



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS

NATÁLIA SOARES PRADO

**FOLHA DE GRAFITE COMERCIAL COMO SUBSTRATO PARA
ELETROPOLIMERIZAÇÃO DE CORANTES FENOTIAZÍNICOS E SUAS
APLICAÇÕES ELETROANALÍTICAS**

Recife
2022

NATÁLIA SOARES PRADO

**FOLHA DE GRAFITE COMERCIAL COMO SUBSTRATO PARA
ELETROPOLIMERIZAÇÃO DE CORANTES FENOTIAZÍNICOS E SUAS
APLICAÇÕES ELETROANALÍTICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciência de Materiais.

Área de concentração: Materiais não metálicos.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Henrique Lago Falcão

Coorientador: Prof. Dr. Severino Alves Júnior

Orientador externo: Prof. Dr. André Luiz dos Santos

Recife

2022

Catálogo na fonte
Bibliotecária Nataly Soares Leite Moro, CRB4-1722

P896f Prado, Natália Soares
Folha de grafite comercial como substrato para eletropolimerização de corantes fenotiazínicos e suas aplicações eletroanalíticas / Natália Soares Prado. – 2022.
133 f.: il., fig., tab.

Orientador: Eduardo Henrique Lago Falcão.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Ciência de Materiais, Recife, 2022.
Inclui referências.

1. Materiais não metálicos. 2. Folhas de grafite. 3. Eletropolimerização. 4. Poli(azul de toluidina). 5. Poli(azul de metileno). 6. Eletrodo descartável. I. Falcão, Eduardo Henrique Lago (orientador). II. Título.

620.19

CDD (23. ed.)

UFPE- CCEN 2023 - 52

NATÁLIA SOARES PRADO

**FOLHA DE GRAFITE COMERCIAL COMO SUBSTRATO PARA
ELETROPOLIMERIZAÇÃO DE CORANTES FENOTIAZÍNICOS E SUAS
APLICAÇÕES ELETROANALÍTICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciência de Materiais.

Aprovada em: 15/12/2022.

BANCA EXAMINADORA

Profº. Dr. Eduardo Henrique Lago Falcão (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. Eduardo Padrón Hernández (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. Paulo Euzébio Cabral Filho (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Profª. Drª. Cristiane Luisa Jost (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Santa Catarina

Profº. Dr. Rodrigo Amorim Bezerra da Silva (Examinador Externo)
Universidade Federal de Uberlândia

Dedico esse trabalho aos pesquisadores que corajosamente lutam pela profissão, direcionando seus conhecimentos à novas reflexões, propondo respostas e soluções que têm impacto direto sobre a vida das pessoas e na trajetória de gerações.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, quero agradecer a Deus pela dádiva da vida e por tudo que me permitiu realizar.

À minha mãe, Vânia, e ao meu pai, Aurélio, deixo um agradecimento especial. Sinto-me privilegiada por ter pais tão especiais. Meus infinitos agradecimentos pelos ensinamentos que levarei sempre comigo.

Ao Luiz André, sempre pronto a me ajudar na pesquisa e na vida. Mil vezes obrigada. À UFPE/Recife pela oportunidade de realizar o doutoramento. Gratidão pelo tempo vivido aqui.

Aos amigos que conheci no PGMTR/UFPE e PPGQUI/UFU, pelos momentos compartilhados juntos.

Ao professor Eduardo Falcão, pelas excelentes disciplinas ministradas e pela oportunidade de tê-lo como orientador.

Aos professores André Luiz e Regina Massako, da Universidade Federal de Uberlândia, por terem me acolhido, pela confiança e por todas as orientações conferidas ao longo do trabalho.

Ao meu coorientador Severino Alves Júnior por toda a ajuda durante a realização deste trabalho.

Ao Rogério Ribeiro pela disponibilidade e contribuições.

Ao professor Eduardo Padrón pela confiança, compreensão e conselhos.

Aos técnicos Guilherme de Lima (INFIS/UFU) e Flaysner Magayver (IQ/UFU), por todo suporte nas caracterizações.

À técnica Ingrid Vanessa, do PGMTR/UFPE, pela disponibilidade e gentileza.

À banca examinadora, por aceitarem o convite e pelas contribuições concedidas no aprimoramento deste trabalho.

Ao CNPq e a CAPES pelo apoio financeiro.

Meu muito obrigada a todos!

RESUMO

Folhas de grafite (GS, do inglês *graphite sheets*) apresentam propriedades interessantes, como elevada condutividade elétrica, estabilidade da superfície, flexibilidade, além de serem produzidas em larga escala a baixo custo. Nessa tese, foram utilizadas folhas de grafite como substratos condutores para a eletropolimerização dos corantes fenotiazínicos, azul de metileno (MB, do inglês *methylene blue*) e azul de toluidina (TB, do inglês *toluidine blue*) visando o desenvolvimento de sensores eletroquímicos. A eletropolimerização foi realizada por voltametria cíclica, sendo observado que o potencial de inversão influencia fortemente a eletropolimerização do MB. O potencial de inversão de +1,2 V (Ag/AgCl) resultou em maior rugosidade do filme eletropolimerizado. O filme de poli(azul de metileno) (PMB, do inglês *poly(methylene blue)*) depositado na superfície de GS, aumentou a sensibilidade para o antibiótico nitrofurantoína (NFT, do inglês *nitrofurantoin*), minimizou a desativação do eletrodo e exibiu um intervalo linear de resposta de 5 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção de 55 nmol L^{-1} . O sensor proposto foi aplicado com sucesso para quantificação de NFT em amostras de urina e água. Para o eletrodo modificado com o filme de poli(azul de toluidina) (PTB, do inglês *poly(toluidine blue)*), observou-se uma melhora de desempenho analítico quando ciclos de potenciais em KOH 0,1 mol L^{-1} foram realizados após a etapa de crescimento do filme. Este procedimento também resultou em filmes mais lisos e compactos. O sensor desenvolvido apresentou um aumento na sensibilidade para determinação de triptamina (TRYP, do inglês *tryptamine*), uma amina biogênica, com menores limites de detecção, além de ser menos suscetível à desativação do eletrodo durante a eletro-oxidação da TRYP. O GS/PTB-KOH apresentou uma faixa linear de 0,05 a 0,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um limite de detecção 12 nmol L^{-1} , permitindo a quantificação de TRYP em amostras de queijo. Analitos modelo como procaína (PRO) e lidocaína (LID) também foram avaliados, observando-se um aumento na sensibilidade e menores limites de detecção. A eletropolimerização de corantes fenotiazínicos em folhas de grafite mostrou-se como uma estratégia promissora para análise rápida e barata usando um eletrodo descartável para sensoriamento de diferentes analitos.

Palavras-chave: folhas de grafite; eletropolimerização; poli(azul de toluidina); poli(azul de metileno); eletrodo descartável.

ABSTRACT

Graphite sheets (GS) have interesting properties, such as high electrical conductivity, surface stability, flexibility, and being produced on a large scale at a low cost. In this thesis, graphite sheets were used as conductive substrates for the electropolymerization of phenothiazine dyes, methylene blue (MB), and toluidine blue (TB), aiming at the development of electrochemical sensors. Electropolymerization was performed by cyclic voltammetry, and it was observed that the switching potential strongly influences the electropolymerization of MB. The switching potential of 1.2 V (Ag/AgCl) resulted in greater roughness of the electropolymerized film. The poly(methylene blue) (PMB) film deposited on the surface of GS increased the sensitivity to the antibiotic nitrofurantoin (NFT) and minimized electrode fouling. The GS/PMB exhibited a linear response range from 5 to 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, with a detection limit of 55 nmol L^{-1} . The proposed sensor has been successfully applied for NFT quantification in urine and water samples. For the electrode modified with poly(toluidine blue) film (PTB), analytical performance was improved when potential cycles in KOH 0.1 mol L^{-1} were performed after the film growth step. This procedure also resulted in flat and more compact films. The developed sensor showed an increase in sensitivity for tryptamine (TRYP), a biogenic amine, with a lower detection limit, and it was less susceptible to electrode deactivation during TRYP electrooxidation. The GS/PTB-KOH electrode exhibited a linear range from 0.05 to 0.9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and a detection limit of 12 nmol L^{-1} allowing for the quantification of TRYP in cheese samples. Model analytes such as procaine (PRO) and lidocaine (LID) were also evaluated and improved sensitivity and lower detection limits were observed. The electropolymerization of phenothiazine dyes in graphite sheets proved a promising strategy for fast and inexpensive analysis using a disposable electrode for sensing different analytes.

Keywords: graphite sheets; electropolymerization; poly(toluidine blue); poly(methylene blue); disposable electrode.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Representação de um sensor eletroquímico	25
Figura 2 –	Estrutura cristalina da grafite, forma hexagonal com sequências de camadas ABAB.	29
Figura 3 –	Estrutura geral das fenazinas, com X= N, O, ou S; R ₁ , R ₂ = H, CH ₃ , ou C ₂ H ₅ .	32
Figura 4 –	Estrutura química do azul de metileno e azul de toluidina.	33
Figura 5 –	Possível dímero de MB formado durante polimerização.	34
Figura 6 –	Possível dímero de TB formado durante polimerização.	34
Figura 7 –	Reação de redução eletroquímica da NFT.	38
Figura 8 –	Reação de oxidação eletroquímica de TRYP.	40
Figura 9 –	Representação da aplicação de potencial para o experimento de voltametria cíclica em (A) equipamento analógico, varredura linear, (B) equipamento digital, varredura tipo escada (<i>staircase</i>), e (C) voltamograma cíclico típico para um processo eletroquímico reversível controlado por difusão.	42
Figura 10 –	Voltamograma cíclico típico para um processo redox reversível com a forma oxidada inicialmente presente, ilustrando como os principais parâmetros voltamétricos podem ser determinados. <i>I_{pc}</i> : corrente de pico catódica, <i>I_{pa}</i> : corrente de pico anódica, <i>E_{pc}</i> : potencial de pico catódico e <i>E_{pa}</i> : potencial de pico anódico.	43
Figura 11 –	Representação da aplicação de potencial em função do tempo em DPV.	45
Figura 12 –	Representação da aplicação de potencial em função do tempo em SWV.	46
Figura 13 –	Representação da célula eletroquímica: (A) substrato de folha de grafite, (B) posicionamento da folha de grafite (1 × 1 cm) na célula impressa em 3D (área do eletrodo definida pelo diâmetro do <i>O-ring</i>), (C) vista interna da célula impressa em 3D, (D) vista superior da célula impressa em 3D com a folha de grafite como eletrodo de trabalho na parte inferior da célula, (1) base de placa metálica para contato elétrico do eletrodo de trabalho, (2)	50

parafusos impressos em 3D, (3) eletrodo auxiliar e (4) eletrodo de referência.

- Figura 14 – Eletrodos utilizados neste trabalho: (A) eletrodo auxiliar (fio de platina, conectado a um fio de cobre no interior de um tubo de vidro), (B) eletrodo de referência (Ag/AgCl (KCl saturado)) e (C) eletrodo de trabalho (folha de grafite). 50
- Figura 15 – Cinco ciclos de potenciais para GS em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2), velocidade de varredura 100 mV s⁻¹ e intervalo de potencial -1,0 a +1,2 V. 55
- Figura 16 – Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados durante a eletropolimerização de MB para 20 ciclos de potenciais a 100 mV s⁻¹ em uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ contendo 1,0 mmol L⁻¹ de MB; potencial de inversão de +1,0 V (A) +1,1 V (B) e +1,2 V(C). 56
- Figura 17 – Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados durante a eletropolimerização do MB para 20 ciclos de potenciais a 100 mV s⁻¹ em uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ contendo 1,0 mmol L⁻¹ de MB, faixa de potencial de -1,0 a +1,2 V. 57
- Figura 18 – 5º voltamograma cíclico registrado em 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato a 50 mV s⁻¹, para os GS/PMB preparados nos diferentes potenciais de inversão: +1,0 V (curva vermelha), +1,1 V (curva rosa) e +1,2 V (curva azul), após etapa de enxágue com água deionizada. 58
- Figura 19 – 5º voltamograma cíclico registrado para cinco eletrodos GS/PMB preparados independentemente usando +1,2 V como potencial de inversão em 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato. 59
- Figura 20 – (A) 20 ciclos de potenciais para GS/PMB em uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2) após o processo de eletropolimerização, velocidade de varredura 50 mV s⁻¹ e intervalo de potencial -1,0 a +0,3 V. (B) Diminuição da corrente relativa versus o número de ciclos. 61
- Figura 21 – (A) 20 ciclos de potenciais para GS/PMB em uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2) após o processo de 62

eletropolimerização, velocidade de varredura 50 mV s^{-1} e intervalo de potencial $-1,0$ a $+1,2 \text{ V}$. (B) Diminuição da corrente relativa versus o número de ciclos.

- Figura 22 – Voltamogramas cíclicos registrados a 50 mV s^{-1} em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,2) contendo $250 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT e intervalo de potencial de $+1,2$ a $-1,0 \text{ V}$. Os diferentes eletrodos foram testados: GS (curva preta) e GS/PMB preparados em potenciais de inversão de $+1,0 \text{ V}$ (curva vermelha), $+1,1 \text{ V}$ (curva rosa) e $+1,2 \text{ V}$ (curva azul). 63
- Figura 23 – Possível interação de PMB com moléculas de NFT. 64
- Figura 24 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos sem (curva preta) e com (curva azul) uma etapa de agitação prévia em $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT. (B) Relação entre corrente de pico e tempo de agitação ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $\alpha = 50 \text{ mV}$, $tm = 50 \text{ ms}$, $\Delta E = 5 \text{ mV}$. 65
- Figura 25 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para solução de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT com variação da amplitude de modulação. (B) Relação entre corrente de pico e tempo de agitação ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $tm = 50 \text{ ms}$, $\Delta E = 5 \text{ mV}$, 60 s de agitação. 66
- Figura 26 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para solução de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT com variação do tempo de modulação. (B) Relação entre corrente de pico e tempo de modulação ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $\alpha = 75 \text{ mV}$, $\Delta E = 5 \text{ mV}$, 60 s de agitação. 67
- Figura 27 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para solução de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT com variação do incremento de potencial. (B) Relação entre corrente de pico e incremento de potencial ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $\alpha = 75 \text{ mV}$, $tm = 10 \text{ ms}$, 60 s de agitação. 68
- Figura 28 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com eletrodos GS/PMB após sucessivas adições ($5,0$; $10,0$; $25,0$; $50,0$ e $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) de NFT ($n = 3$). (B) Curvas de calibração 69

obtidas com GS (●) e GS/PMB (●). Eletrólito de suporte: tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2), α = 75 mV, tm = 10 ms, ΔE = 7 mV, 60 s de agitação.

- Figura 29 – Voltamogramas de pulso diferencial registrados para uma 72
solução de 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT ($n = 10$) com GS/PMB (A) GS (B)
e (C) corrente vs. número da medida. Eletrólito de suporte:
tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2), α = 75 mV, tm = 10 ms, ΔE
= 7 mV, 60 s de agitação.
- Figura 30 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados para uma 73
solução de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT para cinco eletrodos fabricados
independentemente. (B) Corrente vs. número do eletrodo ($n = 3$).
Eletrólito de suporte: tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2), α = 75
mV, tm = 10 ms, ΔE = 7 mV, 60 s de agitação.
- Figura 31 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados para 25 μmol 74
L⁻¹ de NFT ($n = 3$) durante o estudo da estabilidade do eletrodo
GS/PMB. (B) Resposta da corrente relativa vs. número de dias
após a preparação do eletrodo. Eletrólito de suporte: tampão
fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2), α = 75 mV, tm = 10 ms, ΔE = 7 mV,
60 s de agitação.
- Figura 32 – Comparação das curvas de calibração para NFT ($n = 3$) obtidas 75
para GS/PMB em solução de 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH
7,2) na ausência (●) e na presença (●) de 10 % de urina.
Eletrólito de suporte: tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2), α = 75
mV, tm = 10 ms, ΔE = 7 mV, 60 s de agitação.
- Figura 33 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com o 76
eletrodo GS/PMB para amostra de urina não fortificada (curva
cinza) e fortificadas com 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (curva preta), 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$
(curva vermelha) e 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (curva verde) de NFT ($n = 3$).
(B) Curva de calibração obtida para GS/PMB com solução de 0,1
mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,2) (●) e resposta de corrente
obtida para as soluções contendo urina fortificada (●). Eletrólito
de suporte: tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2), α = 75 mV, tm
= 10 ms, ΔE = 7 mV, 60 s de agitação.

- Figura 34 – Voltamogramas de pulso diferencial ($n = 3$) obtidos para solução contendo $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT possíveis interferentes: (A) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico; (B) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de nitrito; (C) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Ácido úrico; (D) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ureia; (E) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de glicose; (F) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de todos interferentes; (G) $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de todos interferentes. Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $\alpha = 75 \text{ mV}$, $tm = 10 \text{ ms}$, $\Delta E = 7 \text{ mV}$, 60 s de agitação. 78
- Figura 35 – Resposta da corrente relativa vs. compostos interferentes no sinal voltamétrico para $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT ($n = 3$) (A) sem interferentes, (B) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico, (C) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de nitrito, (D) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido úrico, (E) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ureia, (F) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de glicose, (G) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de todos interferentes e (H) $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de todos interferentes. Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $\alpha = 75 \text{ mV}$, $tm = 10 \text{ ms}$, $\Delta E = 7 \text{ mV}$, 60 s de agitação. 78
- Figura 36 – Espectros Raman ($80 \text{ a } 3500 \text{ cm}^{-1}$) de GS (preto), MB (verde), GS/MB (cinza), GS/PMB preparado até $+1,0 \text{ V}$ (vermelho) e GS/PMB preparado até $+1,2 \text{ V}$ (azul) (A). Ampliação da região entre $400 \text{ e } 520 \text{ cm}^{-1}$ (B). Foram adquiridos espectros em três pontos distintos para um mesmo substrato. 79
- Figura 37 – Imagens de MEV para a GS (A) GS/PMB preparado até $+1,0 \text{ V}$ (B) GS/PMB preparado até $+1,1 \text{ V}$ e (C) GS/PMB preparado até $+1,2 \text{ V}$ (D). Magnificação de $10000\times$. 81
- Figura 38 – Imagens de AFM de GS (A,C) GS/PMB preparado até $+1,2 \text{ V}$ (B,D) e GS/PMB preparado até $+1,0 \text{ V}$ (E). 82
- Figura 39 – Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados durante a eletropolimerização do TB para 20 ciclos de potenciais a 100 mV s^{-1} em uma solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2) contendo $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de TB e intervalo de potencial de $-1,0 \text{ a } +1,2 \text{ V}$. 85
- Figura 40 – Voltamogramas cíclicos sucessivos ($n = 5$) registrados para o eletrodo de GS/PTB a 50 mV s^{-1} em diferentes eletrólitos de 87

suporte: (A) 0,1 mol L⁻¹ de ácido clorídrico (B) 0,1 mol L⁻¹ de tampão acetato (pH 5,3) (C) 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,2) (D) 0,1 mol L⁻¹ de tampão borato (pH 9,0) (E) 0,1 mol L⁻¹ de hidróxido de potássio.

- Figura 41 – Imagens digitais dos eletrodos modificados após enxágue com 89
 água deionizada (A-B) e secos (C-D) para GS/PTB (A-C) e GS/PTB após ciclagem em potencial com KOH 0,1 mol L⁻¹ (B-D).
- Figura 42 – Voltamogramas cíclicos registrados para GS/PTB a 50 mV s⁻¹ 90
 contendo 1,0 mmol L⁻¹ de TRYP em 0,1 mol L⁻¹ de diferentes eletrólitos: ácido clorídrico (curva rosa), tampão acetato (pH 5,3) (curva vermelha), tampão fosfato (pH 7,2) (curva preta), tampão borato (pH 9,0) (curva verde), hidróxido de potássio (curva azul). Faixa de potencial de -1,0 V a +1,2 V.
- Figura 43 – Voltamogramas cíclicos registrados a 50 mV s⁻¹ em 0,1 mol L⁻¹ 91
 de KOH na ausência (curva preta) e presença (curva azul) de 1,0 mmol L⁻¹ TRYP para (A) GS (B) GS/PTB. Faixa de potencial de -1,0 V a +1,2 V.
- Figura 44 – 5º voltamograma cíclico registrado em 0,1 mol L⁻¹ de KOH a 92
 50 mV s⁻¹ com cinco eletrodos de GS/PTB preparados independentemente.
- Figura 45 – Voltamogramas cíclicos registrados a 50 mV s⁻¹ em 0,1 mol L⁻¹ 93
 de tampão acetato (pH 5,3) para GS (curva preta) e GS/PTB-KOH (curva azul). Faixa de potencial de -0,4 V a +1,2 V.
- Figura 46 – Voltamogramas cíclicos registrados a 50 mV s⁻¹ em 0,1 mol L⁻¹ 94
 de tampão acetato (pH 5,3) contendo 1,0 mmol L⁻¹ TRYP para GS (curva preta) e GS/PTB-KOH (curva azul). Faixa de potencial de -0,4 V a +1,2 V.
- Figura 47 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos sem (curva preta) 96
 e com uma etapa de pré-concentração (curva azul) para 0,3 µmol L⁻¹ de TRYP. (B) Relação entre corrente de pico e tempo de pré-concentração (n = 3). Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,3), $f = 80$ Hz, $\alpha = 50$ mV, $\Delta E = 6$ mV.

- Figura 48 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução de 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP com variação da frequência de aplicação do pulso de potencial. (B) Relação entre corrente de pico e frequência de aplicação dos pulsos de potencial ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,3), $\alpha = 50 \text{ mV}$, $\Delta E = 6 \text{ mV}$, 30 s de agitação. 97
- Figura 49 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução de 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP com variação da amplitude de pulso de potencial. (B) Relação entre corrente de pico e amplitude de pulso ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\Delta E = 6 \text{ mV}$, 30 s de agitação. 98
- Figura 50 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução de 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP com variação do incremento de potencial. (B) Relação entre corrente de pico e incremento de potencial ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, 30 s de agitação. 99
- Figura 51 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodos GS/PMB-KOH após sucessivas adições (0,05; 0,1; 0,3; 0,6 e 0,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de TRYP ($n = 3$). (B) Curva de calibração obtida com GS/PMB-KOH. Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação. 100
- Figura 52 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodos GS após sucessivas adições (2,0; 3,0; 4,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0 e 17,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de TRYP ($n = 3$). (B) Curva de calibração obtida com GS. Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação. 101
- Figura 53 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados para uma solução de 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP ($n = 10$) GS/PTB-KOH. (B) Corrente vs. número da medida. Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação. 103
- Figura 54 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados para uma solução de 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP ($n = 3$) para cinco eletrodos 104

fabricados independentemente. (B) Corrente vs. número do eletrodo ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação.

Figura 55 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados para $0,3 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP ($n = 3$) durante o estudo da estabilidade do eletrodo GS/PTB-KOH. (B) Resposta da corrente relativa vs. número de dias após a preparação do eletrodo. Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação. 105

Figura 56 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução amostra de queijo muçarela e adições crescentes de $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP. (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação. 106

Figura 57 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução amostra de queijo parmesão canastra e adições crescentes de $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP. (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação. 106

Figura 58 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução amostra de queijo prato e adições crescentes de $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP. (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação. 107

Figura 59 – Espectros Raman ($80 \text{ a } 3500 \text{ cm}^{-1}$) de GS (preto), TB (verde), GS/TB (cinza), GS/PTB (vermelho), e GS/PTB-KOH (azul). (A) Ampliação da região entre $400 \text{ e } 520 \text{ cm}^{-1}$ (B). Foram adquiridos espectros em três pontos distintos para um mesmo substrato. 108

Figura 60 – Imagens de MEV de (A) GS (B) GS/PTB (C) GS/PTB-KOH. Magnificação de 10000x. 110

- Figura 61 – Imagens de AFM da GS (A,B), GS/PTB (C,D) e GS/PTB-KOH (E,F). 111
- Figura 62 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodos GS/PMB-KOH após sucessivas adições (0,5-5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de PRO ($n = 3$). (B) Curvas de calibração obtidas com GS (●) e GS/PTB-KOH (●). Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,3), $f = 100 \text{ Hz}$, $\alpha = 50 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 60 s de agitação. 113
- Figura 63 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodos GS/PMB-KOH após sucessivas adições (2,5-123,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de LID ($n = 3$). (B) Curvas de calibração obtidas com GS (●) e GS/PTB-KOH (●). Eletrólito de suporte: tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,2), $f = 100 \text{ Hz}$, $\alpha = 50 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 15 s de agitação. 114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Comparação da determinação eletroanalítica de NFT para diferentes eletrodos e métodos eletroanalíticos.	70
Tabela 2 –	Determinação de NFT em amostras de urina e água de abastecimento.	76
Tabela 3 –	Comparação da determinação eletroanalítica de TRYP para diferentes eletrodos.	102
Tabela 4 –	Resultados dos estudos de adição e recuperação de TRYP em amostras de queijo.	107
Tabela 5 –	Atribuições das principais bandas Raman observadas para TB e MB.	109
Tabela 6 –	Parâmetros analíticos obtidos a partir das curvas de calibração para procaína usando o eletrodo GS/PTB-KOH e GS não modificado.	113
Tabela 7 –	Parâmetros analíticos obtidos a partir das curvas de calibração para lidocaína usando o eletrodo GS/PTB-KOH e GS não modificado.	115

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFM – microscopia de força atômica (do inglês, *atomic force microscopy*)
BDD – diamante dopado com boro (do inglês, *boron-doped diamond*)
CPE – eletrodo de pasta de carbono (do inglês, *carbon paste electrode*)
DPV – voltametria de pulso diferencial (do inglês, *differential pulse voltammetry*)
FIA – análise por injeção em fluxo (do inglês, *flow-injection analysis*)
FL – faixa linear
GCE – eletrodo de carbono vítreo (do inglês, *glassy carbon electrode*)
GPE – eletrodo de grafite de lápis (do inglês, *graphite pencil electrode*)
GS – folha de grafite (do inglês, *graphite sheet*)
HOPG – grafite pirolítico altamente organizado (do inglês, *highly oriented pyrolytic graphite*)
HPLC – cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, *high-performance liquid chromatography*)
LD – limite de detecção
LQ – limite de quantificação
LID – lidocaína
LSV – voltametria de varredura linear (do inglês, *linear sweep voltammetry*)
MB – azul de metileno (do inglês, *methylene blue*)
MEV – microscopia eletrônica de varredura (do inglês, *scanning electron microscopy*)
MWCNT – nanotubo de carbono de paredes múltiplas (do inglês, *multi-walled carbon nanotubes*)
NFT – nitrofurantoína (do inglês, *nitrofurantoin*)
PGS – folha de grafite pirolítica (do inglês, *pyrolytic graphite sheet*)
PMB – poli(azul de metileno) (do inglês, *poly(methylene blue)*)
PRO – procaína
PTB – poli(azul de toluidina) (do inglês, *poly(toluidine blue)*)
RSD – desvio padrão relativo (do inglês, *relative standard deviation*)
SWV – voltametria de onda quadrada (do inglês, *square wave voltammetry*)
TB – azul de toluidina (do inglês, *toluidine blue*)
TRYP – triptamina (do inglês, *tryptamine*)
XPS – espectroscopia de fotoelétrons induzidos por raios-X (do inglês, *X-ray photoelectron spectroscopy*)

LISTA DE SÍMBOLOS

a – amplitude do pulso de potencial
 A – área geométrica do eletrodo
 d – espessura do filme
 $E_{1/2}$ – potencial de meia onda
 E_p – potencial de pico
 E_{pa} – potencial de pico anódico
 E_{pc} – potencial de pico catódico
 $E_{p/2}$ – potencial de pico sobre dois
 f – frequência de aplicação do pulso de potencial
 F – constante de Faraday
 I_p – corrente de pico
 I_{pa} – corrente de pico anódica
 I_{pc} – corrente de pico catódica
 n – número de elétrons
 Q – carga voltamétrica
 S – inclinação da curva analítica
 S_B – desvio padrão do sinal do branco
 S_1 – primeiro intervalo antes da aplicação do pulso em DPV
 S_2 – segundo intervalo após a aplicação do pulso em DPV
 t – largura do pulso
 t_i – tempo inicial
 t_m – tempo de modulação
 v – é o volume molecular
 ΔE – incremento de potencial
 ΔE_p – separação de picos
 ΔE_s – incremento de amplitude
 ΔI – intensidade da corrente resultante
 τ – período
 Γ – recobrimento superficial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1	SENSORES ELETROQUÍMICOS	25
2.2	ELETRODOS BASEADOS EM CARBONO	26
2.3	FOLHA DE GRAFITE	28
2.4	MODIFICAÇÃO DE ELETRODOS	30
2.4.1	Modificação por eletropolimerização	30
2.4.2	Eletropolimerização de corantes fenotiazínicos.....	31
2.5	NITROFURANTOÍNA	37
2.6	TRIPTAMINA.....	39
2.7	TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS	41
2.7.1	Voltametria cíclica	41
2.7.2	Voltametria de pulsos	44
3	OBJETIVOS	47
3.1	OBJETIVO GERAL.....	47
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	49
4.1	REAGENTES E SOLUÇÕES	49
4.2	INSTRUMENTAÇÃO	49
4.2.1	Célula eletroquímica	49
4.2.2	Eletrodos	50
4.2.3	Medidas eletroquímicas	51
4.2.4	Microscopia eletrônica de varredura	51
4.2.5	Microscopia de força atômica	51
4.2.6	Espectroscopia Raman	51

4.3	ELETROPOLIMERIZAÇÃO DE FENOTIAZINAS EM GS	51
4.3.1	Eletropolimerização de azul de metileno.....	52
4.3.2	Eletropolimerização de azul de toluidina	52
4.4	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DAS TÉCNICAS DE DPV E SWV	52
4.5	PREPARO DE AMOSTRAS	53
4.5.1	Amostras de urina	53
4.5.2	Amostras de água	53
4.5.3	Amostras de queijo	53
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1	AVALIAÇÃO DO ELETRODO GS/PMB PARA ANÁLISE DE NFT EM AMOSTRAS DE URINA E ÁGUA.....	55
5.1.1	Estudo da eletropolimerização de azul de metileno em GS	55
5.1.2	Cobertura superficial e a espessura do filme de PMB	60
5.1.3	Estabilidade do filme de GS/PMB	61
5.1.4	Resposta eletroquímica da nitrofurantoína em GS/PMB	63
5.1.5	Avaliação do eletrodo GS/PMB em voltametria de pulso diferencial para determinação de NFT.....	64
5.1.5.1	Otimização da amplitude de modulação.....	66
5.1.5.2	Otimização do tempo de modulação	67
5.1.5.3	Otimização do incremento de potencial.....	68
5.1.6	Curva de calibração para a NFT	68
5.1.7	Repetibilidade, reprodutibilidade e estabilidade de GS/PMB	71
5.1.8	Determinação de NFT em amostra de urina e água	74
5.1.9	Seletividade de GS/PMB para NFT	77
5.1.10	Caracterização de GS/PMB por espectroscopia Raman	79
5.1.11	Caracterização morfológica dos eletrodos de GS/PMB	81
5.1.12	Conclusões parciais.....	84
5.2	AVALIAÇÃO DO ELETRODO GS/PTB PARA ANÁLISE DE TRYP EM AMOSTRAS DE QUEIJO	85
5.2.1	Estudo da eletropolimerização de azul de toluidina em GS	85
5.2.2	Resposta eletroquímica de triptamina utilizando GS/PTB em diferentes eletrólitos	90

5.2.3	Otimização da resposta voltamétrica da TRYP sobre os eletrodos de GS/PTB-KOH.....	93
5.2.4	Avaliação do eletrodo GS/PTB-KOH em voltametria de onda quadrada para determinação de TRYP	96
5.2.4.1	Otimização da frequência de aplicação do pulso de potencial	97
5.2.4.2	Otimização da amplitude de pulso de potencial	98
5.2.4.3	Otimização do incremento de potencial.....	98
5.2.5	Curva de calibração para a TRYP	99
5.2.6	Repetibilidade, reprodutibilidade e estabilidade de GS/PTB-KOH.....	103
5.2.7	Determinação de TRYP em amostras de queijo	105
5.2.8	Caracterização de GS/PTB-KOH por espectroscopia Raman.....	108
5.2.9	Caracterização morfológica dos eletrodos de GS/PTB-KOH.....	110
5.2.10	Avaliação do comportamento voltamétrico de espécies catiônicas sobre os eletrodos de GS/PTB-KOH.....	112
5.2.10.1	Curva de calibração para a procaína.....	113
5.2.10.2	Curva de calibração para a lidocaína	114
5.2.11	Conclusões parciais.....	116
6	CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	117
	REFERÊNCIAS.....	118

1 INTRODUÇÃO

A utilização de novos materiais em sistemas de detecção eletroquímica tem sido uma tendência na área de eletroanálise. Assim, as propriedades vantajosas de materiais modernos têm sido incorporadas aos eletrodos, permitindo o desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos de desempenho superior (MERKOÇI *et al.*, 2005). Essa busca por melhor desempenho surge devido à necessidade de atender demandas impostas pelos problemas analíticos atuais, como rapidez nas análises, possível portabilidade dos sistemas, simplicidade, sensibilidade e baixo custo (SHIN LOW *et al.*, 2020). Essas demandas têm se tornado cada vez mais desafiadoras, principalmente nas áreas clínica, ambiental e de alimentos. Além de desempenho analítico aprimorado, é altamente desejável que sensores e biossensores eletroquímicos sejam acessíveis tanto em termos de custo dos dispositivos, quanto em termos de disponibilidade dos materiais necessários para a sua fabricação (STEFANO *et al.*, 2022). Desta forma, a utilização de substratos descartáveis apresenta-se como uma opção promissora para sensoriamento eletroquímico, pois, além do baixo custo inerente a estes substratos, a utilização de dispositivos descartáveis elimina a etapa de regeneração da superfície (CAMARGO *et al.*, 2020; NASCIMENTO; ANGNES, 1998). Essa etapa é muitas vezes necessária devido à desativação do eletrodo pelo bloqueio da superfície pelos produtos ou intermediários dos processos redox utilizados na detecção, sendo este um dos maiores entraves para o desenvolvimento de eletrodos sólidos (NASCIMENTO; ANGNES, 1998). Características como baixo custo e a possibilidade de produção em larga escala de forma rápida e reprodutível são critérios desejáveis para um eletrodo descartável (LOWINSOHN *et al.*, 2006).

Nos últimos anos, diversos materiais de baixo custo têm sido explorados para desenvolver eletrodos descartáveis, aplicados principalmente como sensores eletroquímicos. Apesar do baixo custo, estes materiais apresentam desempenho bastante satisfatório, permitindo, portanto, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos promissores do ponto de vista econômico e com alta sensibilidade (DEMIRBAKAN; KEMAL SEZGINTÜRK, 2020). Dentre os materiais empregados para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos descartáveis, pode-se citar: papel

pirolisado (SILVA *et al.*, 2017), tinta condutora à base de verniz de vidro e grafite (PRADELA-FILHO *et al.*, 2020), tinta condutora produzida com esmalte de unha e pó de grafite sobre papel resistente a água (CAMARGO *et al.*, 2020), grafite de lápis (KAWDE; BAIG; SAJID, 2016) e folhas de grafite (OLIVEIRA; MUNOZ; ANGNES, 2010).

Dentre os materiais citados para o preparo de eletrodos descartáveis, as folhas de grafite são promissoras, pois combinam características vantajosas, como: baixo custo, fácil disponibilidade, alta condutividade elétrica, inércia química, flexibilidade e compatibilidade com diferentes métodos de imobilização de modificadores químicos (DEMIRBAKAN; KEMAL SEZGINTÜRK, 2020).

Diante das informações expostas, a motivação para o desenvolvimento deste trabalho foi avaliar as potencialidades de folhas de grafite disponíveis comercialmente como uma nova plataforma descartável para imobilização, via eletropolimerização de corantes fenotiazínicos, a saber, azul de metileno (MB, do inglês *methylene blue*) e azul de toluidina (TB, do inglês *toluidine blue*). O interesse nesses agentes modificadores, para desenvolvimento de sensores eletroquímicos, envolve o baixo custo, disponibilidade desses reagentes, além do amplo número de trabalhos envolvendo esses corantes (EHSANI *et al.*, 2021; GIRIBABU *et al.*, 2013; MANASA *et al.*, 2017; RIBEIRO *et al.*, 2018).

Ao longo deste trabalho será apresentada uma abordagem geral sobre sensores eletroquímicos de folhas de grafite comerciais. Também será discutido o potencial desses substratos como plataforma para a eletropolimerização dos corantes azul de metileno e azul de toluidina para a fabricação de sensores eletroquímicos. Em seguida, serão apresentados os objetivos geral e específicos do trabalho, e a parte experimental que descreve a eletropolimerização desses corantes, bem como as caracterizações, equipamentos e materiais utilizados. Por último, serão apresentados os resultados obtidos divididos em duas partes, as respectivas discussões e a conclusão dos experimentos realizados.

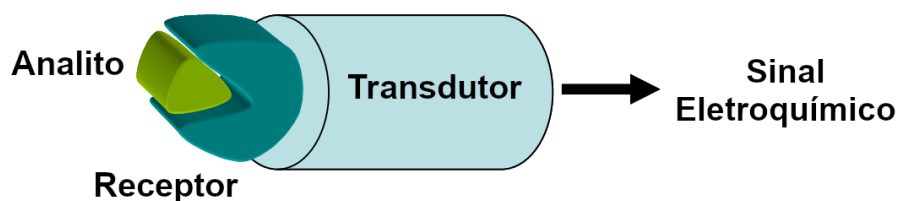
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SENSORES ELETROQUÍMICOS

Um sensor pode ser definido como uma ferramenta que detecta variações em alguma propriedade física ou química do ambiente que o circunda e envia esta informação para dispositivos eletrônicos capazes de converter estas variações em sinais elétricos (WANG, 2006). Existem três tipos de sensores: sensores físicos, sensores químicos e biossensores. Sensores físicos medem grandezas físicas como temperatura, pressão, intensidade luminosa etc. Um sensor químico, por sua vez, é um dispositivo que responde seletivamente a um analito por meio de uma reação química e pode ser usado para a determinação deste analito (FARGHALY; HAMEED; ABU-NAWWAS, 2014). Biossensores são definidos como sensores que usam processos de reconhecimento biológico para detectar o analito de interesse. Assim, um sinal elétrico é biologicamente produzido pelo biossensor, sendo este diretamente relacionado à concentração do analito de interesse (WANG, 2006).

Os sensores eletroquímicos são uma subclasse de sensores químicos que relacionam variações em propriedades elétricas à concentração do analito de interesse. Dentre esses, os mais amplamente empregados são baseados em reações de oxi-redução, as quais fornecem o sinal analítico que é, então, convertido em uma resposta mensurável através de um transdutor adequado (FARGHALY; HAMEED; ABU-NAWWAS, 2014). Qualquer sensor eletroquímico contém duas unidades funcionais: um receptor, que transforma a informação química em uma forma de energia e um transdutor que transforma a energia, contendo informações químicas, em uma fonte útil de sinal (RAHMAN *et al.*, 2008). A representação de um sensor eletroquímico é apresentada na Figura 1.

Figura 1 – Representação de um sensor eletroquímico.



Fonte: Adaptado de (RAHMAN *et al.*, 2008).

O desenvolvimento de sensores eletroquímicos para detecção dos mais diversos analitos tem se tornado uma fonte de pesquisa cada vez mais utilizada nas diversas áreas. Isso se justifica, pois os sensores eletroquímicos são ferramentas bem estabelecidas e poderosas para se obter informações em tempo real para controle de processos (GUTH; VONAU; ZOSEL, 2009). Adicionalmente, a detecção eletroquímica oferece alta sensibilidade, baixo custo, possibilidade de miniaturização e portabilidade (SHIN LOW *et al.*, 2020).

2.2 ELETRODOS BASEADOS EM CARBONO

O transdutor é um dos pontos mais importantes a considerar no desenvolvimento de um sensor eletroquímico. Transdutores baseados em carbono vêm se destacando há muitas décadas e podem apresentar vantagens como alta estabilidade mecânica e química, baixo custo, ampla faixa de potencial de trabalho, baixas correntes de fundo, grande área superficial, boa condutividade elétrica e inércia química. Existe grande variedade de materiais baseados em carbono utilizados como eletrodo para técnicas eletroquímicas, dentre os quais se destacam a pasta de carbono (TAJIK *et al.*, 2020), eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês *glassy carbon electrode*) (AHMADI-KASHANI; DEHGHANI, 2021; GAO *et al.*, 2019), diamante dopado com boro (BDD, do inglês *boron-doped diamond*) (CLEMATIS; PANIZZA, 2021) e grafite (TORRINHA *et al.*, 2018). Nanoestruturas de carbono, como nanotubos de carbono e grafeno, também oferecem vantagens no desenvolvimento de sensores, como diminuição de sobrepotenciais, aumento da área ativa da superfície e melhoria da transferência de carga (ASADIAN; GHALKHANI; SHAHROKHIAN, 2019; CERNAT *et al.*, 2015).

Em 1958, Adams publicou um relatório preliminar, no qual introduziu um tipo de eletrodo de carbono sólido para ser empregado como eletrodo de trabalho na voltametria (ADAMS, 1958). O autor chamou esse eletrodo de 'eletrodo de pasta de carbono' (CPE, do inglês *carbon paste electrode*), o qual é formado pela mistura entre pó de carbono e um líquido aglutinante imiscível com água, que tem a função de agregar as partículas condutoras de carbono (KALCHER *et al.*, 1995; SVANCARA *et al.*, 2012). Eletrodos de pasta de carbono oferecem várias vantagens, como a conveniência de modificação, baixa corrente de fundo, ampla janela de potencial,

baixa resistência ôhmica e, acima de tudo, uma relação custo-benefício extremamente vantajosa (MADHUSUDHANA *et al.*, 2019).

Outro material baseado em carbono amplamente empregado como eletrodo de trabalho em voltametria é o carbono vítreo, o qual foi introduzido em 1962 por Yamada e Sato (YAMADA; SATO, 1962). Estes autores prepararam um carbono impermeável a gases, obtido a partir do tratamento térmico em atmosfera inerte, de resinas fenólicas que chamaram de carbono vítreo. O carbono vítreo é extensivamente usado na eletroquímica (MASIKINI *et al.*, 2019; ÖZCAN; TOPÇUOĞULLARI; ATILIR ÖZCAN, 2019). A carbonização de certos polímeros reticulados sob condições cuidadosamente controladas produz um carbono não grafitizável, que devido ao seu alto brilho e fratura semelhante ao vidro foi chamado de carbono vítreo. Outras propriedades que distinguem o carbono vítreo das formas mais comuns do elemento incluem alta resistência, dureza e resistência à corrosão, com baixa porosidade e permeabilidade (COWLARD; LEWIS, 1967).

Eletrodos de diamante dopado com boro também têm sido extensivamente utilizados na eletroquímica desde a década de 1990 (ALFARO *et al.*, 2006). O sucesso do diamante como eletrodo deve-se a uma combinação única de propriedades vantajosas, dentre as quais pode-se citar: baixa e estável corrente de fundo, elevada estabilidade morfológica e microestrutural a altas temperaturas (por exemplo, 180 °C), e elevada sensibilidade para alguns analitos tanto em soluções aquosas quanto não-aquosas. Entretanto, os principais atrativos dos eletrodos de diamante são um amplo intervalo útil de potencial e a fraca adsorção de moléculas polares sobre sua superfície (HUPERT *et al.*, 2003). Esta última propriedade melhora a resistência do eletrodo à desativação ou envenenamento, levando à elevada estabilidade de resposta a curto e longo prazo.

Materiais baseados na estrutura da grafite também são largamente utilizados na eletroquímica. O eletrodo de grafite de lápis (GPE, do inglês *graphite pencil electrode*) foi introduzido há muitos anos, mas seu potencial como eletrodo de baixo custo e renovável só foi evidenciado em 1997 (BOND *et al.*, 1997). A singularidade do GPE é creditada a algumas propriedades específicas, além de ser barato, amplamente disponível e facilmente descartável. Além disso, os GPE's são mecanicamente rígidos e fáceis de miniaturizar. Apesar das inúmeras vantagens, o eletrodo de grafite de lápis ainda é um eletrodo alternativo, sendo muito menos

utilizado do que os eletrodos de pasta de carbono, carbono vítreo ou diamante (KAWDE; BAIG; SAJID, 2016).

Outro material que merece destaque é a grafite na forma de folhas. Oliveira *et al.* (OLIVEIRA; MUNOZ; ANGNES, 2010) relataram a utilização de uma folha de grafite comercial para determinação de ácido ascórbico, zinco e paracetamol em formulações farmacêuticas. Recentemente, foi descrito na literatura a utilização de folhas de grafite pirolítica (PGS, do inglês *pyrolytic graphite sheet*) como sensores de alta qualidade (comparado ao carbono vítreo), boa reprodutibilidade, flexibilidade, baixa resistência à transferência de carga, além disso, disponível comercialmente em larga escala e de baixo-custo, o que viabiliza sua utilização como eletrodo descartável (SILVA *et al.*, 2019). Eletrodos descartáveis oferecem uma solução simples e rápida em comparação aos eletrodos que requerem procedimentos tediosos de polimento de superfície para regeneração de suas propriedades.

Nesse contexto, as folhas de grafite comerciais têm se apresentado como substratos promissores para detecção eletroquímica, pois combinam baixo custo e alto desempenho eletroquímico, oferecendo uma ótima possibilidade de aplicação como dispositivos eletroquímicos descartáveis.

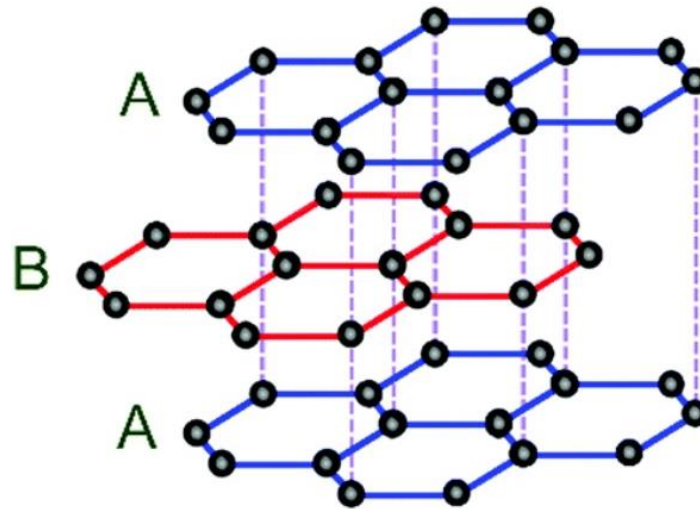
2.3 FOLHA DE GRAFITE

A grafite é uma estrutura de carbono em camadas na qual cada átomo de carbono apresenta hibridização sp^2 e é ligado a outros três átomos de carbono no plano de camada através de três ligações sigma e uma ligação π . As camadas da grafite são mantidas juntas por meio de forças fracas de van der Waals atuando entre as camadas adjacentes (ANWAR; KAUSAR; MUHAMMAD, 2016). A grafite pode ser vista como um sistema lamelar constituído de um empilhamento de planos atômicos conhecidos como grafeno (KATSNELSON, 2007). É a forma mais comum de polimorfos de carbono que ocorrem naturalmente, sendo o outro, o diamante (CHEHREH CHELGANI *et al.*, 2016).

A grafite, natural ou sintética, consiste, com poucas exceções, de partículas policristalinas ou grânulos. Em outras palavras, cada partícula é uma composição de inúmeros cristais individuais. A estrutura cristalina da grafite pode ser descrita como camadas paralelas de anéis hexagonais. As camadas são posicionadas na maior

parte com a sequência de empilhamento ABAB (WISSLER, 2006). A Figura 2 mostra a representação da estrutura cristalina da grafite.

Figura 2 – Estrutura cristalina da grafite, forma hexagonal com sequências de camadas ABAB.



Fonte: Adaptado de (WANG; YU; FENG, 2021).

Existe uma variedade de grafite na forma de folhas disponíveis comercialmente, e o processo de fabricação pode variar dependendo do fabricante. Um dos métodos de obtenção de folhas de grafite consiste na pulverização da grafite natural em flocos seguido de esfoliação em altas temperaturas e por fim, enrolado sob alta pressão (NAKAMURA *et al.*, 2017, 2018).

Outro exemplo de folha de grafite disponível comercialmente é a PGS, que é uma folha de grafite muito fina de 10-100 μm de espessura com uma estrutura semelhante a um único cristal altamente orientado feito de filmes finos de polímeros empilhados. Sabe-se que as PGS desenvolvidas pela Panasonic, por exemplo, são produzidas pela carbonização de uma pilha de filmes de polímeros de alguns micrometros de espessura a uma temperatura de aproximadamente 1000 K, seguido da grafitização do precursor de carbono resultante em aproximadamente 3000 K, e finalmente uma compressão (fricção) que reduz a espessura em 30-50%. Em comparação com a deposição química de vapor, que é usada para sintetizar o grafite pirolítico altamente organizado (HOPG do inglês, *highly oriented pyrolytic grafite*) este é um método de produção em massa conveniente para obtenção de folhas finas de grafite de boa cristalinidade (NAKAMURA *et al.*, 2017).

Como o custo das folhas de grafite é baixo, elas podem ser usadas para produzir sensores eletroquímicos descartáveis que, devido à sua natureza de uso único, são praticamente imunes à contaminação da superfície eletródica, uma das principais dificuldades encontradas na eletroanálise (WEESE *et al.*, 2019).

2.4 MODIFICAÇÃO DE ELETRODOS

A denominação ‘eletrodo quimicamente modificado’ foi inicialmente utilizada na década de 1970 por Murray *et al* (MOSES; WIER; MURRAY, 1975), para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas imobilizadas na superfície desses dispositivos.

A modificação química é uma forma de controlar as propriedades químicas e físicas da interface superfície eletródica/solução, isto porque a superfície modificada adquire as propriedades do agente modificador (SOUSA; DALLAN; BERTAZZOLI, 2000). Superfícies modificadas, em geral, resultam na transferência de propriedades físico-químicas do modificador para o eletrodo, podendo conferir atividade eletrocatalítica aprimorada, seletividade em relação ao analito, cinética de transferência eletrônica rápida e acúmulo de analito na superfície do eletrodo (SAJID *et al.*, 2016). A imobilização do agente modificador pode ser efetuada de várias maneiras, como adsorção (ZHANG *et al.*, 2016), via ligação covalente (LIU *et al.*, 2020), construção de materiais compósitos (SHI *et al.*, 2016) e por deposição de filmes poliméricos (MANASA *et al.*, 2017). Filmes poliméricos podem ser imobilizados em superfícies usando várias técnicas, como Langmuir-Blodgett (SINGHAL *et al.*, 2002), *spin-coating* (ZHANG, Y. *et al.*, 2019) e eletropolimerização (MANASA *et al.*, 2017).

2.4.1 Modificação por eletropolimerização

A eletropolimerização é uma técnica amplamente utilizada e muito eficiente para a modificação de eletrodos, pois envolve etapas mais rápidas e mais reproduzíveis em comparação a outros tipos de modificação (SEGURO *et al.*, 2022).

A modificação utilizando filmes poliméricos obtidos por outras técnicas pode resultar em um mau contato entre substrato e o filme, deficiência na conjugação do polímero imobilizado e dificuldade no controle da massa molecular do polímero

condutor (DAĞCI; ALANYALIOĞLU, 2010; XIA *et al.*, 2004). A eletropolimerização é vantajosa nesse aspecto pois a modificação é confinada à superfície (DAĞCI; ALANYALIOĞLU, 2010) e pode ser realizada em pequenas áreas, com alta conformidade geométrica e espessura controlável. Além disso, pode proporcionar forte aderência entre o filme de polímero e o substrato (DANG *et al.*, 2019). Os materiais eletropolimerizados possuem geralmente propriedades distintas dos monômeros correspondentes (KARYAKIN; KARYAKINA; SCHMIDT, 1999).

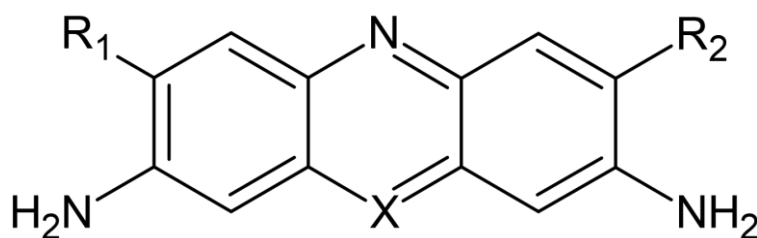
Na literatura são encontrados trabalhos que tratam da eletropolimerização de monômeros orgânicos como uma ferramenta para modificação de eletrodos. Um destes trabalhos propõe o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para a determinação seletiva de hidroquinona e catecol utilizando o efeito sinérgico do ácido nicotínico eletropolimerizado e nanoagulhas de tungstato de zinco dopadas com cádmio em substrato de CPE (DANG *et al.*, 2019). Também foi relatado um trabalho com filme composto de grafeno e ácido p-aminobenzóico eletropolimerizado para a determinação de dopamina (HUANG *et al.*, 2011). Zhang *et al.* (ZHANG *et al.*, 2013) relataram o desenvolvimento de um sensor voltamétrico obtido por eletropolimerização de L-cisteína na superfície de um eletrodo de GCE para detecção do corante *sunset yellow*. Em outro estudo, um eletrodo GCE foi modificado com um filme de ácido p-aminobenzeno sulfônico para detectar eletroquimicamente o cloridrato de fenazopiridina (DEMIRTAS *et al.*, 2015). Palanisamy *et al.* (PALANISAMY *et al.*, 2016) desenvolveram um sensor amperométrico para clorpromazina baseado em GCE modificado com de óxido de grafeno reduzido e polidopamina. Esses estudos demonstraram a combinação da técnica de eletropolimerização de diferentes monômeros direcionados para diversas aplicações eletroanalíticas.

2.4.2 Eletropolimerização de corantes fenotiazínicos

Polímeros eletroativos são uma classe de materiais orgânicos que ao serem expostos a certas soluções eletrolíticas exibem condutividade eletrônica e iônica (KARYAKIN; KARYAKINA; SCHMIDT, 1999). O estudo intensivo de polímeros eletroativos foi iniciado após a descoberta da eletropolimerização de pirrol (DIAZ; KANAZAWA; GARDINI, 1979) e da anilina (DIAZ; LOGAN, 1980). Entre esses compostos, polímeros obtidos a partir de fenazinas representam um grupo que

encontrou um amplo uso como indicadores e mediadores redox em vários ramos da bioquímica e bioeletroquímica. Corantes desse grupo são geralmente usados para colorir madeira e tecidos, bem como marcadores de células em microbiologia. Os derivados de fenazinas têm grupos metil e/ou amino nos anéis de benzeno e muitas vezes com um N substituído por S (fenotiazinas) ou O (fenoxazinas) no anel de azina (PAULIUKAITE *et al.*, 2010). A estrutura geral das fenazinas é representada na Figura 3.

Figura 3 – Estrutura geral das fenazinas, com X= N, O, ou S; R₁, R₂ = H, CH₃, ou C₂H₅.

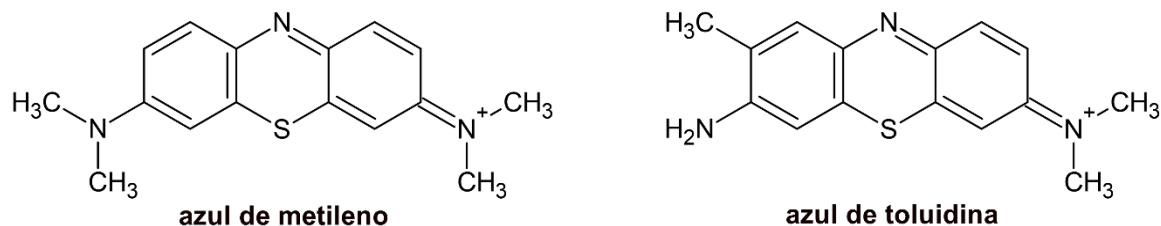


Fonte: Adaptado de (PAULIUKAITE *et al.*, 2010)

O maior número de aplicações eletroquímicas, dentro da classe das fenazinas, envolve os corantes vermelho neutro, fenosafranina, safranina, representando as fenotiazinas, o azul de metileno, azul de toluidina, verde de metileno, tionina, azul A, azul B e azul C e representando as fenoxazinas, o azul do nilo e o azul cresil brilhante (PAULIUKAITE *et al.*, 2010). Esses corantes são usados no desenvolvimento de sensores e biossensores para a determinação direta ou indireta de diversos analitos. Os efeitos eletrocatalíticos diminuem o sobrepotencial para eletro-oxidação ou redução eletroquímica de vários analitos importantes, ajudam a aumentar a sensibilidade, a seletividade e a diminuir o limite de detecção. Além disso, em alguns casos, é relatado a determinação simultânea de vários analitos (PAULIUKAITE *et al.*, 2010).

O azul de metileno (MB do inglês, *methylene blue*) e o azul de toluidina (TB do inglês, *toluidine blue*) são corantes catiônicos, solúveis em água e eletroativos, apresentando reações redox rápidas, que podem ser visualizadas por voltametria cíclica como pares de picos voltamétricos típicos de processos reversíveis (DAĞCI; ALANYALIOĞLU, 2010; SUN *et al.*, 2021). As estruturas químicas do azul de metileno e azul de toluidina são apresentadas na Figura 4.

Figura 4 – Estrutura química do azul de metileno e azul de toluidina.



Fonte: Adaptado de (PAULIUKAITE *et al.*, 2010).

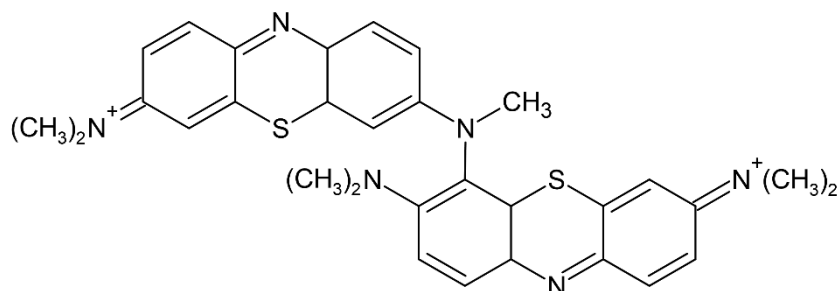
A obtenção de poli(azul de metileno) (PMB do inglês, *poly(methylene blue)*) e poli(azul de toluidina) (PTB do inglês, *poly(toluidine blue)*) por eletropolimerização é bastante relatada (ESOKKIYA *et al.*, 2021; KARYAKIN *et al.*, 1993; KARYAKIN; KARYAKINA; SCHMIDT, 1999; SUN *et al.*, 2021). Pode ser conduzida em uma solução contendo o monômero submetendo-se o eletrodo a varreduras de potencial, a um potencial constante, ou a uma corrente constante. O estudo de Ajami *et al.* (AJAMI *et al.*, 2016) relata um procedimento alternativo de eletropolimerização por pulsos de potencial. As reações eletroquímicas envolvidas durante a formação do polímero podem ser descritas como: 1) radicais catiônicos são formados durante a oxidação do monômero; 2) esses radicais iniciam o processo de polimerização e o número de radicais formados definem a estrutura do polímero (PAULIUKAITE *et al.*, 2010).

O poli(azul de metileno) é formado por meio de uma ligação entre um dos grupos amino terciários oxidados do monômero e um átomo de carbono do sistema aromático (HICHEM; DJAMILA; HANIA, 2013). Porém, também é relatado a possibilidade de acoplamento "anel-anel" de aminas aromáticas, além da ligação "cabeça-cauda", em que grupos amino se ligam a anéis aromáticos (KARYAKIN; KARYAKINA; SCHMIDT, 1999).

O passo inicial para a polimerização do poli(azul de toluidina) é a oxidação do grupo NH_2 , envolvendo um elétron e formando um radical catiônico. O elétron desemparelhado pode ser deslocalizado através da molécula TB e a dimerização radical pode ocorrer por meio de rotas de acoplamento carbono-nitrogênio. A oxidação do grupo NH_2 no dímero pode ocorrer novamente e a polimerização é iniciada para formar PTB (CAI; XUE, 1998; SARDAREMELLI *et al.*, 2020).

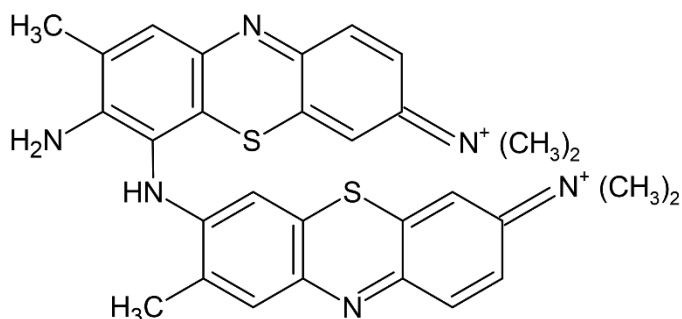
Possíveis dímeros formados durante a polimerização são mostrados nas Figuras 5 e 6 para MB e TB, respectivamente.

Figura 5 – Possível dímero de MB formado durante polimerização.



Fonte: Adaptado de (HICHEM; DJAMILA; HANIA, 2013).

Figura 6 – Possível dímero de TB formado durante polimerização.



Fonte: Adaptado de (SARDAREMELLI *et al.*, 2020).

Grande quantidade de trabalhos descreve a modificação de superfícies de diferentes eletrodos com poli(azul de metileno) ou com poli(azul de toluidina), e sua aplicação em eletroanálise. Xiao *et al.* (XIAO *et al.*, 2012) modificaram um eletrodo de carbono vítreo utilizando um nanocompósito de sílica modificado com PMB, o qual foi empregado como biossensor para glicose em amostras de soro humano. Os resultados indicaram uma curva de calibração linear em uma faixa de concentração de glicose de 0,01-1,11 mmol L⁻¹ e um limite de detecção de 3 µmol L⁻¹. Além disso, o biossensor desenvolvido apresentou boa precisão, repetibilidade, reprodutibilidade, estabilidade e excelente capacidade de resistir à interferência de ácido ascórbico e ácido úrico. Segundo os autores, houve uma interação eletrostática entre PMB e as moléculas de glicose oxidase.

Outro grupo de pesquisadores desenvolveu um eletrodo de carbono vítreo modificado com PMB para determinação eletroquímica de 4-nitrofenol em amostras de água. Em condições ótimas, a corrente de oxidação foi proporcional à concentração na faixa de 15-250 nmol L⁻¹. O limite de detecção foi de 90 nmol L⁻¹. Os autores justificaram o melhor desempenho do eletrodo modificado devido à formação

de ligações de hidrogênio e pares de íons entre PMB e 4-nitrofenol (GIRIBABU *et al.*, 2013).

Gorle *et al.* (GORLE; KULANDAINATHAN, 2016) relataram o desenvolvimento de um sensor de óxido de grafeno reduzido com PMB e “*electrografted*” com dopamina para análise de dopamina. Foi obtida uma curva de calibração com uma faixa linear de 0,96-7,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção de 1,03 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de ácido ascórbico e ácido úrico. Os autores não indicaram a possível interação entre a dopamina e PMB.

Outra estratégia para a produção de eletrodos quimicamente modificados com PMB foi a introdução deste polímero como modificador químico de eletrodos de pasta de carbono para determinação eletroquímica de catequina em amostras de chá (MANASA *et al.*, 2017). Os resultados indicaram duas faixas lineares de 1,0 nmol L^{-1} - 0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ -1,0 mmol L^{-1} , e limite de detecção de 4,9 nmol L^{-1} . A sensibilidade obtida com o eletrodo modificado foi cinco vezes maior do que a obtida com um eletrodo de pasta de carbono não modificado. Isso pode ser atribuído à maior sensibilidade do filme catiônico de PMB em relação às moléculas aniônicas de catequina.

Pode-se citar também o desenvolvimento de um eletrodo de HOPG modificado com PMB para detecção de sulfeto de hidrogênio. Sinais de corrente correspondentes à oxidação do sulfeto de hidrogênio não foram observados para o eletrodo não modificado, apenas para o eletrodo modificado. Isso demonstra o efeito eletrocatalítico de PMB em relação ao grupo sulfidril (ZLÁMALOVÁ; JANDA; NESMĚRÁK, 2017).

Em outro estudo (PANDEY; BAIRAGI; VERMA, 2018), nanofibras dendríticas de PMB foram crescidas eletroquimicamente na superfície do eletrodo de carbono dopado com cobre para determinação de creatinina em fluidos biológicos. O eletrodo fabricado apresentou uma resposta linear entre 0,5 e 900 ng mL^{-1} e limite de detecção de 0,2 ng mL^{-1} . De acordo com os autores, o sensor preparado é positivamente carregado, podendo, assim, detectar seletivamente a creatinina aniônica (forma tautomerizada) por meio de interações eletrostáticas. Ainda segundo os autores, as fibras dendríticas de PMB não apenas catalisaram a oxidação eletroquímica da creatinina, mas também proporcionaram maior área eletroquimicamente ativa, o que favorece tanto a transferência eletrônica quanto a adsorção da creatinina.

Koyun *et al.* (KOYUN; SAHIN, 2018) relataram a construção de um sensor de grafite de lápis com nanopartículas de ouro modificado com PMB para determinação

de nitrito em amostras de alimentos e água. Os autores relataram uma faixa linear de 5-5000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, boa reprodutibilidade e limite de detecção de 0,314 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Dai *et al.* (DAI *et al.*, 2016) relataram o desenvolvimento de um sensor de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas e PTB para detecção de nitrito em amostra de solo. Os autores relataram uma faixa linear de 39 nmol L^{-1} - 1,1 mmol L^{-1} e limite de detecção de 19 nmol L^{-1} . De acordo com o estudo, o PTB protonado pode atrair o ânion nitrito carregado negativamente na superfície do eletrodo.

Outro estudo propõe o desenvolvimento de um sensor usando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro e PTB para detecção de Bisfenol A em amostras de água. Os resultados indicaram uma faixa linear de 0,2-5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um limite de detecção de 0,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Segundo os autores, o PTB aumenta a área do eletrodo (SUN *et al.*, 2021).

Outro estudo recente (RIBEIRO *et al.*, 2018) mostra a aplicação de PTB preparado por estratégias de impressão molecular usando métodos eletroquímicos, para a triagem específica do biomarcador de câncer de mama, antígeno carboidrato 15-3 (CA 15-3). O dispositivo apresentou resposta linear de 0,10 U mL^{-1} -100 U mL^{-1} e limite de detecção abaixo de 0,10 U mL^{-1} . O estudo relatou que as interações entre o polímero e a proteína se dão por interações eletrostáticas, entre o corante catiônico e os grupos carboxilato e/ou sulfonato de carboidratos que compõem a proteína (ionizados em pH fisiológico), além de múltiplas ligações de hidrogênio entre o grupo N-H da TB e os grupos O-H/N-H presentes na fração de glicano ligada no antígeno CA 15-3 (RIBEIRO *et al.*, 2018).

Chakkarapani *et al.* (CHAKKARAPANI; BRANDL, 2020) desenvolveram um eletrodo impresso de carbono modificado com PTB para determinação de tiramina. Uma faixa de concentração de 0,02-270,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um limite de detecção inferior de 0,007 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram alcançados. Segundo os autores, o PTB tem uma maior condutividade elétrica e atividade catalítica, além de maior área eletroquimicamente ativa, o que fornece alta sensibilidade.

Outra estratégia foi a fabricação de um sensor eletroquímico baseado em eletrodo de carbono vítreo modificado com PTB para a determinação de cloridrato de doxorubicina em amostras de plasma humano. Sob condições otimizadas, o eletrodo apresentou uma relação linear entre a corrente de pico e a concentração na faixa de 17 nmol L^{-1} -8,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite inferior de quantificação de 17 nmol L^{-1} . Segundo

os autores, após a formação de uma camada fina de polímero na superfície do GCE, ligações de hidrogênio são formadas entre os grupos hidroxila do anel benzênico do cloridrato de doxorrubicina e o grupo NH₂ do PTB (EHSANI *et al.*, 2021).

É importante ressaltar que alguns trabalhos relatados podem envolver adição de nanopartículas (DAI *et al.*, 2016; KOYUN; SAHIN, 2018; PANDEY; BAIRAGI; VERMA, 2018; SUN *et al.*, 2021) ou várias etapas de modificação (RIBEIRO *et al.*, 2018). Entretanto, são favoráveis as estratégias de modificação de menor custo, que envolvam adição de poucos materiais e/ou reagentes e ainda necessite de poucas etapas de modificação.

A literatura apresenta alguns exemplos que indicam que o PMB e PTB são promissores para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos de alto desempenho analítico. Entretanto, não foram encontrados estudos descrevendo o uso de folhas de grafite modificadas quimicamente com filmes de PMB e PTB para fins eletroanalíticos.

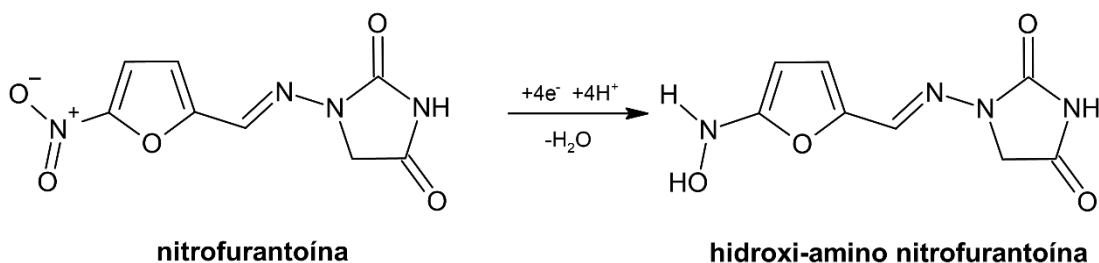
2.5 NITROFURANTOÍNA

A nitrofurantoína (NFT, do inglês, *nitrofurantoin*), um antibiótico derivado do nitrofurano, é um dos mais eficazes contra as espécies de *Escherichia coli* e *Enterococcus*, que são as principais causas de infecções do trato urinário (WAGENLEHNER; NABER, 2006). Apesar de ser usada por décadas (MCKINNELL *et al.*, 2011), a farmacocinética da NFT após administração oral não é completamente compreendida. Isso compromete a otimização do tratamento e expõe os pacientes a riscos, pois a superdosagem de NFT é prejudicial (BALAMURUGAN *et al.*, 2021; KUMMARI; SUNIL KUMAR; VENGATAJALABATHY GOBI, 2020; MCCALLA, 1983; VINOTH KUMAR *et al.*, 2018). Portanto, métodos analíticos simples e rápidos, capazes de quantificar NFT em fluidos biológicos, como a urina, são altamente desejáveis para melhorar a segurança dos pacientes tratados com NFT (WIJMA *et al.*, 2019). Além disso, o uso de antibióticos pela pecuária vem aumentando (DE OLIVEIRA; TRINDADE, 2016; ROSA *et al.*, 2019), fornecendo uma rota para esses medicamentos contaminarem alimentos e fontes de água. Devido ao seu baixo custo e alta eficiência, a NFT tem sido utilizado na piscicultura e avicultura (KUMMARI; SUNIL KUMAR; VENGATAJALABATHY GOBI, 2020). Assim, a quantificação de NFT em amostras ambientais como águas naturais e solos, bem como amostras de alimentos, também é relevante.

Várias técnicas analíticas têm sido usadas para quantificar NFT, incluindo cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção espectrofotométrica (HARRISON; LEWIS; ANCILL, 1973; WIJMA *et al.*, 2019), por espectrometria de massas (ØYE; COUILLARD; VALDERSNES, 2019; WILASINEE; SUTTHIVAIYAKIT; SUTTHIVAIYAKIT, 2015), e luminescência molecular (AL-HASHIMI *et al.*, 2021). Apesar do bom desempenho dessas técnicas, elas geralmente requerem procedimentos de pré-tratamento de amostras trabalhosos e demorados, além de instrumentação complexa e cara. Por outro lado, as técnicas eletroquímicas apresentam diversas características atrativas, como instrumentação simples e relativamente barata, possibilidade de miniaturização e consequente portabilidade mais fácil, e baixos requisitos de pré-tratamento de amostra (KOVENTHAN *et al.*, 2020).

De acordo com a literatura, a redução eletroquímica de NFT envolve a redução de um grupo nitro à hidroxilamina correspondente (KUMMARI; SUNIL KUMAR; VENGATAJALABATHY GOBI, 2020; VELMURUGAN *et al.*, 2020). A equação química que representa a redução eletroquímica da NFT é mostrada na Figura 7.

Figura 7 – Reação de redução eletroquímica da NFT.



Fonte: Adaptado de (HWA; SHARMA, 2020).

Diferentes tipos de materiais têm sido utilizados como eletrodo de trabalho para a quantificação de NFT por métodos eletroanalíticos, incluindo BDD (DE LIMA-NETO *et al.*, 2010), eletrodo impresso de nanofibras de carbono (SALGADO-FIGUEROA *et al.*, 2013), biossensor eletroquímico baseado em DNA (AYDOĞDU *et al.*, 2014), eletrodo sólido de amálgama de prata com menisco de mercúrio (KREJČOVÁ; BAREK; VYSKOČIL, 2015), molibdato de neodímio (VINOTH KUMAR *et al.*, 2018), nanocompósito de óxido de níquel e nitreto de carbono dopado com boro (KOKULNATHAN; WANG, 2019), nanoesferas de NiFe ancoradas em MWCNTs (HWA; SHARMA, 2020), nanofolhas de cobaltato de zinco (KOVENTHAN *et al.*, 2020),

GCE modificado com nanocompósito de óxido de grafeno reduzido e MWCNT (KUMMARI; SUNIL KUMAR; VENGATAJALABATHY GOBI, 2020), estanho de bário imobilizado em carbono vítreo (BALAMURUGAN *et al.*, 2021), compósito de nanofibras de carbono funcionalizadas e negro de fumo (HAIDYRAH *et al.*, 2021), etc.

2.6 TRIPTAMINA

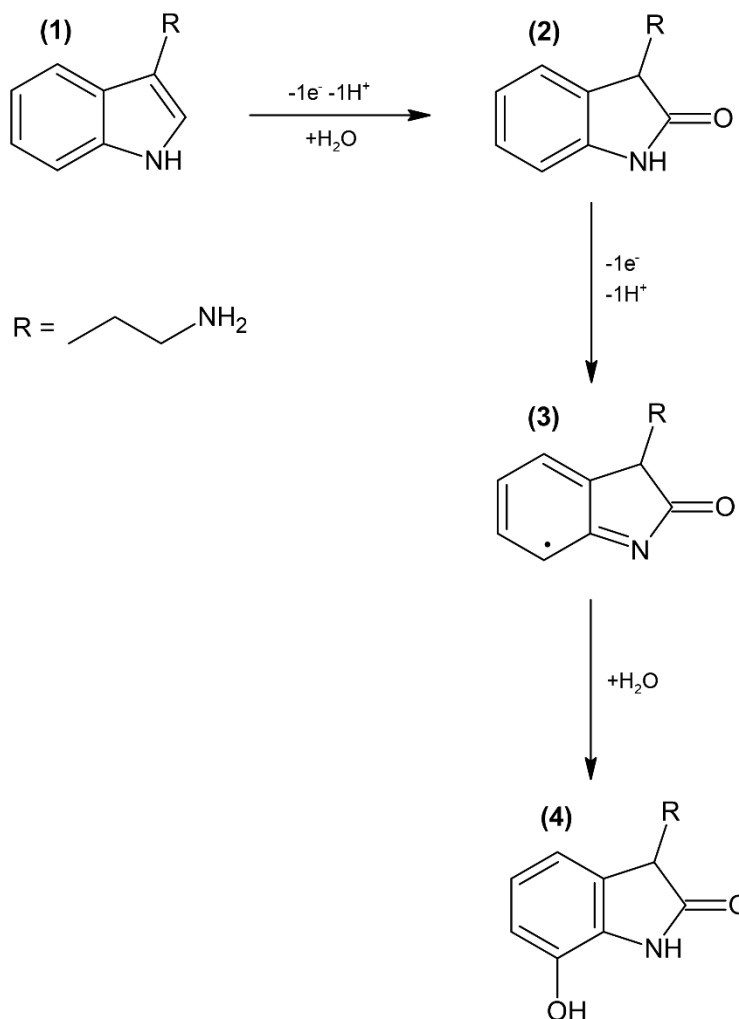
As aminas biogênicas são compostos nitrogenados naturais produzidos por plantas, animais e microorganismos, principalmente por meio da descarboxilação de aminoácidos (DEL RIO *et al.*, 2020). A triptamina (TRYP do inglês, tryptamine) é uma amina biogênica formada pela descarboxilação microbiana do triptofano (LINARES *et al.*, 2011) e é encontrada em uma variedade de alimentos e bebidas como peixe, queijo, salame, salsicha, vinho, cerveja, algumas frutas e vegetais (COSTA *et al.*, 2016; GONG *et al.*, 2014). A concentração TRYP em amostras de alimentos depende de fatores como a composição, flora microbiana, e condições de fermentação (GONG *et al.*, 2014), inclusive falta de higiene durante o processamento do alimento (ZHANG, D. *et al.*, 2019). Portanto, embora esses compostos tenham importantes funções biológicas em concentrações fisiológicas, reações toxicológicas podem ocorrer se alimentos contendo altas concentrações de aminas biogênicas forem consumidos (DEL RIO *et al.*, 2020; LINARES *et al.*, 2011). Em queijos, por exemplo, a TRYP acumula-se em concentrações média de 1-46,8 mg/kg (DANIEL COLLINS *et al.*, 2011).

Estudos têm mostrado que a TRYP pode causar necrose das células intestinais, além de apresentar citotoxicidade nas concentrações encontradas nos alimentos (DEL RIO *et al.*, 2020). Uma alta concentração de TRYP acumulada no corpo humano pode alterar a pressão arterial e também pode levar a complicações como náuseas, palpitações e dores de cabeça (ZHANG, D. *et al.*, 2019). Devido à citotoxicidade apresentada, muitos métodos têm sido desenvolvidos para a determinação de TRYP em alimentos. Métodos usando HPLC (INNOCENTE *et al.*, 2007), HPLC com detecção por espectrometria de massas (GOSETTI *et al.*, 2007), HPLC com detecção por absorção na região do ultravioleta (MAZZUCCO *et al.*, 2009), fluorescência (ZHANG, D. *et al.*, 2019) e fosforescência (CAÑABATE-DÍAZ *et al.*, 2003; RAMON-MARQUEZ *et al.*, 2016) foram relatados. No entanto, em comparação com as técnicas relatadas acima, os métodos eletroquímicos podem oferecer algumas

vantagens para detecção de TRYP, já discutidas anteriormente, como instrumentação simples e relativamente barata, possibilidade de miniaturização e menor número de etapas para pré-tratamento de amostra.

De acordo com a literatura, a primeira etapa da eletro-oxidação de TRYP ocorre na posição C2 do anel pirrol, com o ataque nucleofílico da água e formação do produto hidroxil-indol (2). Uma segunda etapa de oxidação também é relatada e ocorre na posição C7 do benzeno, com um elétron transferido, seguido de desprotonação para produzir um radical (3), que é estabilizado por ataque nucleofílico direto pela água, com hidroxilação da porção C7 do benzeno (4) (COSTA *et al.*, 2016). A reação de oxidação eletroquímica de TRYP é mostrada na Figura 8.

Figura 8 – Reação de oxidação eletroquímica de TRYP.



Fonte: Adaptado de (COSTA *et al.*, 2016).

Diferentes tipos de materiais foram reportados como eletrodo de trabalho para monitorar a quantidade de TRYP por métodos eletroanalíticos. Entre esses materiais, podemos citar o GCE modificado com grafeno polipirrol sulfonado e MWCNT modificado com ácido hialurônico (XING *et al.*, 2012), GCE modificado com nanopartículas de ouro, quitosana e MWCNT com etapa de eletropolimerização com 3-ácido tiofenemalônico (MENG *et al.*, 2014), GCE não modificado (COSTA *et al.*, 2016), eletrodo termoplástico de policaprolactona e negro de fumo (PRADELA-FILHO *et al.*, 2021), eletrodo de grafite de lápis modificado com purpurato de amônio (KRISHNAN; SARASWATHYAMMA, 2021) e CPE modificado com ftalocianina de níquel (LOURENÇO *et al.*, 2022).

2.7 TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS

Como discutido anteriormente, técnicas eletroquímicas podem combinar alta sensibilidade, tempo de resposta curto e simplicidade instrumental (ASADIAN; GHALKHANI; SHAHROKHIAN, 2019). Nesta tese, três técnicas eletroquímicas foram utilizadas: voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada.

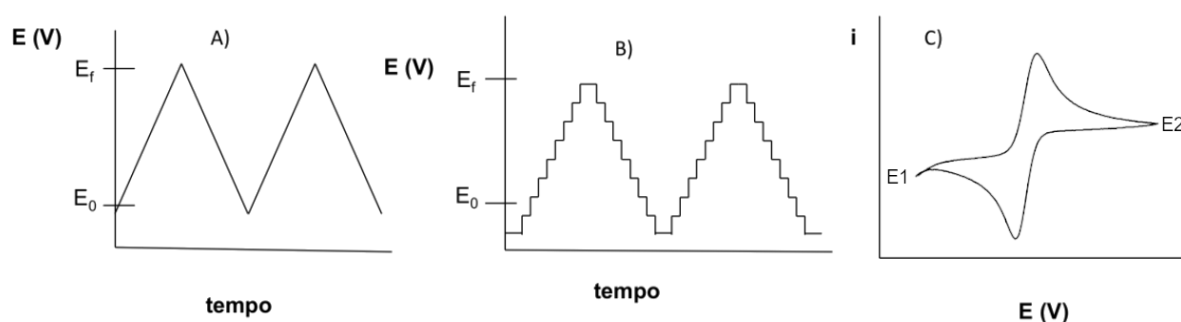
2.7.1 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica é uma técnica eletroquímica comumente empregada para investigar os processos de redução e oxidação de espécies químicas (ELGRISHI *et al.*, 2018). A técnica se baseia nos fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e a camada fina de solução adjacente a essa superfície. Essa técnica é classificada como dinâmica, pois a célula eletroquímica é operada na presença de corrente elétrica ($i \neq 0$) que, por sua vez, é medida em função da aplicação controlada de um potencial. Assim, as informações sobre a espécie eletroativa são obtidas por meio da medição da magnitude da corrente elétrica que flui entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar ao se aplicar a diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o de referência (PACHECO *et al.*, 2013).

Em uma solução sem agitação, varia-se o potencial de forma linear (Figura 9A) ou escalonada em pequenos degraus de potencial, no caso de um instrumento digital

(Figura 9B). O potencial é variado até um valor limite, denominado potencial de inversão, a partir do qual o sentido da varredura é invertido. O potencial aplicado é, portanto, o sinal de excitação, variável com o tempo e imposto de forma triangular, como mostram as Figuras 9A e 9B. A corrente é medida como resposta ao potencial aplicado, resultando no voltamograma cíclico. A Figura 9C mostra um voltamograma cíclico representativo para um processo eletroquímico reversível, isto é, que apresenta cinética de transferência eletrônica rápida (KISSINGER; HEINEMAN, 1983).

Figura 9 – Representação da aplicação de potencial para o experimento de voltametria cíclica em (A) equipamento analógico, varredura linear, (B) equipamento digital, varredura tipo escada (*staircase*), e (C) voltamograma cíclico típico para um processo eletroquímico reversível controlado por difusão.



Fonte: Adaptado de (PACHECO *et al.*, 2013).

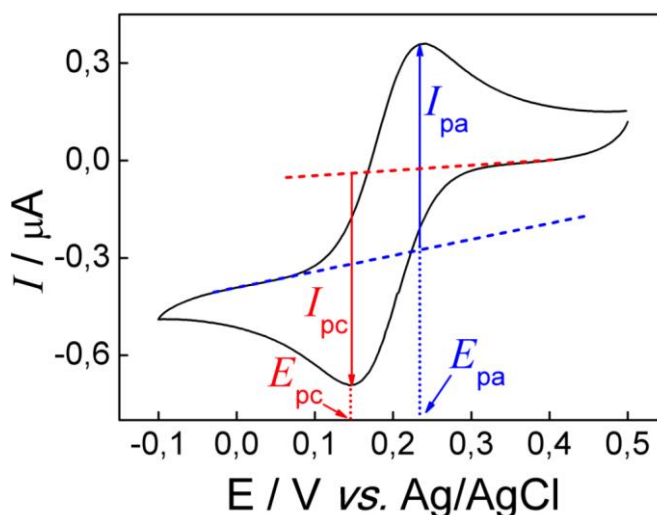
A corrente que é observada durante a redução ou oxidação da espécie eletroativa na interface eletrodo/solução obedece à lei de Faraday, sendo, portanto, denominada de corrente faradaica. Correntes faradaicas são proporcionais à concentração da espécie eletroativa em solução, sendo esta dependência frequentemente explorada para fins analíticos. Além da corrente faradaica, outro tipo de corrente se desenvolve em células eletroquímicas, a chamada corrente capacitiva. Esta não é proporcional à concentração da espécie eletroativa e nem obedece à lei de Faraday, sendo gerada devido a um acúmulo de cargas na superfície do eletrodo, que é contrabalanceado por um acúmulo de íons de carga oposta na camada de solução adjacente à superfície do eletrodo. Este arranjo comporta-se aproximadamente como um capacitor de placas paralelas, originando a chamada dupla camada elétrica. A corrente associada ao carregamento dessa dupla camada elétrica é a corrente capacitiva (PACHECO *et al.*, 2013).

A voltametria cíclica permite distinguir entre processos de transferência eletrônica rápida (processos reversíveis), processos eletródicos lentos (processos

irreversíveis) e processos de velocidade intermediária, os quais são denominados processos quase-reversíveis (ZOSKI, 2006). Esses processos fornecem respostas voltamétricas distintas, tornando, portanto, a técnica de voltametria cíclica muito útil para a realização de estudos cinéticos e dos mecanismos de reações de transferência eletrônica. Processos eletrodicos com mecanismos mais complexos, envolvendo reações químicas acopladas às transferências eletrônicas também fornecem respostas voltamétricas características (BARD, ALLEN J ; FALKNER, 2001).

Um voltamograma cíclico típico para um processo químico e eletroquimicamente reversível apresenta um par de picos voltamétricos: um catódico e outro anódico, relativos, respectivamente, à redução e à oxidação da espécie eletroativa. Os principais parâmetros voltamétricos para avaliação dos processos redox sob estudo por voltametria cíclica são a corrente de pico I_p e o potencial de pico E_p . A Figura 10, ilustra como esses parâmetros são determinados em um voltamograma cíclico típico de um processo redox reversível com a forma oxidada dissolvida em solução. Neste caso, a varredura direta ocorre no sentido de potenciais mais negativos.

Figura 10 – Voltamograma cíclico típico para um processo redox reversível com a forma oxidada inicialmente presente, ilustrando como os principais parâmetros voltamétricos podem ser determinados. I_{pc} : corrente de pico catódica, I_{pa} : corrente de pico anódica, E_{pc} : potencial de pico catódico e E_{pa} : potencial de pico anódico.



Fonte: (PAIOLA et al., 2017)

Assim, um processo catódico é observado na varredura direta, e um processo anódico é observado na varredura reversa, correspondendo à re-oxidação da espécie reduzida na varredura direta. Como mostra a Figura 10, os valores de E_p

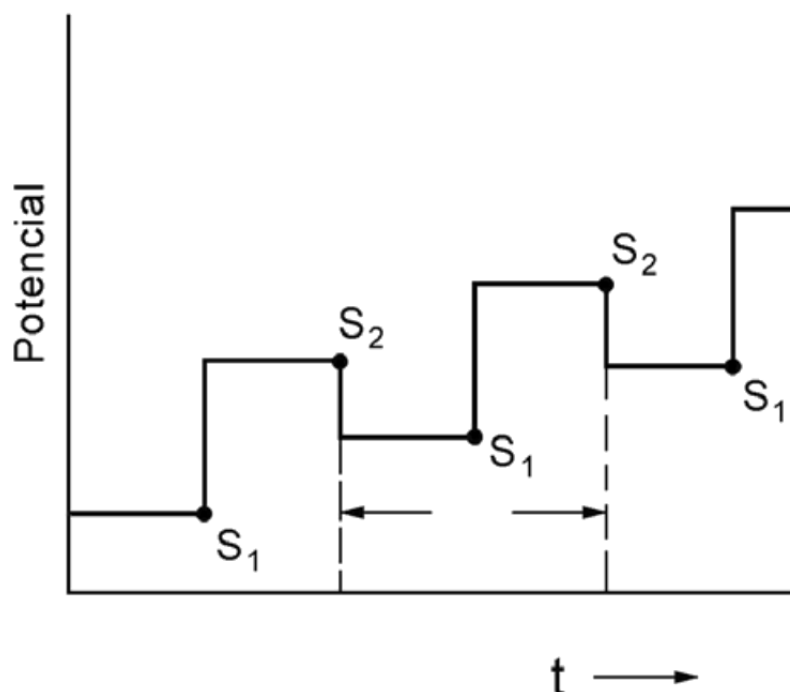
correspondem aos potenciais nos quais são observadas as correntes de pico e podem ser obtidos diretamente no eixo dos potenciais. Para a determinação dos valores de corrente de pico, é necessário traçar linhas de base a partir da extrapolação das correntes que antecedem os picos. Esse procedimento é necessário para que a corrente capacitiva seja descontada. Outros parâmetros voltamétricos não indicados explicitamente na Figura 10 são o potencial de meia onda ($E_{1/2}$) e o potencial de pico sobre dois ($E_{p/2}$). Este último é simplesmente o potencial no qual a corrente obtida é igual à metade da corrente de pico. $E_{1/2}$, por sua vez, encontra-se entre E_p e $E_{p/2}$ e está relacionado ao potencial termodinâmico do par redox estudado.

2.7.2 Voltametria de pulsos

Nas técnicas voltamétricas de pulso, a variação de potencial não é linear em função do tempo, mas em pulsos de potenciais aplicados num determinado tempo. As características da corrente medida dependem de como estes pulsos são aplicados e estão relacionadas tanto com a largura do pulso quanto com o degrau de potencial (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003; PACHECO *et al.*, 2013). Após a aplicação dos pulsos de potencial, a corrente capacitiva se extingue mais rapidamente que a componente faradáica, sendo o sinal analítico mensurado ao final da aplicação do pulso. Devido a diferença na aquisição do sinal, essas técnicas são as mais sensíveis e com melhores resoluções de picos em relação a voltametria cíclica (PACHECO *et al.*, 2013).

Na voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *differential pulse voltammetry*), pulsos de igual amplitude são aplicados sobre uma rampa linear de potencial, a corrente é medida antes do pulso ser aplicado e no final do pulso. Estas correntes são subtraídas, já que a primeira é a contribuição da corrente capacitiva e a segunda é a contribuição da corrente faradáica e, então, são colocadas no eixo y de um gráfico, tendo o potencial da rampa linear no eixo x, gerando um voltamograma de pulso diferencial, com a forma de uma curva gaussiana (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003). A representação da aplicação de potencial em função do tempo é apresentada na Figura 11. S_1 é o primeiro intervalo antes da aplicação do pulso e S_2 é o segundo intervalo após a aplicação do pulso (ALEIXO, 2003).

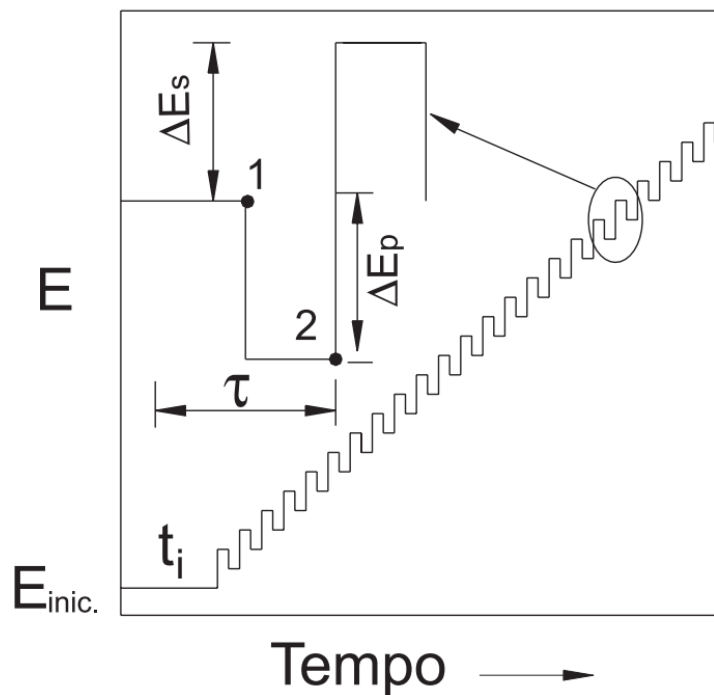
Figura 11 – Representação da aplicação de potencial em função do tempo em DPV.



Fonte: Adaptado de (ALEIXO, 2003).

A voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *square wave voltammetry*) é um tipo de voltametria de pulso que apresenta excelente sensibilidade e rapidez na aquisição do sinal (CABRAL *et al.*, 2003). A forma da curva de corrente-potencial é proveniente da aplicação de pulsos de potenciais de amplitude a (amplitude do pulso de potencial) e duração τ (período) sobreposta a uma perturbação na forma de uma escada de potencial de altura ΔE_s (incremento de varredura). Na curva de potencial-tempo, a largura do pulso $\frac{\tau}{2}$ é chamada t e a frequência de aplicação dos pulsos é chamada de f e é dada por $\frac{1}{t}$. As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos diretos e reversos e o sinal é obtido como uma intensidade da corrente resultante ΔI de forma diferencial. Esta medida precede um tempo inicial t_i no qual o eletrodo de trabalho é polarizado a um potencial onde a reação redox não ocorre (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003). A Figura 12 mostra a representação da aplicação de potencial em função do tempo em SWV.

Figura 12 – Representação da aplicação de potencial em função do tempo em SWV.



Fonte: Adaptado de (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

As técnicas voltamétricas são, portanto, ferramentas analíticas de elevado desempenho, principalmente as técnicas de pulso, e bastante versáteis, uma vez que podem ser aplicadas para a quantificação espécies eletroativas tanto orgânicas quanto inorgânicas. Desta forma, considerando as características vantajosas das técnicas voltamétricas, estas foram selecionadas como técnicas analíticas a serem empregadas neste trabalho.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi modificar folhas de grafite comerciais com filmes de poli(azul de metileno) e poli(azul de toluidina) produzidos por eletropolimerização, e aplicar estes dispositivos como novas plataformas para a fabricação de sensores eletroquímicos descartáveis.

Para tal, o trabalho foi dividido no estudo de dois sistemas. Na Parte 1 da tese (seção 5.1), o foco foi direcionado na modificação da folha de grafite com PMB e aplicação desse dispositivo para determinação de NFT em amostras de urina e água. Na Parte 2 (seção 5.2) foi discutida a utilização da folha de grafite modificada com filmes de PTB e a aplicação desse dispositivo para determinação de TRYP em amostras de queijo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos do trabalho apresentados na Parte 1 são:

- Estudo da variação do potencial de inversão durante a eletropolimerização do MB.
- Cálculo da espessura do filme de PMB.
- Estudo do comportamento eletroquímico de NFT no eletrodo de GS/PMB;
- Desenvolvimento de um método para a determinação de NFT empregando DPV.
- Aplicação do método desenvolvido em amostras de urina e água.
- Caracterização morfológica de GS/PMB por microscopia eletrônica de varredura e microscopia de força atômica.
- Avaliação da composição estrutural de GS/PMB por espectroscopia Raman.

Os objetivos específicos do trabalho apresentados na Parte 2 são:

- Eletropolimerização de TB.
- Estudo do comportamento eletroquímico de TRYP em eletrodo de GS/PTB em diferentes eletrólitos.

- Desenvolvimento de um método para a determinação de TRYP empregando SWV.
- Aplicação do método desenvolvido em amostras de queijo.
- Caracterização morfológica de GS/PTB por microscopia eletrônica de varredura e microscopia de força atômica.
- Avaliação da composição estrutural de GS/PTB por espectroscopia Raman.
- Explorar a aplicabilidade do sensor para os analitos modelo procaína e lidocaína.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

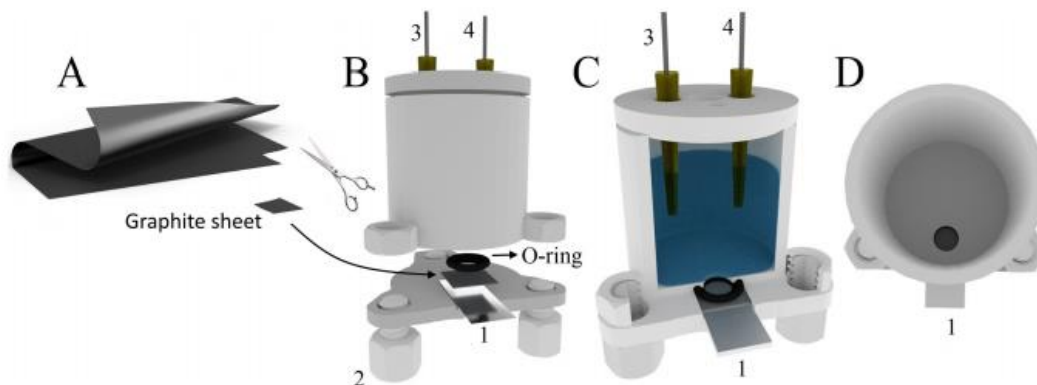
Todos os reagentes utilizados nos experimentos foram de pureza analítica (PA) e todas as soluções foram preparadas em água deionizada ($R > 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) obtida a partir de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos). Azul de metileno, azul de toluidina, ácido fosfórico, ácido acético, hidróxido de potássio, ácido bórico, ácido ascórbico, nitrito de sódio e ureia foram adquiridos da empresa Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Ácido clorídrico foi adquirido da empresa Synth (São Paulo, Brasil). Hidróxido de sódio foi adquirido da empresa Dinâmica (São Paulo, Brasil). Nitrofurantoína foi fornecida pela farmácia de manipulação Cruzeiro (Ituiutaba, Brasil). Cloridrato de triptamina, cloridrato de procaína, cloridrato de lidocaína, ácido úrico e glicose foram adquiridos da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil).

4.2 INSTRUMENTAÇÃO

4.2.1 Célula eletroquímica

Nas medidas voltamétricas, foi utilizada uma célula eletroquímica, com volume de aproximadamente 30,0 mL, produzida com filamento de acrilonitrila butadieno estireno e tecnologia de impressão 3D (CARDOSO *et al.*, 2018). Nesta célula eletroquímica, representada na Figura 13, o eletrodo de folha de grafite (1 x 1 cm) foi posicionado no fundo com auxílio de um anel de borracha (*o-ring*). A folha foi recortada e colocada sobre uma placa de aço, e esta placa foi pressionada contra o anel com auxílio de parafusos. Os demais eletrodos (referência e auxiliar) foram posicionados na tampa, a qual contém orifícios sob medida para cada um.

Figura 13 – Representação da célula eletroquímica: (A) substrato de folha de grafite, (B) posicionamento da folha de grafite (1×1 cm) na célula impressa em 3D (área do eletrodo definida pelo diâmetro do *O-ring*), (C) vista interna da célula impressa em 3D, (D) vista superior da célula impressa em 3D com a folha de grafite como eletrodo de trabalho na parte inferior da célula, (1) base de placa metálica para contato elétrico do eletrodo de trabalho, (2) parafusos impressos em 3D, (3) eletrodo auxiliar e (4) eletrodo de referência.

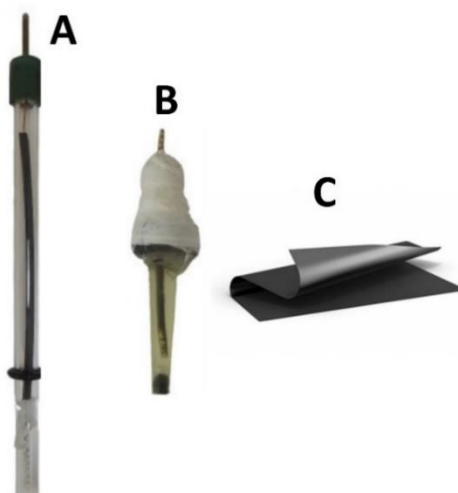


Fonte: (SILVA *et al.*, 2019)

4.2.2 Eletrodos

Nesse trabalho, três eletrodos diferentes foram utilizados, Ag/AgCl (KCl_{sat}) como eletrodo de referência, fio de platina imobilizado em um vidro como eletrodo auxiliar e GS como eletrodo de trabalho. A GS (EYG-S121803) foi obtida da Panasonic-Mouser Electronics (Mansfield, Texas) com espessura de 0,025 mm. A Figura 14 apresenta as imagens dos eletrodos utilizados.

Figura 14 – Eletrodos utilizados neste trabalho: (A) eletrodo auxiliar (fio de platina, conectado a um fio de cobre no interior de um tubo de vidro), (B) eletrodo de referência (Ag/AgCl (KCl saturado)) e (C) eletrodo de trabalho (folha de grafite).



Fonte: A autora (2022).

4.2.3 Medidas eletroquímicas

As medidas voltamétricas, foram realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato μ Autolab Type III (Eco Chemie, Utrecht, Holanda). O controle do equipamento e a aquisição de dados foi realizada via software NOVA 1.11.

4.2.4 Microscopia eletrônica de varredura

As superfícies dos substratos modificados foram avaliadas por Microscopia eletrônica de varredura (MEV) usando um microscópio TESCAN Vega 3, com voltagem de aceleração de 5 kV, controlado pelo software Vega TC. As distâncias de trabalho foram ajustadas entre 8 e 15 mm. As amostras foram previamente submetidas a metalização com ouro.

4.2.5 Microscopia de força atômica

As análises por microscopia de força atômica (AFM, do inglês *atomic force microscopy*) dos eletrodos modificados foram realizadas equipamento Shimadzu SPM-9600 (Kyoto, Japão). As imagens de AFM foram capturadas usando ponteiros de Si com um raio de curvatura inferior a 10 nm e uma força constante de mola de 40 Nm⁻¹ e frequência de 300 kHz.

4.2.6 Espectroscopia Raman

O ensaio foi realizado em um espectrofotômetro Horiba Scientific, LabRAM HR Evolution (Kyoto, Japão), com um laser de He-Ne 633 nm, controlado pelo software LabSpec 6. Os espectros foram adquiridos na faixa de 80 a 3500 cm⁻¹ e em três diferentes pontos da amostra.

4.3 ELETROPOLIMERIZAÇÃO DE FENOTIAZINAS EM GS

Filmes de polifenotiazinas foram crescidos nas folhas de grafite (1 x 1 cm) utilizando ciclagens de potenciais na presença do monômero correspondente.

4.3.1 Eletropolimerização de azul de metileno

O azul de metileno foi eletropolimerizado por ciclagem de potencial em uma solução $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do monômero dissolvido em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2). Para isso, foram realizados 20 ciclos de potenciais a 100 mV s^{-1} (XIAO *et al.*, 2011). O limite de potencial negativo para a preparação do filme polimérico foi estabelecido em $-1,0 \text{ V}$. Os seguintes limites de potencial positivo para a preparação do filme polimérico foram investigados: $+1,0$, $+1,1$ e $+1,2 \text{ V}$. Após a eletropolimerização, o eletrodo foi enxaguado com água deionizada e então submetido a cinco ciclos de potenciais ($-1,0$ a $+1,2 \text{ V}$) a 50 mV s^{-1} em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,2) para remover o MB monomérico não reagido.

4.3.2 Eletropolimerização de azul de toluidina

O TB foi eletropolimerizado por ciclagem de potencial em uma solução $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ do monômero dissolvido em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2) (DAI *et al.*, 2016; RIBEIRO *et al.*, 2018). Vinte ciclos de potenciais a 100 mV s^{-1} foram realizados para deposição do filme. O intervalo de potencial de $-1,0$ a $+1,2 \text{ V}$ foi mantido baseado na melhor condição obtida na Parte 1 da tese. Após a eletropolimerização, o eletrodo foi enxaguado com água deionizada e então submetido a cinco ciclos de potenciais ($-1,0$ a $+1,2 \text{ V}$) a 50 mV s^{-1} em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ dos seguintes eletrólitos: ácido clorídrico, tampão acetato (pH 5,3), tampão fosfato (pH 7,2), tampão borato (pH 9,0) e hidróxido de potássio.

4.4 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DAS TÉCNICAS DE DPV E SWV

Para a determinação de nitrofurantoína, a DPV foi utilizada, e investigou-se os seguintes parâmetros: tempo de agitação, amplitude de modulação, tempo de modulação e incremento de potencial. Para a determinação de triptamina, a SWV foi utilizada, e os seguintes parâmetros foram otimizados: tempo de agitação, frequência de aplicação do pulso de potencial, amplitude de pulso de potencial e incremento de potencial. Os mesmos parâmetros da SWV também foram otimizados para procaína e lidocaína. Os voltamogramas obtidos tiveram a linha de base tratada com a ferramenta “moving average” para melhor visualização dos picos.

4.5 PREPARO DE AMOSTRAS

4.5.1 Amostras de urina

Amostras de urina foram disponibilizadas por um voluntário saudável do laboratório. Em seguida, concentrações conhecidas de NFT (100, 200, e 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foram dissolvidas nas amostras de urina usando um banho sonicador por 30 min. 1,0 mL de urina enriquecida com NFT foi diluído com 9,0 mL de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,2). A quantificação foi realizada usando o método de calibração externa.

4.5.2 Amostras de água

Amostras de água foram coletadas diretamente da torneira. Em seguida, concentrações conhecidas de NFT (50, 100, e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foram dissolvidas na amostra de água usando um banho sonicador por 30 min. 1 mL da amostra de água enriquecida com NFT foi diluído com 9,0 mL de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,2). A quantificação foi realizada usando o método de calibração externa.

4.5.3 Amostras de queijo

Todas as amostras de queijo analisadas no presente trabalho foram adquiridas no comércio local. Três diferentes amostras de queijo foram analisadas, sendo eles: muçarela, parmesão e queijo prato. O procedimento para o preparo de amostras de queijo foi adaptado de Kvasnicka *et al.* (KVASNIČKA; VOLDŘICH, 2006). Dessa forma, 5,0 mL de ácido clorídrico 0,1 mol L^{-1} foram adicionados a um béquer contendo 0,25 g de queijo macerado. Em seguida, a mistura foi levada ao sonicador por 30 min, centrifugada e posteriormente filtrada utilizando um papel filtro qualitativo. O material filtrado foi transferido para um balão de 25,0 mL e o volume foi completado com tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,3). 2,0 mL de amostra foram diluídos com 8,0 mL de tampão acetato 0,1 mol L^{-1} e analisadas usando o método de adição de padrão. Também foram analisadas amostras fortificadas com TRYP, sendo adicionada uma concentração conhecida de triptamina na etapa de sonicação da amostra.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira parte serão apresentados e discutidos os resultados referentes à eletropolimerização de MB em GS e aplicação de um método desenvolvido para a determinação de NFT em amostras de urina e água, além da caracterização morfológica e estrutural do material obtido. Na segunda parte da tese, serão discutidos os resultados obtidos no estudo da eletropolimerização de TB em GS, investigação do comportamento eletroquímico de TRYP em GS/PTB e o método desenvolvido para a determinação de TRYP em amostras de queijo, além da caracterização morfológica e estrutural do material desenvolvido.

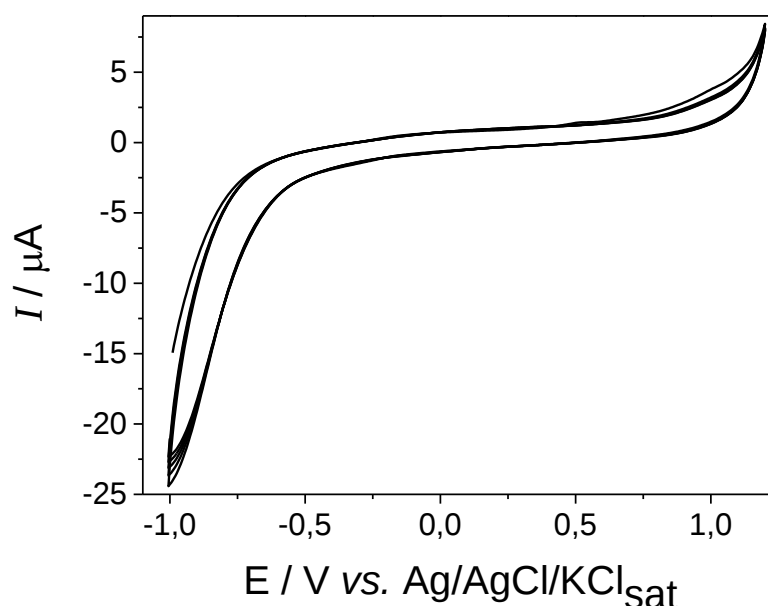
5.1 AVALIAÇÃO DO ELETRODO GS/PMB PARA ANÁLISE DE NFT EM AMOSTRAS DE URINA E ÁGUA

5.1.1 Estudo da eletropolimerização de azul de metileno em GS

Inúmeros trabalhos descreveram a eletropolimerização de corantes fenotiazínicos em soluções aquosas neutras (RIBEIRO *et al.*, 2018; TIWARI; PATRA; TURNER, 2015; XIAO *et al.*, 2011). Portanto, o eletrólito de suporte tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2) foi selecionado, levando em consideração os trabalhos descritos na literatura.

Com o objetivo de comparar o comportamento eletroquímico das folhas de grafite antes e após a etapa de eletropolimerização, ciclos de potenciais foram realizados em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2) e os resultados são apresentados na Figura 15.

Figura 15 – Cinco ciclos de potenciais para GS em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2), velocidade de varredura 100 mV s⁻¹ e intervalo de potencial -1,0 a +1,2 V.



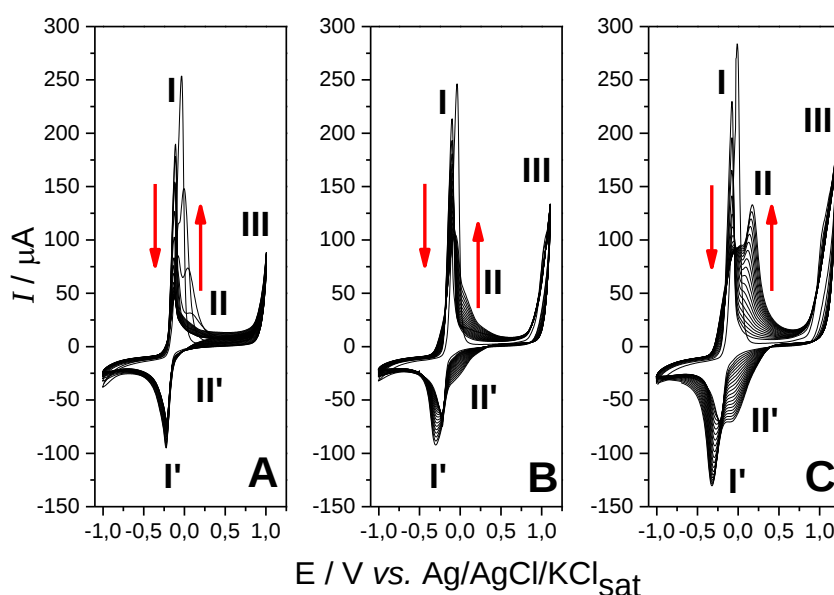
Fonte: A autora (2022).

Como pode ser observado na Figura 15, os voltamogramas cíclicos obtidos exibem uma baixa corrente de fundo. Além disso, nenhum evento decorrente do meio reacional foi observado, já que não houve presença de picos voltamétricos. É importante destacar que nenhuma etapa de condicionamento, polimento ou etapa de

limpeza foi realizada antes da modificação. O voltamograma apresentado na Figura 15 foi utilizado apenas para comparação dos eletrodos, antes e após a modificação.

A formação do filme de PMB foi realizada por sucessivas ciclagens de potenciais em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de MB. Nessa etapa, foi avaliado o efeito do potencial de inversão na eletropolimerização do MB. O intervalo de potencial, principalmente o potencial de inversão positivo, é um dos fatores mais importantes para o sucesso do processo de eletropolimerização (DILGIN *et al.*, 2011). A Figura 16 mostra os voltamogramas cíclicos registrados durante a eletropolimerização de MB usando $+1,0$ (Figura 16A), $+1,1 \text{ V}$ (Figura 16B) e $+1,2 \text{ V}$ (Figura 16C) como potencial de inversão.

Figura 16 – Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados durante a eletropolimerização de MB para 20 ciclos de potenciais a 100 mV s^{-1} em uma solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de MB; potencial de inversão de $+1,0 \text{ V}$ (A) $+1,1 \text{ V}$ (B) e $+1,2 \text{ V}$ (C).

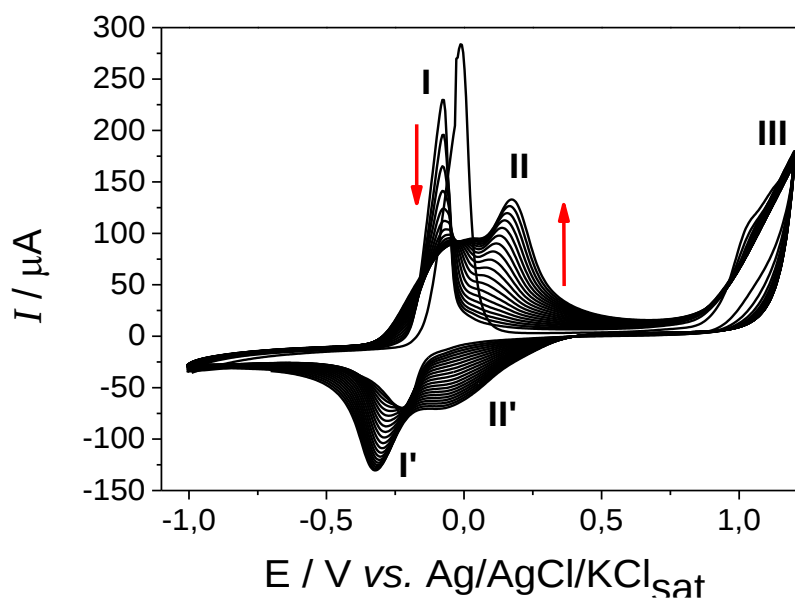


Fonte: A autora (2022).

A Figura 16 mostra que dois pares de picos (I/I' , II/II') aparecem, independentemente do potencial de inversão. A intensidade e a posição desses picos, no entanto, foram significativamente afetadas por esse parâmetro. O par I/I' é atribuído aos processos redox do monômero MB, cuja eletropolimerização é iniciada com a adsorção do monômero na superfície do eletrodo (PANDEY; BAIRAGI; VERMA, 2018). Após este estágio inicial, os radicais catiônicos produzidos (III) propagam a eletropolimerização (MANASA *et al.*, 2017), que ocorre mais rapidamente em

potenciais mais positivos (GORLE; KULANDAINATHAN, 2016). Durante os experimentos de eletropolimerização, a intensidade do par I/I' diminuiu continuamente, enquanto o par II/II', que é atribuído ao PMB, (MANASA *et al.*, 2017) aumentou. Observa-se ainda que as correntes anódicas na região III e o par II/II' atribuído ao PMB aumentaram com o aumento do potencial de inversão. Na Figura 17 (eletropolimerização até +1,2 V) pode-se observar esse comportamento de forma mais evidente (seta vermelha). Este perfil voltamétrico concorda com outros resultados da literatura e indica que está ocorrendo a eletrodeposição do filme polimérico na superfície do eletrodo (GHOLIVAND; AHMADI; HASELI, 2017; MANASA *et al.*, 2017)

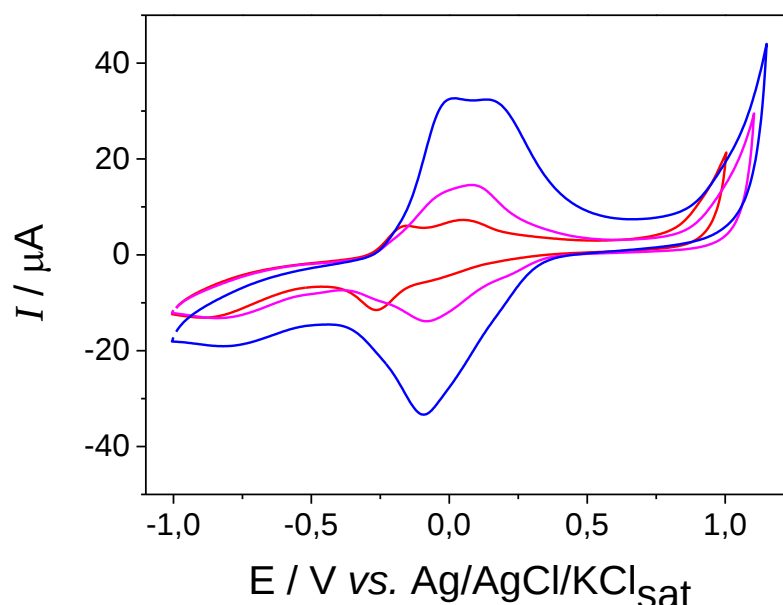
Figura 17 – Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados durante a eletropolimerização do MB para 20 ciclos de potenciais a 100 mV s^{-1} em uma solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de MB, faixa de potencial de -1,0 a +1,2 V.



Fonte: A autora (2022).

A Figura 18 mostra os voltamogramas obtidos após o enxágue dos eletrodos preparados nas diferentes condições.

Figura 18 – 5º voltamograma cíclico registrado em 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato a 50 mV s⁻¹, para os GS/PMB preparados nos diferentes potenciais de inversão: +1,0 V (curva vermelha), +1,1 V (curva rosa) e +1,2 V (curva azul), após etapa de enxágue com água deionizada.

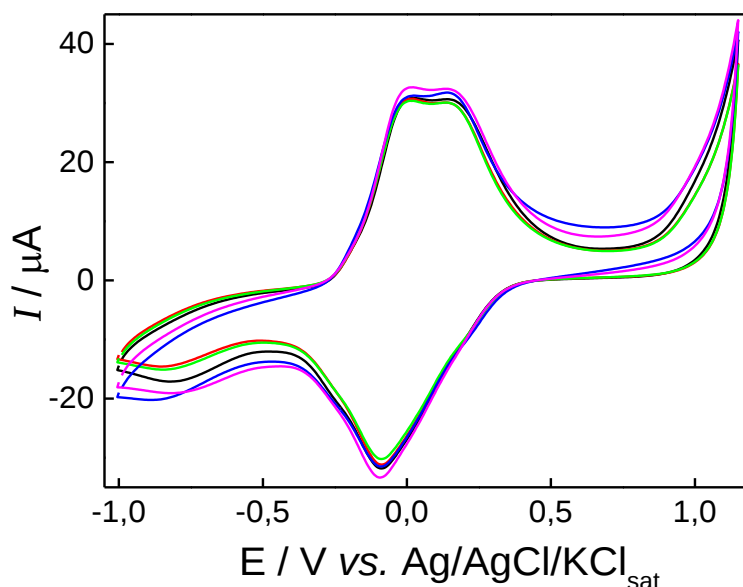


Fonte: A autora (2022).

Na Figura 18 foi possível observar que uma maior quantidade de material eletroativo foi depositada na superfície do eletrodo quando +1,2 V é usado como potencial de inversão. Essas observações concordam com estudos anteriores (KAPLAN; DAĞCI; ALANYALIOĞLU, 2010; KOYUN; SAHIN, 2018; XIAO *et al.*, 2011) e mostram que o potencial de inversão afeta fortemente a eletropolimerização do MB. Usando +1,2 V como potencial de inversão, o filme polimérico foi detectado visualmente pelo aparecimento de uma coloração esverdeada na superfície do eletrodo. Liu *et al.* (LIU; MU, 1999) obtiveram resultado semelhante ao eletropolimerizar MB em eletrodos de Pt.

A reprodutibilidade na modificação dos eletrodos é um critério importante para aplicação em eletroanálise. A Figura 19 mostra cinco eletrodos produzidos independentemente utilizando +1,2 V como potencial de inversão.

Figura 19 – 5º voltamograma cíclico registrado para cinco eletrodos GS/PMB preparados independentemente usando +1,2 V como potencial de inversão em 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,2) a 50 mV s⁻¹.



Fonte: A autora (2022).

Observa-se na Figura 19 que a condição de +1,2 V como potencial de inversão proporcionou filmes de PMB satisfatoriamente reproduzíveis, uma vez que o desvio padrão relativo para as correntes de pico obtidas para cinco eletrodos preparados independentemente foi de 2,0 %. A fabricação dos eletrodos GS/PMB se mostrou reproduzível mesmo sem nenhuma etapa de limpeza, condicionamento ou polimento, o que reflete em um menor tempo de modificação ou análise. Portanto, o uso de GS como substrato confere vantagens em relação a outros eletrodos como GCE (DAI *et al.*, 2016; GIRIBABU *et al.*, 2013; SUN *et al.*, 2021), onde etapas de limpeza ou polimento foram realizados antes da etapa de eletropolimerização. Outra vantagem oferecida pelas folhas de grafite em relação ao GCE é o custo de cada material. Uma folha de grafite é vendida por aproximadamente US\$ 28,92 e origina aproximadamente 200 eletrodos com dimensões de 1 x 1 cm. Portanto, o preço de custo de um eletrodo (1 x 1 cm) é próximo a US\$ 0,14. Por outro lado, o GCE pode ser encontrado por custos de até US\$ 900,0.

5.1.2 Cobertura superficial e a espessura do filme de PMB

Como foi discutido anteriormente, os perfis voltamétricos levam a concluir que a quantidade de polímero depositado na superfície do eletrodo foi maior quando a ciclagem foi conduzida usando potenciais de inversão mais positivos. O recobrimento superficial (Γ) e a espessura do filme (d) de PMB em GS foram estimados, de acordo com o procedimento descrito por Marinho *et al.* (MARINHO; CABRAL; MAZO, 2012). Os valores de Γ foram estimados a partir da Equação (1).

$$\Gamma = Q/nFA \quad \text{Equação (1)}$$

em que Q é a carga voltamétrica, n é o número de elétrons ($n = 2$ (MARINHO; CABRAL; MAZO, 2012)), F é a constante de Faraday e A é a área geométrica do eletrodo ($A = 0,22 \text{ cm}^2$). A espessura do filme foi calculada pela Equação (2).

$$d = v \times \Gamma \quad \text{Equação (2)}$$

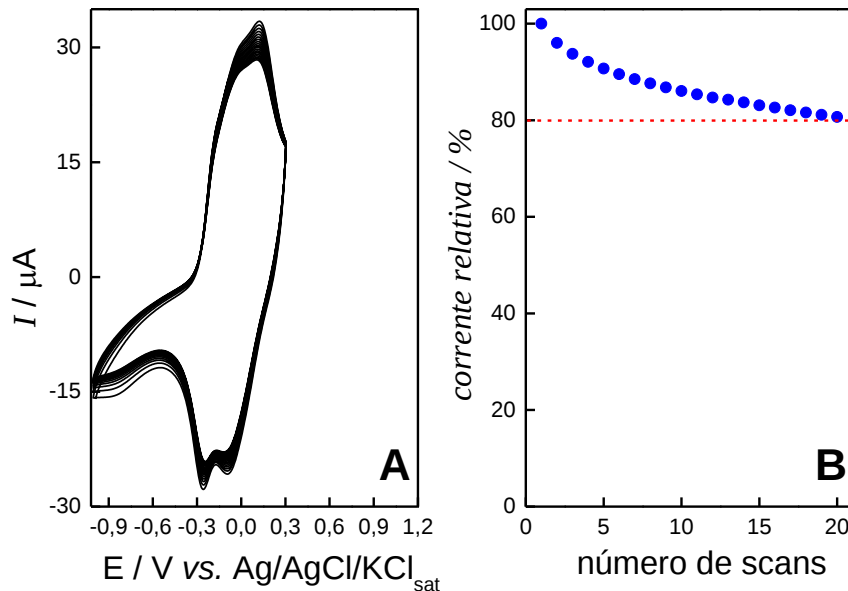
em que v é o volume molecular do MB ($v = 400 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ (MARINHO; CABRAL; MAZO, 2012)).

Seguindo este procedimento, valores de Γ de 1,5, 2,8, e 6,3 nmol cm⁻², e valores de d de 6, 11, e 25 nm foram obtidos para potenciais de inversão de +1,0, +1,1, e +1,2 V, respectivamente. Marinho *et al.* (MARINHO; CABRAL; MAZO, 2012) obtiveram filmes de PMB em eletrodos de carbono vítreo usando condições experimentais semelhantes às da Figura 17. Os autores relataram a formação de um filme de 32 nm de espessura. Este valor concorda bem com a espessura que observamos (25 nm), indicando que o GS é um substrato tão eficiente quanto GCE para a eletropolimerização de MB nestas condições. Pode-se concluir que o potencial de inversão de +1,2 V proporcionou a maior quantidade de PMB imobilizado na superfície de GS.

5.1.3 Estabilidade do filme de GS/PMB

Embora a eletropolimerização de fenotiazinas possa ocorrer diretamente na superfície do eletrodo, às vezes é difícil formar filmes poliméricos com boa estabilidade e preenchimento de espaços devido à má adesão entre a fase de crescimento e superfícies metálicas, o que inibe a nucleação e o crescimento do filme ao longo do substrato (RIBEIRO *et al.*, 2018). Porém, para substratos grafíticos foi sugerido que devido à estrutura aromática planar, o corante fenotiazínico se ancora fortemente à superfície da grafite através de interações eletrostáticas π - π (ERÇARIKCI *et al.*, 2014; MANASA *et al.*, 2017). Para avaliar a adesão e estabilidade do filme dois intervalos de potenciais foram utilizados: -1,0 a +0,3 V e -1,0 a +1,2 V. Foram realizados 20 ciclos de potenciais para esses intervalos e os resultados são apresentados na Figura 20 e 21, respectivamente.

Figura 20 – (A) 20 ciclos de potenciais para GS/PMB em uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2) após o processo de eletropolimerização, velocidade de varredura 50 mV s⁻¹ e intervalo de potencial -1,0 a +0,3 V. (B) Diminuição da corrente relativa versus o número de ciclos.

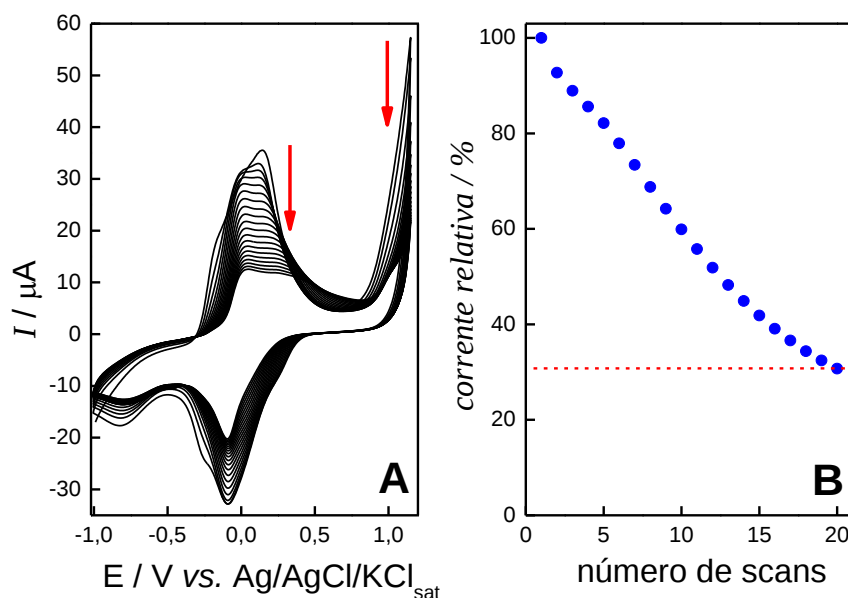


Fonte: A autora (2022).

O filme de PMB aplicado nessa condição experimental (-1,0 a +0,3 V) foi satisfatoriamente estável, pois manteve quase 80% de sua corrente inicial após 20 ciclos de potenciais (Figura 20). A fim de comparação realizou-se 20 ciclos de

potenciais no intervalo de potencial de -1,0 a +1,2 V e o resultado é apresentado na Figura 21.

Figura 21 – (A) 20 ciclos de potenciais para GS/PMB em uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2) após o processo de eletropolimerização, velocidade de varredura 50 mV s⁻¹ e intervalo de potencial -1,0 a +1,2 V. (B) Diminuição da corrente relativa versus o número de ciclos.



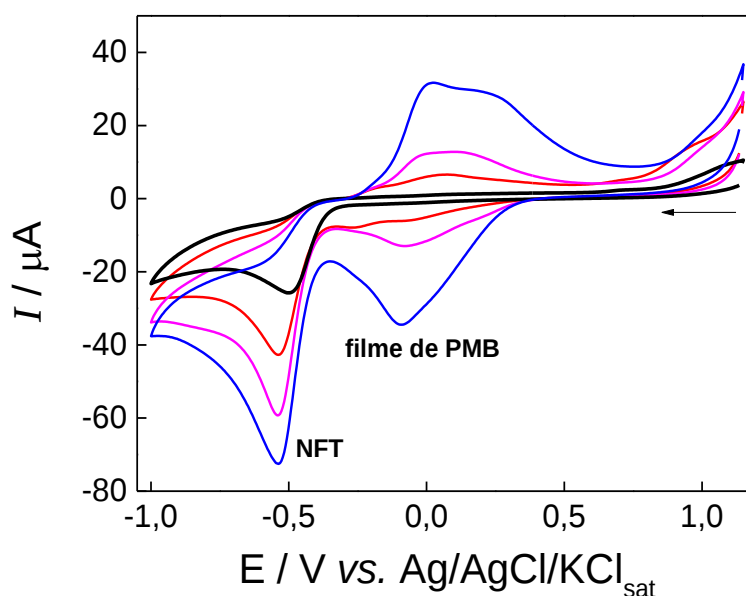
Fonte: A autora (2022).

Analisando a Figura 21, observa-se uma redução de 70% da corrente inicial após 20 ciclos de potenciais. Dilgin *et al.* (DILGIN *et al.*, 2011) discutiram que a eletropolimerização pode ser prejudicada devido à formação de O₂ em potenciais mais positivos do que +1,2 V (Ag/AgCl). Kaplan *et al.* (KAPLAN; DAĞCI; ALANYALIOĞLU, 2010) concluíram a partir de estudos por voltametria cíclica e AFM que a superoxidação do PMB em eletrodo de ouro começa após o potencial de preparação de +1,0 V (Ag/AgCl) e a nucleação do polímero é afetada por esse parâmetro. Além disso, processos de dopagem/desdopagem, hidratação/desidratação e protonação/desprotonação de sítios eletroativos em polímeros fenotiazínicos também foram relatados (AGRISUELAS *et al.*, 2011, 2017) e podem estar associados à alteração no perfil voltamétrico observado durante ciclagens sucessivas com potenciais de inversão mais positivos.

5.1.4 Resposta eletroquímica da nitrofurantoína em GS/PMB

Para avaliar os perfis voltamétricos, as respostas eletroquímicas e o desempenho de GS/PMB modificado nos diferentes potenciais de inversão, foram realizadas medidas de voltametria cíclica para uma solução de $250 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato. A Figura 22 apresenta os resultados obtidos.

Figura 22 – Voltamogramas cíclicos registrados a 50 mV s^{-1} em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,2) contendo $250 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT e intervalo de potencial de $+1,2$ a $-1,0 \text{ V}$. Os diferentes eletrodos foram testados: GS (curva preta) e GS/PMB preparados em potenciais de inversão de $+1,0 \text{ V}$ (curva vermelha), $+1,1 \text{ V}$ (curva rosa) e $+1,2 \text{ V}$ (curva azul).



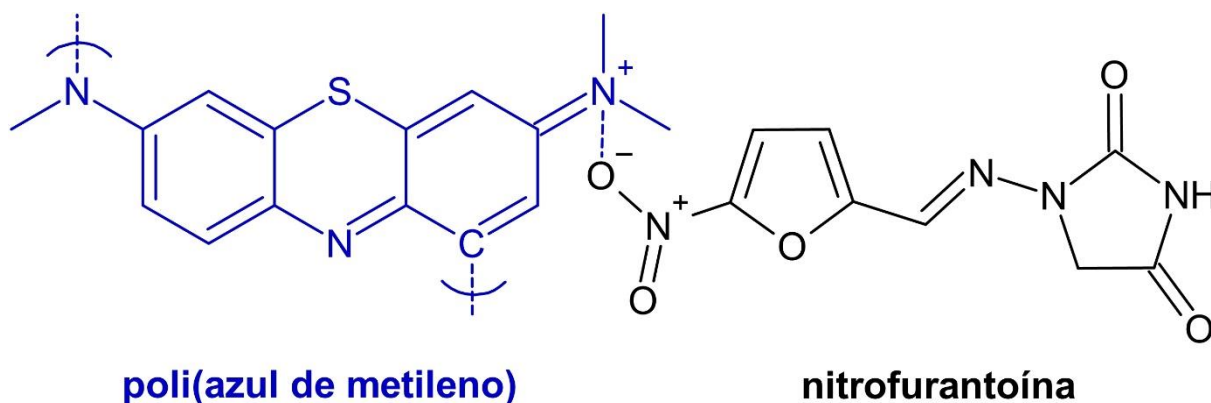
Fonte: A autora (2022).

Conforme mostrado na Figura 22, a redução eletroquímica de NFT dá origem a um pico catódico em $-0,50$ e $-0,53 \text{ V}$ nos eletrodos GS e GS/PMB, respectivamente. Observou-se que o filme PMB intensifica a resposta voltamétrica para NFT em relação ao eletrodo GS, independentemente do potencial de inversão utilizado durante a eletrodeposição do filme. A intensidade do pico voltamétrico para redução de NFT foi diretamente proporcional ao potencial de inversão, indicando que filmes mais espessos são mais ativos para promover a redução eletroquímica de NFT.

Assim, o maior sinal voltamétrico foi obtido com GS/PMB preparado com potencial de inversão de $+1,2 \text{ V}$, que proporcionou uma corrente de pico 2,8 vezes maior que a obtida apenas com GS. Com base nesses resultados, $+1,2 \text{ V}$ foi adotado como potencial de inversão nos experimentos subsequentes. Uma possível

explicação para este incremento de corrente é através da adsorção iônica da NFT no filme PMB (GIRIBABU *et al.*, 2013), conforme ilustrado na Figura 23. A interação eletrostática entre átomos de N (carregados positivamente) no filme de PMB e grupos nitro da NFT pode aumentar a concentração da molécula na superfície do eletrodo, aumentando a resposta voltamétrica.

Figura 23 – Possível interação de PMB com moléculas de NFT.



Fonte: A autora (2022).

Dilgin *et al.* (DILGIN *et al.*, 2011) também estudaram o efeito do potencial de inversão positivo utilizado durante a eletropolimerização de MB para oxidação eletrocatalítica de NADH. Segundo os autores, a melhor corrente eletrocatalítica para oxidação do NADH foi obtida quando o potencial de inversão positivo foi escolhido como +1,2 V durante a eletropolimerização. Entretanto, menores correntes relacionadas ao PMB foram observadas, comparadas as obtidas nesse estudo. Vale ressaltar que parâmetros como número de ciclos (10), concentração do monômero (0,05 mmol L⁻¹) e eletrólito de suporte (0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato contendo 0,1 mol L⁻¹ de NaNO₃, pH 5,0), foram distintos dos parâmetros utilizados nesse estudo. Portanto, o ajuste dos parâmetros torna-se necessário para cada analito de interesse.

5.1.5 Avaliação do eletrodo GS/PMB em voltametria de pulso diferencial para determinação de NFT

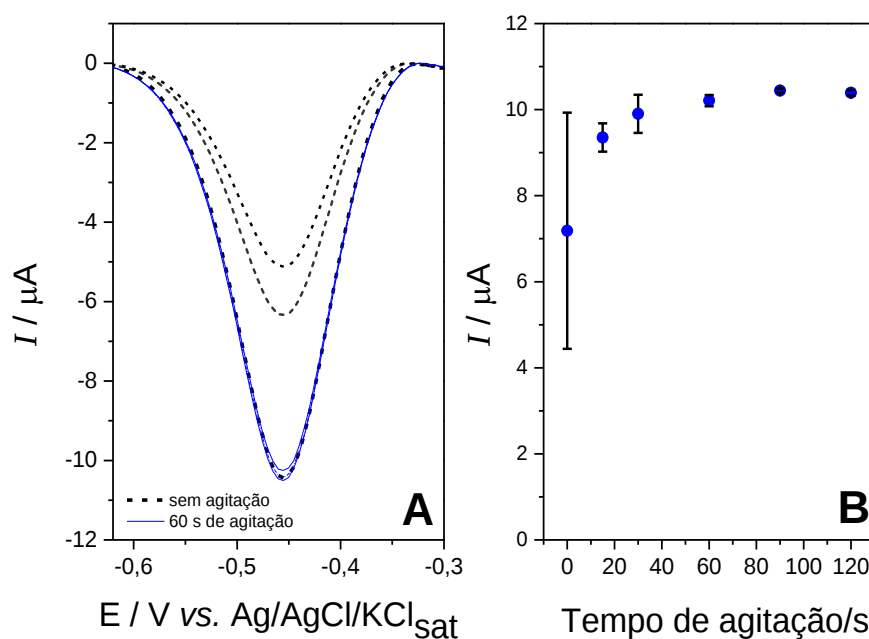
Após a realização dos estudos iniciais por voltametria cíclica, a técnica de DPV foi utilizada para a quantificação de NFT. Em estudos apresentados na literatura, a DPV também foi usada para a quantificação de NFT (AYDOĞDU *et al.*, 2014; HWA; SHARMA, 2020; VINOTH KUMAR *et al.*, 2018). Comparado à voltametria cíclica, a

DPV apresenta maior sensibilidade e melhor resolução, além de melhor discriminação entre correntes faradaicas e capacitivas (VINOTH KUMAR *et al.*, 2018).

O tempo de agitação e os parâmetros da técnica de DPV foram otimizados para obtenção da melhor resposta em termos de intensidade da corrente de pico e largura do pico à meia altura. A otimização foi realizada em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ contendo 50 µmol L⁻¹ de NFT.

Inicialmente, avaliou-se o efeito do tempo de agitação em condições de potencial de circuito aberto, visando pré-concentrar o analito na superfície do eletrodo. Os resultados obtidos no estudo do tempo de agitação são apresentados na Figura 24.

Figura 24 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos sem (curva preta) e com (curva azul) uma etapa de agitação prévia em 50 µmol L⁻¹ de NFT. (B) Relação entre corrente de pico e tempo de agitação (n = 3). Eletrólito de suporte: tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2), $\alpha = 50$ mV, $t_m = 50$ ms, $\Delta E = 5$ mV;



Fonte: A autora (2022).

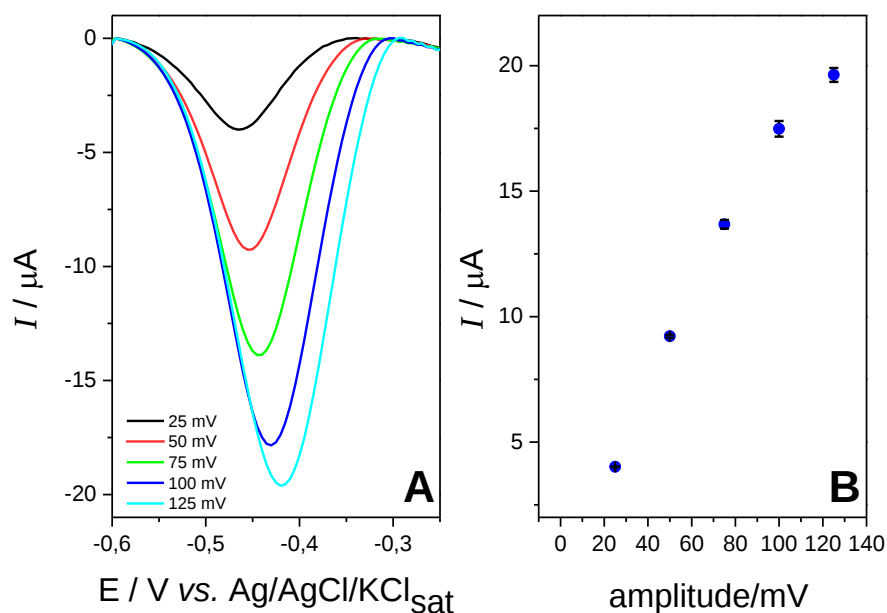
A Figura 24A mostra que a intensidade do pico voltamétrico da NFT é menor quando as medidas são realizadas sem a etapa prévia de agitação. Verificou-se também que o sinal voltamétrico da NFT aumenta até 60 s de agitação mecânica, tendendo a se estabilizar para maiores tempos de agitação. Entende-se que nesta etapa há uma pré-concentração do analito na superfície do eletrodo. Portanto, uma etapa de 60 s de pré-concentração sob agitação mecânica em potencial de circuito

aberto foi mantida em todos os estudos posteriores. A próxima etapa do estudo envolveu a otimização dos parâmetros operacionais da técnica de DPV, sendo otimizados os seguintes parâmetros: amplitude de modulação (a), tempo de modulação (t_m) e incremento de potencial (ΔE).

5.1.5.1 Otimização da amplitude de modulação

A Figura 25 mostra o efeito da variação da amplitude de modulação no intervalo de 25 a 125 mV para uma solução contendo $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT, sendo o tempo de modulação fixado em 50 ms e o incremento de potencial em 5 mV.

Figura 25 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para solução de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT com variação da amplitude de modulação. (B) Relação entre corrente de pico e tempo de agitação ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $t_m = 50 \text{ ms}$, $\Delta E = 5 \text{ mV}$, 60 s de agitação.



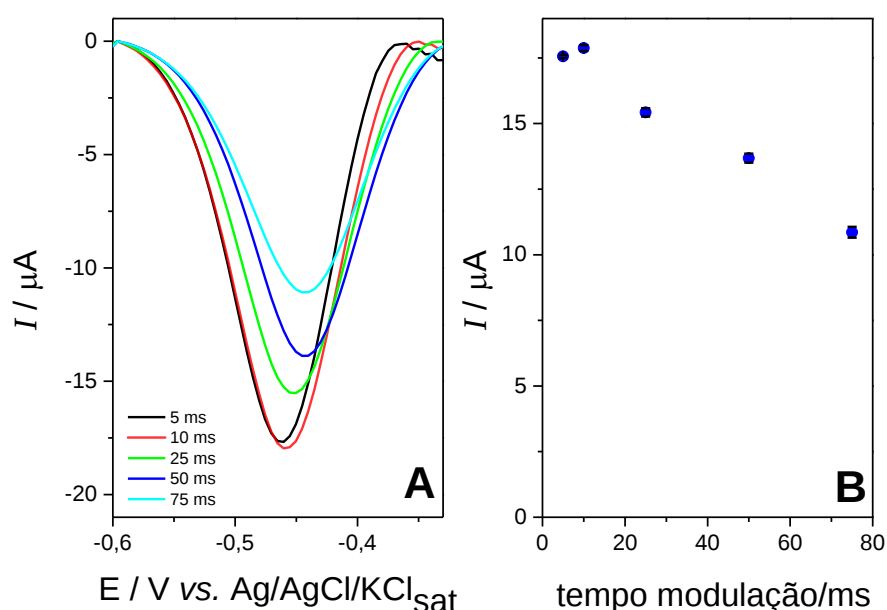
Fonte: A autora (2022).

A Figura 25 mostra que o aumento da amplitude de modulação provoca o aumento da corrente de pico de NFT. Entretanto, amplitudes de pulso maiores do que 75 mV causaram um aumento significativo da largura do pico voltamétrico e uma maior dispersão nos valores de corrente de pico. Com base nestes resultados, a amplitude de pulso de 75 mV foi escolhida para os estudos posteriores.

5.1.5.2 Otimização do tempo de modulação

A Figura 26 apresenta a variação da corrente de pico em função do tempo de modulação no intervalo de 5 a 75 ms para uma solução contendo $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT. Neste estudo, a amplitude de modulação foi fixada em 75 mV e o incremento de potencial em 5 mV.

Figura 26 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para solução de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT com variação do tempo de modulação. (B) Relação entre corrente de pico e tempo de modulação ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $\alpha = 75 \text{ mV}$, $\Delta E = 5 \text{ mV}$, 60 s de agitação.



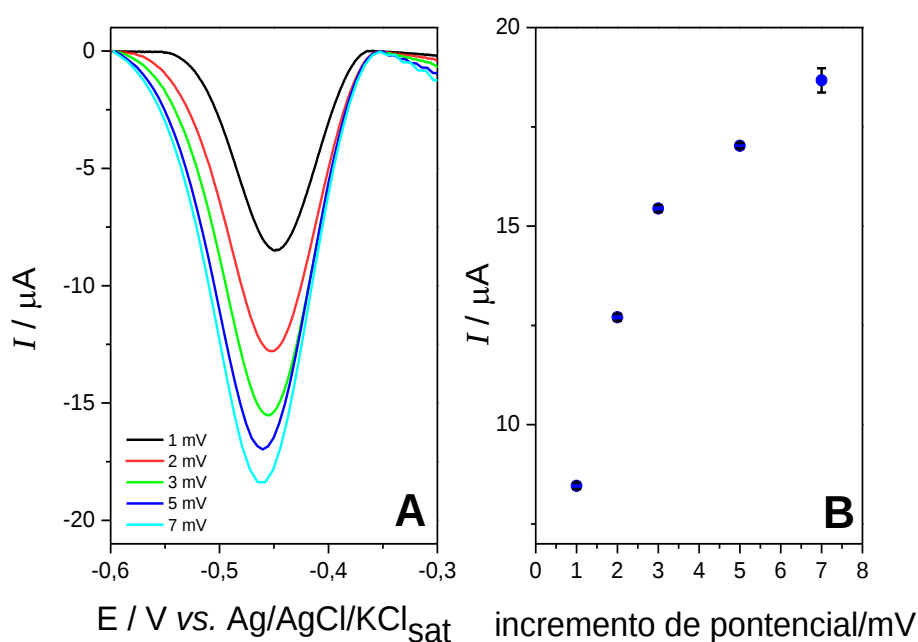
Fonte: A autora (2022).

A Figura 26 mostra uma diminuição da intensidade da corrente de pico, com o aumento do tempo de modulação. Quando maiores tempos de pulso são usados, a corrente é amostrada tendo decorrido maior tempo desde a aplicação do pulso, uma vez que a corrente faradaica decai exponencialmente com o tempo, maiores tempos de pulso originam menores valores de corrente de pico. Entretanto, em tempos de modulação menores, a corrente é medida em um pequeno intervalo de tempo após a aplicação do pulso, onde ainda existe grande contribuição da corrente capacitiva na corrente total medida (WANG, 2006). Portanto, para esse parâmetro, escolheu-se um tempo de modulação de 10 ms.

5.1.5.3 Otimização do incremento de potencial

A Figura 27 apresenta os voltamogramas obtidos para solução contendo 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT com a variação do incremento de potencial de 1 a 7 mV, sendo a amplitude de modulação fixada em 75 mV e o tempo de modulação em 10 ms.

Figura 27 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para solução de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT com variação do incremento de potencial. (B) Relação entre corrente de pico e incremento de potencial ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,2), $a = 75 \text{ mV}$, $t_m = 10 \text{ ms}$, 60 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

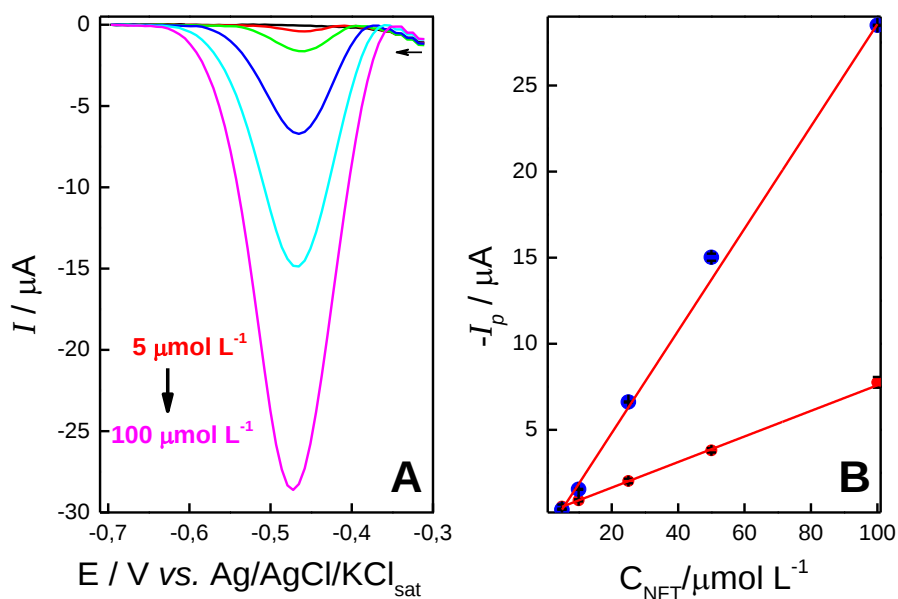
A Figura 27 mostra que o aumento do incremento de potencial resulta em um aumento na corrente de pico de NFT, como consequência do aumento da velocidade de varredura causado pelo aumento do incremento de varredura. Baseado nestes resultados, foi escolhido o valor de 7 mV, como incremento de potencial nos estudos subsequentes.

5.1.6 Curva de calibração para a NFT

Utilizando os parâmetros otimizados para a DPV (amplitude de modulação: 75 mV; tempo de modulação: 10 ms; incremento de potencial: 7 mV; tempo de agitação: 60 s), foram realizados estudos para a construção da curva de calibração

para determinação de NFT. A Figura 28 apresenta a curva de calibração obtida a partir dos voltamogramas obtidos.

Figura 28 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com eletrodos GS/PMB após sucessivas adições (5,0; 10,0; 25,0; 50,0 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de NFT ($n = 3$). (B) Curvas de calibração obtidas com GS (●) e GS/PMB (●). Eletrólito de suporte: tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,2), $\alpha = 75 \text{ mV}$, $t_m = 10 \text{ ms}$, $\Delta E = 7 \text{ mV}$, 60 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

Os resultados demonstraram um bom desempenho do eletrodo GS/PMB, com ampla faixa linear de 5 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2=0,9995$), e uma inclinação de 0,297 $\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados a partir das equações: $LD = 3 \times s_B/S$ e $LQ = 10 \times s_B/S$, sendo S a inclinação da curva analítica e s_B o desvio padrão do sinal do branco, estimado a partir do desvio padrão do intercepto da curva analítica (MILLER; MILLER, 2010). O limite de detecção e o limite de quantificação para GS/PMB foram de 55 e 185 nmol L^{-1} , respectivamente. A mesma faixa linear foi alcançada com GS sem modificação ($R^2=0,9992$); no entanto, a inclinação foi de 0,074 $\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de 247 nmol L^{-1} e limite de quantificação de 824 nmol L^{-1} . Assim, a modificação de GS com o filme PMB resultou em um aumento de quatro vezes na sensibilidade e menores limites de detecção. O desempenho analítico do eletrodo GS/PMB foi comparado com o desempenho de outros eletrodos descritos na literatura (Tabela 1).

Tabela 1 – Comparação da determinação eletroanalítica de NFT para diferentes eletrodos e métodos eletroanalíticos.

Eletrodo	Técnica	FL ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD (nmol L^{-1})	Referência
dsDNA/ PAMT/GCE	DPV	8,4-105,0	2730,0	(AYDOĞDU <i>et al.</i> , 2014)
m-AgSAE	DPV	0,2-100,0	81,0	(KREJČOVÁ; BAREK; VYSKOČIL, 2015)
BaSnO ₃ / GCE	DPV	0,01-42,65 42,65-557,65	62,0	(BALAMURUGAN <i>et al.</i> , 2021)
NiFe/ f-MWCNT	DPV	0,1-352,4	30,0	(HWA; SHARMA, 2020)
CNF-SPE	FIA- LSV	0,08-0,32	16,0	(SALGADO-FIGUEROA <i>et al.</i> , 2013)
Nd ₂ Mo ₃ O ₉ / SPCE	DPV	0,1-21,0 28,0-481,0	16,0	(VINOTH KUMAR <i>et al.</i> , 2018)
f-CNF/CB/ GCE	amperometria	0,05-104,66	16,0	(HAIDYRAH <i>et al.</i> , 2021)
NiO/BCN/ GCE	amperometria	0,05-230,0	10,0	(KOKULNATHAN; WANG, 2019)
ZnCo ₂ O ₄ / GCE	DPV	0,2-815,69	13,0	(KOVENTHAN <i>et al.</i> , 2020)
BDD	SWV	0,497-5,66	8,15	(DE LIMA-NETO <i>et al.</i> , 2010)
ErGO- CNT/GCE	amperometria	0,005-2,81	1,87	(KUMMARI; SUNIL KUMAR; VENGATAJALABATH Y GOBI, 2020)
GS/PMB	DPV	5,0-100,0	55,0	Este estudo

Fonte: A autora (2022).

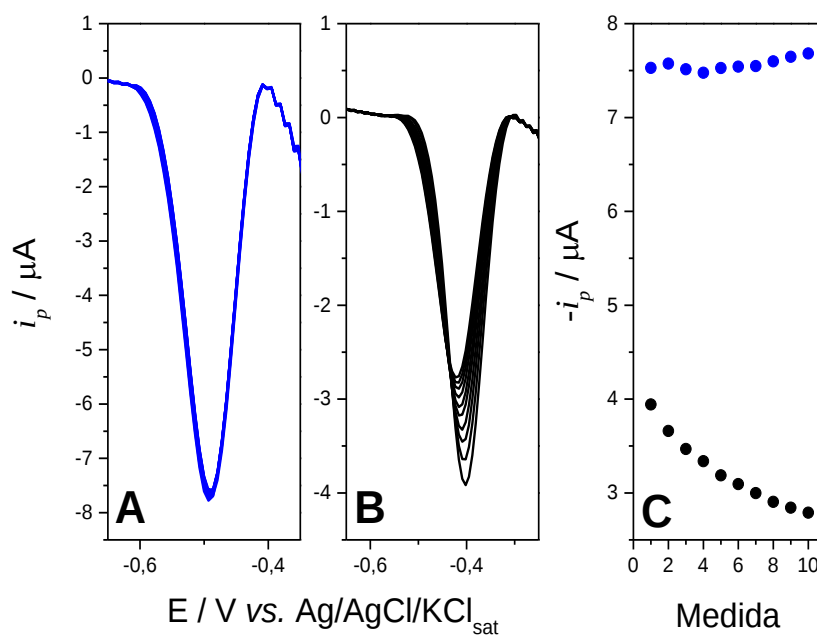
Comparando o valor de *LD* obtido nesse estudo (55 nmol L^{-1}) com os de outros métodos eletroanalíticos para determinação de NFT, encontramos valores superiores (2730 nmol L^{-1}) para um biossensor eletroquímico baseado em DNA (AYDOĞDU *et al.*, 2014), para um eletrodo sólido de amálgama de prata com menisco de mercúrio (81 nmol L^{-1}) (KREJČOVÁ; BAREK; VYSKOČIL, 2015) e estanato de bário imobilizado em carbono vítreo (62 nmol L^{-1}) (BALAMURUGAN *et al.*, 2021). Por outro lado, alguns métodos atingiram um *LD* mais baixo com diferentes eletrodos de trabalho, como GCE modificado com nanocompósito de óxido de grafeno reduzido e MWCNT (1,87 nmol

L⁻¹) (KUMMARI; SUNIL KUMAR; VENGATAJALABATHY GOBI, 2020), BDD (8,15 nmol L⁻¹) (DE LIMA-NETO *et al.*, 2010), nanocompósito de óxido de níquel e nitreto de carbono dopado com boro (10 nmol L⁻¹) (KOKULNATHAN; WANG, 2019), nanofolhas de cobaltato de zinco (13 nmol L⁻¹) (KOVENTHAN *et al.*, 2020), eletrodo impresso de nanofibras de carbono (16 nmol L⁻¹) (SALGADO-FIGUEROA *et al.*, 2013), molibdato de neodímio (16 nmol L⁻¹) (VINOTH KUMAR *et al.*, 2018), compósito de nanofibras de carbono funcionalizadas e negro de fumo (16 nmol L⁻¹) (HAIDYRAH *et al.*, 2021) e nanoesferas de NiFe ancoradas em MWCNTs (30 nmol L⁻¹) (HWA; SHARMA, 2020). Entretanto, para eletrodo BDD, observou-se uma menor faixa linear, que pode comprometer a aplicabilidade do sensor. Uma menor faixa linear também foi observada para o eletrodo impresso de nanofibras de carbono e GCE modificado com nanocompósito de óxido de grafeno reduzido e MWCNT. É importante destacar também que os menores *LDs* relatados anteriormente estão associados a eletrodos que dependem de procedimentos de modificação demorados, incluem síntese de materiais sofisticados ou uso de produtos químicos caros. Por outro lado, o eletrodo GS/PMB, desenvolvido nesse estudo, apresenta baixo custo, e envolve um procedimento de modificação rápido e reproduzível. Portanto, a simplicidade, o baixo custo e a possibilidade de projetar os eletrodos GS/PMB como um sensor eletroquímico descartável são os principais avanços proporcionados por este trabalho.

5.1.7 Repetibilidade, reprodutibilidade e estabilidade de GS/PMB

Após definir a faixa linear para determinação de NFT, estudos de repetibilidade, reprodutibilidade e estabilidade foram realizados. A repetibilidade da resposta voltamétrica da NFT (25 $\mu\text{mol L}^{-1}$) para GS e GS/PMB foi avaliada realizando dez medidas sucessivas de DPV (Figura 29).

Figura 29 – Voltamogramas de pulso diferencial registrados para uma solução de $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT ($n = 10$) com GS/PMB (A) GS (B) e (C) corrente vs. número da medida. Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $a = 75 \text{ mV}$, $t_m = 10 \text{ ms}$, $\Delta E = 7 \text{ mV}$, 60 s de agitação.

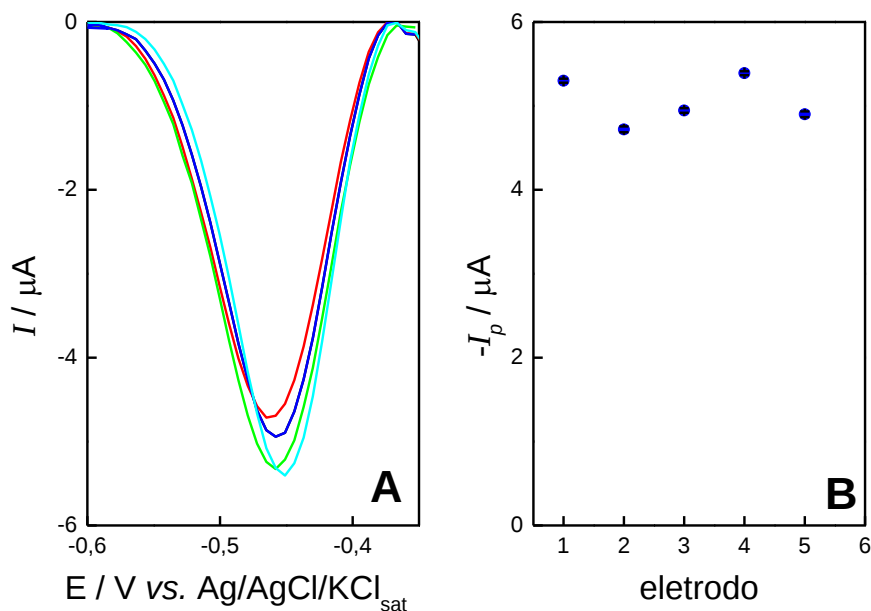


Fonte: A autora (2022).

Nota-se uma diminuição contínua nas correntes de pico de NFT para GS (Figura 29B), levando a um RSD de 12%, indicando que GS não apresentou resistência à contaminação da superfície durante a redução eletroquímica da NFT. Por outro lado, o eletrodo GS/PMB (Figura 29A) apresentou uma notável proteção contra envenenamento do eletrodo, com um RSD para as correntes de pico de NFT em torno de 1,0% ($n = 10$). Isso é altamente desejável, uma vez que a desativação do eletrodo dificulta a detecção mais sensível e a operação de longo prazo dos sensores eletroquímicos (JIANG; SANTIAGO; FOORD, 2021; KUMMARI; SUNIL KUMAR; VENGATAJALABATHY GOBI, 2020).

Para avaliar a reprodutibilidade entre eletrodos, cinco eletrodos GS/PMB foram fabricados independentemente e seus valores de corrente de pico para $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT foram registrados. Estes resultados são apresentados na Figura 30.

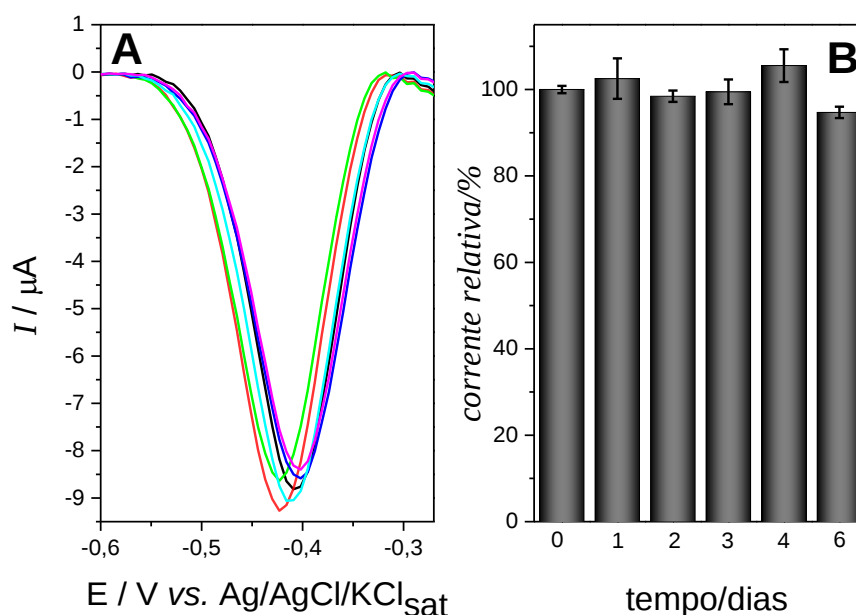
Figura 30 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados para uma solução de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT para cinco eletrodos fabricados independentemente. (B) Corrente vs. número do eletrodo ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $a = 75 \text{ mV}$, $t_m = 10 \text{ ms}$, $\Delta E = 7 \text{ mV}$, 60 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

Os resultados apresentados na Figura 30 indicam uma reprodutibilidade aceitável para o procedimento de fabricação com um RSD de 6,0%. A estabilidade do GS/PMB foi avaliada pela resposta de corrente de $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ da solução de NFT durante 6 dias. As curvas obtidas são apresentadas na Figura 31.

Figura 31 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados para $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT ($n = 3$) durante o estudo da estabilidade do eletrodo GS/PMB. (B) Resposta da corrente relativa vs. número de dias após a preparação do eletrodo. Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $\alpha = 75 \text{ mV}$, $t_m = 10 \text{ ms}$, $\Delta E = 7 \text{ mV}$, 60 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

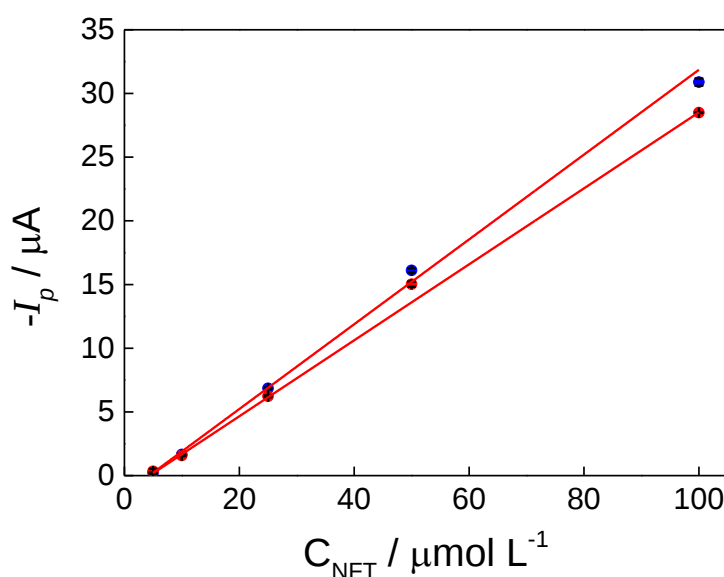
Por meio da Figura 31 pode ser observado que o sinal voltamétrico exibiu apenas uma pequena flutuação (variando de 94,7% a 105,5%) ao longo de 6 dias. Embora o sistema seja proposto para funcionar como eletrodo descartável, a estabilidade apresentada durante esse período é bastante vantajosa.

5.1.8 Determinação de NFT em amostra de urina e água

Para avaliar o desempenho do GS/PMB para a quantificação de NFT em amostras reais, estudos de adição e recuperação foram realizados em amostras de urina e de água de abastecimento enriquecidas com concentrações conhecidas de NFT. Para a amostra de urina, o objetivo foi simular as altas concentrações de NFT excretadas na urina. Entre 27-50% do fármaco é excretado na forma inalterada na urina (NOVELLI; ROSI, 2017) e os níveis encontrados após uma dose oral única de 100 mg de NFT variam entre 50-200 $\mu\text{g/mL}$ (ou 200-800 $\mu\text{mol L}^{-1}$) (GRAYSON *et al.*, 2017). Portanto, considerando esse limite mais baixo, foram analisadas amostras de urina enriquecidas com 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, assim como 100 e 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Também foram analisadas amostras de água enriquecidas com 50, 100, e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT.

A existência de efeito de matriz foi verificada por meio do preparo de duas curvas de calibração, com os mesmos níveis de concentração de NFT, onde em uma das curvas adicionou-se 10% de urina. As curvas obtidas nesse estudo são apresentadas na Figura 32.

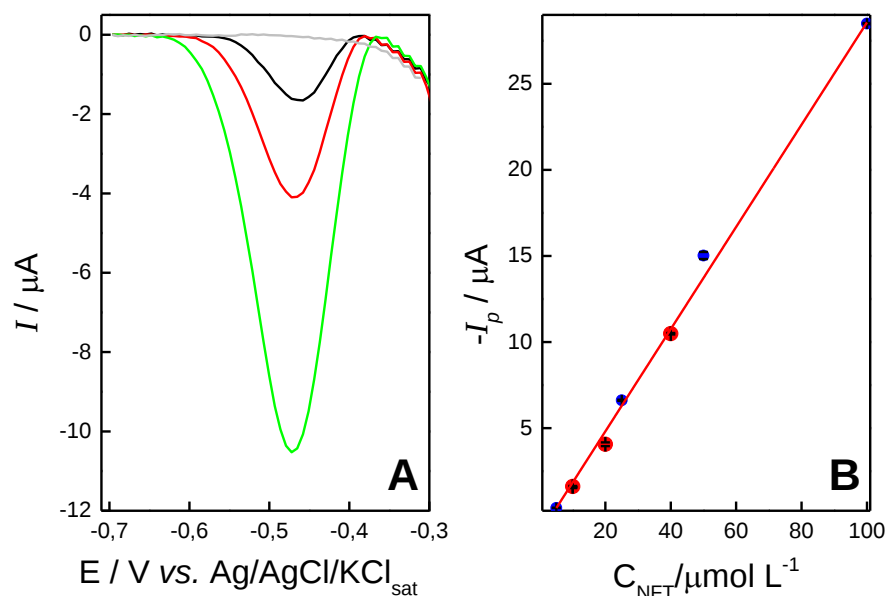
Figura 32 – Comparação das curvas de calibração para NFT ($n = 3$) obtidas para GS/PMB em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,2) na ausência (●) e na presença (●) de 10 % de urina. Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $\alpha = 75 \text{ mV}$, $t_m = 10 \text{ ms}$, $\Delta E = 7 \text{ mV}$, 60 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

De acordo com as curvas apresentadas na Figura 32, observa-se que a quantificação da amostra praticamente não sofre interferência da matriz. Foram obtidos resultados estatisticamente semelhantes com nível de confiança de 95%. Dessa forma, as porcentagens de recuperação foram calculadas usando a equação da curva de calibração. Os resultados são apresentados na Figura 33 e na Tabela 2.

Figura 33 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com o eletrodo GS/PMB para amostra de urina não fortificada (curva cinza) e fortificadas com $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (curva preta), $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ (curva vermelha) e $400 \mu\text{mol L}^{-1}$ (curva verde) de NFT ($n = 3$). (B) Curva de calibração obtida para GS/PMB com solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,2) (●) e resposta de corrente obtida para as soluções contendo urina fortificada (●). Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $\alpha = 75 \text{ mV}$, $t_m = 10 \text{ ms}$, $\Delta E = 7 \text{ mV}$, 60 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

Tabela 2 – Determinação de NFT em amostras de urina e água de abastecimento.

Amostra	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Urina	0	Não encontrado	---
	100	$92,1 \pm 1,2$	$92,1 \pm 1,2$
	200	$175,0 \pm 3,7$	$87,6 \pm 1,8$
	400	$392,0 \pm 1,4$	$98,0 \pm 0,4$
Água de abastecimento	0	Não encontrado	---
	50	$51,3 \pm 0,02$	$103,0 \pm 0,4$
	100	$95,5 \pm 0,06$	$95,5 \pm 0,6$
	200	$198,9 \pm 0,3$	$99,4 \pm 1,6$

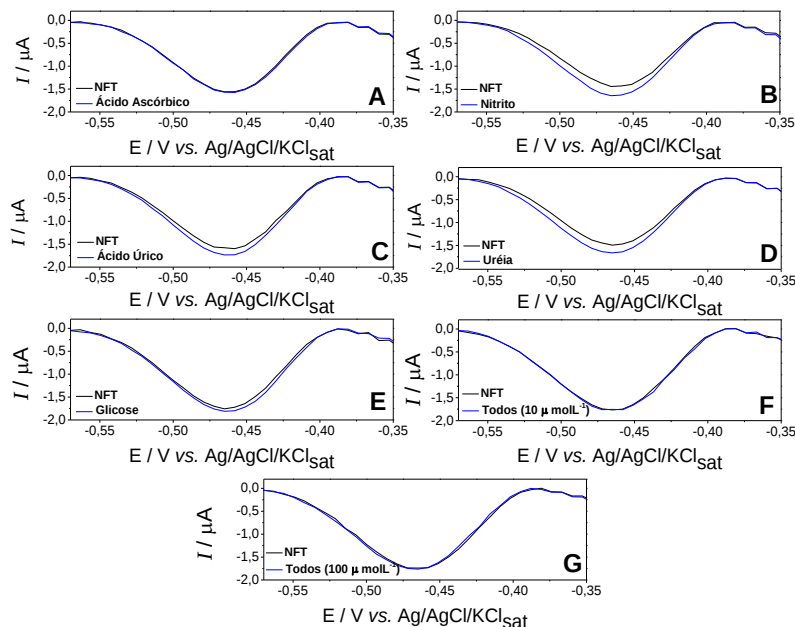
Fonte: A autora (2022).

As porcentagens de recuperação variaram de 88 a 103% (Tabela 2), mostrando que o sensor GS/PMB proposto apresentou uma precisão aceitável para a determinação de NFT. De acordo com AOAC (do inglês, *Official Methods of Analysis Guidelines for Standard Method Performance Requirements*), as porcentagens são satisfatórias para as concentrações analisadas (AOAC, 2019). Portanto, bons resultados foram atingidos, apesar da complexidade da amostra de urina e ausência de etapas prévias de tratamento da amostra. O fato de porcentagens de recuperação próximas a 100 % terem sido obtidas utilizando-se o método de calibração externa confirma que, de fato, os efeitos de matriz da amostra de urina não comprometem a quantificação da NFT pelo método proposto. O melhor desempenho do sensor para amostras de água de abastecimento é coerente com a menor complexidade apresentada para essa matriz.

5.1.9 Seletividade de GS/PMB para NFT

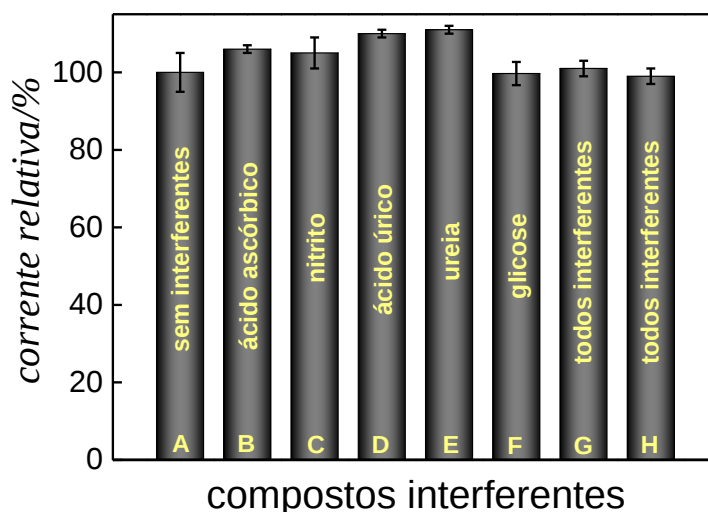
A possível interferência de algumas espécies na determinação de NFT usando o eletrodo GS/PMB foi examinada. Esses estudos foram realizados com $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT na presença de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ das seguintes espécies: ácido ascórbico, nitrito, ácido úrico, uréia e glicose e os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 34 e 35. Estas espécies foram selecionadas como potenciais interferentes, pois são espécies eletroativas e que comumente estão presentes em amostras de urina.

Figura 34 – Voltamogramas de pulso diferencial ($n = 3$) obtidos para solução contendo $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT possíveis interferentes: (A) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico; (B) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de nitrito; (C) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Ácido úrico; (D) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ureia; (E) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de glicose; (F) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de todos interferentes; (G) $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de todos interferentes. Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $\alpha = 75 \text{ mV}$, $t_m = 10 \text{ ms}$, $\Delta E = 7 \text{ mV}$, 60 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

Figura 35 – Resposta da corrente relativa vs. compostos interferentes no sinal voltamétrico para $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NFT ($n = 3$) (A) sem interferentes, (B) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico, (C) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de nitrito, (D) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido úrico, (E) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ureia, (F) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de glicose, (G) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de todos interferentes e (H) $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de todos interferentes. Eletrólito de suporte: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), $\alpha = 75 \text{ mV}$, $t_m = 10 \text{ ms}$, $\Delta E = 7 \text{ mV}$, 60 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

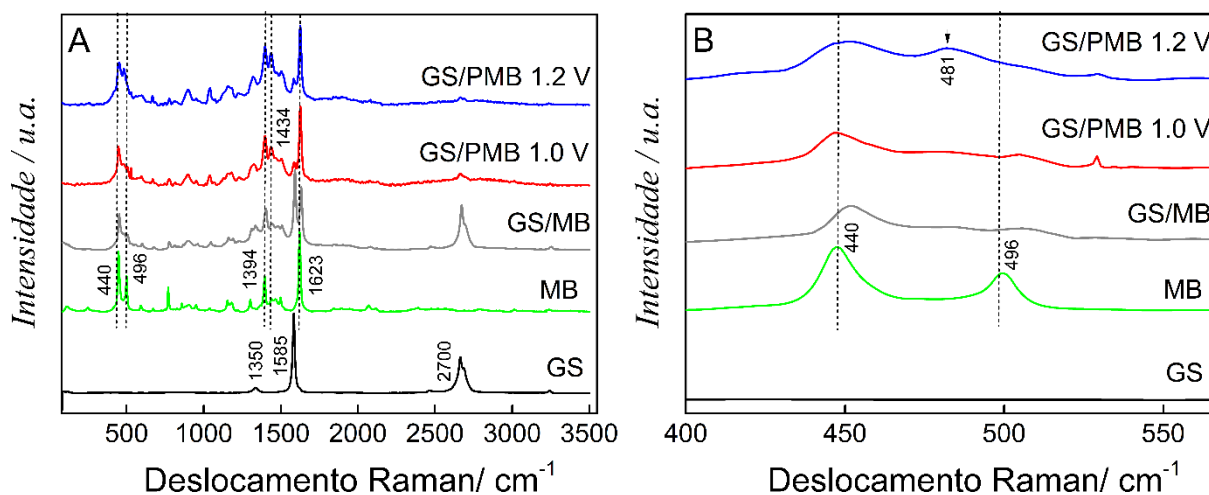
Pode-se observar na Figura 35 que a maioria das espécies selecionadas causou pouca interferência ($< 10\%$) no sinal de NFT. Um estudo paralelo de

reatividade cruzada também foi realizado na presença de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ NFT misturado com todas as espécies potencialmente interferentes avaliadas em 10 e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, considerando que as amostras sempre contêm mais de uma espécie potencial interferente (PANDEY; BAIRAGI; VERMA, 2018). Os resultados indicaram que o sinal voltamétrico NFT não foi significativamente afetado pela coexistência das espécies interferentes em 10 ou $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (variação inferior a 5%), sugerindo que o GS/PMB apresenta uma seletividade satisfatória para NFT e é adequado para a quantificação confiável de NFT em amostras de urina e água de abastecimento.

5.1.10 Caracterização de GS/PMB por espectroscopia Raman

A técnica de espectroscopia Raman é utilizada para identificar ligações químicas em moléculas ou sólidos. Além disso, fornece informações sobre a estrutura, a geometria molecular e o grau de desordem de materiais em geral. Trata-se de uma técnica que requer preparo mínimo da amostra, além de promover uma análise rápida e eficaz (HOFELMANN, 2013). A Figura 36 mostra os espectros Raman para GS, MB (cristais sólidos), MB adsorvido em GS (GS/MB) e GS/PMB. Para preparar o MB adsorvido em GS, um pedaço de GS foi imerso por 2 h em uma solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2) contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de MB. Este experimento teve como objetivo verificar eventuais diferenças entre o MB monomérico adsorvido e o PMB (filme eletropolimerizado).

Figura 36 – Espectros Raman ($80 \text{ a } 3500 \text{ cm}^{-1}$) de GS (preto), MB (verde), GS/MB (cinza), GS/PMB preparado até +1,0 V (vermelho) e GS/PMB preparado até +1,2 V (azul) (A). Ampliação da região entre $400 \text{ e } 520 \text{ cm}^{-1}$ (B). Foram adquiridos espectros em três pontos distintos para um mesmo substrato.



Fonte: A autora (2022).

O espectro da GS (Figura 36A, curva preta) é típico de materiais gráfiticos (BÎRU; IOVU, 2018; KANIYOOR; RAMAPRABHU, 2012). A banda G (1585 cm^{-1}) é atribuída ao alongamento da ligação de átomos de carbono sp^2 na estrutura do grafeno (SILVA *et al.*, 2019). A banda D (1350 cm^{-1}) pode estar associada a desordem e defeitos na estrutura (FERRARI; BASKO, 2013). A banda 2D (2700 cm^{-1}) está relacionada com a ordem bidimensional das camadas de grafeno (KANIYOOR; RAMAPRABHU, 2012).

Os espectros Raman revelam bandas monoméricas de MB (Figura 36B, curva verde). A banda em 1623 cm^{-1} é associada ao estiramentos $(\text{C-C})_{\text{anel}}$ e estiramento assimétrico $(\text{C-N-C})_{\text{anel}}$ (MAŽEIKIENE *et al.*, 2008). A banda em 1394 cm^{-1} é devido ao estiramento $(\text{C-C})_{\text{anel}}$, estiramento assimétrico $(\text{C-N-C})_{\text{anel}}$ e flexão $\text{C-N}(\text{CH}_3)_2$ (MAŽEIKIENE *et al.*, 2008). A banda em 1434 cm^{-1} é atribuída a flexão no plano $(\text{C-H})_{\text{anel}}$, estiramento assimétrico $(\text{C-N-C})_{\text{anel}}$ e estiramento $\text{C-N}(\text{CH}_3)_2$ (MAŽEIKIENE *et al.*, 2008). A banda em 440 cm^{-1} é devido aos estiramentos (C-S) e $(\text{C-C})_{\text{anel}}$ (MAŽEIKIENE *et al.*, 2008). A banda em 496 cm^{-1} está relacionada a flexão no plano $(\text{C-C-C})_{\text{anel}}$, flexão no plano $(\text{C-C-N})_{\text{anel}}$ e flexão no plano C-N-C (MAŽEIKIENE *et al.*, 2009).

A eletropolimerização provoca uma diminuição na intensidade das bandas de grafite (Figura 36C, curvas vermelha e azul). Este efeito pode estar associado à formação do filme de PMB que cobre a superfície da folha de grafite. A intensidade dessas bandas gráficas não diminuiu quando o MB foi adsorvido em GS (Figura 36A, curva cinza), o que provavelmente está relacionado à organização menos densa e menor quantidade de material eletroativo.

Na literatura, a banda atribuída ao PMB é em aproximadamente 1434 cm^{-1} (GORLE; KULANDAINATHAN, 2016; LIU; MU, 1999). Porém, nesse estudo, observamos a presença desta banda também para o MB (Figura 36A, curva verde) e GS/MB (Figura 36A, curva cinza). Portanto, a presença dessa banda pode não ser um indicativo de eletropolimerização, como é afirmado em alguns trabalhos. Um aumento na intensidade desta banda, no entanto, pode ser um indicativo de eletropolimerização, como foi observado para os eletrodos modificados utilizando $+1,0\text{ V}$ (Figura 36A, curva vermelha) e $+1,2\text{ V}$ (Figura 36A, curva azul).

Outra diferença observada foi surgimento de uma banda fraca em 481 cm^{-1} para a condição de eletropolimerização de $+1,2\text{ V}$ (Figura 36A, curva azul) enquanto a banda em 496 cm^{-1} diminuiu. Esse efeito também foi relatado na literatura (NICOLAI;

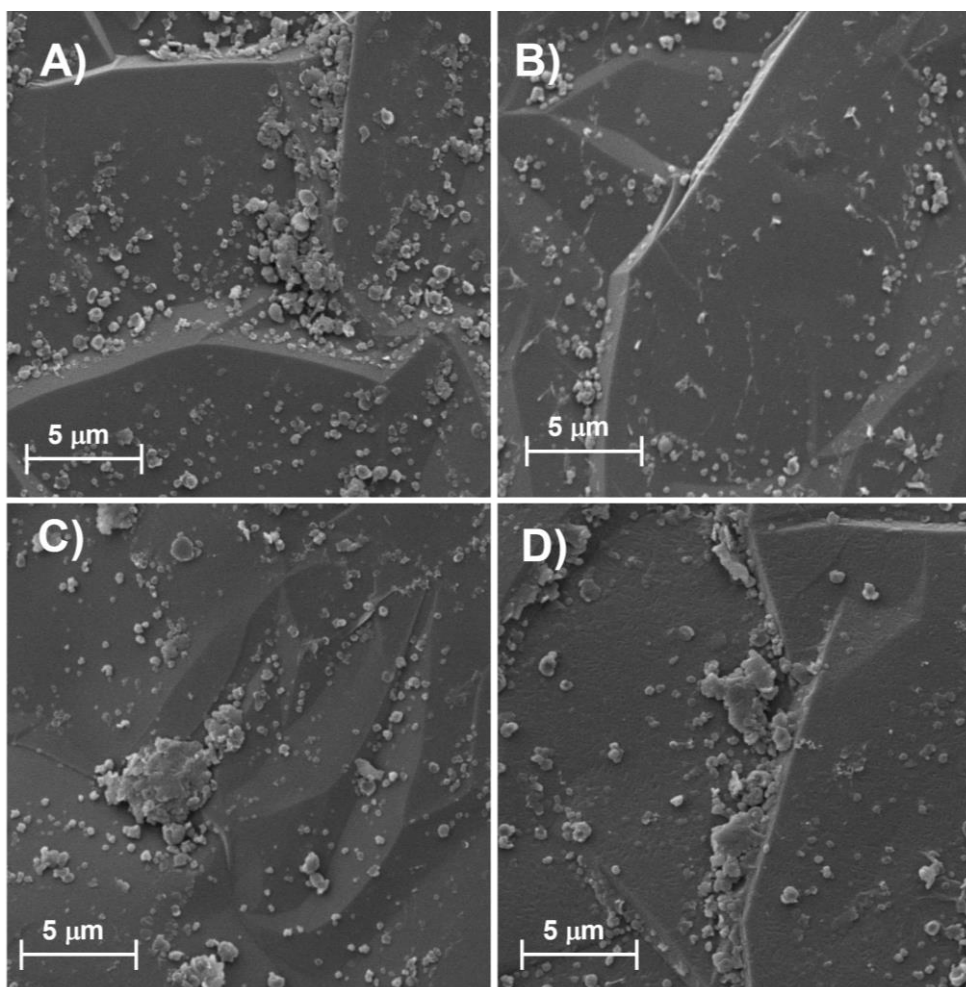
RUBIM, 2003) para filmes de MB adsorvidos, sendo mais pronunciado em filmes organizados em monocamada. A banda em 481 cm^{-1} foi mais intensa para condição de eletropolimerização de +1,2 V (Figura 36B, curva azul) o que pode ser devido à maior quantidade de material depositado na superfície do eletrodo.

5.1.11 Caracterização morfológica dos eletrodos de GS/PMB

Realizaram-se análises morfológicas utilizando MEV e AFM para obter informações sobre as alterações antes e após a modificação com os filmes de PMB.

As superfícies GS e GS/PMB analisadas por MEV são apresentadas na Figura 37.

Figura 37 – Imagens de MEV para a GS (A) GS/PMB preparado até +1,0 V (B) GS/PMB preparado até +1,1 V e (C) GS/PMB preparado até +1,2 V (D). Magnificação de 10000x.

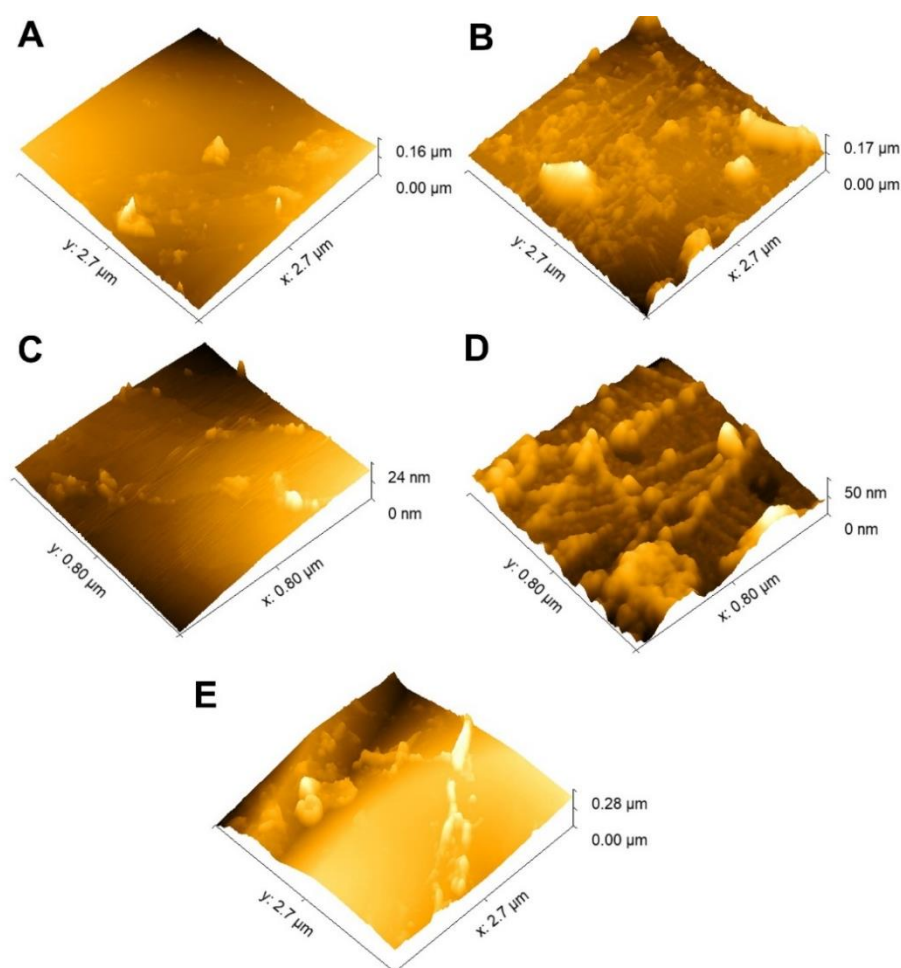


Fonte: A autora (2022).

Na Figura 37A é possível observar placas grafíticas compactadas na direção horizontal e presença de grãos distribuídos na superfície. Nakamura *et al.* (NAKAMURA *et al.*, 2018) também observaram esses grãos em folhas de grafite pirolítica e propuseram a hipótese de que eles sejam compostos por pilhas de microcristalitos de grafite com um número relativamente pequeno de camadas de grafeno. Não foram observadas diferenças entre a morfologia de GS e GS/PMB como é visto nas Figuras 37B, 37C e 37D. Isso pode ser justificado devido a espessura relativamente fina do material depositado. Este resultado é consistente com os dados voltamétricos, os quais mostraram que o filme de PMB era consideravelmente fino (espessura de 25 nm quando preparado com potencial de inversão de +1,2 V).

Experimentos de AFM também foram realizados em superfícies de GS e GS/PMB (Figura 38).

Figura 38 – Imagens de AFM de GS (A,C) GS/PMB preparado até +1,2 V (B,D) e GS/PMB preparado até +1,0 V (E).



Fonte: A autora (2022).

O eletrodo GS apresentou uma morfologia quase plana, exceto pela presença de alguns grãos distribuídos aleatoriamente (Figura 38A), observados também nas imagens de MEV. A Figura 38E mostra o filme preparado até +1,0 V. A quantidade de material depositado para esta condição não foi suficiente para promover uma mudança na rugosidade superficial. Por outro lado, o filme preparado até +1,2 V (Figura 38B) apresentou um aumento na rugosidade, indicando que a superfície do GS foi efetivamente coberta pelo filme polimérico nessa condição. Portanto, a melhora no desempenho do eletrodo GS/PMB pode ser resultado da mudança morfológica e não somente justificado pela maior espessura do material, como sugerido na seção 5.1.4. Ajami *et al.* (AJAMI *et al.*, 2016) estudaram a eletropolimerização do MB em condições galvanostáticas, aplicando-se 1 mA cm^{-2} de forma pulsada com tempos de aplicação entre 0,1 e 1,25 s, seguido por 0,1 s sem aplicação de corrente. Estes estudos revelaram que a morfologia e o tamanho das partículas do PMB dependem fortemente das condições sintéticas já que estas alteram a nucleação, e consequentemente a orientação e conjugação do polímero formado. As Figuras 38C e 38D mostram em maior ampliação os eletrodos GS e GS/PMB preparados até +1,2 V, respectivamente. O aumento de rugosidade observado nas imagens AFM pode resultar em um aumento da superfície ativa. Esses resultados corroboram com o aumento de sinal evidenciado nos estudos voltamétricos. Pandey *et al.* (PANDEY; BAIRAGI; VERMA, 2018) também relataram uma maior área de superfície ativa para a adsorção de creatinina em filmes de PMB.

Portanto, dois fatores podem explicar o aumento da resposta voltamétrica. A primeira é a maior área de superfície ativa alcançada com GS/PMB em comparação com GS. O segundo fator que poderia explicar este incremento de corrente é através da adsorção iônica da NFT no filme de PMB (GIRIBABU *et al.*, 2013) como discutido anteriormente e proposto na Figura 23.

5.1.12 Conclusões parciais

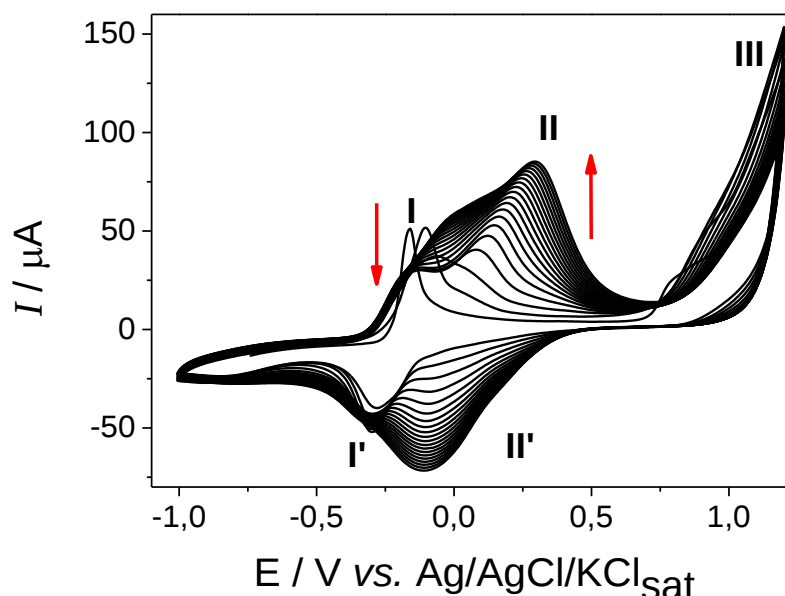
Na Parte 1 dessa tese, constatou-se que a técnica de voltametria cíclica fornece informações valiosas sobre as propriedades eletroquímicas dos filmes de PMB. A eletropolimerização foi realizada por ciclagem potencial, e este processo foi fortemente influenciado pelo potencial de inversão. Observamos que +1,2 V foi o potencial de inversão mais adequado para quantificação de NFT, pois produziu os filmes de PMB com maior área superficial. Além de um notável aumento na sensibilidade ao NFT, o filme de PMB apresentou uma proteção contra o envenenamento do eletrodo. Os eletrodos foram usados com sucesso para quantificar NFT em amostras de urina e água de abastecimento. Portanto, foi demonstrado pela primeira vez, um sensor eletroquímico que combina a utilização de folhas de grafite e eletropolimerização do corante azul de metileno como uma proposta rápida e de baixo custo para a construção de sensores eletroquímicos descartáveis para a determinação de NFT.

5.2 AVALIAÇÃO DO ELETRODO GS/PTB PARA ANÁLISE DE TRYP EM AMOSTRAS DE QUEIJO

5.2.1 Estudo da eletropolimerização de azul de toluidina em GS

A eletropolimerização de TB foi conduzida por sucessivas ciclagens de potenciais em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,2) contendo $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de monômero. Utilizou-se $+1,2 \text{ V}$ como potencial de inversão, considerando os melhores resultados obtidos na Parte 1 da tese. Os voltamogramas cíclicos registrados durante a eletropolimerização de TB são apresentados na Figura 39.

Figura 39 – Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados durante a eletropolimerização do TB para 20 ciclos de potenciais a 100 mV s^{-1} em uma solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2) contendo $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de TB e intervalo de potencial de $-1,0$ a $+1,2 \text{ V}$.



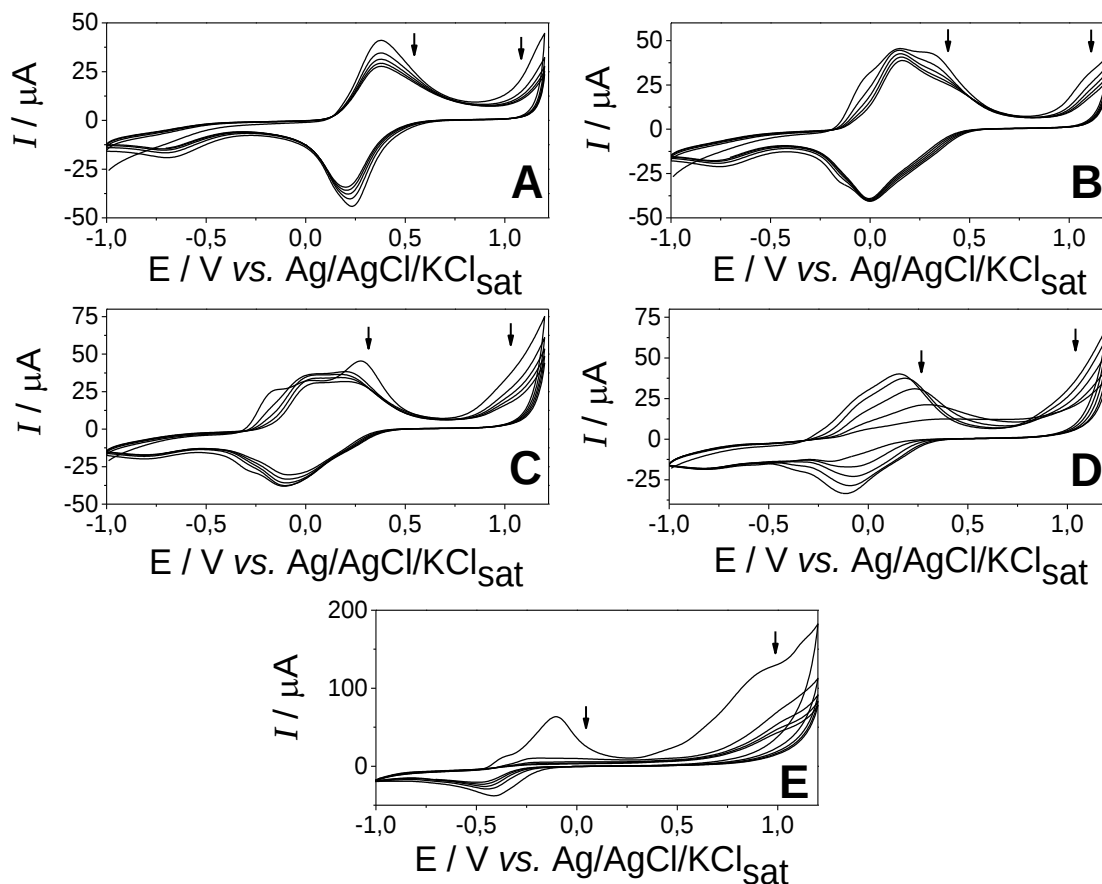
Fonte: A autora (2022).

A Figura 39 mostra que dois pares de picos (I/I', II/II') estão presentes. O par I/I' é atribuído aos processos redox do monômero TB. Os pares de picos II/II' são atribuídos à forma redox do PMB resultante e aparecem após a segunda varredura. O passo inicial para a polimerização de TB é a oxidação do grupo NH_2 em um processo envolvendo a perda de um elétron e a formação do radical catiônico quando o potencial é varrido em potenciais mais positivos (região III). Após esta etapa inicial, o par de picos II/II' aumenta com varreduras sucessivas, indicando um aumento na quantidade de espécies eletroativas imobilizadas na superfície do eletrodo (CAI; XUE,

1998; DAI *et al.*, 2016). Um filme esverdeado pôde ser claramente observado na superfície do eletrodo, o que é uma evidência da existência do filme de PTB. Essa evidência também foi descrita em outros estudos (DAI *et al.*, 2016; YANG; XU; HU, 2007). Pode-se observar um perfil voltamétrico semelhante ao obtido durante a eletropolimerização do azul de metileno (Parte 1), apesar das diferenças estruturais, principalmente pela presença de um grupo amino primário como substituinte no lugar do grupo amino terciário no MB. A geração de radicais catiônicos ocorreu em potenciais mais positivos para MB (+0,8 V) em comparação com TB (+0,7 V). Segundo a literatura, monômeros contendo dois grupos amino terciários, como é o caso do MB, são mais difíceis de se oxidar do que monômeros contendo um grupo amino primário, como a TB. Consequentemente, o pico voltamétrico relativo à oxidação do monômero ao radical catiônico, situa-se em potenciais mais positivos para o MB do que para a TB (BARSAN; PINTO; BRETT, 2011).

Após modificação e enxágue com água deionizada, o eletrodo foi transferido para diferentes eletrólitos de suporte, e cinco ciclos de potenciais foram realizados. A Figura 40 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos de GS/PTB em diferentes eletrólitos de suporte.

Figura 40 – Voltamogramas cíclicos sucessivos ($n = 5$) registrados para o eletrodo de GS/PTB a 50 mV s^{-1} em diferentes eletrólitos de suporte: (A) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido clorídrico (B) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão acetato (pH 5,3) (C) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,2) (D) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão borato (pH 9,0) (E) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de potássio.



Fonte: A autora (2022).

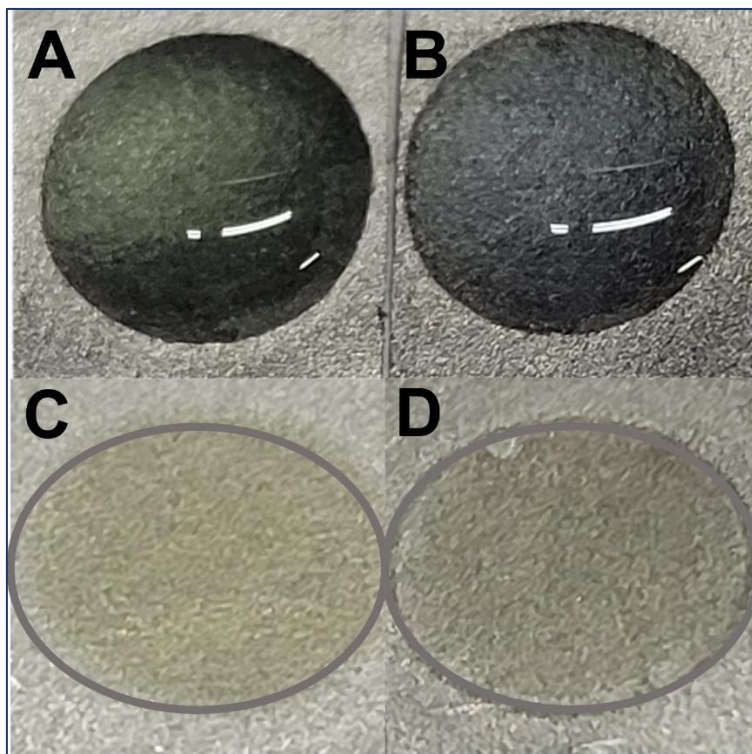
Observou-se que o eletrólito de suporte influenciou fortemente o perfil voltamétrico dos filmes de PTB. Foi observado que o aumento do pH diminuiu a intensidade dos picos voltamétricos e aumentou os valores de ΔE_p , sugerindo que os processos de transferência eletrônica do PTB são dificultados em maiores valores de pH. Resultados similares foram observados para filmes de poli(vermelho neutro) (PAULIUKAITE; BRETT, 2008). Segundo estes autores, o contra-íon H^+ está envolvido nos processos redox do filme polimérico. Assim, uma diminuição na concentração de H^+ dificultaria tais processos levando a baixos valores de corrente de pico e elevados valores de ΔE_p . Segundo a literatura, os cátions e ânions do eletrólito de suporte afetam significativamente o perfil voltamétrico dos polímeros fenotiazínicos pois influenciam os processos de dopagem/desdopagem, hidratação/desidratação e protonação/desprotonação de sítios eletroativos (AGRISUELAS *et al.*, 2011, 2017;

BARSAN; PINTO; BRETT, 2008). Portanto, o eletrólito de suporte influencia de maneira complexa o perfil voltamétrico dos filmes de polímeros fenotiazínicos.

A Figura 40 mostra que as maiores alterações no perfil voltamétrico em função do número de ciclos foram observadas nas soluções de tampão borato e de hidróxido de potássio (Figuras 40D e 40E). Na solução de KOH, observou-se, na primeira varredura de potenciais, um processo anódico bastante pronunciado que gerou um pico anódico largo e intenso em potenciais maiores do que +0,5 V. Na segunda varredura, a intensidade dos picos voltamétricos associados ao PTB foi significativamente menor do que a da primeira varredura e uma contínua diminuição do pico anódico em potenciais maiores do que +0,5 V foi observada para as varreduras de potenciais subsequentes. Portanto, a ciclagem de potenciais em KOH resultou em um material menos eletroativo.

A diminuição da intensidade dos picos voltamétricos associados ao PTB em KOH poderia ser um indicativo de que o filme poderia ter se destacado da superfície do eletrodo. Entretanto, esta hipótese parece pouco provável, pois a coloração esverdeada ainda se manteve após os experimentos voltamétricos realizados em KOH e é uma evidência de que o filme de PTB ainda está imobilizado na superfície do eletrodo. Uma mudança na cor do filme de esverdeado para azulado também foi observada na forma hidratada (após enxágue com água deionizada). A Figura 41 mostra as fotografias dos eletrodos modificados após enxágue com água deionizada (hidratados) e posteriormente secos em temperatura ambiente.

Figura 41 – Imagens digitais dos eletrodos modificados após enxágue com água deionizada (A-B) e secos (C-D) para GS/PTB (A-C) e GS/PTB após ciclagem em potencial com KOH 0,1 mol L⁻¹ (B-D).



Fonte: A autora (2022).

Uma possibilidade que poderia explicar o comportamento observado para o filme de PTB em solução de KOH seria a ocorrência de um processo de “superoxidação” do PTB. A literatura mostra que filmes de polipirrol são superoxidados em meio alcalino e que este processo poderia inserir grupos oxigenados na estrutura do filme polimérico via ataque nucleofílico do íon OH⁻ aos átomos de carbono do filme polimérico (DA SILVA *et al.*, 2021; DEVKOTA *et al.*, 2018; EOM *et al.*, 2019; GAO; MINXIAN; BESHEN, 1994; SASSO *et al.*, 2013).

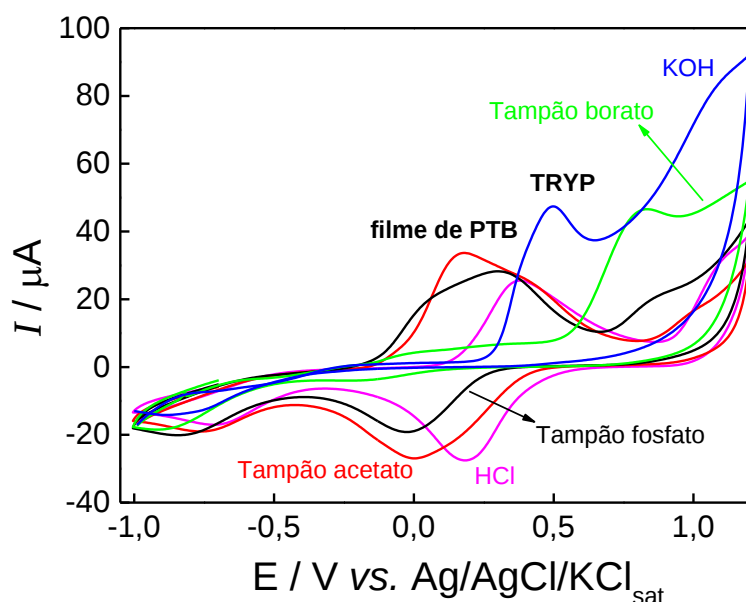
O processo anódico pronunciado observado na Figura 40E é consistente com a possibilidade da “superoxidação” do PTB. Uma possível consequência da superoxidação seria a alteração da carga elétrica do filme catiônico. A superoxidação poderia introduzir grupos carboxílicos que estariam desprotonados, tornando o filme aniônico. Mesmo que grupos carboxílicos não fossem inseridos, o aumento do número de átomos de O aumentaria a densidade de carga negativa nos filmes, além de possibilitar a formação de ligações de hidrogênio com espécies em solução. Assim, os filmes de PTB seriam potencialmente aplicáveis para a quantificação de analitos catiônicos. Visando explorar esta hipótese para fins analíticos, o desempenho dos

filmes de PTB para a quantificação de triptamina foi avaliado. Este analito foi selecionado pois o pKa do grupo amino da triptamina é 9,5 (GALIAN; VEGLIA; DE ROSSI, 1998), portanto, esta molécula estará positivamente carregada em uma ampla faixa de pH. Desta maneira, caso o filme de PTB seja, de fato, aniônico, haverá uma interação eletrostática com as moléculas de triptamina, o que conduzirá a maior sensibilidade. Além disso, existe a possibilidade de formação de ligações de hidrogênio entre os átomos de H do grupo amino da triptamina, e os átomos de O, supostamente inseridos no filme devido a superoxidação.

5.2.2 Resposta eletroquímica de triptamina utilizando GS/PTB em diferentes eletrólitos

A voltametria cíclica foi usada para avaliar a oxidação de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de TRYP no eletrodo GS/PMB em diferentes eletrólitos e os resultados são apresentados na Figura 42.

Figura 42 – Voltamogramas cíclicos registrados para GS/PTB a 50 mV s^{-1} contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de TRYP em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de diferentes eletrólitos: ácido clorídrico (curva rosa), tampão acetato (pH 5,3) (curva vermelha), tampão fosfato (pH 7,2) (curva preta), tampão borato (pH 9,0) (curva verde), hidróxido de potássio (curva azul). Faixa de potencial de $-1,0 \text{ V}$ a $+1,2 \text{ V}$.

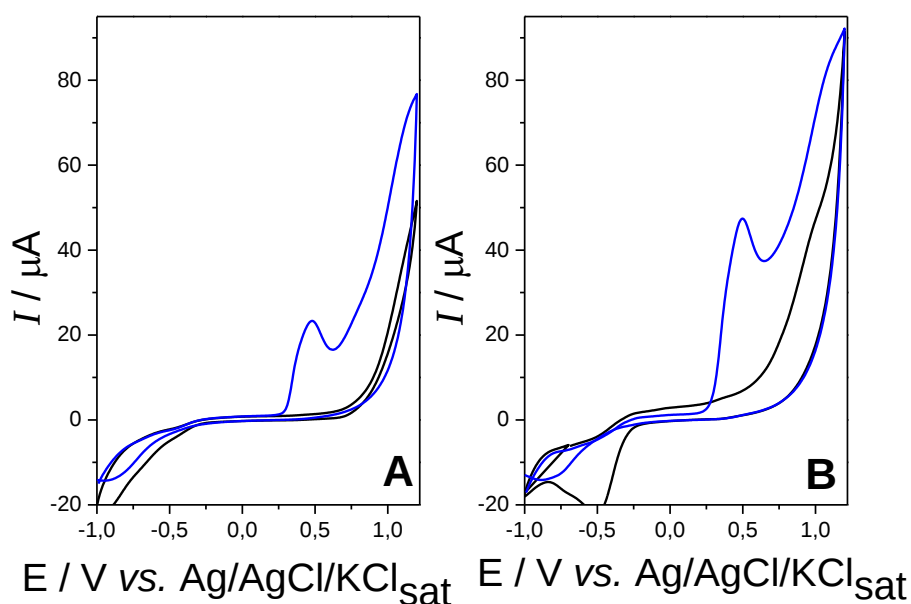


Fonte: A autora (2022).

Conforme mostrado na Figura 42, as soluções mais básicas apresentaram as melhores respostas voltamétricas para oxidação eletroquímica de TRYP com um pico anódico em aproximadamente +0,8 V e +0,5 V para a solução de tampão borato e KOH, respectivamente. Portanto, a solução de KOH 0,1 mol L⁻¹ causou uma diminuição no potencial de oxidação da TRYP. Em outro estudo utilizando histamina, também uma amina biogênica, foi relatado melhores resultados com solução básica de NaOH 0,2 mol L⁻¹ (NAKTHONG *et al.*, 2020). Desta forma, a melhor resposta voltamétrica para a TRYP poderia estar associada ao próprio favorecimento da oxidação desta molécula em meio básico ou a interações da TRYP com o filme de PTB.

Assim, o maior sinal voltamétrico para a TRYP obtido com o GS/PTB foi aquele resultante da ciclagem em KOH 0,1 mol L⁻¹. Em meio ácido e neutro, praticamente não foi possível observar o pico voltamétrico relacionado à oxidação da TRYP que se apresentou largo, com baixa intensidade e sobreposto à descarga do sistema solvente/eletrólito de suporte. Para comparar a resposta voltamétrica em relação a GS, cinco ciclos de potenciais em KOH também foram realizados para a superfície não modificada. As superfícies foram testadas para a oxidação de 1,0 mmol L⁻¹ de TRYP e os resultados são apresentados na Figura 43.

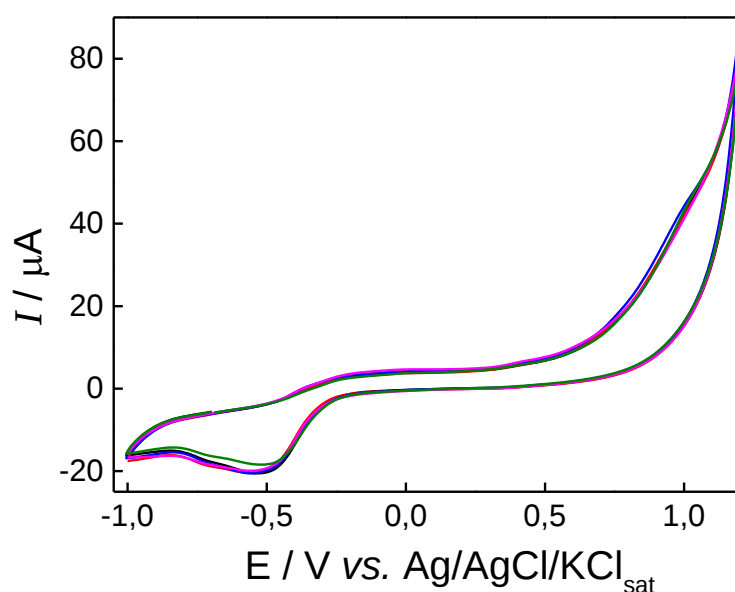
Figura 43 – Voltamogramas cíclicos registrados a 50 mV s⁻¹ em 0,1 mol L⁻¹ de KOH na ausência (curva preta) e presença (curva azul) de 1,0 mmol L⁻¹ TRYP para (A) GS (B) GS/PTB. Faixa de potencial de -1,0 V a +1,2 V.



Fonte: A autora (2022).

A Figura 43 mostra que o filme de PTB intensifica a resposta voltamétrica para TRYP em relação ao eletrodo GS, utilizando $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KOH como eletrólito de suporte. Foi obtida uma corrente de pico 1,9 vezes maior quando comparada com GS sem modificação. Diante da obtenção de respostas favoráveis, cinco eletrodos GS/PTB produzidos independentemente foram testados em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KOH, para avaliar a reprodutibilidade do método de modificação, e os resultados são apresentados na Figura 44.

Figura 44 – 5º voltamograma cíclico registrado em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KOH a 50 mV s^{-1} com cinco eletrodos de GS/PTB preparados independentemente.



Fonte: A autora (2022).

Filmes reprodutíveis foram obtidos para essa condição, como foi observado na Figura 44. O desvio padrão relativo para a corrente de pico catódica em aproximadamente $-0,53 \text{ V}$ para cinco eletrodos independentemente preparados foi de $6,0\%$.

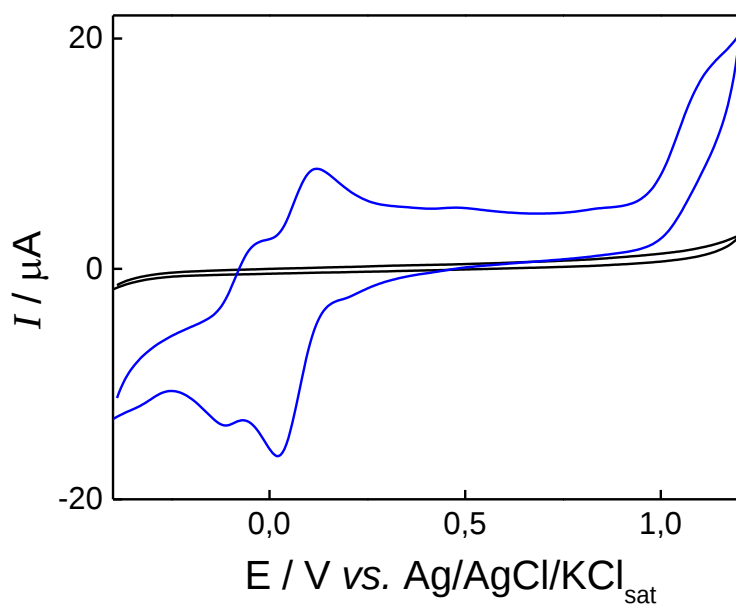
Para se adequar aos métodos para quantificação de TRYP em amostras de queijo, a determinação dessa espécie foi realizada em tampão acetato (COSTA *et al.*, 2016; PRADELA-FILHO *et al.*, 2021). A determinação em meio básico é dificultada, pois diferentes açúcares são eletroativos em soluções alcalinas, o que poderia gerar interferência. Porém, como mostra a Figura 42 (curva vermelha), a resposta voltamétrica para a TRYP em tampão acetato usando o eletrodo de GS/PTB não é adequada. Diante disso, avaliou-se a possibilidade de inserir a ciclagem de potenciais

em KOH como uma etapa de tratamento do eletrodo. Esse procedimento, além de trazer um eventual ganho de sensibilidade, poderia auxiliar no entendimento das interações entre o filme de PTB e a molécula de TRYP. Portanto, nos experimentos subsequentes foram sempre empregados eletrodos de GS modificados com filme de PTB e submetidos a cinco ciclos de potenciais em KOH 0,1 mol L⁻¹, os quais serão representados pela sigla GS/PTB-KOH.

5.2.3 Otimização da resposta voltamétrica da TRYP sobre os eletrodos de GS/PTB-KOH

A voltametria cíclica foi usada para avaliar o perfil voltamétrico de GS/PTB-KOH em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,3) e os resultados são mostrados na Figura 45.

Figura 45 – Voltamogramas cíclicos registrados a 50 mV s⁻¹ em 0,1 mol L⁻¹ de tampão acetato (pH 5,3) para GS (curva preta) e GS/PTB-KOH (curva azul). Faixa de potencial de -0,4 V a +1,2 V.

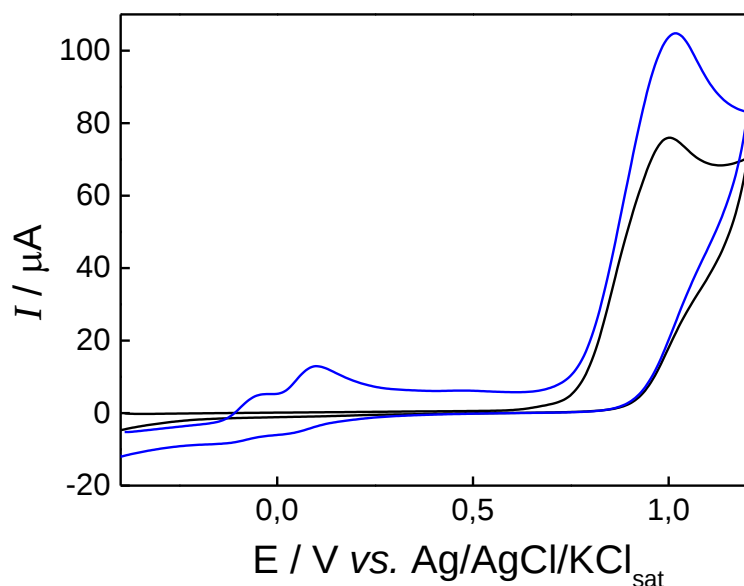


Fonte: A autora (2022).

Como pode ser observado na Figura 45, o voltamograma cíclico obtido com o GS/PTB-KOH exibe picos redox, confirmando a presença de material eletroativo na superfície do eletrodo. Isso comprova que, apesar da diminuição da intensidade dos picos redox do PTB durante a ciclagem em KOH, uma quantidade considerável do material eletroativo permanece na superfície do eletrodo. Porém, as correntes de pico observadas são menores do que as obtidas antes da ciclagem com KOH (ver Figura 40B).

Após avaliação do perfil voltamétrico de GS e GS/PTB-KOH em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, avaliou-se a oxidação de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de TRYP e os resultados são apresentados na Figura 46.

Figura 46 – Voltamogramas cíclicos registrados a 50 mV s^{-1} em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão acetato (pH 5,3) contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ TRYP para GS (curva preta) e GS/PTB-KOH (curva azul). Faixa de potencial de $-0,4 \text{ V}$ a $+1,2 \text{ V}$.



Fonte: A autora (2022).

Conforme mostrado na Figura 46, a eletro-oxidação da TRYP origina um pico anódico em $+1,0 \text{ V}$ para os eletrodos GS e GS/PTB-KOH. Uma comparação entre a corrente gerada nos eletrodos GS e GS/PTB-KOH mostra que o eletrodo modificado produziu uma amplificação de sinal de 1,5 vezes. Comparando esse resultado com a resposta voltamétrica para TRYP em tampão acetato sem o tratamento prévio em KOH (curva vermelha da Figura 42), conclui-se que o tratamento em meio alcalino foi crucial para a melhorar a resposta voltamétrica para a TRYP. Sem o tratamento em KOH, praticamente não foi observada resposta voltamétrica para a TRYP (curva vermelha da Figura 42).

Na literatura não foram encontrados trabalhos que discutam o efeito da ciclagem de potenciais em meio alcalino para filmes poliméricos de fenotiazinas. Entretanto, para polipirrol, existe um considerável número de trabalhos descritos, conforme mencionado anteriormente. Eom *et al.* (EOM *et al.*, 2019) observaram uma melhora na resposta voltamétrica para a dopamina utilizando filmes de polipirrol

previamente submetidos a varreduras de potencial em NaOH 0,1 mol L⁻¹. Segundo os autores, o tratamento em meio alcalino resultou na formação de grande número de grupos carboxílicos e carbonila, promovendo interações eletrostáticas entre o filme de polipirrol negativamente carregado e a molécula de dopamina positivamente carregada, o que melhorou a resposta voltamétrica para este analito. Devkota *et al.* (DEVKOTA *et al.*, 2018) também reportaram a superoxidação de um filme de polipirrol obtida por sucessivas varreduras de potenciais em NaOH 0,05 mol L⁻¹. Gao *et al.* (GAO; MINXIAN; BESHEN, 1994) relataram que polipirrol tratado com NaOH 0,1 mol L⁻¹ por ciclagem de potencial, resultou em grupos ricos em elétrons que são introduzidos nas unidades de pirrol. De acordo com os autores, o polímero condutor é convertido em um polímero de troca catiônica e oferece uma melhora na seletividade de determinação voltamétrica para espécies catiônicas. Sasso *et al.* (SASSO *et al.*, 2013) discutiram que, embora a inserção destes grupos funcionais oxigenados diminua a condutividade elétrica do polipirrol, a maior densidade de carga negativa resultante da introdução destes grupos atrai cátions para a superfície do filme. Este efeito torna o eletrodo mais sensível a espécies positivamente carregadas, como a dopamina por exemplo, bem como mais seletivo, eliminando interferentes aniônicos. Portanto, uma superoxidação do filme de PTB de forma semelhante ao polipirrol poderia explicar o aumento da resposta voltamétrica para a TRYP sobre os eletrodos de GS/PTB-KOH em tampão acetato.

O pKa relatado para a TRYP protonada é de 9,5 (GALIAN; VEGLIA; DE ROSSI, 1998). Dessa forma, no pH do tampão acetato (~5,3), a amina primária (que é mais básica) da molécula de TRYP está protonada (GALIAN; VEGLIA; DE ROSSI, 1998; LOWMUNKHONG; UNGTHARARAK; SUTTHIVAIYAKIT, 2010). Portanto, a presença de grupos carregados negativamente na superfície do eletrodo pode promover a pré-concentração de moléculas TRYP carregadas positivamente. É importante destacar que o eletrodo GS/PTB-KOH possibilitou uma melhora na resposta voltamétrica para a TRYP tanto em solução de KOH (forma neutra de TRYP) quanto em tampão acetato (forma protonada de TRYP). Entretanto, para detecção da TRYP utilizando o GS/PTB-KOH em KOH, não podemos considerar atrações eletrostáticas. Nesse caso, interações do tipo ligações de hidrogênio entre o PTB e a molécula de TRYP são mais prováveis.

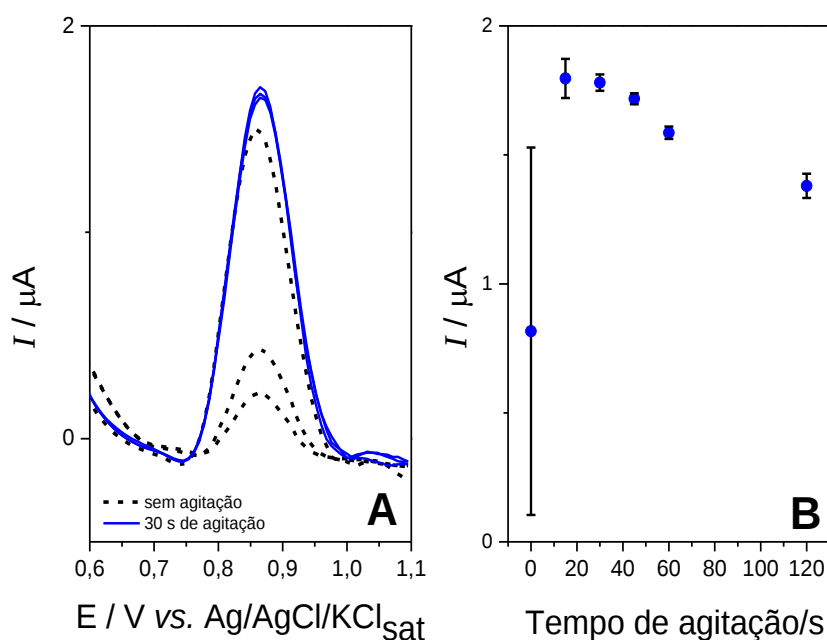
5.2.4 Avaliação do eletrodo GS/PTB-KOH em voltametria de onda quadrada para determinação de TRYP

Após as investigações iniciais por voltametria cíclica, utilizou-se a técnica de SWV para quantificação de TRYP, assim como relatado por Costa *et al.* (COSTA *et al.*, 2016). Entre as voltametrias de pulso, a SWV é a mais rápida e sensível (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

A avaliação do tempo de agitação e os parâmetros da técnica de SWV foram otimizados para obtenção da melhor resposta em termos de intensidade da corrente de pico e largura a meia altura dos picos voltamétricos. Os parâmetros otimizados foram os seguintes: frequência de aplicação do pulso de potencial (f), amplitude de pulso de potencial (α) e incremento de potencial (ΔE_s). A otimização dos parâmetros da SWV foi realizada em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ contendo 0,3 μ mol L⁻¹ de TRYP.

Inicialmente, avaliou-se o efeito de se empregar um tempo de agitação em condições de potencial de circuito aberto previamente ao registro dos voltamogramas e os resultados são apresentados na Figura 47.

Figura 47 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos sem (curva preta) e com uma etapa de pré-concentração (curva azul) para 0,3 μ mol L⁻¹ de TRYP. (B) Relação entre corrente de pico e tempo de pré-concentração ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,3), $f = 80$ Hz, $\alpha = 50$ mV, $\Delta E = 6$ mV.



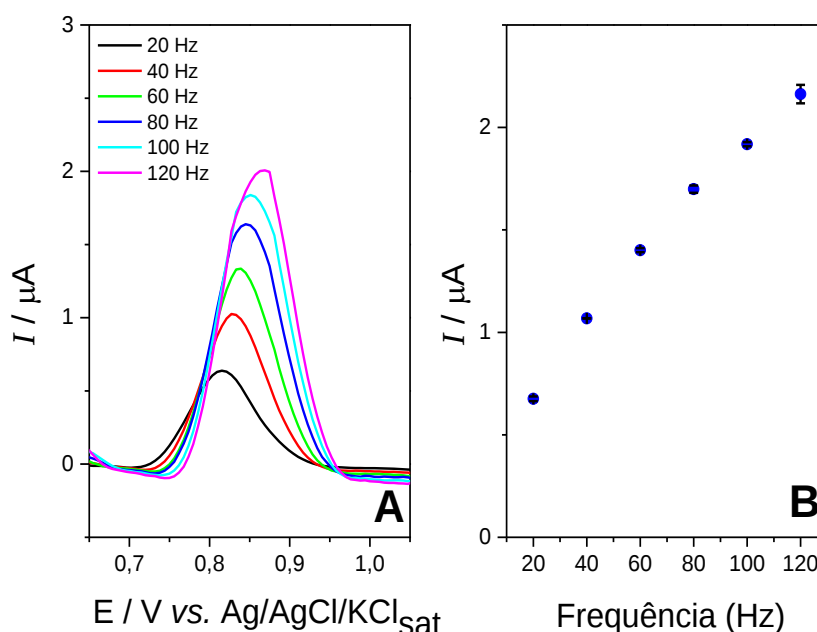
Fonte: A autora (2022).

Observou-se na Figura 47 uma diminuição do pico voltamétrico de TRYP quando as medidas são realizadas sem agitação. Verificou-se que 30 s de agitação mecânica da solução resulta em uma melhor repetibilidade e maior intensidade do sinal analítico. Portanto, a agitação promoveu uma maior interação entre TRYP e GS/PTB-KOH. A necessidade de agitação também foi confirmada na Parte 1 desta tese para os filmes de PMB.

5.2.4.1 Otimização da frequência de aplicação do pulso de potencial

A Figura 48 mostra o efeito da variação da frequência no intervalo de 20 a 120 Hz para uma solução contendo $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP, sendo a amplitude de pulso de potencial fixada em 50 mV e o incremento de potencial em 6 mV.

Figura 48 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução de $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP com variação da frequência de aplicação do pulso de potencial. (B) Relação entre corrente de pico e frequência de aplicação dos pulsos de potencial ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $\alpha = 50 \text{ mV}$, $\Delta E = 6 \text{ mV}$, 30 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

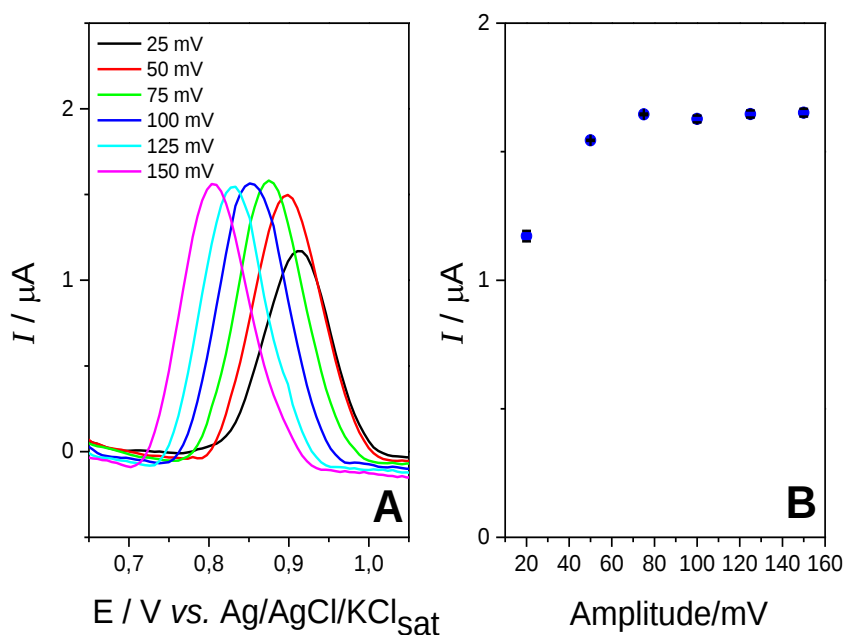
Com base nos resultados apresentados na Figura 48, a frequência de 80 Hz foi selecionada para ser usada nos estudos seguintes, tendo apresentado valores de corrente satisfatórios e perfil voltamétrico gaussiano para a oxidação de TRYP. Embora maiores frequências tenham aumentado a intensidade do sinal, elas

causaram uma distorção significativa do perfil voltamétrico, por isso não foram utilizadas.

5.2.4.2 Otimização da amplitude de pulso de potencial

A Figura 49 apresenta os resultados obtidos para a variação da corrente de pico em função da amplitude de pulso de potencial de 25 a 150 mV para uma solução contendo $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP. Neste estudo, a frequência de aplicação do pulso de potencial foi fixada em 80 Hz e o incremento de potencial em 6 mV.

Figura 49 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução de $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP com variação da amplitude de pulso de potencial. (B) Relação entre corrente de pico e amplitude de pulso ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\Delta E = 6 \text{ mV}$, 30 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

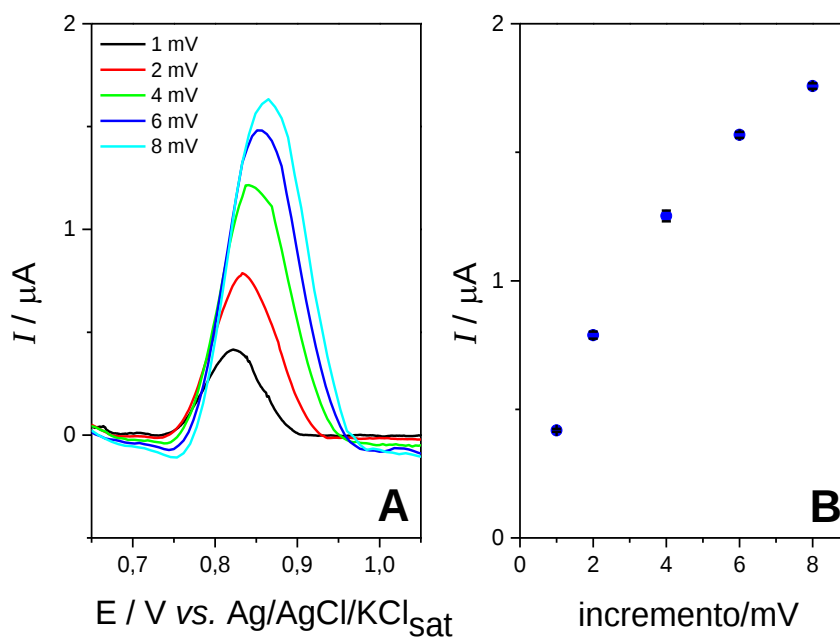
Com base nos resultados apresentados na Figura 49, o valor de 100 mV foi o escolhido para as próximas etapas de otimização, uma vez que maiores amplitudes de pulso não trouxeram incremento significativo na intensidade do pico.

5.2.4.3 Otimização do incremento de potencial

A Figura 50 apresenta os voltamogramas obtidos para solução contendo $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP com a variação do incremento de potencial de 1 a 8 mV, sendo a

frequência de aplicação do pulso de potencial fixada em 80 Hz e a amplitude de pulso de potencial em 100 mV.

Figura 50 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução de $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP com variação do incremento de potencial. (B) Relação entre corrente de pico e incremento de potencial ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, 30 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

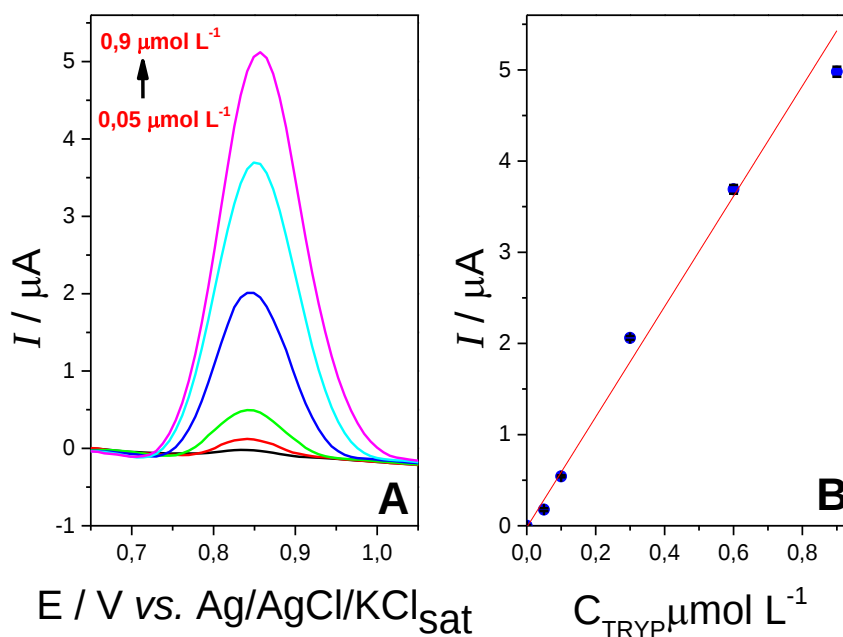
Com base nos resultados apresentados, um incremento de varredura de 8 mV foi selecionado, tendo apresentado valores de corrente satisfatórios e perfil voltamétrico gaussiano para a oxidação de TRYP, além de fornecer uma elevada velocidade de varredura (640 mV s^{-1}), o que possibilita análises rápidas. A velocidade efetiva para uma análise por SWV é dada em função do incremento de varredura de potencial e a frequência de aplicação dos pulsos de potencial ($f \times \Delta E_s$) (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

5.2.5 Curva de calibração para a TRYP

Utilizando os parâmetros otimizados para a SWV (frequência de aplicação do pulso de potencial: 80 Hz; amplitude de pulso de potencial: 100 mV; incremento de potencial: 8 mV e tempo de agitação: 30 s), foram realizados estudos para a

construção da curva de calibração para a determinação de TRYP. A Figura 51 apresenta a curva de calibração obtida a partir dos voltamogramas apresentados.

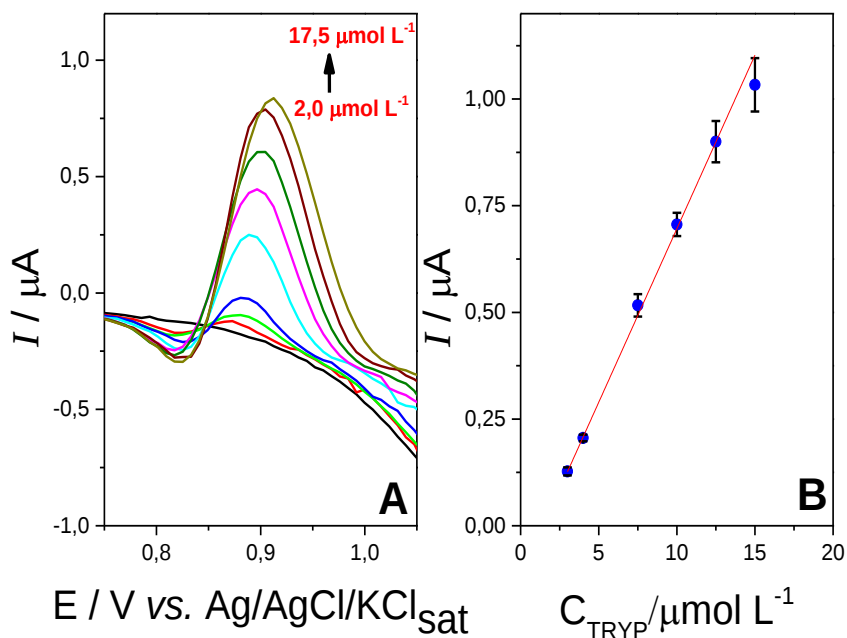
Figura 51 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodos GS/PMB-KOH após sucessivas adições (0,05; 0,1; 0,3; 0,6 e 0,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de TRYP ($n = 3$). (B) Curva de calibração obtida com GS/PMB-KOH. Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,3), $f = 80$ Hz, $\alpha = 100$ mV, $\Delta E = 8$ mV, 30 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

Os resultados demonstraram uma faixa linear de 0,05 a 0,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,983$), e uma inclinação de 6,052 $\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$. O limite de detecção e quantificação foram de 0,012 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,039 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. É importante destacar que a determinação de TRYP nesta mesma faixa de concentração, para o eletrodo GS, não foi possível, pois nenhum sinal foi observado. A Figura 52 apresenta a curva de calibração obtida a partir dos voltamogramas apresentados para o eletrodo GS.

Figura 52 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodos GS após sucessivas adições (2,0; 3,0; 4,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0 e 17,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de TRYP ($n = 3$). (B) Curva de calibração obtida com GS. Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $a = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

Para o eletrodo de GS não modificado a faixa linear alcançada foi de 3,0 a 15,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,997$) e uma inclinação de $0,081 \mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$. O limite de detecção e quantificação foram de $0,370 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $1,23 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Assim, o desempenho analítico dos eletrodos de GS/PTB-KOH foi acentuadamente superior ao desempenho do eletrodo de GS sem modificação. O desempenho analítico do eletrodo GS/PTB-KOH foi comparado com o desempenho de outros eletrodos descritos na literatura (Tabela 3).

Tabela 3 – Comparação da determinação eletroanalítica de TRYP para diferentes eletrodos.

Eletrodo	Técnica	FL ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
CB-PCL/TPE	amperometria	10-75,0	3,2	(PRADELA-FILHO <i>et al.</i> , 2021)
PMU/PGE	DPV	0,5-40,0	0,33	(KRISHNAN; SARASWAT HYAMMA, 2021)
MIPs/HA-MWCNTs/Ppy-SG/GCE	cronoamperometria	0,09-70,0	0,07	(XING <i>et al.</i> , 2012)
MWCNTS-CS/GNP/GCE	cronoamperometria	0,06-30,0	0,042	(MENG <i>et al.</i> , 2014)
CPE-NiPC	SWV	0,0025-0,020	0,00085	(LOURENÇO <i>et al.</i> , 2022)
GCE	SWV	0,047-0,54	0,0008	(COSTA <i>et al.</i> , 2016)
GS/PTB-KOH	SWV	0,05-0,9	0,012	Este estudo

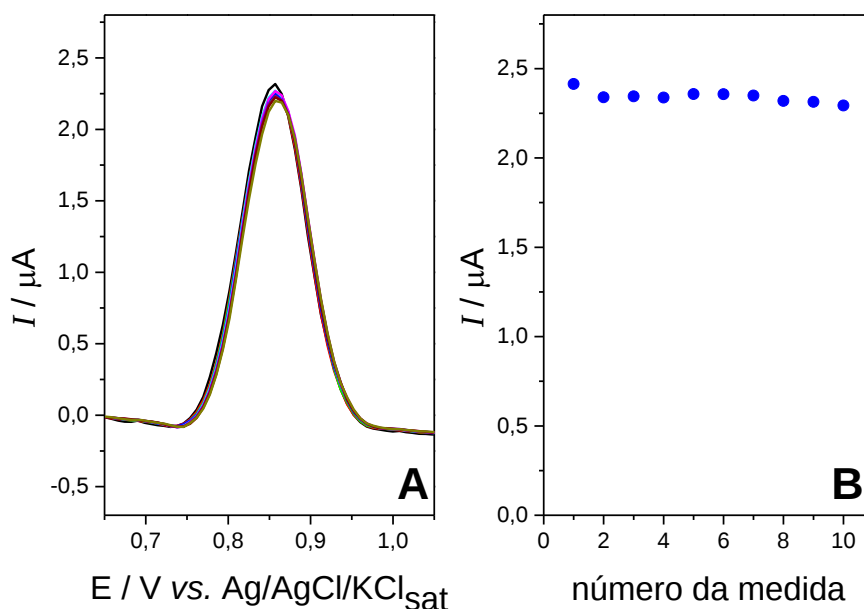
Fonte: A autora (2022).

Apesar dos trabalhos citados apresentarem maiores faixas lineares (Tabela 3), a proposta de modificação descrita nesta tese se destaca pela obtenção de limites de detecção baixos. Embora um limite de detecção inferior tenha sido encontrado para GCE ($0,8 \text{ nmol L}^{-1}$) (COSTA *et al.*, 2016), estes autores relataram a necessidade de etapas de polimento da superfície entre as medidas devido ao efeito de desativação do eletrodo. No presente estudo, não foi observado efeito de desativação do eletrodo para a faixa linear estudada. Portanto, o procedimento de modificação utilizado nesse estudo pode ter contornado eventuais problemas de contaminação da superfície eletródica, além se apresentar como uma estratégia promissora para determinação de baixas concentrações de TRYP. Um LD inferior ($0,85 \text{ nmol L}^{-1}$). também foi relatado para um eletrodo de CPE modificado com ftalocianina de níquel (LOURENÇO *et al.*, 2022). Comparado a este estudo, o sensor eletroquímico desenvolvido nesta tese tem a vantagem de utilizar produtos químicos e materiais de menor custo.

5.2.6 Repetibilidade, reprodutibilidade e estabilidade de GS/PTB-KOH

Após avaliar a faixa linear para determinação de TRYP, testes de repetibilidade, reprodutibilidade e estabilidade dos eletrodos de GS/PTB-KOH foram realizados. A repetibilidade da resposta voltamétrica para a TRYP ($0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$) usando o eletrodo de GS/PTB-KOH foi avaliada realizando dez medidas sucessivas por SWV (Figura 53).

Figura 53 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados para uma solução de $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP ($n = 10$) GS/PTB-KOH. (B) Corrente vs. número da medida. Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação.

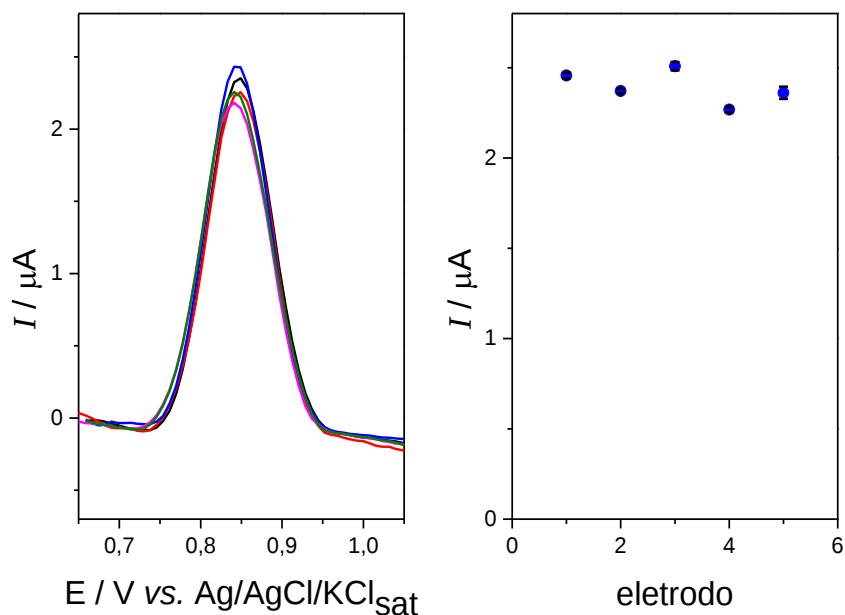


Fonte: A autora (2022).

A Figura 53 mostra que o eletrodo de GS/PTB-KOH apresentou uma repetibilidade satisfatória, com um RSD de 1% ($n = 10$). O efeito de envenenamento não foi observado para esse eletrodo, visto que as correntes não diminuem ao longo de sucessivas medidas. Esse resultado comprova o diferencial do eletrodo em termos de proteção contra contaminação de superfície.

Para avaliar reprodutibilidade entre eletrodos, cinco eletrodos de GS/PTB-KOH foram fabricados independentemente e os valores de corrente de pico para $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP foram registrados e apresentados na Figura 54.

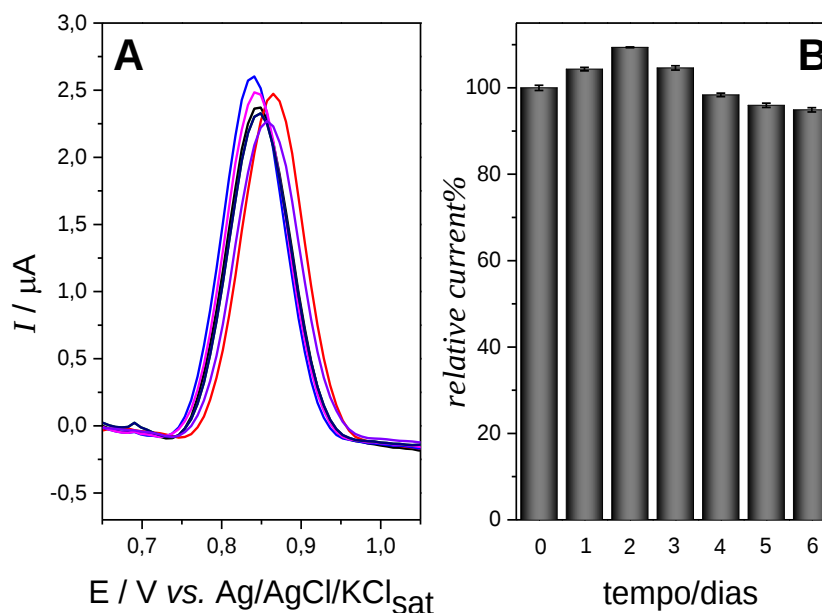
Figura 54 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados para uma solução de $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP ($n = 3$) para cinco eletrodos fabricados independentemente. (B) Corrente vs. número do eletrodo ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $a = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

Os resultados apresentados na Figura 54 indicaram correntes reprodutíveis com um RSD de 4,0%. A estabilidade do GS/PTB foi avaliada pela resposta de corrente de $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ da solução de TRYP durante 6 dias. As curvas obtidas são apresentadas na Figura 55.

Figura 55 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados para $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP ($n = 3$) durante o estudo da estabilidade do eletrodo GS/PTB-KOH. (B) Resposta da corrente relativa vs. número de dias após a preparação do eletrodo. Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

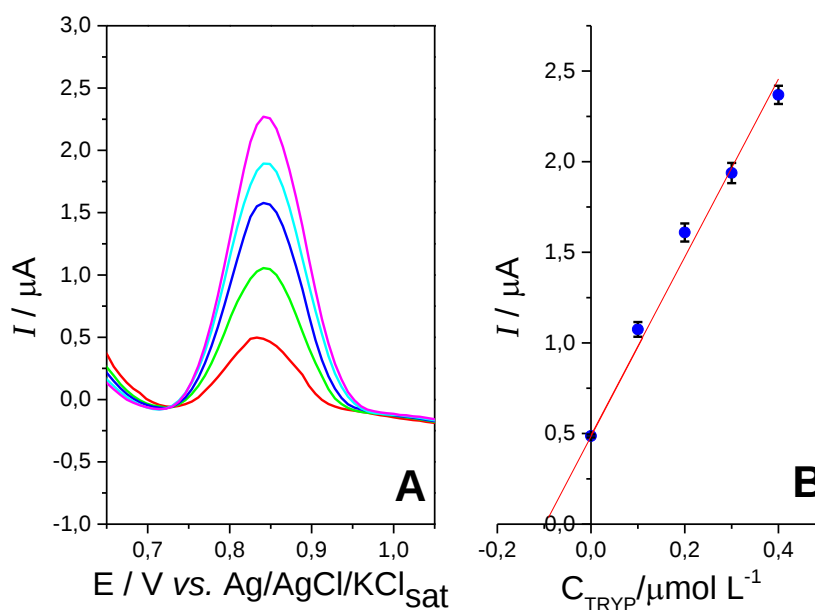
De acordo com a Figura 55, observa-se que o sinal voltamétrico variou entre 95,0 e 109,3% da resposta original após 6 dias de armazenamento. Esses resultados demonstram que não houve perda significativa na eficiência analítica do sensor ao longo do período avaliado.

5.2.7 Determinação de TRYP em amostras de queijo

Para avaliar a aplicabilidade do método proposto para a quantificação de TRYP em amostras reais, três amostras de queijo foram avaliadas. Para todas as amostras analisadas, não foi observado o pico referente à oxidação da triptamina, indicando que esta espécie está ausente na amostra ou em concentrações abaixo da detectável pelo método proposto. Portanto, as amostras de queijo foram enriquecidas com uma concentração conhecida de TRYP. Esse enriquecimento teve o intuito de simular uma concentração real de TRYP em queijos, que pode ser encontrada na média entre 1-46,8 mg/kg (DANIEL COLLINS *et al.*, 2011). As amostras foram fortificadas com $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ (9,83 mg/Kg) de TRYP de modo que, após a diluição em eletrólito de suporte, a concentração de TRYP na célula foi de $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$. O método de adição de padrão foi empregado pois se mostrou eficiente para contornar o efeito de matriz

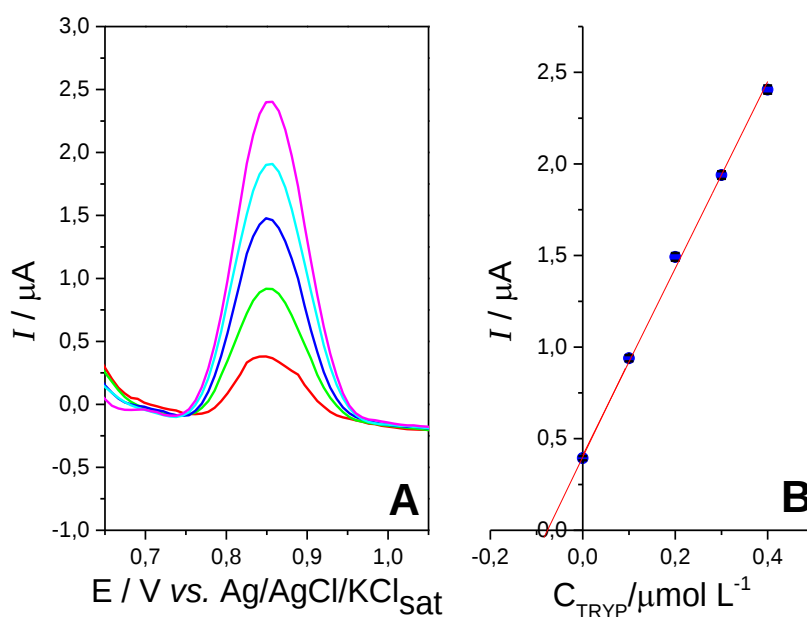
da amostra. As Figuras 56, 57 e 58 mostram os voltamogramas de onda quadrada e as respectivas curvas de adição de padrão.

Figura 56 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução amostra de queijo muçarela e adições crescentes de $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP. (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação.



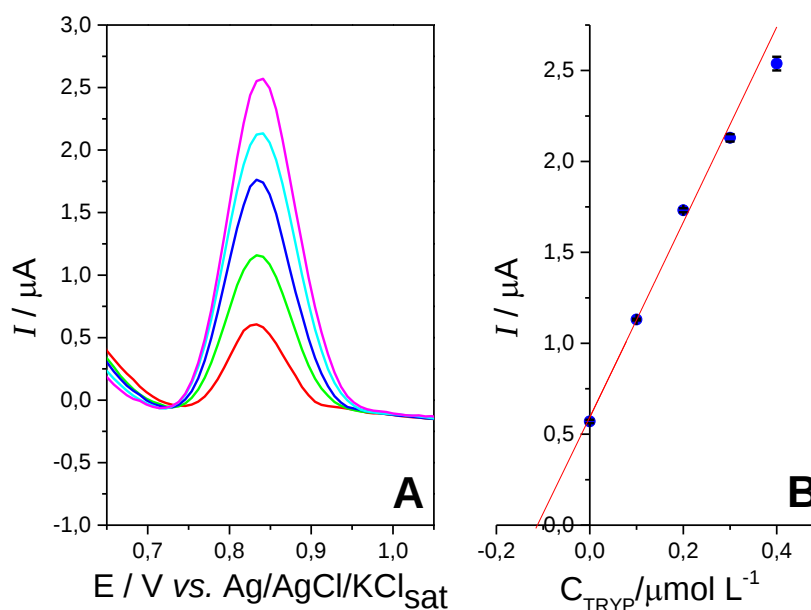
Fonte: A autora (2022).

Figura 57 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução amostra de queijo parmesão canastra e adições crescentes de $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP. (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

Figura 58 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para solução amostra de queijo prato e adições crescentes de $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TRYP. (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas ($n = 3$). Eletrólito de suporte: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,3), $f = 80 \text{ Hz}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$, $\Delta E = 8 \text{ mV}$, 30 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

Os resultados destes estudos de adição e recuperação são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados dos estudos de adição e recuperação de TRYP em amostras de queijo.

Amostra	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)
muçarela	0,5	$0,5 \pm 0,008$	$100,0 \pm 1,7$
parmesão	0,5	$0,4 \pm 0,010$	$80,0 \pm 2,9$
prato	0,5	$0,55 \pm 0,009$	$110,0 \pm 1,6$

Fonte: A autora (2022).

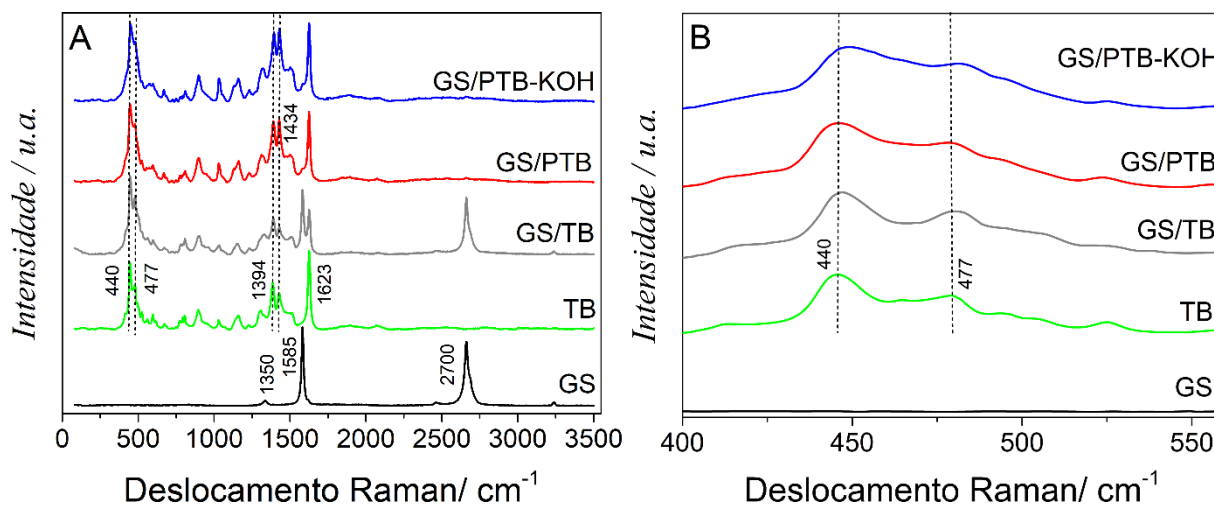
De acordo com a Tabela 4, observa-se que a porcentagem de recuperação de TRYP variou de 80 a 110%. Esses resultados indicam que o método proposto apresentou boa exatidão para a determinação de TRYP em amostras de queijo. De acordo com AOAC, porcentagens de recuperação entre 80 e 110% são satisfatórias quando as concentrações do analito na amostra estão no intervalo de 0,1 a 10 ppm (AOAC, 2019). Além disso, o método apresentou uma precisão adequada, uma vez que os desvios padrão relativos foram sempre inferiores a 5 %. Desta forma, os

eletrodos de GS/PTB-KOH possibilitaram a quantificação de TRYP em amostras de queijo com elevada confiabilidade, utilizando um eletrodo de baixo custo e que pode ser preparado de maneira simples e rápida.

5.2.8 Caracterização de GS/PTB-KOH por espectroscopia Raman

A técnica de espectroscopia Raman também foi empregada para a caracterização de GS, TB (cristais sólidos), TB adsorvido em GS (GS/TB), GS/PTB e GS/PTB-KOH. Para preparar o TB adsorvido em GS, um pedaço de GS foi imerso por 2 h em uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2) contendo 0,5 mmol L⁻¹ de TB. Como mencionado na Parte 1 da tese, este experimento teve como objetivo comparar os espectros de TB na forma monomérica adsorvida e na forma eletropolimerizada. Os espectros Raman obtidos são apresentados na Figura 59.

Figura 59 – Espectros Raman (80 a 3500 cm⁻¹) de GS (preto), TB (verde), GS/TB (cinza), GS/PTB (vermelho), e GS/PTB-KOH (azul). (A) Ampliação da região entre 400 e 520 cm⁻¹ (B). Foram adquiridos espectros em três pontos distintos para um mesmo substrato.



Fonte: A autora (2022).

Pode-se observar a semelhança entre os espectros Raman para TB e MB (Parte 1 da tese), resultado de pequenas diferenças estruturais apresentadas por esses compostos, como já foi discutido anteriormente. De fato, as atribuições desses compostos levam em consideração outros corantes estruturalmente relacionados como tionina, azul do nilo, azul de metileno, azul de toluidina, vermelho neutro entre outros (MAŽEIKIENE *et al.*, 2009, 2008; NAUJOK; DUEVEL; CORN, 1993). A Tabela 5 mostra as principais bandas observadas para TB e MB (Parte 1 da tese).

Tabela 5 – Atribuições das principais bandas Raman observadas para TB e MB.

Bandas Raman (cm⁻¹)	Atribuição	Referência
440 MB e TB	estiramento (C-S) + estiramento (C-C) _{anel}	(MAŽEIKIENE <i>et al.</i> , 2008)
477 TB	estiramento(C-S) + estiramento(C-N) + flexão (N-H ₂)	(MAŽEIKIENE <i>et al.</i> , 2008)
496 MB	flexão no plano (C-C-C) _{anel} + flexão no plano (C-C-N) _{anel} + flexão no plano C-N-C	(MAŽEIKIENE <i>et al.</i> , 2009)
1385 MB e TB	estiramento (C-C) _{anel} + estiramento assimétrico (C-N-C) _{anel} + flexão C-N(CH ₃) ₂ + flexão C-N-H	(MAŽEIKIENE <i>et al.</i> , 2008)
1430 MB e TB	flexão no plano (C-H) _{anel} + estiramento assimétrico (C-N-C) _{anel} +estiramento C-NH ₂ +estiramento C-N(CH ₃) ₂	(MAŽEIKIENE <i>et al.</i> , 2008)
1623 MB e TB	estiramento (C-C) _{anel} + flexão (N-H ₂) + estiramento assimétrico (C-N-C) _{anel}	(MAŽEIKIENE <i>et al.</i> , 2008)

Fonte: A autora (2022).

O efeito de diminuição na intensidade das bandas de grafite (1585 e 2700 cm⁻¹) após a eletropolimerização, observado e discutido na Parte 1 da tese, para PMB, também são visualizados para os espectros de GS/PTB e GS/PTB-KOH (Figura 59A, curva vermelha e azul). Esse resultado confirma a deposição de um filme na superfície do eletrodo.

Mudanças resultantes da eletropolimerização (Figura 59A, curva vermelha) são verificadas por um aumento na intensidade nas bandas em 1430 cm⁻¹ e diminuição da banda em 477 cm⁻¹. Uma vez que a banda em 477 cm⁻¹ apresenta contribuição de vibrações do grupo N-H₂ (Tabela 5), diminuição na intensidade pode estar associada ao processo de polimerização. Além disso o aumento da banda em 1430 cm⁻¹, também foi observado para PMB na Parte 1 da tese e pode corresponder à ligação envolvendo o nitrogênio do grupo amino e o anel aromático (no caso do azul de metileno, o nitrogênio do grupo amino terciário e no caso do azul de toluidina, o nitrogênio do grupo amino primário).

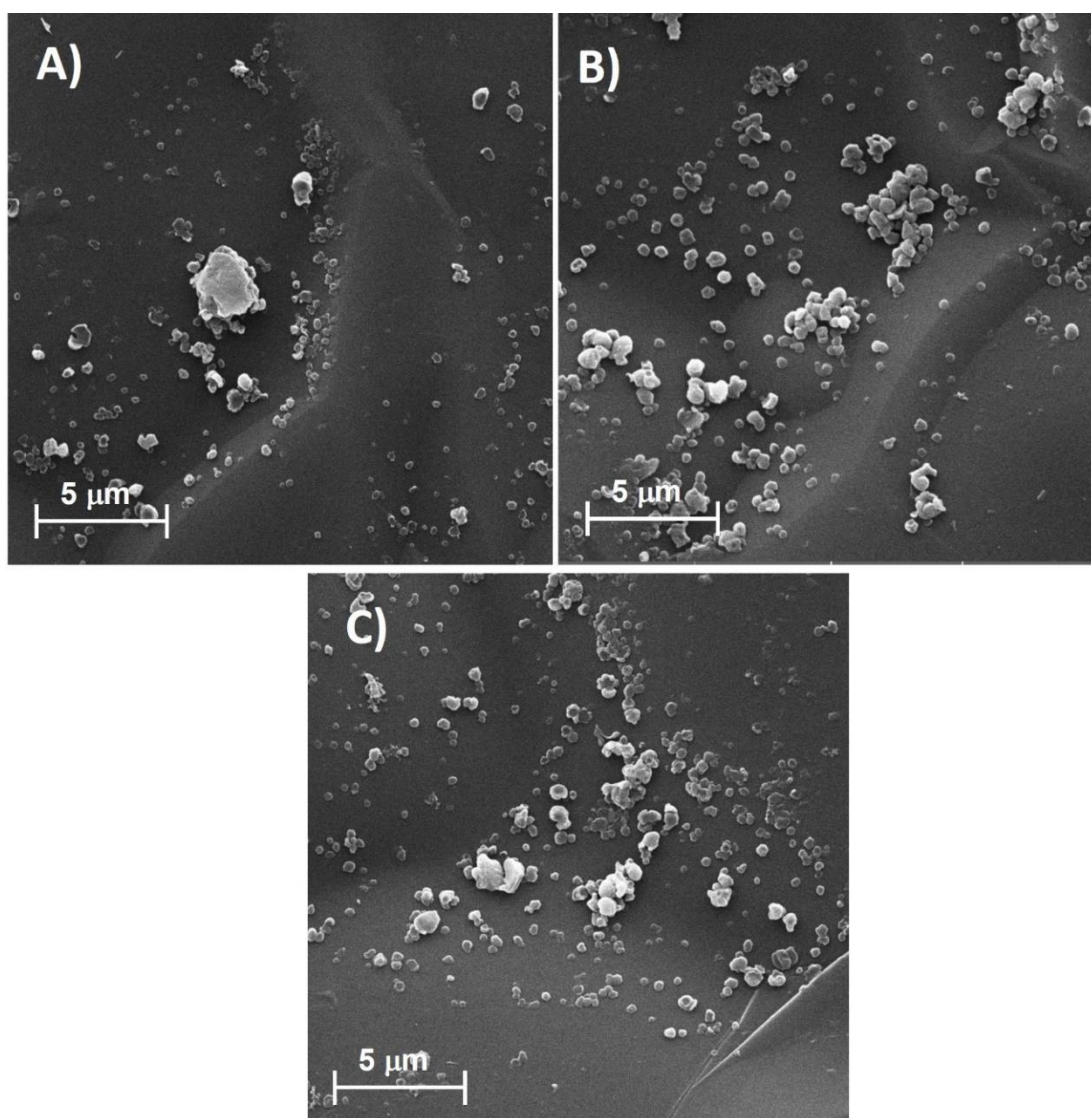
Não foram observadas mudanças significativas nos espectros após a ciclagem em potencial com KOH. Bandas relacionadas a grupos oxigenados devido a uma possível superoxidação não foram visualizadas. Mondal *et al.* (MONDAL; SANGARANARAYANAN, 2016) também não observaram presença de bandas

relacionadas a inserção de novos grupos funcionais após a superoxidação da polianilina, as mudanças foram apenas na intensidade de algumas bandas. Segundo os autores, a superoxidação da polianilina pode ser devido apenas de mudanças eletrônicas, sem a formação de novos grupos funcionais.

5.2.9 Caracterização morfológica dos eletrodos de GS/PTB-KOH

Análises morfológicas utilizando MEV e AFM foram realizadas para caracterização das superfícies antes e após a modificação com os filmes de PTB. As superfícies GS, GS/PTB e GS/PTB-KOH analisadas por MEV são apresentadas na Figura 60.

Figura 60 – Imagens de MEV de (A) GS (B) GS/PTB (C) GS/PTB-KOH. Magnificação de 10000x.

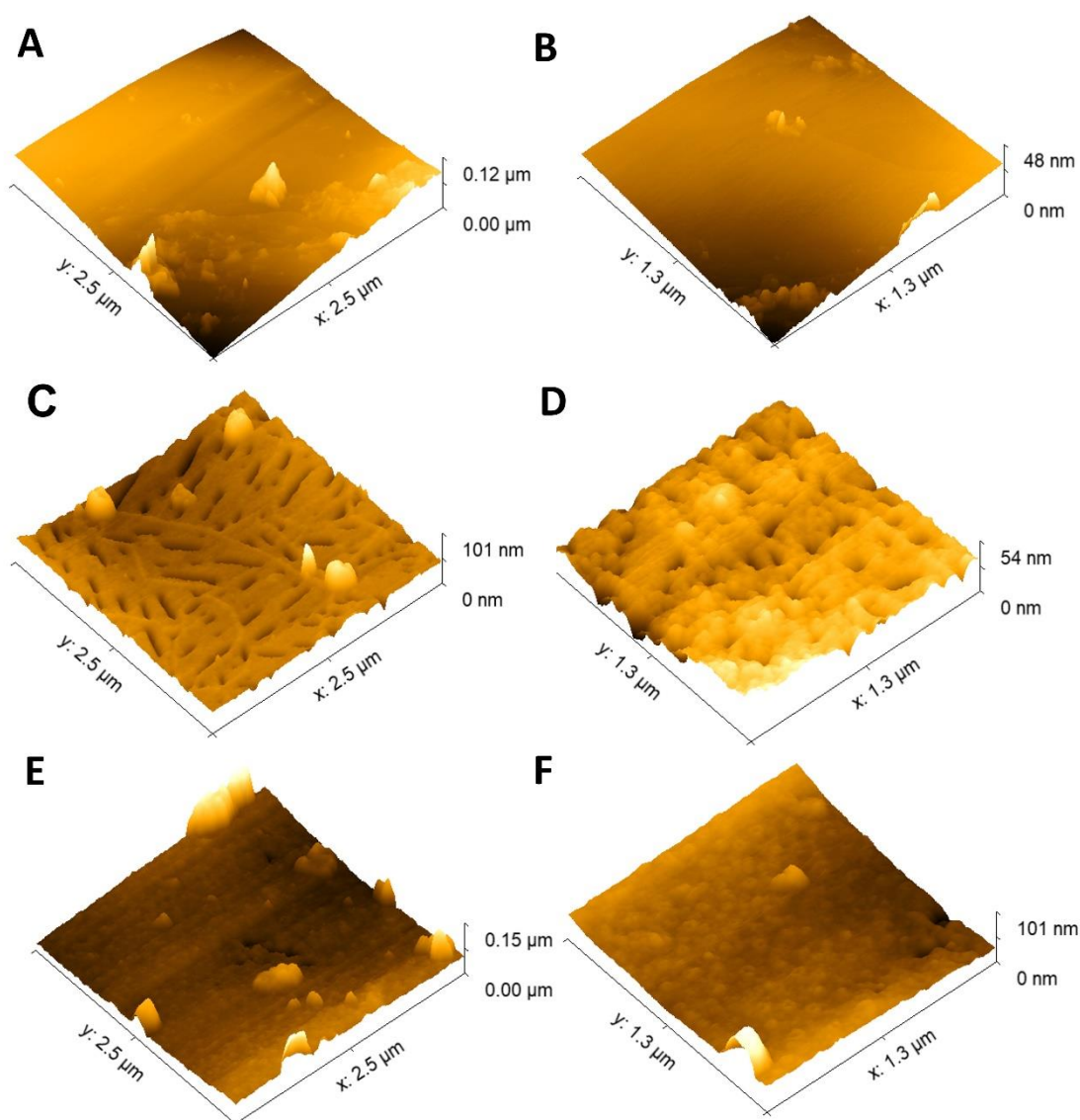


Fonte: A autora (2022).

Assim como observado para os filmes de PMB, verificou-se que o crescimento dos filmes de PTB também não causou alterações morfológicas em comparação a GS não modificada. Novamente, isso pode ser atribuído a pequena espessura dos filmes de PTB, o que dificulta sua visualização por MEV.

Experimentos por AFM também foram realizados nas superfícies de GS/PTB e GS/PTB-KOH (Figura 61).

Figura 61 – Imagens de AFM da GS (A,B), GS/PTB (C,D) e GS/PTB-KOH (E,F).



Fonte: A autora (2022).

O eletrodo GS/PTB (Figura 61C e 61D) apresentou uma superfície rugosa, o que confirma o recobrimento da superfície da GS pelo PMB. Após as varreduras de potencial em KOH (Figura 61E e 61F) podemos observar que a superfície foi suavizada e apresentou uma estrutura mais compacta. Eom *et al.* (EOM *et al.*, 2019) relataram o mesmo comportamento após submeter filmes de polipirrol a sucessivas varreduras de potencial em meio alcalino. Os autores discutiram que partes fracamente ligadas na estrutura polimérica foram destacadas da superfície do eletrodo, durante o tratamento básico, resultando em um filme de menor espessura. Sasso *et al.* (SASSO *et al.*, 2013) também relataram que a superoxidação reduz a rugosidade do filme de polipirrol, afetando assim a sua porosidade. Segundo os autores, mesmo que a superoxidação resulte em um filme menos condutor, a diminuição da espessura do filme reduz a distância entre o analito dissolvido e o substrato condutor, favorecendo a transferência eletrônica. Desta forma, a superoxidação do filme de PTB poderia ter dois efeitos benéficos para a quantificação da TRYP, a intensificação das interações eletrostáticas e por ligações de hidrogênio e o favorecimento da transferência eletrônica devido a diminuição da espessura do filme polimérico. O efeito combinado destes dois fatores justificaria os limites de detecção bastante baixos obtidos para a TRYP.

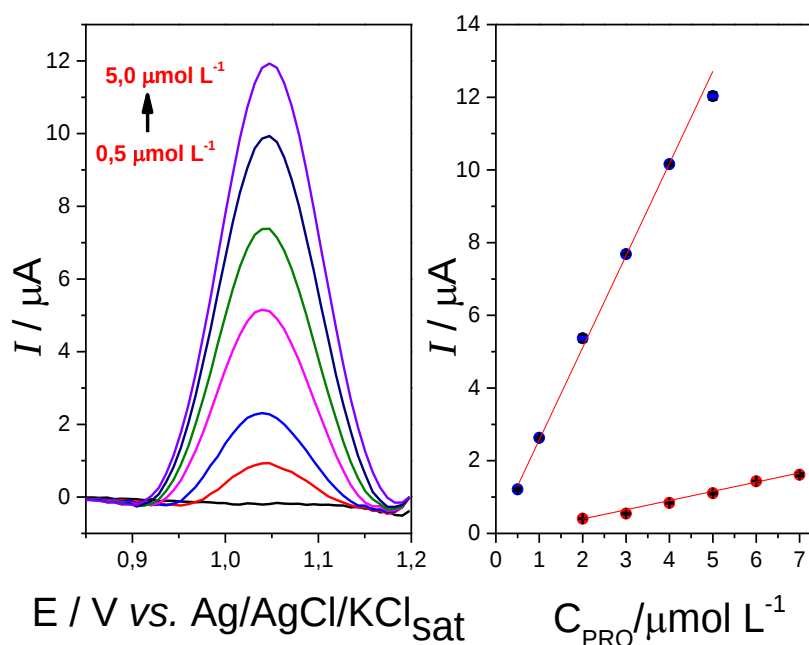
5.2.10 Avaliação do comportamento voltamétrico de espécies catiônicas sobre os eletrodos de GS/PTB-KOH

Com o objetivo de investigar o efeito da etapa do tratamento em solução de KOH frente a outras espécies catiônicas e assim estender a aplicação, o desempenho analítico do eletrodo GS/PTB-KOH foi avaliado para dois analitos modelo: (1) procaína (pKa 8,95) (LEI *et al.*, 2000) em tampão acetato pH 5,3 e (2) lidocaína (pKa 7,9) (BERGSTRÖM; LUTTMAN; ARTURSSON, 2004) em tampão fosfato pH 7,2. Após investigações iniciais por voltametria cíclica, utilizou-se a técnica de SWV para quantificação de PRO e LID nos eletrodos GS não modificado e GS/PTB-KOH. É importante mencionar que quando o eletrodo GS/PTB foi utilizado sem o tratamento prévio em KOH, não foram observados picos de oxidação nos voltamogramas cíclicos para LID e PRO, assim como foi observado nos estudos para TRYP.

5.2.10.1 Curva de calibração para a procaína

Utilizando os parâmetros otimizados para a SWV (frequência de aplicação do pulso de potencial: 100 Hz; amplitude de pulso de potencial: 50 mV; incremento de potencial: 8 mV e tempo de agitação: 60 s), foram realizados estudos para a construção da curva de calibração para a PRO (Figura 62). A Tabela 6 apresenta os parâmetros analíticos obtidos a partir das curvas de calibração.

Figura 62 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodos GS/PMB-KOH após sucessivas adições (0,5-5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de PRO ($n = 3$). (B) Curvas de calibração obtidas com GS (●) e GS/PTB-KOH (●). Eletrólito de suporte: tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,3), $f = 100$ Hz, $\alpha = 50$ mV, $\Delta E = 8$ mV, 60 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

Tabela 6 – Parâmetros analíticos obtidos a partir das curvas de calibração para procaína usando o eletrodo GS/PTB-KOH e GS não modificado.

Eletrodo	FL ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Inclinação ($\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$)	R^2	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
GS/PTB-KOH	0,5-5,0	2,53	0,998	0,011	0,038
GS	2,0-7,0	0,254	0,993	0,144	0,482

Fonte: A autora (2022).

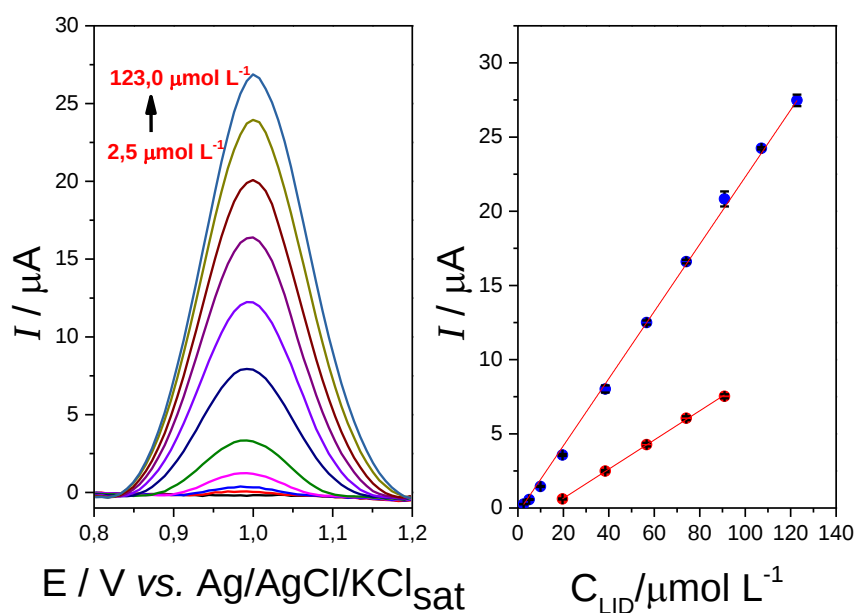
A partir dos dados apresentados na Tabela 6 podemos observar diferentes faixas lineares, o primeiro ponto do intervalo linear foi substancialmente inferior para o eletrodo GS/PTB-KOH em comparação ao eletrodo não modificado. Quanto aos

valores de sensibilidade, representados pela inclinação da curva analítica, foi observado um aumento de aproximadamente 10 vezes para o eletrodo GS/PTB-KOH, que reflete uma melhora na detecção de procaína. Analisando o limite de detecção e quantificação é possível concluir que o eletrodo GS/PTB-KOH apresentou valores mais baixos. Assim, o desempenho analítico dos eletrodos de GS/PTB-KOH foi acentuadamente superior ao desempenho do eletrodo de GS sem modificação.

5.2.10.2 Curva de calibração para a lidocaína

Utilizando os parâmetros otimizados para a SWV (frequência de aplicação do pulso de potencial: 100 Hz; amplitude de pulso de potencial: 50 mV; incremento de potencial: 8 mV e tempo de agitação: 15 s), foram realizados estudos para a construção de uma curva de calibração para a lidocaína. A Figura 63 apresenta a curva de calibração obtida a partir dos voltamogramas apresentados e a Tabela 7 os parâmetros analíticos correspondentes.

Figura 63 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodos GS/PMB-KOH após sucessivas adições (2,5-123,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de LID ($n = 3$). (B) Curvas de calibração obtidas com GS (●) e GS/PTB-KOH (●). Eletrólito de suporte: tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,2), $f = 100$ Hz, $a = 50$ mV, $\Delta E = 8$ mV, 15 s de agitação.



Fonte: A autora (2022).

Tabela 7 – Parâmetros analíticos obtidos a partir das curvas de calibração para lidocaína usando o eletrodo GS/PTB-KOH e GS não modificado.

Eletrodo	FL ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Inclinação ($\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$)	R^2	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
GS/PTB-KOH	2,5-123,0	0,226	0,996	0,130	0,450
GS	20,0-91,0	0,098	0,999	0,379	1,262

Fonte: A autora (2022).

Assim como observado para a procaína, os resultados apresentados na Tabela 7 mostraram que o eletrodo GS/PTB-KOH apresentou melhor desempenho analítico para a LID comparado ao eletrodo não modificado. O eletrodo GS/PTB-KOH apresentou maior linearidade com o primeiro ponto do intervalo linear consideravelmente inferior comparado ao eletrodo não modificado, sensibilidade duas vezes maior, além de limites de detecção e quantificação mais baixos.

Diante desses resultados, é plausível inferir que a melhora da resposta voltamétrica para esses analitos pode ser resultado de uma superoxidação do filme de PTB devido a inserção de grupos ricos em elétrons no filme de PTB. Esses grupos poderiam pré-concentrar moléculas carregadas positivamente na superfície do eletrodo, levando a uma melhor sensibilidade e detectabilidade. É válido mencionar também a possibilidade de se formarem ligações de hidrogênio entre átomos de oxigênio do filme de PTB superoxidado e átomos de hidrogênio do grupo amino da procaína e lidocaína. Portanto, a abordagem descrita aqui é uma alternativa promissora para fabricar sensores eletroquímicos baratos (descartáveis), fáceis de produzir e de alto desempenho, cujas aplicações podem ser estendidas a outros analitos.

5.2.11 Conclusões parciais

Na Parte 2 dessa tese, observou-se que mudanças nas soluções eletrolíticas associadas com ciclagens potenciais afetam comportamento eletroquímico dos filmes de PTB. Voltamogramas cíclicos revelaram maiores correntes para TRYP quando varreduras sucessivas de potencial em uma solução de KOH 0,1 mol L⁻¹ foram realizadas. Alterações morfológicas também foram observadas após este procedimento. Para se adequar aos métodos de quantificação de TRYP em amostras de queijo, a determinação dessa espécie foi realizada em tampão acetato (pH 5,3). O sensor desenvolvido apresentou um aumento na sensibilidade para determinação de TRYP, PRO e LID além de resultar em menores limites de detecção. O eletrodo GS/PTB-KOH foi usado com êxito para quantificar TRYP em amostras queijo. Portanto, pode-se concluir que a eletropolimerização de azul de toluidina em folhas de grafite mostrou-se como uma estratégia promissora capaz de viabilizar a quantificação de TRYP de forma rápida, simples e barata utilizando um eletrodo de baixo custo que poderia ser usado como um sensor descartável.

6 CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Na Parte 1 dessa tese foi desenvolvido um sensor usando folha de grafite modificada por eletropolimerização do corante azul de metileno. O sensor proposto foi aplicado para determinação de nitrofurantoína em amostras de urina e água de abastecimento e apresentou alta estabilidade e boa seletividade.

Na Parte 2 da tese, foi desenvolvido um eletrodo baseado na eletropolimerização do corante azul de toluidina em folha de grafite. O sensor desenvolvido apresentou aumento na sensibilidade para determinação de TRYP, PRO e LID além de resultar em menores limites de detecção. O eletrodo foi aplicado com sucesso para quantificar TRYP em amostras de queijo.

A simplicidade, o baixo custo e a possibilidade de projetar os eletrodos GS/PMB e GS/PTB como sensores eletroquímicos descartáveis são os principais avanços proporcionados por este trabalho. Além disso, o baixo custo das folhas de grafite permite o desenvolvimento de sensores eletroquímicos modificados mesmo em laboratórios com limitações de infraestrutura e de recursos financeiros.

Com base na experiência adquirida, e considerando a flexibilidade, leveza, condutividade e propriedades de superfície das folhas de grafite, além do grande número de corantes que podem ser eletropolimerizados nas superfícies dos eletrodos (verde de metileno, tionina, vermelho neutro, entre outros), esta abordagem pode levar à fabricação de vários dispositivos flexíveis e descartáveis para solucionar diferentes problemas analíticos. Uma outra possibilidade é a replicação do procedimento para desenvolvimento de biossensores descartáveis explorando também a possibilidade de miniaturização e portabilidade desses sistemas.

Os estudos desenvolvidos nesta tese permitem definir uma continuidade da pesquisa, como por exemplo, caracterização do material obtido por XPS para avaliar presença de oxigênio após a superoxidação e por espectroscopia de impedância eletroquímica que fornece informações sobre a resistência à transferência de carga dos eletrodos modificados.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, Ralph N. Carbon Paste Electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 30, n. 9, p. 1576–1576, 1958.
- AGRISUELAS, Jerônimo et al. Ageing Effect on the Electrochemical Properties in Poly(Azure A) Films. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 164, n. 9, p. 593–602, 2017.
- AGRISUELAS, Jerônimo. et al. Ionic and free solvent motion in poly(azure A) studied by ac -electrogravimetry. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 115, n. 22, p. 11132–11139, 2011.
- AHMADI-KASHANI, Mina; DEHGHANI, Hossein. A new electrochemical sensing platform based on HgS/graphene composite deposited on the glassy carbon electrode for selective and sensitive determination of propranolol. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 194, p. 113653, 2021.
- AJAMI, Narges et al. Electrochemical properties, optical modeling and electrocatalytic activity of pulse-electropolymerized ternary nanocomposite of poly (methylene blue) in aqueous solution. **Journal of Molecular Liquids**, v. 215, p. 24–30, 2016.
- ALEIXO, Luiz Manoel. Voltametria: conceitos e técnicas. **Revista Chemkeys**, n. 3, p. 1–21, 2003.
- ALFARO, Marco Antonio Q. et al. Boron doped diamond electrode for the wastewater treatment. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, p. 227–236, 2006.
- AL-HASHIMI, Baraa R. et al. Inner filter effect as a sensitive sensing platform for detection of nitrofurantoin using luminescent drug-based carbon nanodots. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 244, p. 118835, 2021.
- ANWAR, Zanib; KAUSAR, Ayesha; MUHAMMAD, Bakhtiar. Polymer and Graphite-Derived Nanofiller Composite: An Overview of Functional Applications. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 55, n. 16, p. 1765-1784, 2016.
- AOAC Official Methods of Analysis. **International Official Methods of Analysis**. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. p. 1–18, 2019.

ASADIAN, Elham; GHALKHANI, Masoumeh; SHAHROKHIAN, Saeed. Electrochemical sensing based on carbon nanoparticles: A review. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 293, p. 183–209, 2019.

AYDOĞDU, Gözde *et al.* A novel electrochemical DNA biosensor based on poly-(5-amino-2-mercapto-1, 3,4-thiadiazole) modified glassy carbon electrode for the determination of nitrofurantoin. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 197, p. 211–219, 2014.

BALAMURUGAN, Muthukutty *et al.* Simultaneous electrochemical determination of nitrofurantoin and nifedipine with assistance of needle-shaped perovskite structure: barium stannate fabricated glassy carbon electrode. **Microchimica Acta**, v. 188, n. 1, p. 1–13, 2021.

BARD, Allen J.; FALKNER, Larry R. **Electrochemical Methods Fundamentals and applications**. 2. ed. John Wiley & Sons, 2001.

BARSAN, Madalina M.; PINTO, Edilson M.; BRETT, Christopher M.A. Electrosynthesis and electrochemical characterisation of phenazine polymers for application in biosensors. **Electrochimica Acta**, v. 53, n. 11, p. 3973–3982, 2008.

BARSAN, Madalina M.; PINTO, Edilson M.; BRETT, Christopher M.A. Methylene blue and neutral red electropolymerisation on AuQCM and on modified AuQCM electrodes: an electrochemical and gravimetric study. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, n. 12, p. 5462–5471, 2011.

BERGSTRÖM, Christel A.S.; LUTTMAN, Kristina; ARTURSSON, Per. Accuracy of calculated pH-dependent aqueous drug solubility. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 22, n. 5, p. 387–398, 2004.

BÎRU, Elena Iuliana; IOVU, Horia. Graphene Nanocomposites Studied by Raman Spectroscopy. **Raman Spectroscopy**. IntechOpen, 2018.

BOND, Alan M. *et al.* An inexpensive and renewable pencil: Electrode for use in field-based stripping voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 345, n. 1–3, p. 67–74, 1997.

CABRAL, M. F. *et al.* Square wave voltammetric study of the electrochemical behavior of the herbicide ametryne. **Ecletica Quimica**, v. 28, n. 2, p. 41–47, 2003.

CAI, Chen Xin; XUE, Kuan Hong. Electrochemical polymerization of toluidine blue o and its electrocatalytic activity toward NADH oxidation. **Talanta**, v. 47, n. 5, p. 1107–1119, 1998.

CAMARGO, Jéssica R. *et al.* Waterproof paper as a new substrate to construct a disposable sensor for the electrochemical determination of paracetamol and melatonin. **Talanta**, v. 208, p. 120458, 2020.

CAÑABATE-DÍAZ, Beatriz *et al.* Determination of the amino acid tryptophan and the biogenic amine tryptamine in foods by the heavy atom induced-room temperature phosphorescence methodology. **Analyst**, v. 128, n. 4, p. 411–415, 2003.

CARDOSO, Rafael M. *et al.* 3D printing for electroanalysis: From multiuse electrochemical cells to sensors. **Analytica Chimica Acta**, v. 1033, p. 49–57, 2018.

CERNAT, Andreea *et al.* Electrochemical sensors based on carbon nanomaterials for acetaminophen detection: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 886, p. 16-28, 2015.

CHAKKARAPANI, Lakshmi Devi; BRANDL, Martin. Carbon Screen-Printed Electrode Coated with Poly (Toluidine blue) as an Electrochemical Sensor for the Detection of Tyramine. **Engineering Proceedings**, v. 2, n. 1, p. 51, 2020.

CHEHREH CHELGANI, S. *et al.* A Review of Graphite Beneficiation Techniques. **Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review**, v. 37, n. 1, p. 58–68, 2016.

CLEMATIS, Davide; PANIZZA, Marco. Application of boron-doped diamond electrodes for electrochemical oxidation of real wastewaters. **Current Opinion in Electrochemistry**, v. 30, p. 100844, 2021.

COSTA, Daniel J.E. *et al.* Determination of tryptamine in foods using square wave adsorptive stripping voltammetry. **Talanta**, v. 154, p. 134–140, 2016.

COWLARD, F. C.; LEWIS, J. C. Vitreous carbon - A new form of carbon. **Journal of Materials Science**, v. 2, n. 6, p. 507–512, 1967.

DA SILVA, José Luiz *et al.* Non-enzymatic lactose molecularly imprinted sensor based on disposable graphite paper electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 1143, p. 53–64, 2021.

DAĞCI, Kader; ALANYALIOĞLU, Murat. Surface-Confined Electropolymerization of Methylene Blue on Gold Electrodes. **Electroanalysis**, v. 23, n. 3, p. 777-783, 2011.

DAI, Juan *et al.* Amperometric nitrite sensor based on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes and poly(toluidine blue). **Microchimica Acta**, v. 183, n. 5, p. 1553–1561, 2016.

DANG, Yuan *et al.* A novel electrochemical sensor for the selective determination of hydroquinone and catechol using synergic effect of electropolymerized nicotinic acid film and Cd-doped ZnWO₄ nanoneedle. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 834, p. 196–205, 2019.

DANIEL COLLINS, John *et al.* Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. **EFSA Journal**, v. 9, n. 10, p. 2393, 2011.

DE LIMA-NETO, Pedro *et al.* Square wave voltammetric determination of nitrofurantoin in pharmaceutical formulations on highly boron-doped diamond electrodes at different boron-doping contents. **Talanta**, v. 80, n. 5, p. 1730–1736, 2010.

DE OLIVEIRA, Luiz Henrique; TRINDADE, Magno Aparecido G. Baseline-Corrected Second-Order Derivative Electroanalysis Combined with Ultrasound-Assisted Liquid-Liquid Microextraction: Simultaneous Quantification of Fluoroquinolones at Low Levels. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 12, p. 6554–6562, 2016.

DE SOUZA, Djenaine; MACHADO, Sergio A.S; AVACA, Luis A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química nova**, v. 26, p. 81-89, 2003.

DEL RIO, Beatriz *et al.* The biogenic amine tryptamine, unlike β -phenylethylamine, shows in vitro cytotoxicity at concentrations that have been found in foods. **Food Chemistry**, v. 331, p. 127303, 2020.

DEMIRBAKAN, Burçak; KEMAL SEZGINTÜRK, Mustafa. A novel ultrasensitive immunosensor based on disposable graphite paper electrodes for troponin T detection in cardiovascular disease. **Talanta**, v. 213, p. 120779, 2020.

DEMIRTAS, Cigdem *et al.* Electrochemical Determination of Phenazopyridine Hydrochloride using Poly(p-Aminobenzene Sulfonic Acid) Film Modified Glassy Carbon Electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 10, p. 1883–1892, 2015.

DEVKOTA, Lavaraj *et al.* Electrochemical determination of tetracycline using AuNP-coated molecularly imprinted overoxidized polypyrrole sensing interface. **Electrochimica Acta**, v. 270, p. 535–542, 2018.

DIAZ, Arturo. F.; KANAZAWA, K. Keiji; GARDINI, Gian Piero. Electrochemical polymerization of pyrrole. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 14, p. 635–636, 1979.

DIAZ, Arthur. F.; LOGAN John Anthony. Electroactive polyaniline films. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 111, n. 1, p. 111–114, 1980.

DILGIN, Yusuf *et al.* Photoelectrocatalytic determination of NADH in a flow injection system with electropolymerized methylene blue. **Electrochimica Acta**, v. 56, n. 3, p. 1138–1143, 2011.

EHSANI, Maryam *et al.* Sensitive monitoring of doxorubicin in plasma of patients, MDA-MB-231 and 4T1 cell lysates using electroanalysis method. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 192, p. 113701, 2021.

ELGRISHI, Noémie *et al.* A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 95, n. 2, p. 197–206, 2018.

EOM, Gayoung *et al.* Highly sensitive and selective detection of dopamine using overoxidized polypyrrole/sodium dodecyl sulfate-modified carbon nanotube electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 848, p. 113295, 2019.

ERÇARIKCI, Elif *et al.* Electrochemical preparation of poly(methylene blue)/graphene nanocomposite thin films. **Materials Research Bulletin**, v. 55, p. 95–101, 2014.

ESOKKIYA, Anthonysamy *et al.* Poly(methylene blue)-Based Electrochemical Platform for Label-Free Sensing of Acrylamide. **ACS Omega**, v. 6, n. 14, p. 9528–9536, 2021.

FARGHALY, Osman A; HAMEED, R S Abdel; ABU-NAWWAS, Abd-Alhakeem H. Analytical Application Using Modern Electrochemical Techniques. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 9, n. 1, p. 3287-3318, 2014.

FERRARI, Andrea C.; BASKO, Denis M. Raman spectroscopy as a versatile tool for studying the properties of graphene. **Nature Nanotechnology**, v. 8, n. 4, p. 235-246, 2013.

GALIAN, Raquel E.; VEGLIA, Alicia V.; DE ROSSI, Rita H. Cyclodextrin enhanced fluorimetric method for the determination of tryptamine. **The Analyst**, v. 123, n. 7, p. 1587–1591, 1998.

GAO, Yudong *et al.* A simple method for determination of urapidil at a glassy carbon electrode modified with poly(sodium4-styrenesulfonate) functionalized graphene. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 99, n. 14, p. 1471-1483, 2019.

GAO, Zhiqiang; MINXIAN, Zi; BESHEN, Chen. The influence of overoxidation treatment on the permeability of polypyrrole films. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 373, n. 1–2, p. 141–148, 1994.

GHOLIVAND, Mohammad Bagher; AHMADI, Elahe; HASELI, Mozhdeh. A novel voltammetric sensor for nevirapine, based on modified graphite electrode by MWCNs/poly(methylene blue)/gold nanoparticle. **Analytical Biochemistry**, v. 527, p. 4–12, 2017.

GIRIBABU, Krishnamoorthy *et al.* Nanomolar determination of 4-nitrophenol based on a poly(methylene blue)-modified glassy carbon electrode. **Analyst**, v. 138, n. 19, p. 5811–5818, 2013.

GONG, Xiao *et al.* Ultra-performance convergence chromatography (UPC2) method for the analysis of biogenic amines in fermented foods. **Food Chemistry**, v. 162, p. 172–175, 2014.

GORLE, Demudu Babu; KULANDAINATHAN, Manickam Anbu. Electrochemical sensing of dopamine at the surface of a dopamine grafted graphene oxide/poly(methylene blue) composite modified electrode. **RSC Advances**, v. 6, n. 24, p. 19982–19991, 2016.

GOSETTI, F. *et al.* High performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry determination of biogenic amines in typical Piedmont cheeses. **Journal of Chromatography A**, v. 1149, n. 2, p. 151–157, 2007.

GRAYSON, Michael L. *et al.* **Kucers' The Use of Antibiotics**. 7. ed. CRC Press, 2017.

GUTH, Ulrich; VONAU, Winfried; ZOSEL, Jens. Recent developments in electrochemical sensor application and technology - A review. **Measurement Science and Technology**, v. 20, n. 4, 2009.

HAIDYRAH, Ahmed S. *et al.* Fabrication of functionalized carbon nanofibers/carbon black composite for electrochemical investigation of antibacterial drug nitrofurantoin. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 627, p. 127112, 2021.

HARRISON, Jane; LEWIS, D. A.; ANCILL, R. J. The spectrophotometric determination of nitrofurantoin in blood and urine. **The Analyst**, v. 98, n. 1163, p. 146, 1973.

HICHEM, Haffar; DJAMILA, Abdi; HANIA, Adnani. Optical, electrical and photoelectrochemical characterization of electropolymerized poly methylene blue on fluorine doped tin oxide conducting glass. **Electrochimica Acta**, v. 106, p. 69–74, 2013.

HOFELMANN, Kelaine C.G. Espectroscopia Raman por Transformada de Fourier e análise de molhabilidade nos filmes finos de carbono amorfo hidrogenado (a-C:H). 2013. **Dissertação (Mestrado em Física)**. Universidade do Estado de Santa Catarina.

HUANG, Ke Jing *et al.* Enhanced sensing of dopamine in the present of ascorbic acid based on graphene/poly(p-aminobenzoic acid) composite film. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 88, n. 1, p. 310–314, 2011.

HUPERT, Matt *et al.* Conductive diamond thin-films in electrochemistry. **Diamond and Related Materials**, v. 12, n. 10–11, p. 1940–1949, 2003.

HWA, Kuo-Yuan; SHARMA, Tata Sanjay Kanna. Nano assembly of NiFe spheres anchored on f-MWCNT for electrocatalytic reduction and sensing of nitrofurantoin in biological samples. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2020.

INNOCENTE, Nadia. *et al.* Determination of biogenic amines in cheese using HPLC technique and direct derivatization of acid extract. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 1285–1289, 2007.

JIANG, Luyun; SANTIAGO, Ibon; FOORD, John. A comparative study of fouling-free nanodiamond and nanocarbon electrochemical sensors for sensitive bisphenol A detection. **Carbon**, v. 174, p. 390–395, 2021.

KALCHER, Kurt. *et al.* Sensors based on carbon paste in electrochemical analysis: A review with particular emphasis on the period 1990-1993. **Electroanalysis**, v. 7, n. 1, p. 5–22, 1995.

KANIYOOR, Adarsh; RAMAPRABHU, Sundara. A Raman spectroscopic investigation of graphite oxide derived graphene. **AIP Advances**, v. 2, n. 3, p. 032183, 2012.

KAPLAN, İbrahim Hakkı; DAĞCI, Kader; ALANYALIOĞLU, Murat. Nucleation and Growth Mechanism of Electropolymerization of Methylene Blue: The Effect of Preparation Potential on Poly(methylene blue) Structure. **Electroanalysis**, v. 22, n. 22, p. 2694–2701, 2010.

KARYAKIN, Arkady A. *et al.* The electrochemical polymerization of methylene blue and bioelectrochemical activity of the resulting film. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 32, n. 1, p. 35–43, 1993.

KARYAKIN, Arkady A; KARYAKINA, Elena E; SCHMIDT, Hanns-Ludwig. Electropolymerized Azines: A New Group of Electroactive Polymers. **Electroanalysis**, v. 11, n. 3, p. 149–155, 1999.

KATSNELSON, Mikhail I. Graphene: carbon in two dimensions, **Materials Today**, v. 10, p. 20–27, 2007.

KAWDE, Abdel Nasser; BAIG, Nadeem; SAJID, Muhammad. Graphite pencil electrodes as electrochemical sensors for environmental analysis: A review of features, developments, and applications. **RSC advances**, v. 6, n. 94, p. 91325-91340, 2016.

KISSINGER, Peter T.; HEINEMAN, William R. Cyclic voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 60, n. 9, p. 702, 1983.

KOKULNATHAN, Thangavelu; WANG, Tzyy-Jiann. Synthesis and characterization of 3D flower-like nickel oxide entrapped on boron doped carbon nitride nanocomposite: An efficient catalyst for the electrochemical detection of nitrofurantoin. **Composites Part B: Engineering**, v. 174, p. 106914, 2019.

KOVENTHAN, Chelliah *et al.* Highly sensitive electrode materials for the voltammetric determination of nitrofurantoin based on zinc cobaltate nanosheets. **New Journal of Chemistry**, v. 44, n. 28, p. 12036–12047, 2020.

KOYUN, Ozge; SAHIN, Yucel. Voltammetric determination of nitrite with gold nanoparticles/poly(methylene blue)-modified pencil graphite electrode: application in food and water samples. **Ionics**, v. 24, n. 10, p. 3187–3197, 2018.

KREJČOVÁ, Zuzana; BAREK, Jiří; VYSKOČIL, Vlastimil. Voltammetric Determination of Nitrofurantoin at a Mercury Meniscus Modified Silver Solid Amalgam Electrode. **Electroanalysis**, v. 27, n. 1, p. 185–192, 2015.

KRISHNAN, Rajasree G.; SARASWATHYAMMA, Beena. Murexide-derived in vitro electrochemical sensor for the simultaneous determination of neurochemicals. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 413, n. 27, p. 6803–6812, 2021.

KUMMARI, Shekher; SUNIL KUMAR, V.; VENGATAJALABATHY GOBI, K. Facile Electrochemically Reduced Graphene Oxide-Multi-walled Carbon Nanotube Nanocomposite as Sensitive Probe for *in-vitro* Determination of Nitrofurantoin in Biological Fluids. **Electroanalysis**, v. 32, n. 11, p. 2452–2462, 2020.

KVASNIČKA, František; VOLDŘICH, Michal. Determination of biogenic amines by capillary zone electrophoresis with conductometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1103, n. 1, p. 145–149, 2006.

LEI, Lihong *et al.* A Novel Ion-Selective Sensor for Procaine Hydrochloride Based on a Piezoelectric Quartz Crystal Coated with a Procaine Tetraphenylborate PVC Membrane. **Microchimica Acta** **2000 134:1**, v. 134, n. 1, p. 63–67, 2000.

LINARES, Daniel M. *et al.* Biogenic Amines in Dairy Products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 7, p. 691–703, 2011.

LIU, Yueling *et al.* Thiol-functionalized reduced graphene oxide as self-assembled ion-to-electron transducer for durable solid-contact ion-selective electrodes. **Talanta**, v. 208, 2020.

LIU, Jincui; MU, Shaolin. Electrochemical polymerization of methylene blue and properties of polymethylene blue. **Synthetic Metals**, v. 107, n. 3, p. 159–165, 1999.

LOURENÇO, Anabel S. *et al.* Simultaneous Voltammetric Determination of Tryptamine and Histamine in Wines Using a Carbon Paste Electrode Modified with Nickel Phthalocyanine. **Food Analytical Methods**, v. 15, n. 12, p. 3257–3269, 2022.

LOWINSOHN, Denise *et al.* Disposable Gold Electrodes with Reproducible Area Using Recordable CDs and Toner Masks. **Electroanalysis**, v. 18, n. 1, p. 89–94, 2006.

LOWMUNKHONG, Pongsak; UNGTHARARAK, Dusit; SUTTHIVAIYAKIT, Pakawadee. Tryptamine as a corrosion inhibitor of mild steel in hydrochloric acid solution. **Corrosion Science**, v. 52, n. 1, p. 30–36, 2010.

MADHUSUDHANA *et al.* Bismuth-nanoparticles decorated multi-wall-carbon-nanotubes cast-coated on carbon paste electrode; an electrochemical sensor for sensitive determination of Gallic Acid at neutral pH. **Materials Science for Energy Technologies**, v. 3, p. 174-182, 2020.

MANASA, G. *et al.* Facile preparation of poly(methylene blue) modified carbon paste electrode for the detection and quantification of catechin. **Materials Science and Engineering C**, v. 73, p. 552–561, 2017.

MARINHO, Maria Inês Costa; CABRAL, Murilo Feitosa; MAZO, Luiz Henrique. Is the poly (methylene blue)-modified glassy carbon electrode an adequate electrode for the simple detection of thiols and amino acid-based molecules?. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 685, p. 8–14, 2012.

MASIKINI, Milua *et al.* Electrochemical Sensor Based on Multi-walled Carbon Nanotube/Gold Nanoparticle Modified Glassy Carbon Electrode for Detection of Estradiol in Environmental Samples. **Electroanalysis**, v. 31, n. 10, p. 1925–1933, 2019.

MAŽEIKIENE, Regina. *et al.* Raman spectroelectrochemical study of electrode processes at Neutral red- and poly(Neutral red) modified electrodes. **Vibrational Spectroscopy**, v. 51, n. 2, p. 238–247, 2009.

MAŽEIKIENE, Regina *et al.* Raman spectroelectrochemical study of Toluidine Blue, adsorbed and electropolymerized at a gold electrode. **Vibrational Spectroscopy**, v. 47, n. 2, p. 105–112, 2008.

MAZZUCCO, Eleonora *et al.* High-Performance Liquid Chromatography–Ultraviolet Detection Method for the Simultaneous Determination of Typical Biogenic Amines and Precursor Amino Acids. Applications in Food Chemistry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 1, p. 127–134, 2010.

MCCALLA, D. R. Mutagenicity of nitrofurantoin derivatives: Review. **Environmental Mutagenesis**, v. 5, n. 5, p. 745–765, 1983.

MCKINNELL, James A. *et al.* Nitrofurantoin compares favorably to recommended agents as empirical treatment of uncomplicated urinary tract infections in a decision and cost analysis. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 86, n. 6, p. 480–488, 2011.

MENG, Xue *et al.* A molecularly imprinted electrochemical sensor based on gold nanoparticles and multiwalled carbon nanotube–chitosan for the detection of tryptamine. **RSC Advances**, v. 4, n. 73, p. 38649–38654, 2014.

MERKOÇI, Arben *et al.* New materials for electrochemical sensing VI: Carbon nanotubes. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 9, p. 826–838, 2005.

MILLER, James; MILLER, Jane C. **Statistic and chemometrics for analytical chemistry**. 6. ed. Gosport: Pearson Education, 2010.

MONDAL, Subrata; SANGARANARAYANAN, M. v. Permselectivity and thickness-dependent ion transport properties of overoxidized polyaniline: a mechanistic investigation. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 44, p. 30705–30720, 2016.

MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 1882–1886, 1975.

NAKAMURA, Sachiko *et al.* Characterization of Pyrolytic Graphite Sheet: A New Type of Adsorption Substrate for Studies of Superfluid Thin Films. **Journal of Low Temperature Physics**, v. 192, n. 5, p. 330–345, 2018.

NAKAMURA, Sachiko *et al.* Low temperature transport properties of pyrolytic graphite sheet. **Cryogenics**, v. 86, p. 118–122, 2017.

NAKTHONG, Prangthip *et al.* Development of an unmodified screen-printed graphene electrode for nonenzymatic histamine detection. **Analytical Methods**, v. 12, n. 44, p. 5407–5414, 2020.

NASCIMENTO, Valberes B.; ANGNES, Lúcio. Eletrodos fabricados por “silk-screen”. **Química Nova**, v. 21, p. 614-629, 1998

NAUJOK, Roberta R.; DUEVEL, Robert V.; CORN, Robert M. Fluorescence and Fourier Transform Surface-Enhanced Raman Scattering Measurements of Methylene Blue Adsorbed onto a Sulfur-Modified Gold Electrode. **Langmuir**, v. 9, n. 7, p. 1771–1774, 1993.

NICOLAI, Silvia H.A.; RUBIM, Joel C. Surface-enhanced resonance Raman (SERR) spectra of methylene blue adsorbed on a silver electrode. **Langmuir**, v. 19, n. 10, p. 4291–4294, 2003.

NOVELLI, Andrea; ROSI, Elia. Pharmacological properties of oral antibiotics for the treatment of uncomplicated urinary tract infection. **Journal of Chemotherapy**, v. 29, p. 10–18, 2017.

OLIVEIRA, André G; MUNOZ, Rodrigo Alejandro A; ANGNES, Lúcio. Disposable graphite foil based electrodes and their application in pharmaceutical analysis. **Electroanalysis**, v. 22, n. 12, p. 1290–1296, 2010.

ØYE, Britt Elin; COUILLARD, Felicia Dawn; VALDERSNES, Stig. Complete validation according to current international criteria of a confirmatory quantitative method for the determination of nitrofurantoin metabolites in seafood by liquid chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 300, p. 125175, 2019.

ÖZCAN, Ali; TOPÇUOĞULLARI, Duygu; ATILIR ÖZCAN, Ayça. Fenitrothion sensing with reduced graphene oxide decorated fumed silica nanocomposite modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 284, p. 179–185, 2019.

PACHECO, Wagner. F. *et al.* Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013.

PAIOLA, Isabela. F. *et al.* Miniaturizing an electrochemical cell on a cyclic voltammetry didactic experiment: Saving chemicals and minimizing waste generation. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p. 953–973, 2017.

PALANISAMY, Selvakumar *et al.* A Facile Electrochemical Preparation of Reduced Graphene Oxide@Polydopamine Composite: A Novel Electrochemical Sensing Platform for Amperometric Detection of Chlorpromazine. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1–9, 2016.

PANDEY, Indu; BAIRAGI, Pallab Kumar; VERMA, Nishith. Electrochemically grown polymethylene blue nanofilm on copper-carbon nanofiber nanocomposite: An electrochemical sensor for creatinine. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 277, p. 562–570, 2018.

PAULIUKAITE, Rasa *et al.* Phenazines and polyphenazines in electrochemical sensors and biosensors. **Analytical Letters**, v. 43, n. 10–11, p. 1588–1608, 2010.

PAULIUKAITE, Rasa; BRETT, Christopher M.A. Poly(neutral red): Electrosynthesis, Characterization, and Application as a Redox Mediator. **Electroanalysis**, v. 20, n. 12, p. 1275–1285, 2008.

PRADELA-FILHO, Lauro A. *et al.* Glass varnish-based carbon conductive ink: A new way to produce disposable electrochemical sensors. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 305, p. 127433, 2020.

PRADELA-FILHO, Lauro A. *et al.* Thermoplastic electrodes as a new electrochemical platform coupled to microfluidic devices for tryptamine determination. **Analytica Chimica Acta**, v. 1147, p. 116–123, 2021.

RAHMAN, Md Aminur *et al.* Electrochemical sensors based on organic conjugated polymers. **Sensors**, v. 8, n. 1, p. 118-141, 2008.

RAMON-MARQUEZ, Teresa *et al.* Novel optical sensing film based on a functional nonwoven nanofibre mat for an easy, fast and highly selective and sensitive detection of tryptamine in beer. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 79, p. 600–607, 2016.

RIBEIRO, José. A. *et al.* Disposable electrochemical detection of breast cancer tumour marker CA 15-3 using poly(Toluidine Blue) as imprinted polymer receptor. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 109, p. 246–254, 2018.

ROSA, Tamires M. *et al.* Electrochemical cell designed for in situ integrate microextraction and electroanalysis: Trace-level determination of norfloxacin in aqueous samples. **Talanta**, v. 196, p. 39–46, 2019.

SAJID, Muhammad *et al.* Chemically modified electrodes for electrochemical detection of dopamine in the presence of uric acid and ascorbic acid: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 15-29, 2016.

SALGADO-FIGUEROA, Paola. *et al.* Sensitive Determination of Nitrofurantoin by Flow Injection Analysis Using Carbon Nanofiber Screen Printed Electrodes. **Electroanalysis**, v. 25, n. 6, p. 1433–1438, 2013.

SARDAREMELLI, Sanam *et al.* A novel bioassay for the monitoring of hydrogen peroxide in human plasma samples based on binding of horseradish peroxidase-conjugated prostate specific antigen to poly (toluidine blue) as imprinted polymer receptor. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 145, p. 311–324, 2020.

SASSO, Luigi *et al.* Doped overoxidized polypyrrole microelectrodes as sensors for the detection of dopamine released from cell populations. **Analyst**, v. 138, n. 13, p. 3651–3659, 2013.

SEGURO, Isabel *et al.* Electropolymerized, Molecularly Imprinted Polymer on a Screen-Printed Electrode – A Simple, Fast, and Disposable Voltammetric Sensor for Trazodone. **Sensors**, v. 22, n. 7, p. 2819, 2022.

SHI, Jinjin *et al.* Facile synthesis of reduced graphene oxide/hexagonal WO₃ nanosheets composites with enhanced H₂S sensing properties. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 230, p. 736–745, 2016.

SHIN LOW, Sze *et al.* Smartphone-based Portable Electrochemical Biosensing System for Detection of Circulating MicroRNA-21 in Saliva as a Proof-of-Concept. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 308, p. 127718, 2020.

SILVA, Luiz André J. *et al.* Evaluation of graphite sheets for production of high-quality disposable sensors. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 833, p. 560–567, 2019.

SILVA, Luiz André J. *et al.* Use of pyrolyzed paper as disposable substrates for voltammetric determination of trace metals. **Talanta**, v. 165, p. 33–38, 2017.

SINGHAL, Rahul *et al.* Langmuir-Blodgett films of poly(3-dodecyl thiophene) for application to glucose biosensor. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 86, n. 1, p. 42–48, 2002.

SOUSA, Maria De Fátima B.; DALLAN, Émerson José; BERTAZZOLI, Rodnei. Obtenção de um material adsorvente para íons de metais pesados, através da eletropolimerização de 2-mercaptobenzimidazol à superfície de carbono vítreo reticulado. **Química Nova**, v. 23, p. 326–330, 2000.

STEFANO, Jéssica S. *et al.* Different approaches for fabrication of low-cost electrochemical sensors. **Current Opinion in Electrochemistry**, v. 32, p. 100893, 2022.

SUN, Zhiyuan *et al.* Ratiometric electrochemical sensor for bisphenol A detection using a glassy carbon electrode modified with a poly(toluidine blue)/gold nanoparticle composite. **Analytical Methods**, v. 13, n. 42, p. 5085–5092, 2021.

SVANCARA, Ivan *et al.* **Electroanalysis with Carbon Paste Electrodes**. Boca raton: CRC Press, 2012.

TAJIK, Somayeh *et al.* Developments and applications of nanomaterial-based carbon paste electrodes. **RSC Advances**, v. 10, n. 36, p. 21561–21581, 2020.

TIWARI, Ashutosh; PATRA, Hirak K.; TURNER, Anthony P.F. **Advanced Bioelectronic Materials**. John Wiley & Sons, 2015.

TORRINHA, Álvaro *et al.* Biosensing based on pencil graphite electrodes. **Talanta**, v. 190, p. 235–247, 2018.

VELMURUGAN, Sethupathi *et al.* Ultrasonic assisted functionalization of MWCNT and synergistic electrocatalytic effect of nano-hydroxyapatite incorporated MWCNT-chitosan scaffolds for sensing of nitrofurantoin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 62, p. 104863, 2020.

VINOTH KUMAR, Jeyaraj *et al.* Design of novel 3D flower-like neodymium molybdate: An efficient and challenging catalyst for sensing and destroying pulmonary toxicity antibiotic drug nitrofurantoin. **Chemical Engineering Journal**, v. 346, p. 11–23, 2018.

WAGENLEHNER, Florian M.E.; NABER, Kurt G. Treatment of bacterial urinary tract infections: Presence and future. **European urology**, v. 49, n. 2, p. 235–244, 2006.

WANG, Gang; YU, Minghao; FENG, Xinliang. Carbon materials for ion-intercalation involved rechargeable battery technologies. **Chemical Society Reviews**, v. 50, n. 4, p. 2388–2443, 2021.

WANG, Joseph. **Analytical Electrochemistry**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, 2006.

WEESE, Moriah E. *et al.* Defect Sites Modulate Fouling Resistance on Carbon-Nanotube Fiber Electrodes. research-article. **ACS Sensors**, v. 4, n. 4, p. 1001–1007, 2019.

WIJMA, Rixt A. *et al.* Development and validation of a fast and sensitive UHPLC-DAD assay for the quantification of nitrofurantoin in plasma and urine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 174, p. 161–167, 2019.

WILASINEE, Duangrat; SUTTHIVAIYAKIT, Pakawadee; SUTTHIVAIYAKIT, Somyote. Determination of Nitrofurans in Chicken Feed by High-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 48, n. 13, p. 1979–1987, 2015.

WISLER, Mathis. Graphite and carbon powders for electrochemical applications. **Journal of power sources**, v. 156, n. 2, p. 142–150, 2006.

XIA, Chuanjun *et al.* Electrochemical Patterning of a Polyfluorene Precursor Polymer from a Microcontact Printed (μ CP) Monolayer. **Chemistry of Materials**, v. 16, n. 15, p. 2852–2856, 2004.

XIAO, Xiuli *et al.* An reagentless glucose biosensor based on direct electrochemistry of glucose oxidase immobilized on poly(methylene blue) doped silica nanocomposites. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 165, n. 1, p. 126–132, 2012.

XIAO, Xiuli *et al.* Poly(methylene blue) doped silica nanocomposites with crosslinked cage structure: Electropolymerization, characterization and catalytic activity for reduction of dissolved oxygen. **Electrochimica Acta**, v. 56, n. 27, p. 10055–10063, 2011.

XING, Xianrong *et al.* Electrochemical sensor based on molecularly imprinted film at polypyrrole-sulfonated graphene/hyaluronic acid-multiwalled carbon nanotubes modified electrode for determination of tryptamine. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 31, n. 1, p. 277–283, 2012.

YAMADA, Shigehiko; SATO, Hiroshi. Some physical properties of glassy carbon. **Nature**, v. 193, n. 4812, p. 261–262, 1962.

YANG, Chunhai; XU, Junhui; HU, Shengshui. Development of a novel nitrite amperometric sensor based on poly(toluidine blue) film electrode. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 11, n. 4, p. 514–520, 2007.

ZHANG, Kai *et al.* Highly sensitive determination of Sunset Yellow in drink using a poly (l -cysteine) modified glassy carbon electrode. **Analytical Methods**, v. 5, n. 19, p. 5044–5050, 2013.

ZHANG, Yuanyi *et al.* Rapid and Selective Deposition of Patterned Thin Films on Heterogeneous Substrates via Spin Coating. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 11, n. 23, p. 21177–21183, 2019.

ZHANG, Dianwei *et al.* Rapid detection of tryptamine by optosensor with molecularly imprinted polymers based on carbon dots-embedded covalent-organic frameworks. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 285, p. 546–552, 2019.

ZHANG, Dongdong *et al.* Real-time amperometric monitoring of cellular hydrogen peroxide based on electrodeposited reduced graphene oxide incorporating adsorption of electroactive methylene blue hybrid composites. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 780, p. 60–67, 2016.

ZLÁMALOVÁ, Magda; JANDA, Pavel; NESMĚRÁK, Karel. Hydrogen sulfide detection by poly(methylene blue) modified highly oriented pyrolytic graphite electrode. **Monatshefte fur Chemie**, v. 148, n. 9, p. 1595–1597, 2017.

ZOSKI, Cynthia G. **Handbook of Electrochemistry**. Elsevier, 2006.