine. *Talanta* 2006, *70* (3), 588–594. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.01.023.

[66] Bedioui, F.; Ismail, A.; Griveau, S. Electrochemical Detection of Nitric Oxide and S-Nitrosothiols in Biological Systems : Past , Present & Future. *Curr Opin Electrochem* 2018, *12*, 42–50. https://doi.org/10.1016/j.coelec.2018.04.014.

[67] Duarte-Junior, G. F.; Ismail, A.; Griveau, S.; D'Orlyé, F.; Fracassi Da Silva, J. A.; Coltro, W. K. T.; Bedioui, F.; Varenne, A. Integrated Microfluidic Device for the Separation, Decomposition and Detection of Low Molecular Weight S-Nitrosothiols. *Analyst* 2019, *144* (1), 180–185. https://doi.org/10.1039/c8an00757h.

[68] Hunter, R. A.; Schoen, M. H. S - Nitrosothiol Analysis via Photolysis and Amperometric Nitric Oxide Detection in a Micro Fl Uidic Device. *Anal Chem* 2015, 87 (6), 3171-3176. https://doi.org/10.1021/ac503220z.

[69] Ling, P.; Sun, X.; Pei Yang, X. G.; Gao, F. In Situ Synthesis of Ultrafine Cu2O on Layered Double Hydroxide for Electrochemical Detection of S-Nitrosothiols. *Talanta* 2022, *250*, 123736. https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2022.123736.

[70] Ling, P.; Chen, N.; Sun, X.; Gao, X.; Wang, L.; Yang, P.; Gao, F. Porphyrin Decorated Cu2O Nanocrystals for Electroanalytical Detection of S-Nitrosothiols. *Anal Chim Acta* 2022, *1202*, 339687. https://doi.org/10.1016/J.ACA.2022.339687.

CAPÍTULO 5

IMPRESSÃO 3D DE SENSOR ELETROQUÍMICO PARA MONITORAMENTO DE ÁCIDO FÓLICO EM AMOSTRA DE SUCO

RESUMO

Neste capítulo, uma célula eletroquímica composta por eletrodos de negro de fumo (CB) foi manufaturada utilizando impressora 3D. O sensor 3D foi desenvolvido visando a detecção e o monitoramento da fotoestabilidade de ácido fólico (AF) em amostras de sucos. A superfície do eletrodo foi caracterizada utilizando experimentos de microscopia eletrônica de varredura e voltametria cíclica. O método eletroanalítico proposto exibiu faixa linear de concentração entre 10 e 200 µmol L^{-1} (R^2 > 0,99), limite de detecção (LD) de ~ 5,1 µmol L^{-1} e desempenho aceitável em termos de reprodutibilidade, repetibilidade e seletividade. A análise de AF foi realizada em quatro amostras de bebidas diferentes (suco de laranja, suco de maça e água coco), as quais apresentaram concentrações entre 0,028 a 0,152 mmol L^{-1}. Os resultados atingidos utilizando o método proposto exibiu valores de concentração de AF estatisticamente similares ao observado em técnica comparativa, empregando um espectrofotômetro UV-Vis (nível de confiança de 95%). Além disso, os resultados alcançados nos experimentos de fotoestabilidade indicaram que o AF pode ser parcialmente degradado após 5 e 20 min de exposição UV. Os resultados apresentados utilizando eletrodos impressos em 3D apresentaram potencialidade para uso em duas vertentes, detecção e monitoramento da fotoestabilidade do AF em amostras de sucos.

5.1 INTRODUÇÃO

O mercado global envolvendo ingredientes alimentares foi avaliado em US$ 118 bilhões em 2021 e deverá aumentar 6,4% (ao ano) de 2022 a 2030. [1] Um dos aditivos nos alimentos é o ácido fólico (AF) e seu mercado representa ~ US$ 665 milhões. [2] AF ($C_{19}H_{19}N_7O_6$) é uma vitamina solúvel em água e não é produzida naturalmente no corpo humano. O consumo desse aditivo alimentar se faz necessário para o bom funcionamento do sistema hematopoiético, o qual é uma coenzima associada ao ferro heme.[3] Além disso, a ingestão de AF é essencial para a formação de purina e timidina, que fazem parte da biossíntese de ácidos nucleicos. [4,5]

O déficit de AF pode levar à anemia megaloblástica e distúrbios neurológicos e, em mulheres grávidas, o desenvolvimento de baixo peso fetal, lábio leporino e defeitos cardíacos. [6,7] Por esta razão, a fortificação de alimentos com AF é recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), e a sua suplementação é de 0,4 mg por dia. [7] Por outro lado, o consumo excessivo de AF pode impactar negativamente a absorção de vitamina, Zn e cobalamina. [5,7]

Outro ponto chave que envolve a adição de AF em alimentos é a sua degradação via processos térmico e fotoquímico.[6,8] Estudos reportados na literatura vêm propondo algumas estratégias para melhorar a estabilidade química do AF, os quais incluem o uso de antioxidante, tais como ácido ascórbico. Em outros casos, o encapsulamento do AF com nanopartículas de quitosana.[4] Por estas razões, existem esforços para quantificar AF em amostras de alimentos e as opções disponíveis são os tradicionais métodos analíticos, os quais incluem espectrofotometria,[9] fluorescência,[10] eletroforese capilar (EC) [11] e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).[4,12,13] Zhao *et al.* [11] utilizaram um sistema de EC para determinar AF em sucos de maçã. No estudo destacado

acima, a adequação analítica para detecção de AF foi demonstrada com sucesso, combinando EC com detector de quimiluminescência, resultando em valores de recuperação variando de 94 a 105%, tempo de análise de 20 min e teor de AF em suco de maçã ~ 0,38 mg L^{-1}. Breithaupt *et al.* [12] relataram a utilização de extração em fase sólida em associação com HPLC e detecção UV para análise de AF em sucos de frutas. Os autores obtiveram níveis de AF variando de 0,11 a 1,49 mg L^{-1}. Lebiedzińska *et al.* [14] utilizaram HPLC para a análise de AF em sucos de frutas e cereais, os quais são exemplos de fontes naturais e fortificadas de folatos, respectivamente. Os autores relataram um estudo de adição e recuperação variando entre 98 e 103%, tempo de análise de ~ 16 min e concentração de AF de 154 a 414 µg $(100\ g)^{-1}$. No entanto, estas abordagens podem exigir etapas laboriosas de preparação de amostras e alto consumo de energia e solventes.

A análise eletroquímica é uma outra abordagem interessante que pode ser empregada para monitoramento de AF em amostras de alimentos, pois apresenta simplicidade instrumental, consumo mínimo de reagentes, energia e amostras.[15] Tahernejad-Javazmi *et al.*[16] fabricou eletrodos à base de grafeno e nanocompósito líquido iônico $FeNi_3$ visando melhorar o desempenho analítico para AF. Os autores relataram um valor de LD de 0,1 µmol L^{-1}. Os níveis obtidos de AF em amostras de óleos vegetais variaram de 2,55 a 5,68 µmol L^{-1}, enquanto a concentração de AF encontrada em sucos de maçã foi de ~ 10,44 µmol L^{-1}. Em outros estudos, Tesfaye *et al.* [17] desenvolveram um eletrodo à base de carbono para detecção de AF em sucos, relatando uma faixa de concentração linear de 0,08 a 13 µmol L^{-1} e valor de LD ~ 0,024 µmol L^{-1}. Sadeghi *et al.* [18] demonstraram que eletrodo de pasta modificado com nanotubo de carbono, óxido de cobre e hexafluorofosfato de 1-butil-2,3-dimetilimidazólio pode ser utilizado para detecção de AF em amostras de sucos de maçã e laranja. Os autores

relataram um valor de LD ~ 0,8 nmol L^{-1} e recuperações adequadas entre 99 e 101%. Até o presente momento, a literatura não relata métodos eletroanalíticos combinando eletrodos de negro de fumo (CB) e detecção voltamétrica para a (i) determinação e (ii) avaliação da fotoestabilidade de AF em amostra de suco. Materiais à base de CB vem sendo incorporados em sensores eletroquímicos devido às suas propriedades físico-químicas, as quais incluem alta superfície de contato, estabilidade química, atividade catalítica e condutividade elétrica.[19]

Este capítulo descreve o uso de uma célula eletroquímica impressa em 3D para a análise de AF em amostras de suco antes e depois de sua exposição à radiação UV. O dispositivo impresso em 3D foi inteiramente fabricado através do método de deposição por fusão (FDM), utilizando dois filamentos termoplásticos, ácido polilático (PLA) e PLA dopado com CB (CB/PLA) e uma impressora aditiva Z-Morph.[19,20] Até onde sabemos, a utilização de impressora Z-Morph equipada com filamentos duplos (PLA e CB/PLA) ainda não foi relatada na literatura com o objetivo de fabricar uma célula eletroquímica miniaturizada. Este modelo de impressora 3D pode ser equipado com três opções diferentes de trabalho com controle numérico computadorizado: (i) impressão aditiva, (ii) gravação a laser e (iii) processo de fresagem. Existem também outras opções de impressoras aditivas conforme destacado em alguns artigos de revisão.[21-23] Recentemente, o grupo do Prof. Banks [24] utilizou uma outra opção de impressora Z-Morph, a qual pode ser equipada com filamento único. Os autores demonstraram que esta impressora pode ser uma excelente alternativa para ser carregada com distintas opções de filamentos como materiais condutores e isolantes. A plataforma analítica reportada contém regiões específicas para inserção dos eletrodos de referência, de trabalho e auxiliares. O estudo também evidenciou que a superfície do eletrodo precisa ser ativada para melhorar sua capacidade catalítica.

O dispositivo analítico aqui proposto foi caracterizado em termos de aspectos morfológicos e eletroquímicos. Para investigar a potencialidade analítica do sensor 3D para AF, diferentes amostras de sucos comerciais, incluindo maçã, laranja e água de coco, foram analisadas por voltametria de onda quadrada (do inglês *square wave voltammetry*, SWV). Adicionalmente, o perfil ecológico da plataforma analítica foi calculado com base na abordagem AGREE.[25]

5.2 OBJETIVOS

5.2.1 Objetivo Geral

- Fabricar células eletroquímicas miniaturizadas utilizando impressão aditiva visando o desenvolvimento de método analítico para detecção de ácido fólico em amostra de suco.

5.2.2 Objetivos específicos

- Construir um projeto de uma célula eletroquímica 3D utilizando *softwares* de modelagem e fatiamento.
- Fabricar o sensor eletroquímico utilizando uma impressora 3D modelo Zmorph.
- Ativar a superfície do eletrodo empregando reação de Fenton.
- Caracterizar a superfície do material usando análises de microscopia eletrônica de varredura, voltametria cíclica e amperometria.
- Desenvolver um método analítico para a detecção de ácido fólico em suco.
- Monitorar a fotoestabilidade do ácido fólico em amostra de suco de laranja, maça e água de coco.
- Investigar o impacto ambiental do método proposto utilizando a ferramenta AGREE.

5.3 SEÇÃO EXPERIMENTAL

5.3.1 Reagentes e materiais

Ferrocianeto de potássio, ferricianeto de potássio e peróxido de hidrogênio foram adquiridos da Neon (Suzano, SP, Brasil). Fosfato de sódio dibásico, fosfato de sódio monobásico, cloreto de potássio, ácido cítrico, ácido fólico, acetato de sódio, ácido acético, nitrato de sódio e sulfato de ferro (II) heptahidratado foram adquiridos da Sigma -Aldrich Co (Saint Louis, MO, EUA). Glicose e bicarbonato de sódio foram adquiridos da Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brasil). Tartarato de sódio e ácido L-ascórbico foram adquiridos da Synth (Diadema, SP, Brasil). Todos os reagentes químicos utilizados são de grau analítico e empregados sem purificação adicional. As soluções analíticas foram preparadas utilizando água ultrapura (com condutividade elétrica < 50 µS cm) processada através de um sistema de purificação adquirido da Gehaka (São Paulo, SP, Brasil).

PLA, filamento condutor modelo proto-pasta (CB/PLA) e uma cabine portátil de LED (7 W) foram adquiridos da 3DFila (Belo Horizonte, MG, Brasil), Protoplant (Vancouver, BC, Canadá) e Kiss NY Pro (New York, EUA), respectivamente.

5.3.2 Instrumentação

O dispositivo eletroquímico foi construído usando uma impressora 3D multimaterial de código aberto modelo VX da ZMorph (Wroclaw, Polônia). A detecção eletroquímica foi realizada utilizando um potenciostato/galvanostato modelo µAutolab Tipo II da Metrohm (Utrecht, Holanda). Amostras de alimentos líquidos foram preparadas utilizando um sistema ultrassônico modelo USC700 da Unique (São Paulo, SP, Brasil) e uma centrífuga modelo 208N da Fanem (Guarulhos, SP, Brasil).

5.3.3 Impressão 3D e ativação dos eletrodos

Os componentes da célula eletroquímica que incluíam os eletrodos de trabalho (ET, Ø = 3,5 mm), auxiliar (EA) e de referência (ER) foram fabricados pelo método FDM.[26] Primeiramente, o *layout* do dispositivo foi modelado no *software* SolidWorks 2014, contendo geometria (1,0 x 2,0 x 0,2 cm; largura x comprimento x espessura), a qual foi convertida para formato STL (estereolitografia). Para desenvolver o sensor, dois *layouts* foram projetados, um para o material condutor e outro para o segmento isolante, conforme indicado na Figura 30A. Os arquivos STL foram inseridos no *software* Voxelizer visando a combinação e seleção dos parâmetros de impressão, resultado em um arquivo GCODE (Figura 30B).

Após a finalização da etapa de fatiamento, o arquivo GCODE e os filamentos desejados (condutor e isolante) foram carregados na impressora. A estrutura projetada foi então convertida em uma estrutura sólida na mesa de impressão, e em uma única etapa usando os seguintes parâmetros: altura da camada (0,25 mm), densidade de preenchimento (95%), tipo de preenchimento (favo de mel), velocidade de impressão (90 mm s^{-1}), velocidade de retração (30 mm s^{-1}), diâmetro do bico de impressão (0,4 mm), tempo de impressão (16 min, por dispositivo), temperatura da mesa (60 ºC) e do bico (220 ºC). Na Figura 30C é possível ver uma imagem do dispositivo final.

Antes de utilizar o sensor, uma etapa adicional de pré-tratamento foi realizada, a que foi adaptada de outro estudo.[26] O processo de ativação consistiu em três etapas: (i) a superfície do eletrodo foi polida com lixas (gramatura 280 e 1500) e exposta ao banho de ultrassom por 1 min na presença de água ultrapura. (ii) Uma alíquota de 100 µL (H_2O_2 15% (v/v)) preparada em 10 mg L^{-1} de Fe(II) foi adicionada à célula eletroquímica e exposta à radiação UV por 5 min. (iii) Outra alíquota de 100 µL de solução de ácido

acético (1,0 mol L^{-1}) preparado em KCl (0,05 mol L^{-1}) foi adicionada à superfície do eletrodo e uma diferença de potencial de 1,8 V *vs* CB/PLA foi aplicada por 200 s.

Figura 30. (A) Os dois *Layouts* construídos utilizando o *software* de modelagem. (B) Imagem obtida no *software* de fatiamento durante a criação do arquivo GCODE. (C) Imagem do dispositivo fabricado pronto para uso. Eletrodos de referência (ER), auxiliar (EA) e de trabalho (ET).

Fonte: autoria própria.

5.3.4 Experimentos eletroquímicos

Para investigar o comportamento redox do AF, medidas de voltametria cíclica (VC) na ausência e na presença de AF (1,0 mmol L^{-1}) preparado em $NaHCO_3$ (0,1 mol L^{-1}) foram realizadas. Para obtenção do eletrólito suporte ideal, diferentes soluções foram preparadas incluindo KCl, $NaHCO_3$, PBS (pH = 7,4), NaOH e tampão acetato (pH = 4,5). Todas as soluções mencionadas acima foram preparadas com concentração de 0,1 mol L^{-1}. Experimentos VC foram realizados em velocidades de varredura variando de 10 a 100 mV s^{-1}. VCs foram obtidos para três mediadores redox diferentes a 50 mV s^{-1}. (i) azul de metileno 1,0 mmol L^{-1} preparado em KCl 0,1 mol L^{-1}. (ii) $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ 1,0 mmol L^{-1} preparado em KCl 0,1 mol L^{-1}. (iii) nitrofenol 1,0 mmol L^{-1} preparado em tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH = 4,5). Para calcular o coeficiente de difusão (D_{AF}), experimentos de amperometria foram realizados aplicando uma diferença de potencial de 0,7 V no eletrodo

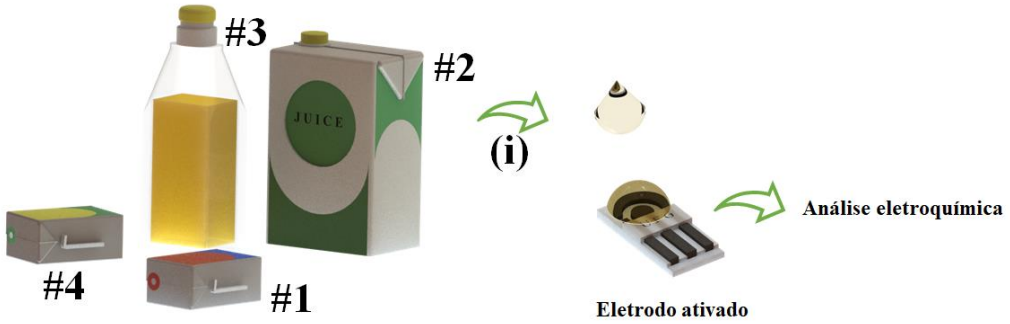
de trabalho (*vs* CB/PLA) durante 7 s na presença de AF em três níveis de concentração diferentes: 100, 200 e 300 µmol L^{-1}.

Para a construção da curva analítica foram realizados experimentos eletroquímicos utilizando SWV. Soluções de AF foram preparadas em concentrações variando de 10 a 200 µmol L^{-1}. A repetibilidade, reprodutibilidade e seletividade também foram avaliadas nas condições otimizadas de SWV. Todos os experimentos eletroquímicos foram realizados utilizando uma alíquota de 100 µL em temperatura ambiente (25 ± 2 ºC).

5.3.5 Amostra de suco

Um total de quatro bebidas diferentes foram adquiridas em um comércio local. As amostras foram denominadas suco de maçã #1, suco de maçã #2, suco de laranja #3 e água de coco #4. Alíquotas de 10 mL de cada amostra foram expostas a banho ultrassônico (por 10 min), centrifugadas (por 30 s a 2.000 rpm) e a parte do sobrenadante coletada utilizando uma micropipeta.[27] Antes de iniciar a análise de AF, as amostras de suco foram preparadas em soluções de PBS (0,1 mol L^{-1}) com diluição de 50 vezes para as amostras #1, #3 e #4, e diluição de 16 vezes para a amostra #2 (Figura 31). Para realizar a diluição de 50 vezes, uma alíquota de 20 µL de amostra de suco foi diluída em 980 µL de PBS (0,1 mol L^{-1}). Para realizar a diluição de 16 vezes, uma alíquota de 62,5 µL de amostra de suco foi diluída em 937,5 µL (solução de PBS).

Figura 31. Representação esquemática das amostras de bebidas que foram submetidas a uma etapa de preparo de amostra e diluição em solução de PBS (i) visando a detecção eletroquímica de AF. #1 e #2 são amostras de suco de maça; #3 e #4 são amostras de suco de laranja e água de coco, respectivamente.



Fonte: autoria própria.

5.3.6 Determinação de ácido fólico e estudo comparativo

A presença de AF em amostras de alimentos foi avaliada através do método eletroanalítico proposto. Para determinar os níveis de AF, alíquotas de 100 µL das amostras de bebidas #1, #2, #3 e #4 foram adicionadas à célula eletroquímica. Como método comparativo, as amostras de bebidas também foram analisadas por espectrofotometria UV-Vis.[9] Para isso, uma curva de calibração foi construída utilizando concentrações de 10 a 100 µmol L^{-1}. Os espectros foram obtidos com comprimento de onda variando de 180 a 500 nm. O espectrofotômetro utilizado foi um Hewlett-Packard modelo 8451A (Palo Alto, CA, EUA). Todas as análises espectrofotométricas foram realizadas com alíquotas de amostra de 3 mL em temperatura ambiente (25 ± 2 ºC).

5.3.7 Monitoramento da fotoestabilidade

Para avaliar a fotoestabilidade do AF, uma cabine portátil UV (7 W) foi utilizada como fonte de radiação. As amostras de suco #1, #2 e #3 foram submetidas a dois tempos

distintos de exposição UV, 5 e 20 min. Em experimentos paralelos, a amostra #4 foi dopada com 50 µmol L^{-1} (amostra #4 (i)) e 150 µmol L^{-1} (amostra #4 (ii)) de AF e o mesmo processo de fotodegradação foi realizado. As concentrações de AF foram obtidas utilizando o método proposto. Além disso, para a amostra #4 (i), o nível de AF também foi determinado usando método espectrofotométrico.

5.3.8 Caracterização morfológica e impacto ambiental

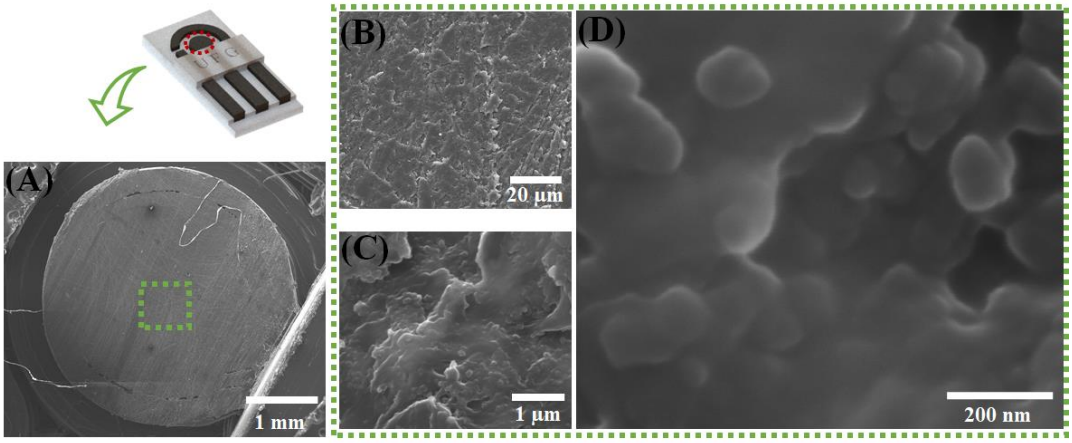
Para a realização dos experimentos de microscopia eletrônica de varredura (MEV), um microscópio modelo Quanta 200 FEI da Thermo Fischer Scientific (Eindhoven, Holanda) foi utilizado. As análises de MEV foram realizadas no Centro de Microscopia da UFMG. O perfil ecológico do método eletroanalítico e comparativo (espectrofotométrico) foram calculados utilizando software AGREE. [25]

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.4.1 Aspectos morfológico e eletroquímico do sensor

A morfologia da superfície do material foi inicialmente caracterizada por MEV, conforme demonstrado na Figura 32. As imagens obtidas de MEV revelaram um diâmetro de ~ 3,59 mm para o ET, o qual representa um valor de fidelidade ~ 97%.

Figura 32. Resultados obtidos de MEV para eletrodo impresso em 3D. (A) vista superior do eletrodo de trabalho (ET) após ampliação de 30 vezes. (B) Superfície do ET após uma ampliação de 1500x, (C) após ampliação de 30.000x e (D) após ampliação de 150.000x.

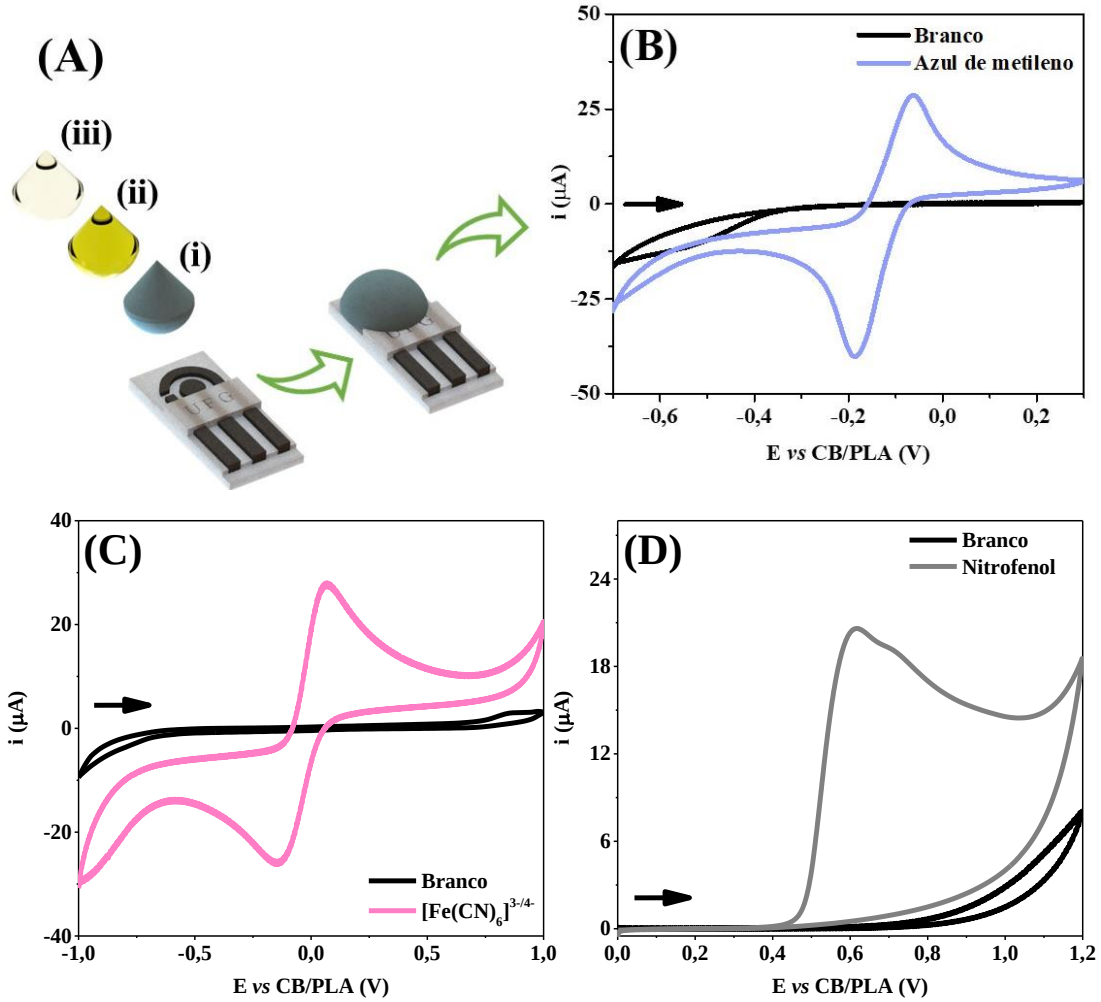


Fonte: autoria própria.

É possível observar também uma superfície rugosa com a presença de partículas incorporadas ao substrato. Estas partículas são geralmente compostas por CB, o qual faz parte da composição do filamento condutor. As partículas de CB apresentaram valores de diâmetro variando entre 48,9 a 58,4 nm. Os resultados obtidos estão de acordo com o esperado para partículas de CB, que está entre 10 e 400 nm.[29]

O comportamento eletroquímico do dispositivo proposto foi avaliado empregando experimentos de VC na presença de três espécies redox diferentes: azul de metileno (i), $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ (ii) e nitrofenol (iii), com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}. Os resultados alcançados são apresentados na Figura 33.

Figura 33. (A) Representação esquemática da ordem utilizada no experimental de VC. (B) Resultado obtido de VC na ausência e presença de azul de metileno 1,0 mmol L $^{-1}$ preparado em KCl 0,1 mol L $^{-1}$ (i). (C) 1,0 mmol L $^{-1}$ de $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ preparado em KCl 0,1 mol L $^{-1}$ (ii). (D) 1,0 mmol L $^{-1}$ de nitrofenol preparado em KCl 0,1 mol L $^{-1}$ (iii). Todos os experimentos eletroquímicos foram realizados aplicando uma diferença de potencial *vs* CB/PLA.



Fonte: autoria própria.

A partir da Figura 33B, é possível observar o comportamento redox do azul de metileno, o qual demonstrou uma separação entre os potenciais de pico (ΔEp) de ~ 121 mV. Experimentos de VC na presença da outra sonda redox, $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$, revelaram um valor de ΔEp de ~ 190 mV (Figura 33C). Em ambos os casos foram observados resultados semelhantes em termos de sinais de corrente de pico (~35 μA). O valor de ΔEp foi menor quando se utilizou o azul de metileno como sonda redox. Esse comportamento pode estar associado à sua estrutura catiônica, menos sensível à superfície do eletrodo.[30] Outros

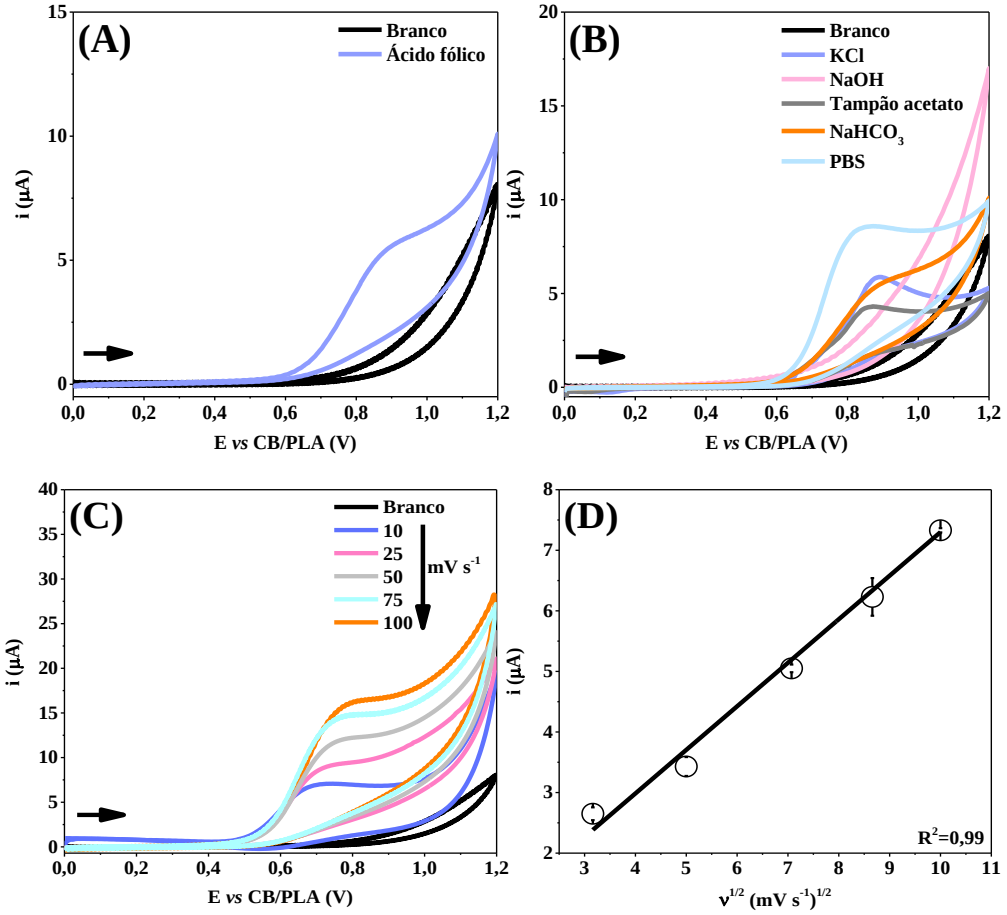
exemplos de sensores impressos em 3D também revelaram comportamento redox semelhante para $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$.[24,31]

Os resultados obtidos de VC para nitrofenol revelaram um sinal de corrente de pico de oxidação bem definido a ~ 0,6 V *vs* CB/PLA (Figura 33D). Jyoti *et al.*[32] construíram eletrodos de grafeno impressos em 3D e relataram um estudo envolvendo a detecção de nitrofenóis. Os autores exibiram valores de picos de oxidação a ~ 0,92 V *vs* Ag/AgCl. Santhiago *et al.* [33] demonstraram a utilização de sensores baseados em papel para detecção de nitrofenóis, obtendo um comportamento redox bem definidos a ~ 0,90 V *vs* carbono. Estes resultados comparativos indicam que o sensor 3D aqui apresentado pode ser adequado para uso em eletroanalítica.

5.4.2 Comportamento redox do ácido fólico

O comportamento redox do AF foi avaliado utilizando experimentos de VC e amperometria. A partir da Figura 34A é possível observar os VCs obtidos na presença e ausência de AF 1 mmol L^{-1} preparado em $NaHCO_3$ 0,1 mol L^{-1}. Um pico anódico bem definido foi observado em ~ 0,80 V *vs* CB/PLA. Para obter o eletrólito suporte mais adequado para o experimento, soluções padrão de AF foram preparadas em diferentes eletrólitos suporte (a 0,1 mol L^{-1} cada). Os resultados alcançados são apresentados na Figura 34B.

Figura 34. (A) Resultados obtidos de VC na ausência e presença de AF 1 mmol L^{-1}. (B) Respostas alcançadas de VC utilizando AF 1 mmol L^{-1} preparado em diferentes eletrólitos suporte. (C) Respostas obtidas de VC para AF utilizando diferentes velocidades de varredura. (D) Sinais obtidos de corrente de pico *vs* raiz quadrada da velocidade de varredura.

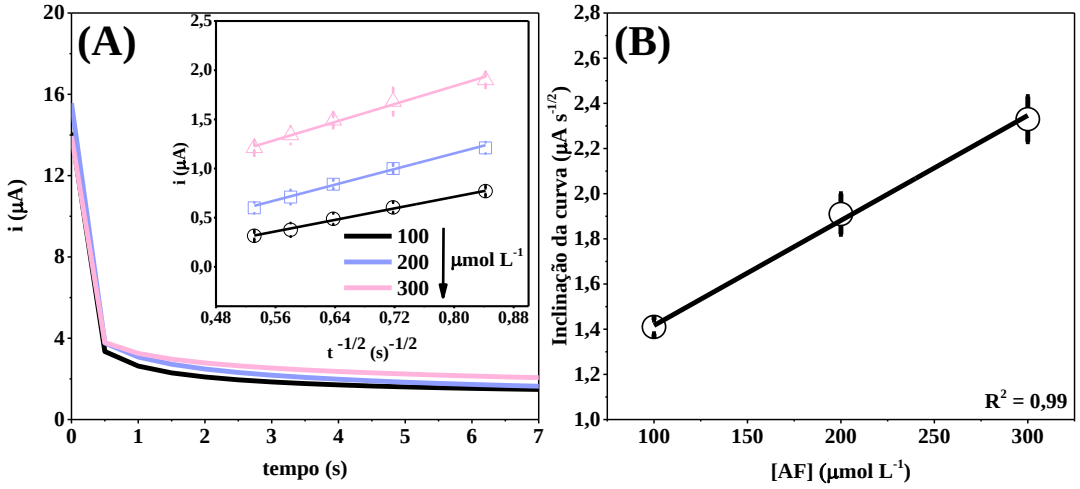


Fonte: autoria própria.

Conforme observado, o VC para AF preparado em PBS 0,1 mol L^{-1} (pH = 7,4) apresentou um aumento substancial na altura de pico anódico, o qual exibiu valores de corrente faradaica ~ 40% superior ao comparado com outros experimentos de VC realizados na presença de AF em KCl, $NaHCO_3$, tempão acetato (pH = 4,5) e NaOH. Assim, os experimentos subsequentes foram realizados na presença de PBS (0,1 mol L^{-1}). García *et al.* [34] utilizaram eletrodos modificados à base de carbono em associação com experimentos de SWV para possibilitar a análise de AF. Os autores utilizaram soluções de PBS (0,1 mol L^{-1}; pH = 7,0) como eletrólito suporte.

Na presença das condições experimentais otimizadas, os experimentos de VC foram então realizados utilizando velocidades de varredura distintas (10 a 100 mV s^{-1}; Figura 34C). A equação obtida no experimento foi i (μA) = 0,109 + 0,719 x $\upsilon^{1/2}$ (mV s^{-1})$^{1/2}$, o qual exibiu boa linearidade no intervalo de velocidade de varredura investigado (R^2 = 0,994; Figura 34D). Desta maneira, a transferência de massa envolvendo a oxidação do AF é governada por difusão.[35] Medidas cronoamperométricas foram utilizadas com o objetivo de calcular o coeficiente de difusão do AF (D_{AF}) (Figura 35). [35]

Figura 35. (A) Resultados obtidos para experimento de amperometria na presença de três níveis diferentes de AF. (B) Curva obtida envolvendo a inclinação *vs* diferentes concentrações de AF. As barras de erro são associadas ao valor de DP de três experimentos diferentes.



Fonte: autoria própria.

A partir da inclinação da curva i (μA) *vs* $t^{-1/2}$ (s) (R^2 = 0,996) e da equação de Cottrell,[35,36] o valor calculado de D_{AF} foi ~ 0,26 x 10^{-4} cm^2 s^{-1}. O valor obtido de D_{AF} está de acordo com resultado relatado em estudo recente.[37]

5.4.3 Desempenho analítico

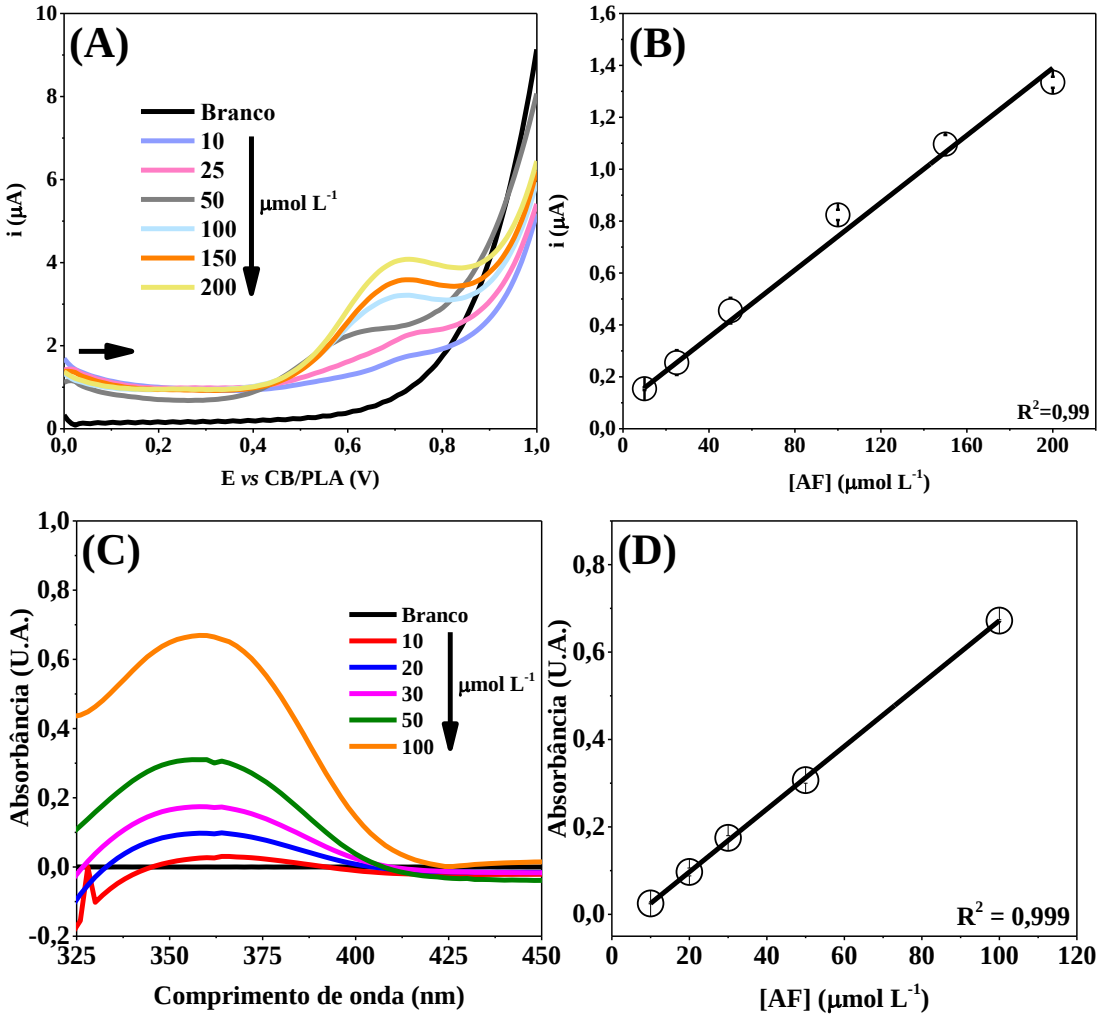
Para obter as melhores condições de análise utilizando a técnica de SWV, alguns parâmetros como amplitude, *step* e frequência foram otimizados. Uma janela de potencial de 0,0 a 1,0 V vs CB/PLA foi utilizada nos experimentos. Os dados alcançados estão resumidos na Tabela 4.

Tabela 4. Respostas obtidas envolvendo a otimização do método SWV visando detecção de ácido fólico.

Parâmetro	Faixa avaliada	Otimizado	Unidade
Amplitude	0,02 - 0,08	0,08	V
Step	0,002 – 0,008	0,008	V
Frequência	8 - 24	16	Hz

Conforme destacado na Tabela acima, os melhores resultados para a oxidação do AF foram observados nas seguintes condições: 0,08 V (amplitude), 0,008 V (*step*) e 16 Hz (frequência). Os parâmetros analíticos para análise de AF foram investigados utilizando concentrações variando de 10 a 200 µmol L^{-1} (Figura 36).

Figura 36. (A) Resultados obtidos de SWV na ausência e presença de diferentes concentrações de AF. (B) Respostas analíticas correspondentes ao gradiente de concentração utilizado. (C) Resultados espectrofotométricos obtidos na ausência e presença de diferentes níveis de AF e (D) curva analítica alcançada utilizando diferentes concentrações de AF. Uma variação de concentração entre 10 e 100 µmol L^{-1} foram utilizadas em ambos os experimentos.



Fonte: autoria própria.

Na Figura 36B é possível observar a curva analítica obtida, a qual é governada pela equação i (µA) = 0,093 + 0,0065 x [AF; µmol L^{-1}] (R^2 = 0,994). O valor calculado de LD foi de ~5,1 µmol L^{-1}. Nas Figuras 36C-D é possível observar também a curva de calibração obtida manuseando um espectrofotômetro UV/Vis. Na Tabela 5 é apresentado um estudo comparativo entre o método proposto e outros métodos eletroanalíticos reportados, os quais visam a detecção de AF.

Tabela 5. Resumida comparação dos aspectos analíticos em termos de eletrodos, método e limite de detecção para ácido fólico.

Eletrodo	Método	Faixa linear ($\mu mol\ L^{-1}$)	LD ($\mu mol\ L^{-1}$)	Ref.
Fe_3O_4MIP/GO	SWAV	2,5 – 48	0,65	[38]
$Ni(OH)_2$/MWCNT	DPV	0,5 – 2,6	0,095	[39]
$FeNi_3$/GO	SWV	0,6 – 1100	0,1	[40]
PMO/CuONP/GCE	DPV	0,01 – 1,5	0,002	[41]
Mo_2CNP/GCE	DPV	0,01 – 120	0,004	[42]
3CP/SPCE	VC	2,5 – 200	0,8	[43]
CB/PLA	SWV	10 – 200	5,1	Este estudo

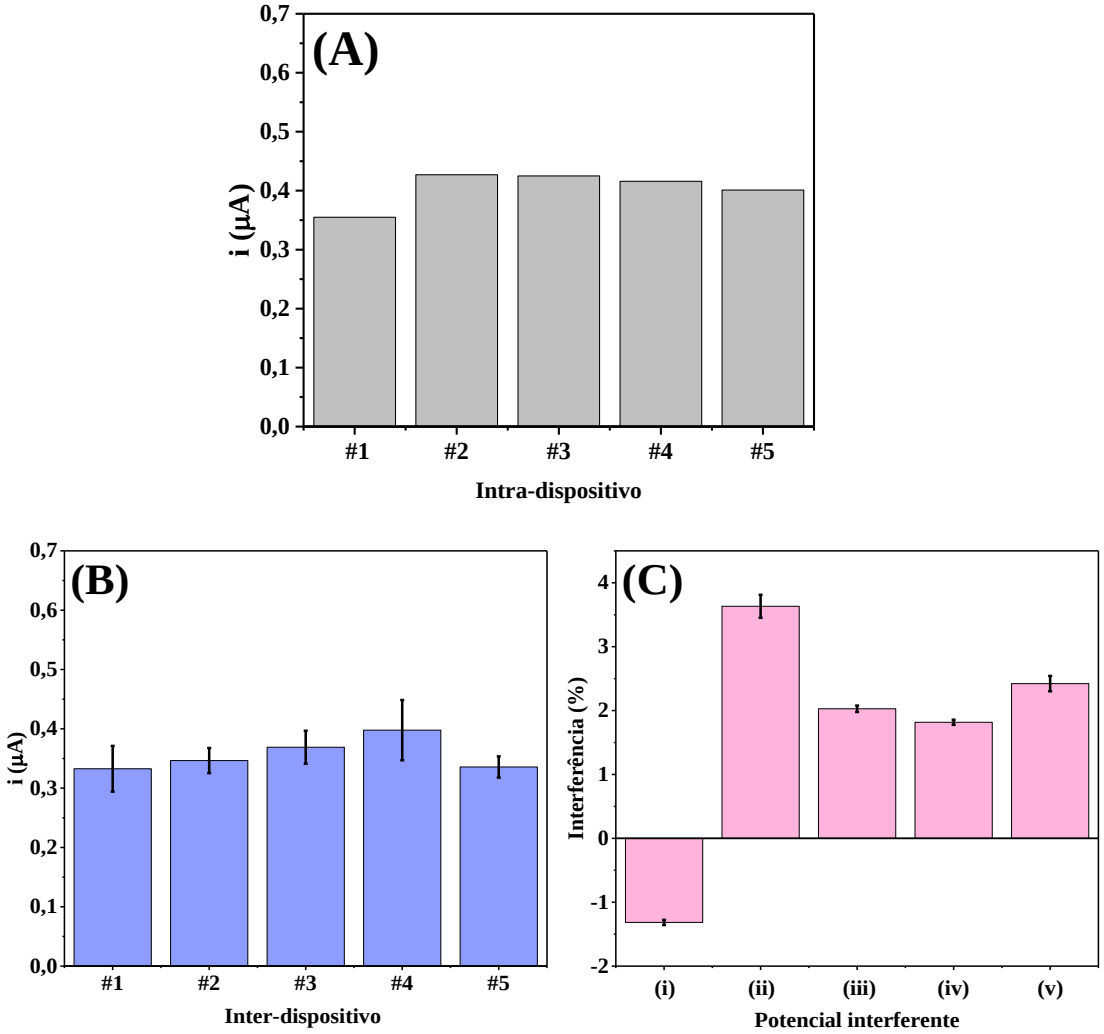
Óxido de grafeno (OG); Polímero molecularmente impresso (MIP); Poli(alaranjado de metila) (PMO); Nanopartícula (NP); eletrodo de carbono vítreo (GCE); Carboneto de molibdênio (Mo_2C); pirrol 3-carboxílico (3CP); Eletrodo de carbono serigrafado (SPCE); Voltametria de redissolução anódica (SWAV); Voltametria de pulso diferencial (DPV).

Observa-se que a análise de AF pode ser realizada com diferentes modelos de eletrodos modificados e técnicas voltamétricas. Alótropos de carbono, polímeros sintéticos e nanopartículas metálicas são exemplos de materiais empregados como sítios catalíticos para oxidação de AF. Além disso, o SWV e o DPV foram as técnicas mais utilizadas devido às respostas rápidas e sensibilidade analítica. Observa-se também que a abordagem proposta apresentou desempenho analítico adequado em termos de LD, sem mesmo utilizar etapas adicionais de modificação. As características analíticas obtidas nesse estudo podem ser consideradas aceitáveis para a detecção de AF em suplementos dietéticos, alimentos fortificados e amostras de sucos.[5,7,37]

5.4.4 Reprodutibilidade, repetibilidade e seletividade

O método analítico proposto também foi avaliado em termos de repetibilidade, reprodutibilidade e seletividade. O estudo de repetibilidade foi realizada empregando cinco detecções consecutivas (Figura 37A). Para o experimento de reprodutibilidade, cinco dispositivos diferentes foram utilizados, os quais foram denominados como eletrodo #1, #2, #3, #4 e #5 (Figura 37B). O estudo de seletividade foi elaborado mediante a preparação de soluções de AF (50 µmol L^{-1}) na presença de outros potenciais aditivos que podem ser encontrados em amostras de suco (Figura 37C).

Figura 37. (A) Resultados obtidos de repetibilidade para detecção de AF utilizando eletrodo impresso em 3D. (B) Sinal de corrente de pico de AF empregando cinco eletrodos diferentes. (C) Estudo de interferência do método proposto na presença de cinco potenciais interferentes distintos, (i) glicose, (ii) ácido tartárico, (iii) nitrato, (iv) ácido ascórbico e (v) ácido cítrico.



Fonte: autoria própria.

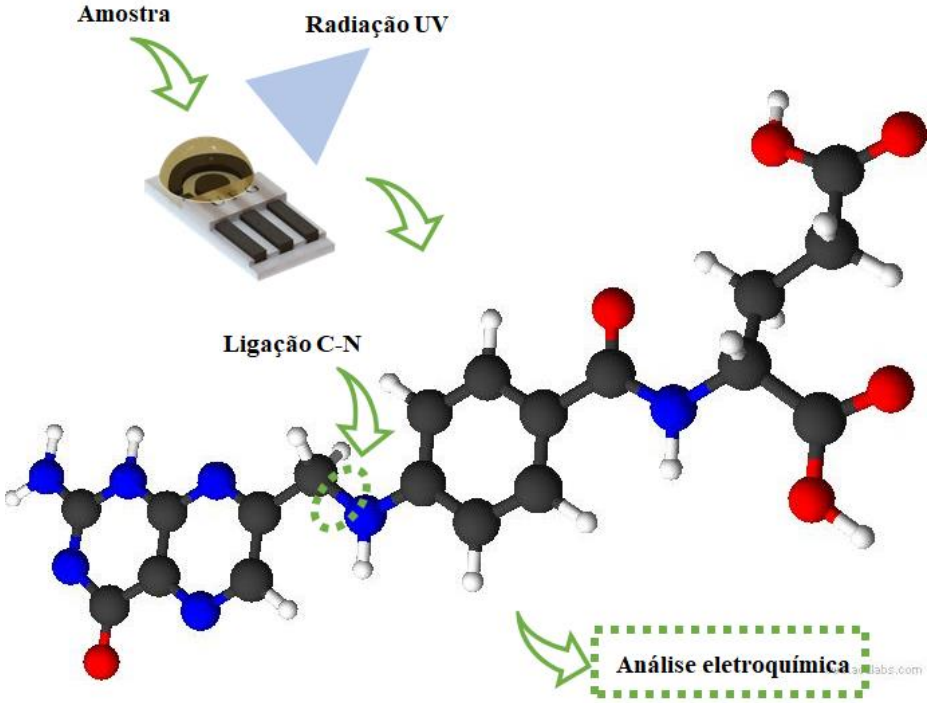
A potencial interferência da glicose, tartarato, nitrato, ácido ascórbico e ácido cítrico foi avaliada em experimentos separados (cada solução preparada a 50 µmol L^{-1} na presença de AF). Para os experimentos de repetibilidade e reprodutibilidade, os valores de desvio padrão relativo (DPR) obtidos foram 7,32 e 4,38%, respectivamente. Winiarski *et al.* [39] utilizaram ET modificados com nanotubos de carbono/hidróxido de níquel visando a detecção de AF em amostras de sucos. Os resultados reportados em termos de repetibilidade e reprodutibilidade revelaram valores de DPR ≤ 3,6%.

Conforme demonstrado na Figura 37C, o estudo de seletividade revelou que glicose, tartarato, nitrato, ácido ascórbico (AA) e ácido cítrico não interferem significativamente no processo de oxidação do AF (interferência ≤ 5%). É importante enfatizar que o método eletroquímico proposto pode ser utilizado para detectar AF na presença de AA. Os resultados alcançados revelaram também um sinal de pico de oxidação bem definido para AA a 0,2 V *vs* CB/PLA, o qual é similar a outro trabalho reportado.[45]

5.4.5 Análise de ácido fólico em suco e impacto ambiental

O aditivo AF é uma vitamina do grupo B que não é produzida naturalmente no organismo humano. A representação 3D da molécula de AF é apresentada na Figura 38.[5,9] Sua presença na dieta humana depende do consumo de alimentos naturais e industrializados. Neste sentido, o desenvolvimento de abordagens analíticas para monitoramento de AF em amostras de alimentos pode ser bastante importante. É importante ressaltar que o AF pode ser degradado quando exposto a altas temperaturas, ar atmosférico e radiação UV.[6,8] Isto sugere também que pode ser importante monitorar a estabilidade do AF em alimentos.

Figura 38. Representação esquemática em 3D da molécula de AF e da possível clivagem entre a ligação C – N devido a presença de radiação UV, a qual foi investigada utilizando experimentos eletroquímicos.



Fonte: autoria própria.

Nesta vertente, o sensor 3D proposto foi utilizado para detecção de AF em sucos comerciais e empregado também para avaliar a fotoestabilidade do AF. As amostras de bebidas foram nomeadas como #1, #2, #3 e #4, as quais correspondem a dois sucos de maçã, um suco de laranja e uma água de coco. Todas as amostras foram diluídas devido à alta concentração de AF. Para avaliar a exatidão do método proposto, as amostras mencionadas acima foram analisadas utilizando método espectrofotométrico UV-Vis. O método de adição de padrão também foi avaliado. A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos empregando ambas as metodologias analíticas, os quais apresentaram níveis de AF variando de 0,028 a 0,152 mmol L^{-1}.

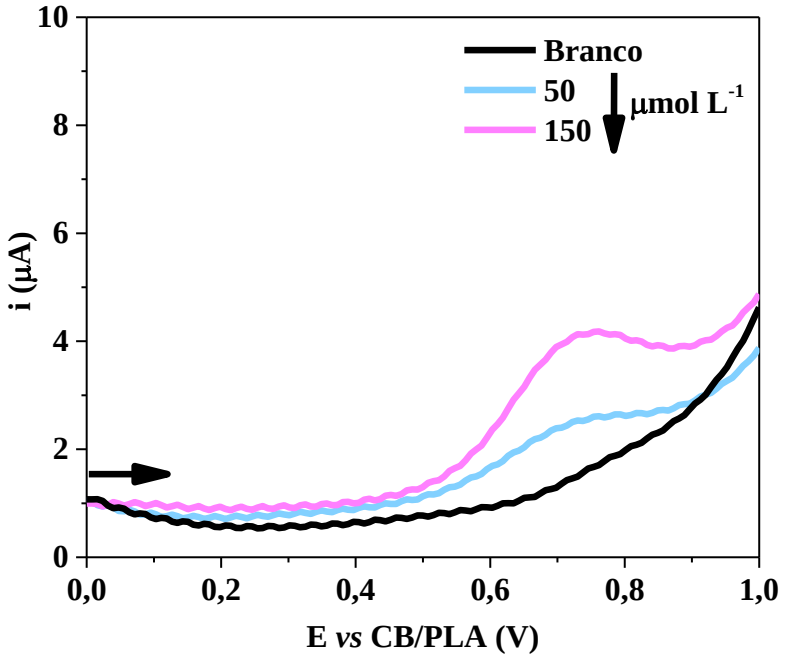
Tabela 6. Resultados obtidos de concentração de AF para quatro bebidas comerciais diferentes utilizando abordagem SWV e método espectrofotométrico UV-Vis (n = 3).

Amostra	SWV		Espectrofotometria	
	Encontrado (mmol L^{-1})	**DPR (%)**	**Encontrado (mmol L^{-1})**	**DPR (%)**
#1	0,152 ± 0,004	2,9	0,1273 ± 0,0002	1,8
#2	0,028 ± 0,001	4,9	0,0287 ± 0,0004	1,6
#3	0,071 ± 0,004	6,4	0,0627 ± 0,0007	1,1
#4	≤ LD	-	≤ LD	-

As amostras #1 e #2 exibiram níveis distintos de AF, tal comportamento pode estar associado ao fato de que essas amostras foram obtidas de fabricantes diferentes. Para comparar os resultados alcançados usando a abordagem proposta e o método espectrofotométrico, uma análise estatística (teste t pareado) foi utilizada. O valor obtido de t (calculado) foi menor que o resultado tabelado de t (crítico) para todas as amostras, indicando que o método analítico aqui proposto não exibe diferença estatística (significância de 95%) quando comparado com os dados obtidos utilizando o método espectrofotométrico.

Adicionalmente, o método de adição e recuperação foi empregado visando calcular o desempenho em termos de exatidão. Para desenvolver o experimento, a amostra #4 foi enriquecida com duas concentrações diferentes de AF (50 e 150 µmol L^{-1}) (Figura 39).

Figura 39. Respostas eletroquímicas obtidas para o estudo de adição e recuperação empregando amostra #4 (água de coco).

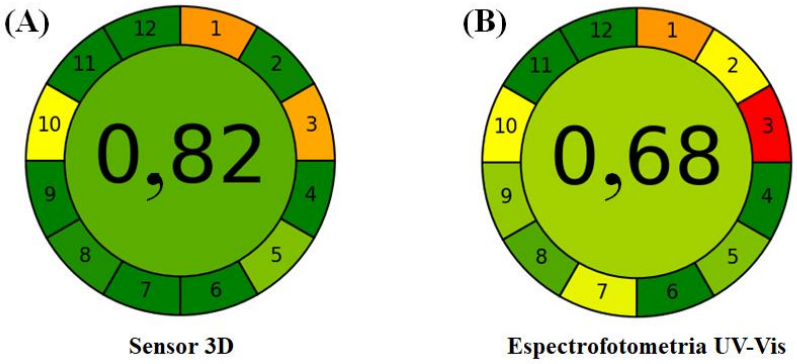


Fonte: autoria própria.

Os valores detectados de AF em amostras de água de coco foram 54 ± 8 e 171 ± 2 µmol L^{-1}, os quais representam uma recuperação variando entre 108 e 114%. O estudo de adição e recuperação aqui investigado apresentou desempenho semelhante a outro estudo utilizando eletrodos de carbono,[40] sugerindo que o método proposto tem potencialidade para detectar AF em amostras de suco.

Para avaliar os indicadores ecológicos do método proposto e do método espectrofotométrico, a ferramenta AGREE foi empregada. Os resultados alcançados são divulgados na Figura 40.

Figura 40. Perfil AGREE obtido para o método proposto (A) e análise comparativa (B), os quais envolvem a detecção de AF em amostras de sucos. (1) tratamento da amostra, (2) quantidade da amostra, (3) posicionamento do dispositivo, (4) etapas de preparação da amostra, (5) miniaturização automatizada, (6) derivatização, (7) desperdício, (8) rendimento da análise, (9) consumo de energia, (10) fonte de reagentes, (11) toxicidade, (12) segurança do operador.



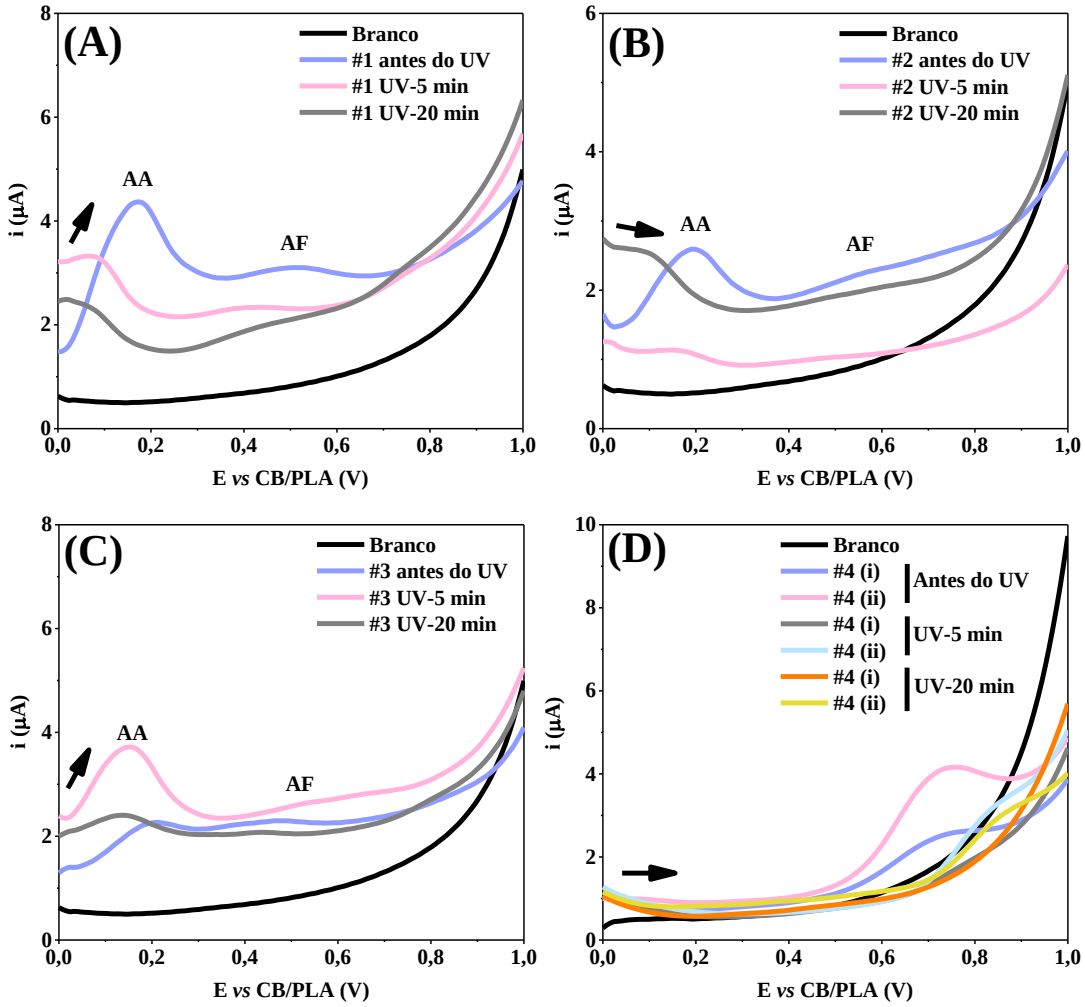
Fonte: autoria própria.

É possível observar um valor de métrica ambiental para o método eletroanalítico ~ 0,82, enquanto a análise comparativa exibiu uma métrica AGREE de ~ 0,68. Os resultados apresentados acima sugerem que a metodologia analítica aqui proposta exibe menor impacto ecológico quando comparado ao método espectrofotométrico.[46] O comportamento ambiental favorável para o método proposto pode estar associado ao baixo consumo de energia (≤ 0,05 kW por análise), menor consumo de amostra (100 µL por análise), baixa produção de resíduos e ao fato de o sensor ser portátil. Como resultado, o pictograma AGREE ficou com maior tonalidade de verde, indicando baixo impacto ambiental da metodologia analítica proposta. Entretanto, o preparo da amostra precisa ser ajustado em estudos futuros, visando a obtenção de um método analítico mais sustentável. Por outra lado, o pictograma obtido para o método comparativo apresentou uma tonalidade verde clara, a qual é um marcador qualitativo de maior impacto ambiental.

5.4.6 Estudo de fotodegradação em amostra de suco comercial

Para avaliar o impacto da radiação UV nos níveis de AF, as amostras #1, #2 e #3 foram analisadas antes e após a exposição à radiação UV em dois momentos diferentes (5 e 20 min). Como a amostra #4 apresentou concentração de AF ≤ LD, essa amostra foi dopada com dois níveis de concentração de AF diferentes (50 e 150 µmol L^{-1}). Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 41.

Figura 41. Resultados obtidos para o estudo de degradação do AF utilizando radiação UV. (A) amostra #1, (B) amostra #2, (C) amostra #3 e (D) amostra #4. Os experimentos de degradação foram realizados antes e após exposição das amostras a radiação UV durante 5 e 20 min.



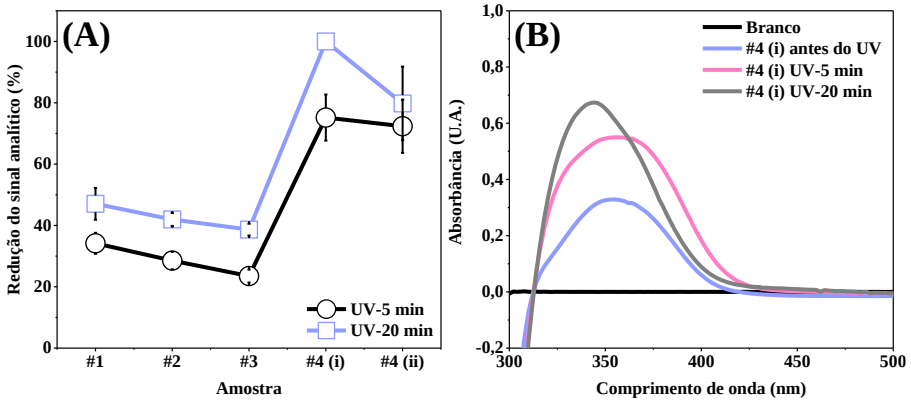
Fonte: autoria própria.

Conforme demonstrado nas Figuras 41A-C, as amostras #1, #2 e #3 apresentaram uma perda de sinal analítico variando de 23,5 a 34,2% após exposição à radiação UV por 5 min. Após 20 min de exposição UV, a degradação de AF aumentou para a faixa de 38,6 a 47,1%. As amostras #4(i) e #4(ii) exibiram níveis de degradação variando de 72,3 a 75,2% e 79,8 a 100% após 5 e 20 min de radiação UV, respectivamente (Figura 41D). Os resultados alcançados revelaram que a presença de radiação UV afeta negativamente na estabilidade do AF em bebidas.

Um outro comportamento interessante foi observado nesse estudo, os resultados obtidos para as amostras #1, #2 e #3 demonstraram baixa perda de sinal analítico quando comparados às amostras #4(i) e #4(ii) (Figura 41D). Este desempenho pode estar associado ao fato que as amostras #1, #2 e #3 contém em sua formulação, o aditivo AA, que é um importante antioxidante e sua presença em bebidas pode ser útil para preservar a fotoestabilidade do AF.[6] Por outra lado, as informações rotuladas da amostra #4 não indicam a presença do aditivo AA, mas do aditivo metabissulfito de potássio, que atua como conservante, antioxidante e antibacteriano.[47]

Até o presente momento, não há estudos relatados na literatura envolvendo a utilização de uma abordagem eletroquímica para monitorar a fotodegradação do AF. Com o objetivo de caracterizar a fotodegradação do AF, a amostra #4(i) também foi analisada pelo método espectrofotométrico antes e após a exposição à radiação UV. Os espectros UV-Vis são apresentados na Figura 42.

Figura 42. (A) Perfil obtido para perda de sinal analítico de AF em amostras submetidas a radiação UV por 5 e 20 min (B) Respostas espectrofotométricas obtidas para a amostra #4 (i) antes e depois da exposição à radiação UV durante 5 e 20 min. Parâmetros utilizados na detecção eletroquímica: amplitude de 0,08 V, *step* de 0,008 V e frequência de 16 Hz.



Fonte: autoria própria.

É possível observar um sinal de pico em ~353,8 nm que está associado à absorção de AF. Após a exposição UV, os sinais exibiram aumentos de ~ 71,1 e 113,4% durante 5 e 20 min, respectivamente. Kristian *et al.*[8] demonstraram que o método espectrofotométrico pode ser utilizado para avaliar a fotodegradação do AF. Os autores reportaram que a degradação do AF ocorre em ~80% após exposição à radiação UV durante 60 min. A provável hipótese para justificar a degradação do AF pode estar associada a uma clivagem da ligação entre C_9 e N_{10} [8] (Figura 38). Como resultado, há a formação de duas outras estruturas, o ácido p-aminobenzoil-L-glutâmico (PGA) e a 6-*6-formylptrtin* (FPT). As moléculas de PGA e FPT também apresentam absorção em comprimentos de onda semelhantes, corroborando com o aumento do pico de absorção do AF após a exposição à radiação UV.[8]

5.5 CONCLUSÕES

O presente capítulo apresentou com sucesso um protocolo para a fabricação de sensor 3D visando a detecção e monitoramento dos níveis de ácido fólico em amostras de bebidas antes e depois da exposição à radiação UV. Os eletrodos integrados de negro de

fumo exibiram aspectos morfológicos e eletroquímicos adequados para serem utilizados como sensor eletroquímico. Uma análise amperométrica na presença de AF possibilitou calcular o coeficiente de difusão de ~ 0,26 x 10^{-4} cm^2 s^{-1}, confirmando a potencialidade catalítica do sensor.

A combinação entre eletrodos 3D e métodos voltamétricos apresentou boa repetibilidade, reprodutibilidade e seletividade para detecção de AF na faixa de concentração linear entre 10 a 200 µmol L^{-1}, o qual é adequada para desempenhar análises em amostras de suco comercial. O sensor voltamétrico proposto exibiu também um perfil ecológico adequado com base na ferramenta AGREE. Além disso, a abordagem analítica proposta pode ser empregada também para monitorar a fotoestabilidade do AF em amostras de bebidas.

A análise de AF em sucos comerciais (maçã e laranja) apresentou níveis de degradação de variando de 27 a 47% após exposição UV. Outro modelo de bebida (água de coco) apresentou níveis de degradação de AF variando ~ 72 e 100%. O sensor voltamétrico impresso em 3D aqui apresentado pode ser usado para quantificar e monitorar AF em amostras de alimentos comerciais.

5.6 REFERÊNCIAS

[1] Specialty Food Ingredients Market Worth $144.98 Billion By 2030, https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-specialty-food-ingredients-market (acessado em 23/Maio/2023).

[2] Folic Acid Market Size, Share | Global Industry Report, 2018-2025, (n.d.). https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/folic-acid-market (accessed May 23, 2023).

[3] M. Safaei, H. Beitollahi, M.R. Shishehbore, Synthesis and characterization of NiFe2O4 nanoparticles using the hydrothermal method as magnetic catalysts for electrochemical detection of norepinephrine in the presence of folic acid, Journal of the

Chinese Chemical Society 66 (2019) 1597–1603. https://doi.org/10.1002/JCCS.201900073.

[4] M. Ruiz-Rico, É. Pérez-Esteve, M.J. Lerma-García, M.D. Marcos, R. Martínez-Máñez, J.M. Barat, Protection of folic acid through encapsulation in mesoporous silica particles included in fruit juices, Food Chem 218 (2017) 471–478. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.097.

[5] S. Akbar, A. Anwar, Q. Kanwal, Electrochemical determination of folic acid: A short review, Anal Biochem 510 (2016) 98–105. https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.07.002.

[6] A.M. Gazzali, M. Lobry, L. Colombeau, S. Acherar, H. Azaïs, S. Mordon, P. Arnoux, F. Baros, R. Vanderesse, C. Frochot, Stability of folic acid under several parameters, European Journal of Pharmaceutical Sciences 93 (2016) 419–430. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.08.045.

[7] World Health Organization, a L. Williams, W. van Drongelen, R.E. Lasky, M. Sanderson, D. Lai, B.J. Selwyn, Y. Wang, W. Zhang, X.Q. Li, L.M. Yu, D.H. Wang, Guideline : Daily iron and folic acid supplementation in pregnant women, World Health Organization 46 (2012) 323–329.

[8] M.K. Off, A.E. Steindal, A.C. Porojnicu, A. Juzeniene, A. Vorobey, A. Johnsson, J. Moan, Ultraviolet photodegradation of folic acid, J Photochem Photobiol B 80 (2005) 47–55. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2005.03.001.

[9] F. Olmo, A. Rodriguez, A. Colina, A. Heras, UV/Vis absorption spectroelectrochemistry of folic acid, Journal of Solid State Electrochemistry 26 (2022) 29–37. https://doi.org/10.1007/s10008-021-05026-5.

[10] X. Li, L. Chen, Fluorescence probe based on an amino-functionalized fluorescent magnetic nanocomposite for detection of folic acid in serum, ACS Appl Mater Interfaces 8 (2016) 31832–31840. https://doi.org/10.1021/ACSAMI.6B10163

[11] S. Zhao, H. Yuan, C. Xie, D. Xiao, Determination of folic acid by capillary electrophoresis with chemiluminescence detection, J Chromatogr A 1107 (2006) 290–293. https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2005.11.052.

[12] D.E. Breithaupt, Determination of folic acid by ion-pair RP-HPLC in vitamin-fortified fruit juices after solid-phase extraction, Food Chem 74 (2001) 521–525. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00219-9.

[13] D. Sun, Y. Jin, Q. Zhao, C. Tang, Y. Li, H. Wang, Y. Qin, J. Zhang, Modified EMR-lipid method combined with HPLC-MS/MS to determine folates in egg yolks from laying hens supplemented with different amounts of folic acid, Food Chem 337 (2021) 127767. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.127767.

[14] A. Lebiedzińska, M. Dąbrowska, P. Szefer, M. Marszałł, High-Performance Liquid Chromatography Method for the Determination of Folic Acid in Fortified Food Products, Http://Dx.Doi.Org/10.1080/15376510701623870 18 (2008) 463–467. https://doi.org/10.1080/15376510701623870.

[15] J.P. Winiarski, R. Rampanelli, J.C. Bassani, D.Z. Mezalira, C.L. Jost, Multi-walled carbon nanotubes/nickel hydroxide composite applied as electrochemical sensor

for folic acid (vitamin B9) in food samples, Journal of Food Composition and Analysis 92 (2020) 103511. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103511.

[16] F. Tahernejad-Javazmi, M. Shabani-Nooshabadi, H. Karimi-Maleh, 3D reduced graphene oxide/FeNi3-ionic liquid nanocomposite modified sensor; an electrical synergic effect for development of tert-butylhydroquinone and folic acid sensor, Compos B Eng 172 (2019) 666–670. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.05.065.

[17] G. Tesfaye, N. Negash, T. Hailu, M. Tessema, Simultaneous Determination of Gallic Acid and Folic Acid in Fruit Juice Samples Using Square Wave Voltammetry at Electrochemically Pretreated Carbon Paste Electrode, (2022). https://doi.org/10.1002/elan.202100645.

[18] H. Sadeghi, S.-A. Shahidi, S. Naghizadeh Raeisi, A. Ghorbani-HasanSaraei, F. Karimi, Electrochemical Determination of Folic Acid in Fruit Juices Samples Using Electroanalytical Sensor Amplified with CuO/SWCNTs and 1-Butyl-2, 3-dimethylimidazolium Hexafluorophosphate, Chemical Methodologies 4 (2020) 743–753. https://doi.org/10.33945/SAMI/CHEMM.2020.6.7.

[19] A. Ambrosi, M. Pumera, 3D-printing technologies for electrochemical applications, Chem Soc Rev 45 (2016) 2740–2755. https://doi.org/10.1039/c5cs00714c.

[20] H.A. Silva-Neto, G.F. Duarte-Junior, D.S. Rocha, F. Bedioui, A. Varenne, W.K.T. Coltro, Recycling 3D Printed Residues for the Development of Disposable Paper-Based Electrochemical Sensors, ACS Appl Mater Interfaces 15 (2023) 14111–14121. https://doi.org/10.1021/ACSAMI.3C00370.

[21] J.J. Tully, G.N. Meloni, A Scientist's Guide to Buying a 3D Printer: How to Choose the Right Printer for Your Laboratory, Anal Chem 92 (2020) 14853–14860. https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.0C03299.

[22] T.D. Ngo, A. Kashani, G. Imbalzano, K.T.Q. Nguyen, D. Hui, Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges, Compos B Eng 143 (2018) 172–196. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.02.012.

[23] R.M. Cardoso, C. Kalinke, R.G. Rocha, P.L. dos Santos, D.P. Rocha, P.R. Oliveira, B.C. Janegitz, J.A. Bonacin, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Additive-manufactured (3D-printed) electrochemical sensors: A critical review, Anal Chim Acta 1118 (2020) 73–91. https://doi.org/10.1016/J.ACA.2020.03.028.

[24] E.M. Richter, D.P. Rocha, R.M. Cardoso, E.M. Keefe, C.W. Foster, R.A.A. Munoz, C.E. Banks, Complete Additively Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensing Platform, Anal Chem 91 (2019) 12844–12851. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02573.

[25] F. Pena-Pereira, W. Wojnowski, M. Tobiszewski, AGREE - Analytical GREEnness Metric Approach and Software, Anal Chem 92 (2020) 10076–10082. https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.0C01887.

[26] H.A. Silva-Neto, A.A. Dias, W.K.T. Coltro, 3D-printed electrochemical platform with multi-purpose carbon black sensing electrodes, Microchimica Acta 189 (2022) 1–12. https://doi.org/10.1007/S00604-022-05323-4.

[27] I.M.A. Hasan, K.M. Abd-Elsabur, F.H. Assaf, M. Abd-Elsabour, Folic Acid Determination in Food Samples Using Green Synthesized Copper Oxide Nanoparticles and Electro-Poly (Methyl Orange) Sensor, Electrocatalysis 13 (2022) 759–772. https://doi.org/10.1007/s12678-022-00756-0.

[28] Electrically Conductive PLA | Conductive 3D Printer Filament – ProtoPlant, makers of Proto-pasta, https://www.proto-pasta.com/products/conductive-pla (accessed May 24, 2023).

[29] F. Arduini, S. Cinti, V. Mazzaracchio, V. Scognamiglio, A. Amine, D. Moscone, Carbon black as an outstanding and affordable nanomaterial for electrochemical (bio)sensor design, Biosens Bioelectron 156 (2020) 112033. https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112033.

[30] H. Wang, S. Wu, T. Cao, B. Zhao, J. Ruan, J. Cao, Z. Tong, X. Zhang, Self-assembly behavior of layered titanium niobate and methylene blue cation and electrochemical detection of dopamine, J Mater Res 36 (2021) 1437–1446. https://doi.org/10.1557/S43578-021-00166-W

[31] A. Abdalla, H.H. Hamzah, O. Keattch, D. Covill, B.A. Patel, Augmentation of conductive pathways in carbon black / PLA 3D-printed electrodes achieved through varying printing parameters, Electrochim Acta 354 (2020) 136618. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136618.

[32] Jyoti, E. Redondo, O. Alduhaish, M. Pumera, 3D-printed nanocarbon sensors for the detection of chlorophenols and nitrophenols: Towards environmental applications of additive manufacturing, Electrochem Commun 125 (2021) 106984. https://doi.org/10.1016/J.ELECOM.2021.106984.

[33] M. Santhiago, C.S. Henry, L.T. Kubota, Low cost, simple three dimensional electrochemical paper-based analytical device for determination of p-nitrophenol, Electrochim Acta 130 (2014) 771–777. https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2014.03.109.

[34] S.M. Garcia, A. Wong, S. Khan, M.D.P.T. Sotomayor, A simple, sensitive and efficient electrochemical platform based on carbon paste electrode modified with Fe3O4@MIP and graphene oxide for folic acid determination in different matrices, Talanta 229 (2021) 122258. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122258.

[35] F.G. Cottrell, Der Reststrom bei galvanischer Polarisation, betrachtet als ein Diffusionsproblem, Zeitschrift Für Physikalische Chemie 42U (1903) 385–431. https://doi.org/10.1515/ZPCH-1903-4229.

[36] K. Ngamchuea, S. Eloul, K. Tschulik, R.G. Compton, Planar diffusion to macro disc electrodes—what electrode size is required for the Cottrell and Randles-Sevcik equations to apply quantitatively?, Journal of Solid State Electrochemistry 18 (2014) 3251–3257. https://doi.org/10.1007/s10008-014-2664-z.

[37] M. Alizadeh, M. Mehmandoust, O. Nodrat, S. Salmanpour, N. Erk, A glassy carbon electrode modified based on molybdenum disulfide for determination of folic acid in the real samples, Journal of Food Measurement and Characterization 15 (2021) 5622–5629. https://doi.org/10.1007/s11694-021-01128-w.

[38] M. Alizadeh, F. Garkani Nejad, Z. Dourandish, S. Tajik, F. Karimi, P. Mohammadzadeh Jahani, A. Aghaei Afshar, R. Zaimbashi, I. Sheikhshoaie, H. Beitollahi,

A brief review on the recent achievements in electrochemical detection of folic acid, Journal of Food Measurement and Characterization 16 (2022) 3423–3437. https://doi.org/10.1007/s11694-022-01421-2.

[39] E. Erçarıkcı, Z. Aksu, K. Dağcı Kıranşan, E. Topçu, Graphene paper with electrodeposited NiCo2S4 nanoparticles as a novel flexible sensor for simultaneous detection of folic acid and ascorbic acid, Diam Relat Mater 121 (2022). https://doi.org/10.1016/j.diamond.2021.108713.

[40] V. Mazzaracchio, A. Sassolini, K.Y. Mitra, D. Mitra, G.M. Stojanović, A. Willert, E. Sowade, R.R. Baumann, R. Zichner, D. Moscone, F. Arduini, A fully-printed electrochemical platform for assisted colorimetric detection of phosphate in saliva: Greenness and whiteness quantification by the AGREE and RGB tools, Green Analytical Chemistry 1 (2022). https://doi.org/10.1016/j.greeac.2022.100006.

[41] M.A. Varo, J. Martin-Gomez, M.P. Serratosa, J. Merida, Effect of potassium metabisulphite and potassium bicarbonate on color, phenolic compounds, vitamin C and antioxidant activity of blueberry wine, Lwt 163 (2022) 113585. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113585

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES PARCIAIS E PRÓXIMAS ETAPAS

6.1 CONCLUSÕES PARCIAIS

Este projeto de doutorado descreveu o desenvolvimento de sensores eletroquímicos impressos em 3D usando a combinação entre filamentos diferentes, incluindo ABS, PLA, PLA-Flexível e CB/PLA. As principais dificuldades enfrentadas durante o desenvolvimento dos eletrodos, esteve associada ao uso correto dos *softwares* de modelagem e fatiamento 3D. Uma estratégia para reciclar os resíduos termoplásticos provenientes da impressão 3D também foi apresentado nesse estudo, visando adequação aos princípios da química verde. Este projeto também investigou o impacto ambiental dos métodos eletroquímicos, usando a ferramenta AGREE que faz uso dos 12 princípios da química analítica verde. Na Tabela 7 é apresentado um compilado associado ao desempenho analítico, amostras utilizadas e impacto ambiental.

Tabela 7. Desempenho obtido para os métodos analíticos desenvolvidos no projeto de doutorado usando eletrodos de carbono, bem como, a metragem verde.

Capítulo/ Método	Analito	Amostra	LD	Unidade	AGREE
2/SWASV	Cd	MP	1,01	µg L^{-1}	0,79
2/SWASV	Pb	MP	1,24	µg L^{-1}	0,79
2/SWV	Midazolam	Bebidas	0,54	µmol L^{-1}	0,88
2/SWV	Ácido úrico	Urina	0,71	µmol L^{-1}	0,82
3/DA	Adrenalina	Urina	0,61	µmol L^{-1}	0,79
4/DA	S-nitroso-cisteína	Plasma	4,1	µmol L^{-1}	0,79
5/SWV	Ácido fólico	Suco	5,1	µmol L^{-1}	0,82

LD= limite de detecção; MP = material particulado atmosférico; DA= detecção amperométrica; SWASV = voltametria de redissolução anódica; SWV= voltametria de onda quadrada

No capítulo 1, uma parte da fundamentação teórica envolvendo a instrumentação analítica portátil incluindo, os eletrodos impressos em 3D e eletrodos de papel foi apresentado. Nesta parte do projeto destacamos que essas opções de sensores analíticos são bastante promissoras para aplicações na área da eletroanalítica. Entretanto, demostramos que o impacto ambiental dessas ferramentas analíticas não vem sendo avaliado em detalhe, seguindo os 12 princípios da química analítica verde. O capítulo 1 também informou que a *software* AGREE pode ser uma ótima opção para calcular a métrica verde de uma metodologia analítica. Encerramos esse capítulo, destacando que a combinação entre métodos de testagem usando eletrodos alternativos e análise AGREE pode ser uma importante estratégia para o desenvolvimento da química analítica sustentável.

No capítulo 2, foi apresentado o desenvolvimento de eletrodos impressos em 3D, a modelagem do *layout* do projeto foi elaborada de acordo com uma célula eletroquímica convencional. Após construir o projeto do eletrodo, os desafios enfrentados foram concentrados na etapa de fatiamento 3D dos *layouts*, um para o material condutor e o outro para o material isolante. A utilização de uma etapa automática para limpeza do bico foi crucial, pois assegurou a qualidade dos filamentos de ABS e CB/PLA. O uso adequado do *software* de fatiamento 3D refletiu também no correto desempenho do sensor em termos de reprodutibilidade. Todas as plataformas analíticas desenvolvidas não empregaram componentes comerciais adicionais, demostrando que a impressão em 3D pode ser uma ótima estratégia para construir instrumentos analíticos. Embora tenha sido realizado uma etapa adicional para ativar a superficial dos eletrodos impressos em 3D, visando intensificar o desempenho analítico. A estratégia proposta pode ser realizada em aproximadamente cinco minutos usando reagentes de baixa toxicidade, tais como H_2O_2, Fe(II), e ácido acético. Os eletrodos ativados demonstraram ser uma excelente ferramenta

analítica quando utilizadas para detectar metais potencialmente tóxicos, midazolam e ácido úrico. A partir do uso da abordagem AGREE demonstramos também que os métodos de testagem são ambientalmente amigáveis, pois apresentaram métricas verdes variando entre 0,79 e 0,88. Assim, em detrimento do excelente desempenho analítico e ecológico dos sensores, os três diferentes métodos de testagem usados para as detecções: (i) Cd e Pb, (ii) midazolam e (iii) ácido úrico podem ser empregados em laboratórios de pesquisa, clínicas, indústrias, ou até mesmo, no próprio local de necessidade em situações forenses envolvendo o uso do midazolam.

No capítulo 3, uma plataforma analítica integrada com oito sensores eletroquímicos foi desenvolvida. Similarmente ao divulgado nos capítulos 2, o uso da impressão em 3D foi novamente requisitado. Entretanto, o sistema analítico desenvolvido nesse estudo foi construído no formato de uma célula BIA, visando intensificar a frequência analítica. Todos os eletrodos integrados no sistema BIA apresentaram desempenho eletroquímico estatisticamente similares, exibindo frequência analítica superior a 400 análises por hora. O aparato 3D proposto demonstrou apreciável desempenho analítico e ambiental, quando utilizado para realizar análise de adrenalina em urina, provando ser uma plataforma analítica versátil para uso em aplicações eletroanalíticas, incluindo oito detecções diferentes em sequência ou até mesmo análises amperométrica simultâneas.

No capítulo 4, os resíduos termoplásticos que são descartados durante a impressão em 3D foram reciclados para sintetizar uma tinta condutiva à base de grafite. A tinta de carbono foi utilizada para fabricar sensores eletroquímicos em papel. O sensor reciclado apresentou desempenho eletroquímico similar quando comparado com eletrodos impressos em 3D. O protocolo de fabricação desenvolvido exibiu aspectos que vão de encontro com a economia circular. Como prova de conceito, análises amperométricas de

CysNO foram empregadas usando amostras de soro humano. E os resultados obtidos demonstraram desempenho analítico satisfatório em termos de exatidão e precisão analítica quando comparado com método comparativo. A análise ecológica do método analítico usando a ferramenta AGREE exibiu resultado adequado (métrica verde ~ 0,79), sugerindo que a reutilização dos (micro)plástico foi realizada com sucesso, e que esses sensores apresentam baixo impacto ambiental. Os resultados apresentados neste capítulo demonstraram que o uso do sensor reciclável de papel pode ser uma excelente alternativa para aplicações (bio)analíticas, principalmente em regiões em desenvolvimento.

No capítulo 5, um outro modelo de impressora 3D foi utilizado com sucesso para construir uma célula eletroquímica miniaturizada. O trabalho foi desenvolvido durante o intercâmbio acadêmico na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). O sensor proposto foi empregado para duas vertentes (i) detecção de ácido fólico (AF) e (ii) monitoramento da fotoestabilidade do AF em amostra de suco. A metodologia analítica desenvolvida também apresentou baixo impacto ambiental, seguindo os princípios da química analítica verde. O protocolo analítico desenvolvido neste capítulo exibiu potencialidade para uso no controle de qualidade de sucos de maça, laranja e água de coco.

6.2 PRÓXIMAS ETAPAS

Observou-se que os modelos de fabricação de eletrodos alternativos empregados neste projeto de doutorado possuem características adequadas à necessidade dos centros de pesquisas e laboratórios, principalmente em regiões em desenvolvimento. E que algumas desvantagens podem ser melhoradas incluindo, a acessibilidade de *softwares* de modelagem e fatiamento 3D, e a necessidade do uso de ativações. Embora os dispositivos

apresentados neste projeto sejam descartáveis, o desempenho analítico em termos da reprodutibilidade precisa ser intensificado para níveis DPR ≤ 5%, como tradicionalmente encontrado em outras técnicas analíticas consolidadas. É importante também desenvolver outros métodos de testagem usando esses sistemas analíticos e obter colaborações com outros grupos de pesquisas que possuem acentuada expertise nas áreas de engenharia, (bio)sensores e (nano)medicina, visando o desenvolvimento de sensores vestíveis. Em relação ao processo de fabricação dos eletrodos de papel, observamos alguns pontos críticos que podem ser melhorados como o manuseio manual da espátula e aplicação da barreira hidrofóbica. Esforços futuros serão direcionados na introdução de estratégias destinadas a tornar todos os processos de fabricação dos eletrodos mais rápido e/ou automatizado. Bem como, a possibilidade de reutilizar materiais termoplásticos para desenvolver outros modelos de sensores analíticos, visando popularizar a reciclagem dos (micro)plásticos oriundos da tecnologia de impressão 3D.

7 SÚMULA CURRICULAR

Dados pessoais
Habdias de Araujo Silva Neto
Filiação: Manoel Ximendes Silva e Sandra Araujo Silva
Local de Nascimento: Marabá/PA - Brasil

Educação

Escola Municipal de Ensino Fundamental Paulo Freire, Marabá, 2002.

Colégio Estadual Waldemar Mundim, Goiânia, 2008.

Instituto de Química – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.
Graduação (Bacharel em Química - opção industrial)

Instituto de Química – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020
Mestrado em Química

Instituto de Química – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020
Doutorando em Química
Período sanduíche em Universidade Federal de Minas Gerais (2022-2023)

Ocupação

Bolsista de Doutorado, CNPq, 2020 - 2024

Atuação profissional

1. Fundação de Apoio à Pesquisa - FUNAPE

Vínculo institucional

2009 - 2012 Vínculo: Celetista, Enquadramento funcional: Analista, Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva

2. Universidade Federal de Goiás - UFG

Vínculo institucional

2017 - 2017 Vínculo: Voluntário, Enquadramento funcional: Monitor de Química Analítica, Carga horária: 12, Regime: Parcial
2016 - 2016 Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Monitor de Química Analítica, Carga horária: 12, Regime: Parcial

3. SECIMA - SECIMA

Vínculo institucional

2016 - 2016 Vínculo: Estágio Obrigatório, Enquadramento funcional: Auxiliar na rotina de análise ambiental, Carga horária: 15, Regime: Parcial

4. Universidade de São Paulo - USP

Vínculo institucional

2019 - 2019 Vínculo: Pesquisador Visitante, Enquadramento funcional: Estudante visitante, Carga horária: 40, Regime: Integral

Revisor de periódico

1. Analytical Methods, **2020** – atual.

2. RSC Advances, **2020** – atual.

3. Analytical and Bioanalytical Chemistry, **2023** – atual.

4. LWT - Food Science & Technology, **2023** – atual.

5. Current Forensic Science, **2023** – atual.

6. Journal of the Electrochemical Society, **2023** – atual.

7. Electrochimica Acta, **2023** – atual.

8. Ionics, **2023** – atual.

9. Geomatics and Environmental Engineering, **2023** – atual.

10. Sensors and Actuators B-Chemical, **2023** – atual.

11. Current Analytical Chemistry, **2023** – atual.

12. Environmental Earth Sciences, **2023** – atual.

13. Biosensors and Bioelectronics, **2023** – atual.

Prêmios e títulos

2023 1º lugar no concurso público para professor efetivo de Química Analítica no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina (Edital Nº 036/2023/DDP).

2023 Artigo na capa do periódico Analytical Chemistry, Volume 95, Issue 38, American Chemical Society

2023 Tony B. Academic Travel Award Winners, San Diego, CA, USA., Society for Laboratory Automation and Screening

2023 Young Scientist Award, ScienceFather

2023 Best Researcher Award, ScienceFather

2023 Prêmio de Destaque de Produção Científica e Inovação Tecnológica da Pós-graduação em Química, UFG.

2022 Prêmio Destaques da Pós-graduação em Química, USP.

2022 IV Prêmio SBPC/GO de Popularização da Ciência, Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência.

2022 Outstanding reviewer for Analytical Methods, Royal Society of Chemistry

2022 Tony B. Academic Travel Award Winners, Boston, MA, USA., Society for Laboratory Automation and Screening

2021 Artigo na capa do periódico Analyst, Volume 146, Pag. 3463-3473, Royal Society of Chemistry

2021 VIII Prêmio SBPC/GO de Popularização da Ciência, Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência

2019 Artigo na capa do periódico ACS Applied Materials & Interfaces, Volume 11, Issue 43, American Chemical Society

2019 Artigo na capa do periódico Analytical Methods, Volume 11, Issue 38, Royal Society of Chemistry

2019 Menção honrosa no III Workshop da Pós- Graduação em Química, XX Semana da Química e na II Semana da Engenharia Química, Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Goiás (PPGQ-UFG)

2019 Vencedor do programa de estágio para pesquisador visitante, Instituto de Física da USP

Produção bibliográfica
Artigos completos publicados em periódicos

1. Vanderli Garcia Leal, **Habdias A. Silva-Neto**, Sidnei Gonçalves da Silva, Wendell Karlos Tomazelli Coltro and João Flávio da Silveira Petruci. *AirQuality Lab-on-a-Drone: A low-cost 3D printed analytical IoT platform for vertical monitoring of gaseous H_2S. Analytical Chemistry*, v. 95, p.14350–14356, 2023.

2. Danielly S. Rocha, Thaísa A. Baldo, **Habdias A. Silva-Neto**, Gerson F. Duarte-Junior, Gabriela S. Bazílio, Clayton L. Borges, Juliana A. Parente-Rocha, William R. de Araujo, Abner de Siervo, Thiago L. R. C. Paixão e Wendell K. T. Coltro. *Disposable and eco-friendly electrochemical immunosensor for rapid detection of SARS-CoV-2. Talanta*, v. 268, 125337, 2023.

3. Rocha, Danielly S.; de Campos, Richard P.S.; **Silva-Neto, Habdias A.**; Duarte-Junior, Gerson F.; Bedioui, Fethi; Coltro, Wendell K.T. *Digital microfluidic platform assembled into a home-made studio for sample preparation and colorimetric sensing of S-nitrosocysteine. ANALYTICA CHIMICA ACTA*, v.1254, p.341077, 2023.

4. Souza, Leyllanne K.A.; **Silva-Neto, Habdias A.**; Rocha, Danielly S.; de Abreu, Fabiane C.; Silva, Anielle C.A.; Dantas, Noelio O.; Coltro, Wendell K.T.; Garcia, Paulo T. *Disposable sensor based on carbon electrodes modified with cobalt-doped titanium dioxide nanocrystals for electrochemical detection of amoxicillin. JOURNAL OF ELECTROANALYTICAL CHEMISTRY*, v.942, p.117587, 2023.

5. Sousa, Lucas R.; **Silva-Neto, Habdias A.**; Castro, Lucas F.; Oliveira, Karoliny A.; Figueredo,

Federico; Cortón, Eduardo; Coltro, Wendell K.T.-*Do it yourself- protocol to fabricate dual-detection paper-based analytical device for salivary biomarker analysis. ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY*, v.2023, p.1 - 10, 2023.

6. Silva-Neto, Habdias A.; Duarte-Junior, Gerson F.; Bazílio, Gabriela; Parente-Rocha, Juliana; Colugnati, Diego; Borges, Clayton; Coltro, Wendell K.T. Impressão 3D de separador magnético: uma abordagem acessível para o preparo de amostras no diagnóstico da COVID-19. QUIMICA NOVA, v.45, p.1 - 6, 2023.

7. Andrade, Larissa M.; Romanholo, Pedro V.V.; Carolina A. Ananias, Ana; Venancio, Kamylla P.; **Silva-Neto, Habdias A.**; Coltro, Wendell K.T.; Sgobbi, Lívia F. *Pocket test for instantaneous quantification of starch adulterant in milk using a counterfeit banknote detection pen. FOOD CHEMISTRY*, v.405, p.134844, 2023.

8. Oliveira, Laísa C.; Rocha, Danielly S.; **Silva-Neto, Habdias A.**; Silva, Thaísa A. C.; Coltro, Wendell K.T. *Polyester resin and graphite flakes: turning conductive ink to a voltammetric sensor for paracetamol sensing. MICROCHIMICA ACTA*, v.190, p.1 - 11, 2023.

9. Silva-Neto, Habdias A.; Zucolotto, Valtencir; D'Alessandro, Emmanuel B.; Tavares, Maria G.O.; Antoniosi Filho, Nelson R.; Coltro, Wendell K.T.; Grosseli, Guilherme, M.; Fadini, Pedro S.; Urban, Roberta C. *Preliminary assessment of toxicity of aerosol samples from central-west Brazil using Artemia spp. bioassays. CHEMOSPHERE*, v.336, p.139283, 2023.

10. Silva-Neto, Habdias A.; Arantes, Iana V.S.; Ferreira, André L.; do Nascimento, Guida H.M.; Meloni, Gabriel N.; de Araujo, William R.; Paixão, Thiago R.L.C.; Coltro, Wendell K.T. *Recent advances on paper-based microfluidic devices for bioanalysis. TRAC-TRENDS IN ANALYTICAL CHEMISTRY*, v.158, p.116893, 2023.

11. Silva-Neto, Habdias A.; Duarte-Júnior, Gerson F.; Rocha, Danielly S.; Bedioui, Fethi; Varenne, Anne; Coltro, Wendell K.T. *Recycling 3D Printed Residues for the Development of Disposable Paper-Based Electrochemical Sensors. ACS APPLIED MATERIALS & INTERFACES*, v.2023, p.1 - 11, 2023.

12. Sousa, Lucas R.; **Silva-Neto, Habdias A.**; Campos, Pedro P.E.; Duarte-Júnior, Gerson F.; Medeiros, Iris; de Carvalho, Rogerio M.; Coltro, Wendell K.T. *A portable tool for colorimetric detection of corrosion inhibitors using paper-based analytical devices. MICROCHEMICAL JOURNAL*, v.183, p.108024, 2022.

13. Castro, Lucas F.; **Silva-Neto, Habdias A.**; Sousa, Lucas R.; de Araujo, William R.; Coltro, Wendell K.T. *Silicone glue-based graphite ink incorporated on paper platform as an affordable approach to construct stable electrochemical sensors. TALANTA*, v.251, p.123812, 2022.

14. Duarte, Lucas C.; Baldo, Thaisa A.; **Silva-Neto, Habdias A.**; Figueredo, Federico; Janegitz, Bruno C.; Coltro, Wendell K.T. *3D printing of compact electrochemical cell for sequential analysis of steroid hormones. SENSORS AND ACTUATORS B-CHEMICAL*, v.364, p.131850, 2022.

15. Silva-Neto, Habdias A.; Dias, Anderson A.; Coltro, Wendell K. T. *3D-printed electrochemical platform with multi-purpose carbon black sensing electrodes. MICROCHIMICA ACTA*, v.189, p.235, 2022.

16. Stefano, Jéssica S.; Orzari, Luiz O.; **Silva-Neto, Habdias A.**; Ataíde, Vanessa N.; Mendes, Letícia F.; Coltro, Wendell K. T.; Paixão, Thiago R. L.C.; Janegitz, Bruno C. *Different approaches for fabrication of low-cost electrochemical sensors. CURRENT OPINION IN ELECTROCHEMISTRY*, v.32, p.100893, 2021.

17. Rocha, D. S.; **Silva-Neto, Habdias A.**; Oliveira, L. C.; Souza, S. G. G.; Santana, M. H. P.; Coltro, W. K. T. *Disposable Stencil-Printed Carbon Electrodes for Electrochemical Analysis of Sildenafil Citrate in Commercial and Adulterated Tablets. Brazilian Journal of Analytical Chemistry - BrJAC*, v.8, p.1 - 19, 2021.

18. Silva-Neto, Habdias A; Santhiago, Murilo; Duarte, Lucas C.; Coltro, Wendell K.T. *Fully 3D printing of Carbon Black-Thermoplastic Hybrid Materials and Fast Activation for Development of Highly Stable Electrochemical Sensors. SENSORS AND ACTUATORS B-CHEMICAL*, v.349, p.130721, 2021.

19. Bessa, Bárbara G. O.; **Silva-Neto, Habdias A**; Coltro, Wendell K. T.; Rocha, Thiago L.; Lopes, Welinton R. *Lead toxicity in Lucilia cuprina and electrochemical analysis: a simple and low-cost alternative for forensic investigation. ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY*, v.413, p.3201 - 3208, 2021.

20. Silva-Neto, Habdias A.; Cardoso, Thiago M. G.; Mcmahon, Catherine J.; Sgobbi, Lívia F.; Henry, Charles S.; Coltro, Wendell K. T. *Plug-and-play assembly of paper-based colorimetric and electrochemical devices for multiplexed detection of metals. ANALYST*, v.146, p.3463 - 3473, 2021.

21. Rocha, Danielly S.; Duarte, Lucas C.; **Silva-Neto, Habdias A**; Chagas, Cyro L.S.; Santana, Mário H.P.; Antoniosi Filho, Nelson R.; Coltro, Wendell K.T. *Sandpaper-based electrochemical devices assembled on a reusable 3D-printed holder to detect date rape drug in beverages. TALANTA*, v.232, p.122408, 2021.

22. Silva-Neto, Habdias A; Cardoso, Thiago; Coltro, Wendell K. T.; Urban, Roberta C. *Determination of bioavailable lead in atmospheric aerosol using unmodified screen-printed carbon electrodes. ANALYTICAL METHODS*, v.38, p.4875 - 4881, 2019.

23. Dias, Anderson A.; Chagas, Cyro L. S.; **Silva-Neto, Habdias A**.; Lobo-Junior, Eulício O.; Sgobbi, Lívia F.; de Araujo, William R.; Paixão, Thiago R. L. C.; Coltro, Wendell K. T. *Environmentally Friendly Manufacturing of Flexible Graphite Electrodes for a Wearable Device Monitoring Zinc in Sweat*. *ACS APPLIED MATERIALS & INTERFACES*, v.11, p.39484 - 39492, 2019.

24. D'Alessandro, Emmanuel Bezerra; Soares, Aline Terra; da Costa, Dayane Cristina; **Silva-Neto, Habdias A**.; Fernandes, Valéria de Oliveira; Antoniosi Filho, Nelson Roberto. *A thermal water microalga: Eutetramorus planctonicus as a promising source of fatty acids and lutein. JOURNAL OF ENVIRONMENTAL CHEMICAL ENGINEERING*, v.6, p.6707 - 6713, 2018.

Artigos submetidos/aceitos

1. Habdias A. Silva-Neto, Lucas Felipe de Lima, Danielly Santos Rocha, Vanessa N. Ataide, Gabriel N. Meloni, Giulia Moro, Ada Raucci, Stefano Cinti, Thiago R. L. C. Paixão, William R. de Araujo e Wendell K. T. Coltro. *Recent achievements of greenness metrics on paper-based electrochemical (bio) sensors for environmental and clinical analysis.* (*TrAC Trends in Analytical Chemistry; TRAC-D-23-00357; accepted*).

2. Shellyda G. G. Souza, **Habdias A. Silva-Neto**, Danielly S. Rocha, Abner de Siervo, Thiago R. L. C. Paixão e Wendell K. T. Coltro. *Laser-inducing graphene-like and alumina oxide nanostructures on sandpaper for electrochemical sensing.* (*Analysis and Sensing*; *Accepted*).

3. Habdias A. Silva-Neto, Paulo J. S. Barbeira, Wendell K. T. Coltro e Evandro Piccin. *3D printing of electrochemical cell for voltammetric detection and photodegradation monitoring of*

folic acid in juice samples (Food Chemistry; Accepted).

4. Habdias A. Silva-Neto, Jordana Costa, Danielly S. Rocha, Livia F. Sgobbi e Wendell K. T. Coltro. *Stencil-printing approach turning porous-cellulose substrate and glass varnish binder into colorimetric paper-based analytical devices (Analytica Chimica ACTA; Accepted).*

5. Pedro V. V. Romanholo, Larissa M. Andrade, **Habdias A. Silva-Neto**, Wendell K. T. Coltro, Livia F. Sgobbi. *Digitally-controlled printing of bio-ink barriers for paper-based ana-lytical devices: an environmentally friendly one step approach* (*Analytical Chemistry; Accepted*)

6. Habdias A. Silva-Neto, Danielle da Silva Sousa, Lucas C. Duarte, João Flávio da Silveira Petruci, and Wendell K. T. Coltro. *Lab-on-a-drone: from sampling capability to a fully integrated analytical platform for remote environmental monitoring* (*ACS Omega; Major Revision*).

Capítulos de livros publicados

1. **H. A. Silva-Neto**; Duarte, L. C.; Coltro, W. K. T.
Additives in 3D Printing: From the Fabrication of Thermoplastics and Photoresin to Applications In: 3D Printing Fundamentals to Emerging Applications.1 ed.: Taylor & Francis Group, 2023, p. 1-16.

2. H. A. Silva-Neto; Rocha, D. S.; Pradela-Filho, L. A.; Paixão, T. R. L. C.; Coltro, W. K. T.
(Bio)electrodes on Paper Platforms as Simple and Portable Analytical Tools for Bioanalytical Applications In: Advances in Bioelectrochemistry Volume 5.5 ed.: Springer Nature, 2022, v.5, p. 181-202.

3. Romanholo, P. V.; **Silva-Neto, H. A.**; Sgobbi, Lívia F.; Coltro, W. K. T.
Wearable hybrid sensors In: Wearable Physical, Chemical and Biological Sensors.1 ed. Amsterdam: Elsevier, 2022, v.10, p. 255-270.

4. H. A. Silva-Neto; Sousa, L. R.; Coltro, W. K. T.
Colorimetric paper-based analytical devices In: Paper-based Analytical Devices for Chemical Analysis and Diagnostics.1 ed.: Elsevier, 2021, p. 59-79.

5. Sousa, Lucas R.; **Silva-Neto, H. A.**; Moreira, Nikaele S.; Guinati, Bárbara G.S.; Coltro, Wendell K.T.
Sensing Materials: Paper Substrate - Color Detection In: Reference Module in Biomedical Sciences.1 ed.: *Elsevier*, 2021, p. 1-.

Produção técnica

Entrevistas, mesas redondas, programas e comentários na mídia

1. *Podcast*. Guinati, B. G. S.; Pinheiro, K. M. P.; Rezende, K. C. A.; **H. A. Silva-Neto**; Coltro, W. K. T. Os super sensores da UFG, 2021

2. Entrevista. Pesquisador recebe prêmio de jovem pesquisador de 2023, Rádio UFG, 2023

3. Entrevista. Pesquisadores desenvolvem "Laboratório voador". Jornal do Meio dia, TV Serra Dourada, rede SBT, 2023.

4. Entrevista. Pesquisadores desenvolvem "Laboratório voador". Jornal Anhanguera 1º edição, TV Anhanguera, rede Globo, 2023.

5. Entrevista. Pesquisadores desenvolvem “Laboratório voador”. Rádio CBN Goiânia (97,1 FM), 2023.

6. Reportagem. Pesquisadores desenvolvem “Laboratório voador”. Jornal da UFG, 2023

Coorientações e supervisões concluídas

Iniciação científica

1. Lucas Ferreira de Castro. **Fabricação de imunosensores feitos de papel e grafite modificado com quitosana para detecção eletroquímica de biomarcadores de Dengue e Zika**. 2020. Iniciação científica (Abi - Química) - Universidade Federal de Goiás. Inst. financiadora: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

2. Bárbara Gomes de Oliveira Bessa. **Toxicidade do chumbo em Lucilia cuprina e análise eletroquímica: uma alternativa simples e de baixo custo para investigação forense**. 2018. Iniciação científica (Biomedicina) - Universidade Federal de Goiás.

3. Jordana Costa Jaime. **Desenvolvimento de dispositivos analíticos integráveis para detecção colorimétrica e eletroquímica**. 2021. Iniciação científica (Farmácia) - Universidade Federal de Goiás. Inst. financiadora: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

4. Shellyda Gonçalves Guimarães Souza. **Fabricação de dispositivos eletroquímicos em plataforma de papel para aplicações de interesse farmacêutico**. 2021. Iniciação científica (Farmácia) - Universidade Federal de Goiás. Inst. financiadora: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

5. Pedro Paulo Evangelista de Campos. **Lab-on-a-Drone: desenvolvimento e aplicações**. 2021. Iniciação científica (Química) - Universidade Federal de Goiás. Inst. financiadora: PETROBRAS.

6. Laísa Cristina de Oliveira. **Fabricação de eletrodos descartáveis em substratos de baixo custo para aplicações no controle de qualidade de formulações farmacêuticas**. 2021. Iniciação científica (Farmácia) - Universidade Federal de Goiás. Inst. financiadora: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

7. Maurício Matheus Lucio Pereira. **Desenvolvimento de sensores eletroquímicos usando gravação a laser**. Início: 2023. Iniciação científica voluntária (Graduando em Química com atribuições Tecnológicas) - Universidade Federal de Goiás, PETROBRAS.

Citações em bases bibliográficas.

1. Scopus Número total de citações: 235; Número de trabalhos:27; Data: 08/03/24; Fator H: 9; Nome do autor utilizado na consulta para obter o total de citações: Silva-Neto, H. A.

2. Google acadêmico Número total de citações:320; Número de trabalhos: 29; Data: 08/03/24; Fator H: 9; Nome do autor utilizado na consulta para obter o total de citações: Silva-Neto, H. A.