

EDERVALDO BUFFON

**SENSORES ELETROQUÍMICOS DESCARTÁVEIS MOLECULARMENTE
IMPRESSOS CONTENDO ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO E
NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS
FENÓLICOS EM RESÍDUOS ORIUNDOS DA FRUTICULTURA BRASILEIRA**

Tese apresentada ao Instituto de Química de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

ARARAQUARA
2023

B929s Buffon, Edervaldo
Sensores eletroquímicos descartáveis molecularmente impressos contendo óxido de grafeno reduzido e nanopartículas metálicas para determinação de ácidos fenólicos em resíduos oriundos da fruticultura brasileira / Edervaldo Buffon. -- Araraquara, 2023
163 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara
Orientador: Nelson Ramos Stradiotto

1. Impressão molecular. 2. Óxido de grafeno. 3. Nanopartículas. 4. Ácido fenólico. 5. Cascas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Sensores eletroquímicos descartáveis molecularmente impressos contendo óxido de grafeno reduzido e nanopartículas metálicas para determinação de ácidos fenólicos em resíduos oriundos da fruticultura brasileira"


AUTOR: EDERVALDO BUFFON

ORIENTADOR: NELSON RAMOS STRADIOTTO


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. NELSON RAMOS STRADIOTTO (Participação Presencial)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. BRUNO CAMPOS JANEGITZ (Participação Presencial)
Ciências da Natureza, Matemática e Educação / Centro de Ciências Agrárias - UFSCar - Araras


Prof. Dr. REGINA MASSAKO TAKEUCHI (Participação Presencial)
Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal - UFU - Ituiutaba


Prof. Dr. LEONARDO LATARO PAIM (Participação Presencial)
Departamento de Engenharia de Energia / Campus Experimental de Rosana - UNESP - Rosana


Prof. Dr. CECILIO SADAO FUGIVARA (Participação Presencial)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Araraquara, 24 de março de 2023

DADOS CURRICULARES

1 INFORMAÇÕES PESSOAIS

Nome: Edervaldo Buffon
Nome em citações bibliográficas: BUFFON, E.; BUFFON, EDERVALDO
Nacionalidade: Brasileiro
Nascimento: 09/07/1993 – Castelo/ES – Brasil

2 INFORMAÇÕES PROFISSIONAIS

Endereço profissional: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Química de Araraquara
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e
Inorgânica
Rua Prof. Francisco Degni, 55
Bairro Quitandinha, 14800–900
Araraquara, SP – Brasil

Telefone: (16) 3301 – 9581

Endereço eletrônico: edervaldo.buffon@unesp.br

3 FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2018 – 2023 Doutorado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP,
Brasil

Título: Sensores eletroquímicos descartáveis molecularmente impressos contendo óxido de grafeno reduzido e nanopartículas metálicas para determinação de ácidos fenólicos em resíduos provenientes da fruticultura brasileira

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

2021 – 2022 Estágio de Pesquisa no Exterior

Universitat Autònoma de Barcelona, UAB, Espanha

Título: Determinação de compostos fenólicos análogos ao ácido cinâmico em resíduos de laranja utilizando uma matriz de biossensores baseados em polímeros molecularmente impressos e conceitos de língua bioeletrônica

Supervisor no Exterior: Prof. Dr. Manel del Valle

2016 – 2018 Mestrado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Brasil

Título: Desenvolvimento de sensor eletroquímico baseado em polímero molecularmente impresso para determinação de hexahidrofarnesol em bioquerosene de aviação

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

2011 – 2015 Graduação em Química (Licenciatura)

Universidade Federal do Espírito Santo, UFES, Brasil

Título: Preparação e caracterização de eletrodos modificados com filme de hexacianoferrato de cobre e sua interação com o íon sulfeto

Orientadora: Profa. Dra. Luciene Paula Roberto Profeti

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

A pesquisa desenvolvida para esta tese de doutorado resultou na publicação dos seguintes artigos:

1. BUFFON, E.; STRADIOTTO N.R. Disposable *p*-coumaric acid sensor containing reduced graphene oxide, nickel nanoparticles and biodegradable molecularly imprinted polymer for fruit peel analysis, **J. Food Compost. Anal.**, v. 118, n. 105186, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105186>.
 2. BUFFON, E.; STRADIOTTO N.R. Using a disposable platform based on reduced graphene oxide, iron nanoparticles and molecularly imprinted polymer for voltammetric determination of vanillic acid in fruit peels, **Food Chem.**, v. 397, n. 133786, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133786>.
 3. BUFFON, E.; STRADIOTTO N.R. A molecularly imprinted polymer on reduced graphene oxide-gold nanoparticles modified screen-printed electrode for selective determination of ferulic acid in orange peels, **Microchem. J.**, v. 167, n. 106339, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106339>.
-

*Com amor e carinho,
dedico este trabalho aos meus pais José Maria Buffon e Ana Lúcia Bassini Buffon.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

A Deus por guiar e iluminar os meus passos durante toda a minha caminhada.

Ao Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto pela orientação, oportunidade de crescimento profissional, ensinamentos, confiança, liberdade e pelo exemplo de dedicação, ética e amor à pesquisa.

À comissão examinadora composta pelo Prof. Dr. Bruno Campos Janegitz, Profa. Dra. Regina Massako Takeuchi, Prof. Dr. Leonardo Lataro Paim e Prof. Dr. Cecilio Sadao Fugivara pelas valiosas contribuições e sugestões para o enriquecimento deste trabalho.

Ao Instituto de Química de Araraquara pela excelente infraestrutura e recursos disponibilizados para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos, companheiros e ex-companheiros do Grupo de Eletroanalítica, Acelino, José Luiz, Maísa, Max, Thulio, João Carlos, João Pedro, João Ângelo, Lilian, Daniel, Josiel, Rafael, Bruna, Mateus Paula, Matheus Bispo, Aléxia, Gabriela, Victor, Gustavo e, em especial, aos alunos de iniciação científica, Luiz Felipe, Carolina e Emanuela, que tive a oportunidade de orientar e crescer profissionalmente. Obrigado pelo ambiente de trabalho agradável, pela companhia, amizade, conversas, discussões científicas e momentos de alegria e descontração.

Ao Prof. Manel del Valle pela oportunidade, recepção, amizade e ensinamentos compartilhados durante a realização do estágio de pesquisa no exterior.

À Universidade Autônoma de Barcelona pela infraestrutura e recursos disponibilizados para a realização do estágio de pesquisa no exterior.

Aos amigos e companheiros do Grupo de Sensores e Biossensores da Universidade Autônoma de Barcelona, Anna, Elena, Yohana, Marta, Dioni, Xavi, Arnau, Fran, Pheen, Mingyue e Qing. Obrigado pela recepção, amizade, companhia, conversas, discussões científicas e por deixarem minha estadia em Barcelona mais fácil.
¡Muchas gracias por todo!

À Profa. Dra. Luciene Paula Roberto Profeti e ao Prof. Dr. Demetrius Profeti por todo o apoio, ensinamentos e incentivo à pesquisa durante o período da graduação.

Ao Laboratório de Espectroscopia de Fotoelétrons (LEFE) pela realização das análises de espectroscopia de fotoelétrons de raios-X.

Ao Laboratório de Microscopia Avançada (LMA-IQ) pela disponibilidade de utilização do microscópio eletrônico de varredura e do microscópio de força atômica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pela bolsa de doutorado concedida no país durante o período de 2020 a 2023 (processo nº 2019/13818-8), pela bolsa concedida para a realização do estágio de pesquisa no exterior (BEPE) durante o período de 2021 a 2022 (processo nº 2020/16521-3) e pelo auxílio financeiro concedido durante o desenvolvimento deste trabalho (processo nº 2017/22401-8).

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

A todos os funcionários do Instituto de Química de Araraquara que contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento deste trabalho.

E a todos que não foram mencionados, mas que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho.

“Si hay algo verdaderamente cierto, es que lo ignoro todo o casi todo. Y me da rabia, porque hubo un tiempo en el que una mente despierta podría haber adquirido todo el saber de la época. Pero ahora ya no es posible. Ya no hay más que pequeños sabios que lo saben todo sobre casi nada.”

Jean Dausset

RESUMO

A fruticultura é uma atividade importante para a economia brasileira. No entanto, o processamento de frutas gera uma grande quantidade de resíduos que, quando descartados em locais inadequados, causam um grande problema ambiental. A banana e a laranja são as frutas mais produzidas e consumidas no território brasileiro, e o resíduo gerado pelo processamento dessas frutas é majoritariamente composto por cascas, que, por sua vez, são ricas em compostos fenólicos. Dentre os compostos fenólicos encontrados nas cascas de banana e laranja, os ácidos ferúlico (FA), vanílico (VA) e *p*-cumárico (*p*-CA) podem ser destacados porque são utilizados pelas indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas na composição de uma ampla variedade de produtos. Considerando o reaproveitamento das cascas de banana e laranja, os ácidos fenólicos encontrados nesses resíduos podem ser extraídos e utilizados para a obtenção de produtos de maior valor agregado. Para este fim, o desenvolvimento de métodos analíticos para caracterizar as cascas de banana e laranja para a sua posterior reutilização é essencialmente importante. Dentre os métodos analíticos disponíveis para análises químicas, os métodos eletroanalíticos ganham proeminência porque permitem a análise de amostras complexas com segurança e confiabilidade, mesmo quando as concentrações das espécies de interesse são relativamente baixas. O maior desafio enfrentado pelos pesquisadores no desenvolvimento de sensores eletroquímicos é a regeneração da superfície do eletrodo e a manutenção do sinal analítico por um longo período de tempo. Uma alternativa para contornar esses inconvenientes é a utilização de eletrodos descartáveis. Neste contexto, os eletrodos do tipo *screen-printed* surgiram como uma plataforma viável para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos. Tendo isso em mente, o objetivo deste trabalho foi desenvolver sensores eletroquímicos descartáveis contendo óxido de grafeno reduzido (rGO), nanopartículas metálicas e polímeros molecularmente impressos para a determinação de FA, VA e *p*-CA em cascas de banana e laranja. O uso do rGO e das nanopartículas metálicas contribuiu para o aumento da sensibilidade dos eletrodos, enquanto que o uso dos polímeros molecularmente impressos garantiu a seletividade dos sensores eletroquímicos propostos. Mais especificamente, um sensor contendo rGO, nanopartículas de ouro e poli(fenol) molecularmente impresso foi desenvolvido para a determinação de FA, um sensor contendo rGO, nanopartículas de ferro e polipirrol molecularmente impresso foi construído para a determinação de VA, e um sensor contendo rGO, nanopartículas de níquel e poli(ácido 3-indoleacético) molecularmente impresso foi confeccionado para a determinação de *p*-CA. Esses sensores foram caracterizados por voltametria cíclica, espectroscopia de impedância eletroquímica, microscopia de força atômica, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de energia dispersiva de raios-X, espectroscopia RAMAN e espectroscopia de fotoelétrons de raios-X. A performance analítica desses sensores foi avaliada através de uma abordagem indireta utilizando ferricianeto de potássio como sonda redox. Sob condições otimizadas, os sensores propostos apresentaram amplas faixas lineares, com limites de detecção e quantificação na ordem de 10^{-9} a 10^{-11} e 10^{-8} a 10^{-10} mol L⁻¹, respectivamente. Esses dispositivos também mostraram uma excelente seletividade para o reconhecimento das moléculas alvo, bem como respostas voltamétricas com boa repetibilidade e estabilidade ao longo do tempo. As metodologias eletroanalíticas desenvolvidas neste trabalho foram aplicadas com sucesso em amostras de casca de banana e laranja utilizando um procedimento de análise simples, ambientalmente amigável e de baixo custo. Os resultados obtidos a partir dos testes de recuperação mostraram que os sensores propostos possuem boa precisão para a determinação de FA, VA e *p*-CA em cascas de banana e laranja.

Palavras-chave: eletrodos descartáveis; óxido de grafeno reduzido; nanopartículas metálicas; polímeros molecularmente impressos; ácidos fenólicos; cascas de fruta.

ABSTRACT

The fruticulture is an important activity for the Brazilian economy. However, the processing of fruits generates a large amount of waste that, when discarded in inappropriate places, causes a major environmental problem. Banana and orange are the most produced and consumed fruits in Brazil, and the waste generated by processing these fruits is mostly composed of peels, which, in turn, are rich in phenolic compounds. Among the phenolic compounds found in banana and orange peels, ferulic (FA), vanillic (VA) and *p*-coumaric (*p*-CA) acids can be highlighted because they are used by the food, pharmaceutical and cosmetic industries in the composition of a wide variety of products. Considering the reuse of banana and orange peels, the phenolic acids found in this waste can be extracted and used to obtain high value-added products. To this end, the development of analytical methods to characterize banana and orange peels for their subsequent reuse is essentially important. Among the analytical methods available for chemical analyses, electroanalytical methods gain prominence because they allow the analysis of complex samples safely and reliably, even when the concentrations of the species of interest are relatively low. The biggest challenge faced by researchers in the development of electrochemical sensors is the regeneration of the electrode surface and the maintenance of the analytical signal for a long period of time. An alternative to circumvent these inconveniences is the use of disposable electrodes. In this regard, screen-printed electrodes have emerged as a viable platform for the development of electrochemical sensors. With this in mind, the aim of this work was to develop disposable electrochemical sensors containing reduced graphene oxide (rGO), metallic nanoparticles and molecularly imprinted polymers for the determination of FA, VA and *p*-CA in banana and orange peels. The use of rGO and metallic nanoparticles contributed to increase the sensitivity of the electrodes, while the use of the molecularly imprinted polymers ensured the selectivity of the proposed electrochemical sensors. More specifically, a sensor containing rGO, gold nanoparticles and molecularly imprinted poly(phenol) was developed for the determination of FA, a sensor containing rGO, iron nanoparticles and molecularly imprinted polypyrrole was constructed for the determination of VA, and a sensor containing rGO, nickel nanoparticles and molecularly imprinted poly(3-indoleacetic acid) was made for the determination of *p*-CA. These sensors were characterized by cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy, atomic force microscopy, scanning electron microscopy, energy dispersive X-ray spectroscopy, RAMAN spectroscopy and X-ray photoelectron spectroscopy. The analytical performance of these sensors was evaluated through an indirect approach using potassium ferricyanide as a redox probe. Under optimized conditions, the proposed sensors presented wide linear ranges, with limits of detection and quantification on the order of 10^{-9} to 10^{-11} and 10^{-8} to 10^{-10} mol L⁻¹, respectively. These devices also presented excellent selectivity for recognition of the target molecules, as well as voltammetric responses with good repeatability and stability over time. The electroanalytical methodologies developed in this work were successfully applied in banana and orange peel samples using a simple, environmentally friendly and low-cost analysis procedure. The results obtained from the recovery tests showed that the proposed sensors have good accuracy for the determination of FA, VA and *p*-CA in banana and orange peels.

Keywords: disposable electrodes; reduced graphene oxide; metallic nanoparticles; molecularly imprinted polymers; phenolic acids; fruit peels.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	-	Estrutura molecular dos antioxidantes BHA, BHT, TBHQ e PG ..	38
Figura 2	-	Estrutura molecular dos ácidos GA, VA, <i>p</i> -CA, CA e FA	39
Figura 3	-	Etapas do processo de produção dos eletrodos do tipo <i>screen-printed</i>	43
Figura 4	-	Estrutura do (A) grafeno, (B) óxido de grafeno e (C) óxido de grafeno reduzido	45
Figura 5	-	Esquema geral para preparação do MIP	47
Figura 6	-	Estrutura molecular do fenol, pirrol e ácido 3-indoleacético	48
Figura 7	-	(A) Evolução das publicações sobre SPEs modificados com filmes de MIP; (B) Evolução das publicações sobre sensores eletroquímicos baseados em MIP	50
Figura 8	-	Estudo de otimização para eletrodeposição de rGO sobre o eletrodo SPE(a): (A) Voltamogramas cíclicos em (a) solução de Na ₂ SO ₄ 0,10 mol L ⁻¹ e (b) solução de Na ₂ SO ₄ 0,10 mol L ⁻¹ contendo GO 0,50 mg mL ⁻¹ ; velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹ . (B) Efeito da carga do eletrodepósito de rGO sobre a corrente de pico anódica da sonda K ₃ [Fe(CN) ₆] 5,0×10 ⁻³ mol L ⁻¹	58
Figura 9	-	Esquema ilustrativo das etapas de preparação do sensor SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP	59
Figura 10	-	Estudo de otimização para eletrodeposição de AuNPs sobre o eletrodo SPE(a)/rGO. (A) Voltamogramas cíclicos em (a) solução de H ₂ SO ₄ 0,50 mol L ⁻¹ e (b) solução de H ₂ SO ₄ 0,50 mol L ⁻¹ contendo HAuCl ₄ 6,0×10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ ; velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹ . (B) Efeito da carga do eletrodepósito de AuNPs sobre a corrente de pico anódica da sonda K ₃ [Fe(CN) ₆] 5,0×10 ⁻³ mol L ⁻¹	60

- Figura 11 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,10 Hz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV para: (a) SPE, (b) SPE(a), (c) SPE(a)/rGO e (d) SPE(a)/rGO-AuNPs. Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas usando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 62
- Figura 12 - Voltamogramas cíclicos obtidos durante a eletropolimerização de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de fenol na (A) presença e (B) ausência de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de FA (PB; $0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 7,0); velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} 63
- Figura 13 - Mecanismo de eletropolimerização do fenol 64
- Figura 14 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,050 Hz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV para: (a) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e (b) SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP após a eletropolimerização, (c) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP após a remoção do molde de FA e (d) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP após o processo de religação por 20 min usando uma solução de FA $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (PB; $0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,0). Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas usando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 66
- Figura 15 - Imagens de FEG-SEM para: (A) SPE, (B) SPE(a), (C) SPE(a)/rGO, (D) SPE(a)/rGO-AuNPs, (E) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e (F) SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP; (G) espectro de EDS e (H) histograma para a distribuição de tamanho das nanopartículas de ouro eletrodepositadas sobre o eletrodo SPE(a)/rGO 68

Figura 16 - Espectros RAMAN para: (a) SPE, (b) SPE(a), (c) SPE(a)/rGO, (d) SPE(a)/rGO-AuNPs, (e) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e (f) SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP	69
Figura 17 - Imagens 3D de AFM para: (A) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP após a eletropolimerização; (B) SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP após a eletropolimerização; (C) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP após a remoção das moléculas molde e (D) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP após o processo de religação das moléculas de FA	71
Figura 18 - Estudo de otimização para a razão molar entre fenol e FA. A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica	72
Figura 19 - Estudo de otimização para o número de ciclos voltamétricos usados durante o processo de eletropolimerização. A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica	73
Figura 20 - Estudo de otimização para o pH da solução de eletropolimerização. A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica	74
Figura 21 - Estudo de otimização para o tempo de remoção da molécula de FA da matriz polimérica de poli(fenol). A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica	75
Figura 22 - Estudo de otimização para o pH da solução de religação. A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica	76

Figura 23 - Estudo de otimização para o tempo de religação das moléculas de FA às cavidades impressas. A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L ⁻¹ como sonda eletroquímica	77
Figura 24 - Curva analítica para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-8}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ . Inserção: voltamogramas de pulso diferencial obtidos após o processo de religação por 20 min utilizando soluções de PB ($0,10$ mol L ⁻¹ ; pH 6,0) contendo diferentes concentrações de FA. Os voltamogramas foram obtidos usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em solução de KCl $0,50$ mol L ⁻¹ como sonda eletroquímica	79
Figura 25 - Isoterma de adsorção de Langmuir para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP. Inserção: forma linear da isoterma de adsorção de Langmuir	82
Figura 26 - Sensibilidade dos eletrodos SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP para detecção de FA, GA, CA, AA e VA. O procedimento de religação de cada molécula foi realizado utilizando soluções em três níveis de concentração: $1,0 \times 10^{-8}$; $5,0 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ . O monitoramento das respostas dos eletrodos foi realizado usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em solução de KCl $0,50$ mol L ⁻¹ como sonda eletroquímica	83
Figura 27 - Curva de adição de padrão para determinação FA em amostra de casca de laranja	86
Figura 28 - Esquema ilustrativo das etapas de preparação do sensor SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP	88

- Figura 29 - Estudo de otimização para eletrodeposição de FeNPs sobre o eletrodo SPE(a)/rGO. (A) Voltamograma cíclico em solução de KCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . (B) Efeito da carga do eletrodepósito de FeNPs sobre a corrente de pico anódica da sonda $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ 89
- Figura 30 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,10 Hz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV para: (a) SPE, (b) SPE(a), (c) SPE(a)/rGO e (d) SPE(a)/rGO-FeNPs. Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas usando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 90
- Figura 31 - Voltamogramas cíclicos obtidos durante a eletropolimerização de $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de Py na (A) presença e (B) ausência de $7,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de VA (PB; $0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 7,0); velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} 92
- Figura 32 - Mecanismo de eletropolimerização do Py 93
- Figura 33 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 10 mHz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV para: (a) SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP e (b) SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP após a eletropolimerização, (c) SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP após a remoção do molde de VA e (d) SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP após o processo de religação por 10 min usando uma solução de VA $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (PB; $0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,0). Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 94

- Figura 34 - Imagens de FEG-SEM para: (A) SPE antes e (B) após o processo de ativação, (C) SPE(a)/rGO, (D e E) SPE(a)/rGO-FeNPs, (F) SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP e (G) SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP; (H) espectro de EDS e (I) histograma para a distribuição de tamanho das FeNPs eletrodepositadas sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO ($n = 150$). Taxas de ampliação das imagens: (E) 25.000 e (A–C, D–F) 50.000 vezes 96
- Figura 35 - Espectros de XPS deconvoluídos: (A) C 1s e (B) O 1s para SPE(a)/rGO; (C) O 1s e (D) Fe 2p_{3/2} para SPE(a)/rGO-FeNPs; (E) C 1s e (F) N 1s para SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP 98
- Figura 36 - Influência da concentração de VA sobre a resposta do eletrodo quando uma quantidade de $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ Py foi empregada no processo de eletropolimerização. A corrente foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 100
- Figura 37 - Influência do número de ciclos voltamétricos sobre a resposta do eletrodo durante o processo de eletropolimerização. A corrente foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 101
- Figura 38 - Influência do pH sobre a resposta do eletrodo durante o processo de eletropolimerização. A corrente foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 102
- Figura 39 - Influência do tempo durante a remoção das moléculas de VA da estrutura polimérica de PPy utilizando uma solução de solução de etanol-ácido acético (9:1; v:v). A corrente foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 104
-

Figura 40 -	Influência do pH sobre a resposta do eletrodo durante o processo de religação. A corrente foi monitorada por DPV utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L ⁻¹ como sonda eletroquímica	105
Figura 41 -	Influência do tempo durante o processo de religação das moléculas de VA às cavidades impressas. A corrente foi monitorada por DPV utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L ⁻¹ como sonda eletroquímica	106
Figura 42 -	Curva analítica para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-9}$ a $1,5 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ . Inserção: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos após o processo de religação por 10 min utilizando soluções de PB (0,10 mol L ⁻¹ ; pH 6,0) contendo diferentes concentrações de VA. Os voltamogramas foram obtidos utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L ⁻¹ como sonda eletroquímica	108
Figura 43 -	Isoterma de adsorção de Langmuir obtida para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP. Inserção: forma linear da isoterma de adsorção de Langmuir	110
Figura 44 -	Sensibilidade dos eletrodos SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP e SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP para detecção de VA, GA, QT, FA e CA. Os valores de sensibilidade foram obtidos após o processo de religação por 10 min usando soluções de PB (0,10 mol L ⁻¹ ; pH 6,0) contendo cada molécula em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-8}$ mol L ⁻¹ . A corrente foi monitorada usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L ⁻¹ como sonda eletroquímica	112
Figura 45 -	Curvas de adição de padrão para determinação de VA em extratos de casca de banana e laranja	115
Figura 46 -	Esquema ilustrativo das etapas de preparação do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP	117

- Figura 47 - Estudo de otimização para eletrodeposição de NiNPs sobre o eletrodo SPE(a)/rGO. (A) Voltamograma cíclico em solução de Na_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . (B) Efeito da carga do eletrodepósito de NiNPs sobre a corrente de pico anódica da sonda $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ 118
- Figura 48 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,10 Hz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV para: (a) SPE antes da etapa de ativação, (b) SPE após a etapa de ativação, (c) SPE(a)/rGO e (d) SPE(a)/rGO-NiNPs. Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 119
- Figura 49 - Mecanismo de eletropolimerização do monômero de 3IAA na presença da molécula de *p*-CA 120
- Figura 50 - Voltamogramas obtidos durante a eletropolimerização de 3IAA $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ na (A) presença e (B) ausência de *p*-CA $4,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} 121
- Figura 51 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 10 mHz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV para: (a) SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e (b) SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP após a eletropolimerização, (c) SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP após a remoção do molde de *p*-CA e (d) SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP após o processo de religação durante 10 min usando uma solução de *p*-CA $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (PB; $0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,5). Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 123

- Figura 52 - Imagens de SEM para: SPE (A) antes e (B) após a etapa de ativação, (C) SPE(a)/rGO, (D) SPE(a)/rGO-NiNPs, (E) SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e (F) SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP; (G) espectros de EDS para: SPE (a) antes e (b) após a etapa de ativação, (c) SPE(a)/rGO, (d) SPE(a)/rGO-NiNPs, (e) SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e (f)) SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP; (H) histograma para a distribuição de tamanho das NiNPs eletrodepositadas sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO 125
- Figura 53 - Espectros de XPS deconvoluídos para: (A) C 1s, (B) O 1s, (C) Ni 2p_{3/2} e (D) N 1s 126
- Figura 54 - Influência da concentração de *p*-CA sobre a resposta do eletrodo durante a eletropolimerização de 3IAA 5,0×10⁻³ mol L⁻¹. A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando K₃[Fe(CN)₆] 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica 129
- Figura 55 - Influência do número de ciclos voltamétricos sobre a resposta do eletrodo durante a eletropolimerização de 3IAA 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ na presença de *p*-CA 4,0×10⁻³ mol L⁻¹. A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando K₃[Fe(CN)₆] 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica 130
- Figura 56 - Influência do pH sobre a resposta do eletrodo durante o processo de eletropolimerização de 3IAA 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ na presença de *p*-CA 4,0×10⁻³ mol L⁻¹. A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando K₃[Fe(CN)₆] 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica 131
- Figura 57 - Influência do tempo sobre a resposta do eletrodo durante a remoção das moléculas molde da estrutura de poli(3IAA). A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando K₃[Fe(CN)₆] 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica 132

- Figura 58 - Influência do pH sobre a resposta do eletrodo durante o processo de religação utilizando soluções de PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) contendo $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de *p*-CA. A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 133
- Figura 59 - Influência do tempo sobre a resposta do eletrodo durante o processo de religação usando soluções de PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,5) contendo $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de *p*-CA. A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 134
- Figura 60 - Curva analítica obtida para o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP em uma faixa de concentração de *p*-CA de $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 3$). Inserção: DPVs obtidos para o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP após o processo de religação por 10 min usando soluções de PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 6,5) contendo diferentes concentrações de *p*-CA. A resposta do eletrodo foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 136
- Figura 61 - Comparação entre as curvas analíticas obtidas com os eletrodos SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP em uma faixa de concentração de *p*-CA de $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 3$). A resposta dos eletrodos foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica 137
- Figura 62 - Isoterma de adsorção de Langmuir obtida para o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP durante a detecção de *p*-CA em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Inserção: linearização da isoterma de adsorção de Langmuir 138
-

-
- Figura 63 - Sensibilidade dos eletrodos SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP para detecção de *p*-CA, GA, CA, FA, AA e QT em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ (n = 3). A resposta dos eletrodos foi monitorada por DPV utilizando K₃[Fe(CN)₆] $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica 141
- Figura 64 - Curvas de adição de padrão para determinação de *p*-CA em extratos de casca de banana e laranja 144
-

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-	Produção de laranja no Brasil	35
Tabela 2	-	Exportação de suco de laranja pelo Brasil	36
Tabela 3	-	Produção de banana no Brasil	36
Tabela 4	-	Exportação de banana pelo Brasil	36
Tabela 5	-	Otimização dos parâmetros experimentais que influenciam a performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP	78
Tabela 6	-	Análise comparativa do método proposto e alguns métodos analíticos reportados na literatura para detecção de FA	80
Tabela 7	-	Valores relacionados aos parâmetros de seletividade obtidos para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP em termos da detecção de FA e moléculas potencialmente interferentes	84
Tabela 8	-	Determinação de FA em amostra de casca de laranja	87
Tabela 9	-	Otimização dos parâmetros experimentais que influenciam a performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP	107
Tabela 10	-	Performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP e outros métodos reportados na literatura para detecção de VA	109
Tabela 11	-	Parâmetros de seletividade obtidos para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP em relação à detecção de VA e outros compostos fenólicos potencialmente interferentes	113
Tabela 12	-	Determinação de VA em cascas de banana e laranja	116
Tabela 13	-	Otimização dos parâmetros experimentais que influenciam a performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP	135
Tabela 14	-	Performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e outros métodos reportados na literatura para detecção e quantificação de <i>p</i> -CA	139
Tabela 15	-	Parâmetros de seletividade obtidos para o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP em relação à detecção de <i>p</i> -CA e outros compostos potencialmente interferentes	142

Tabela 16 - Determinação de *p*-CA em cascas de banana e laranja 145

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3IAA	ácido 3-indoleacético (do inglês: <i>3-indoleacetic acid</i>)
AA	ácido ascórbico
Abrafrutas	Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frutas e Derivados
AFM	microscopia de força atômica (do inglês: <i>atomic force microscopy</i>)
AuNPs	nanopartículas de ouro (do inglês: <i>gold nanoparticles</i>)
BHA	butilhidroxianisol
BHT	butilhidroxitolueno
C	concentração
CA	ácido cafeico (do inglês: <i>caffeic acid</i>)
CitrusBR	Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos
CME	eletrodo quimicamente modificado (do inglês: <i>chemically modified electrode</i>)
CPE	elemento de constante de fase (do inglês: <i>constant phase element</i>)
CPS	contagem por segundo
CV	voltametria cíclica (do inglês: <i>cyclic voltammetry</i>)
DPV	voltametria de pulso diferencial (do inglês: <i>differential pulse voltammetry</i>)
EDS	espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (do inglês: <i>energy dispersive X-ray spectroscopy</i>)
EIS	espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês: <i>electrochemical impedance spectroscopy</i>)
FA	ácido ferúlico (do inglês: <i>ferulic acid</i>)
FEG-SEM	microscopia eletrônica de varredura com canhão de emissão de campo (do inglês: <i>field emission gun scanning electron microscopy</i>)

FeNPs	nanopartículas de ferro (do inglês: <i>iron nanoparticles</i>)
G	elemento de difusão de Gerischer
GA	ácido gálico (do inglês: <i>gallic acid</i>)
GO	óxido de grafeno (do inglês: <i>graphene oxide</i>)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
I _D /I _G	razão entre as bandas D e G de um espectro RAMAN
K _A	constante de adsorção
K _D	constante de dessorção
LOD	limite de detecção
LOQ	limite de quantificação
<i>m</i>	sensibilidade (coeficiente angular da curva analítica)
MIP	polímero molecularmente impresso (do inglês: <i>molecularly imprinted polymer</i>)
<i>n</i>	número de réplicas de uma medida
NiNPs	nanopartículas de níquel (do inglês: <i>nickel nanoparticles</i>)
NIP	polímero não impresso (do inglês: <i>non-imprinted polymer</i>)
PB	tampão fosfato (do inglês: <i>phosphate buffer</i>)
<i>p</i> -CA	ácido <i>p</i> -cumárico (do inglês: <i>p-coumaric acid</i>)
PET	politereftalato de etileno (do inglês: <i>polyethylene terephthalate</i>)
PG	propilgalato
PPy	polipirrol (do inglês: <i>polypyrrole</i>)
PVC	policloreto de vinila (do inglês: <i>polyvinyl chloride</i>)
Py	pirrol (do inglês: <i>pyrrole</i>)
R _a	rugosidade média (do inglês: <i>average roughness</i>)
R _{ct}	resistência à transferência de carga (do inglês: <i>charge transfer resistance</i>)

rGO	óxido de grafeno reduzido (do inglês: <i>reduced graphene oxide</i>)
RMS	raiz quadrada média (do inglês: <i>root mean square</i>)
R _s	resistência da solução
RSD	desvio relativo padrão (do inglês: <i>relative standard deviation</i>)
SD	desvio padrão (do inglês: <i>standard deviation</i>)
SEM	microscopia eletrônica de varredura (do inglês: <i>scanning electron microscopy</i>)
SPE	eletrodo serigrafado (do inglês: <i>screen-printed electrode</i>)
SPE(a)	eletrodo serigrafado ativado
SPE(a)/rGO	eletrodo serigrafado ativado modificado com óxido de grafeno reduzido
SPE(a)/rGO-AuNPs	eletrodo serigrafado ativado modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de ouro
SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP ...	eletrodo serigrafado ativado modificado com óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de ouro e polímero molecularmente impresso de poli(fenol)
SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP ...	eletrodo serigrafado ativado modificado com óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de ouro e polímero não impresso de poli(fenol)
SPE(a)/rGO-FeNPs	eletrodo serigrafado ativado modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de ferro
SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP ...	eletrodo serigrafado ativado modificado com óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de ferro e polímero molecularmente impresso de polipirrol
SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP ...	eletrodo serigrafado ativado modificado com óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de ferro e polímero não impresso de polipirrol

SPE(a)/rGO-NiNPs	eletrodo serigrafado ativado modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de níquel
SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP	eletrodo serigrafado ativado modificado com óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de níquel e polímero molecularmente impresso de poli(ácido 3-indoleacético)
SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP	eletrodo serigrafado ativado modificado com óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de níquel e polímero não impresso de poli(ácido 3-indoleacético)
TBHQ	terc-butilhidroquinona
UAP	processo assistido por ultrassom (do inglês: <i>ultrasound-assisted process</i>)
v:v	relação volume:volume
VA	ácido vanílico (do inglês: <i>vanillic acid</i>)
vs.	<i>versus</i>
W	elemento de difusão de Warburg
XPS	espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (do inglês: <i>X-ray photoelectron spectroscopy</i>)

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
/	barra
:	dois pontos
=	igual
>	maior que
≤	menor ou igual que
≥	maior ou igual que
μA	microampere
μL	microlitro
μm	micrômetro
A	ampere
Ag/AgCl	eletrodo de referência de prata/cloreto de prata
cm	centímetro
e ⁻	elétron
E	potencial
eV	elétron-volt
g	grama
h	hora
H ⁺	próton
ha	hectare
Hz	hertz
i	corrente
i ₀	corrente inicial
i _x	corrente final
keV	quiloelétron-volt
kg	quilograma
kHz	quilo-hertz
kΩ	quiloohm
L	litro
m	metro
mA	miliampere
mC	milicoulomb

mg	miligrama
min	minuto
mL	mililitro
ms	milissegundo
mV	milivolt
nm	nanômetro
°C	grau Celsius
pH	logaritmo negativo da concentração de hidrogênio
pK _a	logaritmo negativo da constante de dissociação de um ácido
R\$	real brasileiro
R ²	coeficiente de determinação
t	tonelada
US\$	dólar americano
V	volt
α	fator de impressão
β	fator de seletividade
Δi	diferença de corrente
λ	comprimento de onda
π	pi
π*	pi antiligante
Ω	ohm

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	34
1.1. Fruticultura brasileira	34
1.2. Compostos fenólicos	37
1.2.1. Ácidos fenólicos	38
1.3. Métodos analíticos para determinação de ácidos fenólicos	40
1.4. Sensores eletroquímicos	41
1.4.1. Grafeno e derivados	44
1.4.2. Nanopartículas metálicas	46
1.4.3. Polímeros molecularmente impressos	47
2. OBJETIVOS	51
2.1. Objetivo geral	51
2.2. Objetivos específicos	51
3. PARTE EXPERIMENTAL	52
3.1. Materiais e reagentes	52
3.2. Equipamentos	52
3.3. Ativação do SPE	53
3.4. Modificação do SPE(a) com óxido de grafeno reduzido	53
3.5. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de ouro e filme molecularmente impresso de poli(fenol) para detecção de ácido ferúlico	54
3.6. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de ferro e filme molecularmente impresso de polipirrol para detecção de ácido vanílico	54
3.7. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de níquel e filme molecularmente impresso de poli(ácido 3-indoleacético) para detecção de ácido <i>p</i> -cumárico	55
3.8. Medidas eletroanalíticas	56
3.9. Determinação de ácidos fenólicos em cascas de banana e laranja	57
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	58
4.1. Modificação do SPE(a) com óxido de grafeno reduzido	58
4.2. Sensor eletroquímico descartável para determinação de ácido ferúlico em cascas de laranja	59

4.2.1. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de ouro	60
4.2.2. Eletropolimerização do filme molecularmente impresso de poli(fenol) e caracterização eletroquímica do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP	61
4.2.3. Caracterização da superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP	67
4.2.4. Otimização das condições experimentais	71
4.2.4.1. Razão molar entre fenol e ácido ferúlico	72
4.2.4.2. Número de ciclos voltamétricos necessários para o processo de eletropolimerização	73
4.2.4.3. pH da solução de eletropolimerização	74
4.2.4.4. Solução e tempo necessário para remover as moléculas molde da estrutura de poli(fenol)	75
4.2.4.5. pH da solução de religação	76
4.2.4.6. Tempo necessário para o processo de religação	77
4.2.5. Performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP	78
4.2.6. Estudo de religação para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP	81
4.2.7. Estudo de seletividade para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP	82
4.2.8. Repetibilidade intra-dia, inter-dia e estabilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP	85
4.2.9. Determinação de FA em cascas de laranja	86
4.3. Sensor eletroquímico descartável para determinação de ácido vanílico em cascas de banana e laranja	88
4.3.1. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de ferro	88
4.3.2. Eletropolimerização do filme molecularmente impresso de poli(pirrol) e caracterização eletroquímica do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP	89
4.3.3. Caracterização da superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP	96
4.3.4. Otimização das condições experimentais	99
4.3.4.1. Quantidade de monômero funcional e molécula molde necessária para o processo de eletropolimerização	100
4.3.4.2. Número de ciclos voltamétricos necessários para o processo de eletropolimerização	101
4.3.4.3. pH da solução de eletropolimerização	102
4.3.4.4. Tempo necessário para remover as moléculas molde da estrutura de PPy	103
4.3.4.5. pH da solução de religação	105

4.3.4.6. Tempo necessário para o processo de religação	106
4.3.5. Performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP	107
4.3.6. Estudo de seletividade para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP	111
4.3.7. Repetibilidade inter-dia, intra-dia e estabilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP	114
4.3.8. Determinação de VA em cascas de banana e laranja	114
4.4. Sensor eletroquímico descartável para determinação de ácido p-cumárico em cascas de banana e laranja	117
4.4.1. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de níquel	117
4.4.2. Eletropolimerização do filme molecularmente impresso de poli(ácido 3-indoleacético) e caracterização eletroquímica do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP	118
4.4.3. Caracterização da superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP	124
4.4.4. Otimização das condições experimentais	128
4.4.4.1. Concentrações necessárias de 3IAA e p-CA para o processo de eletropolimerização	128
4.4.4.2. Número de ciclos voltamétricos necessários para o processo de eletropolimerização	129
4.4.4.3. pH da solução de eletropolimerização	130
4.4.4.4. Tempo necessário para remover as moléculas molde da estrutura de poli(3IAA)	131
4.4.4.5. pH da solução de religação	133
4.4.4.6. Tempo necessário para o processo de religação	134
4.4.5. Detecção de p-CA usando o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP	135
4.4.6. Estudo de seletividade para o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP	140
4.4.7. Repetibilidade inter-dia, intra-dia e estabilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP	143
4.4.8. Determinação de p-CA em cascas de banana e laranja	144
5. CONCLUSÕES	146
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	147
APÊNDICE A – COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DOS ANALITOS SOBRE OS ELETRODOS PROPOSTOS	161

1. INTRODUÇÃO

1.1. Fruticultura brasileira

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo, atrás da China e da Índia. A fruticultura brasileira corresponde a cerca de 5% da produção mundial de frutas. Mesmo com a pandemia de Covid-19, a produção de frutas no Brasil teve um pequeno crescimento entre 2019 e 2020 (de 40,9 milhões para 41,3 milhões de toneladas). O valor dessa produção (41,3 milhões de toneladas) foi estimado em R\$ 49,8 bilhões e a área cultivada superou 2,6 milhões de hectares. Além disso, a fruticultura é o setor do agronegócio brasileiro que mais emprega, gerando diretamente cerca de 5,5 milhões de empregos [1]. Portanto, a fruticultura é uma atividade de grande importância para a economia brasileira.

Em 2020, a produção mais expressiva foi registrada na região Sudeste, que respondeu por 40,9% do total, com destaque para São Paulo, estado onde estão localizadas as duas mesorregiões com maior capacidade de produção: Bauru e Campinas, que contribuíram com 5,4 e 4,4% da produção total, respectivamente. O Nordeste do país apareceu em seguida, com 21,6% da produção brasileira, seguido pelas regiões Sul (17,3%), Norte (14,5%) e Centro-Oeste (5,7%) [1].

As frutas estão entre os alimentos saudáveis mais consumidos no mundo. Essa valorização é positiva para a fruticultura brasileira, que tem registrado resultados expressivos na produção e exportação. Em 2021, a fruticultura brasileira exportou mais de US\$ 1 bilhão. O país embarcou 1,2 milhão de toneladas de frutas em 2021, o que representou um aumento de 18% em relação ao ano de 2020. Em termos de receita, esse aumento resultou em uma alta de 20% em relação ao ano anterior. De acordo com a Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frutas e Derivados (Abrafrutas), esse resultado foi favorecido pela desvalorização do real frente ao dólar e ao euro, bem como pelo clima propício às culturas mais exportadas. Além disso, as vendas nos mercados interno e externo foram ainda mais estimuladas pelo maior consumo de alimentos saudáveis desde o início da pandemia [1].

Dentre as frutas produzidas no território brasileiro, a laranja lidera amplamente, com mais de 40% da produção do segmento, sendo que 77,5% dessa produção está concentrado no estado de São Paulo. A banana, por sua vez, é a segunda fruta mais cultivada no território brasileiro, correspondendo a aproximadamente 16% da

produção nacional de frutas. Em 2021, a produção dessas duas frutas (laranja e banana) foi estimada em 23,6 milhões de toneladas (16,6 e 7,0 milhões de toneladas de laranja e banana, respectivamente). Em termos de receita, a comercialização dessas frutas atingiu R\$ 30,4 bilhões em 2021. Em 2022, a receita gerada apenas com a negociação dessas duas frutas foi estimada em R\$ 33,8 bilhões [1].

O Brasil se destaca como o maior produtor mundial de laranja e exportador de suco da fruta. No entanto, pesquisas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) apontaram para uma redução nas safras de 2020 e 2021 devido a problemas climáticos (Tabela 1). Isso refletiu diretamente no processamento e exportação da fruta [1]. Em média, 34% da produção de laranja é processada para a obtenção de suco, mas em grandes países produtores, como Brasil e Estados Unidos, esse número pode chegar a 96% [1,2]. De acordo com a Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos (CitrusBR), o Brasil é responsável por 79% do consumo mundial de suco de laranja. A CitrusBR estima o mercado interno de laranja fresca em cerca de 40 milhões de caixas (17,9% do total), sendo o restante destinado ao processamento e, principalmente, à exportação de suco [1].

Em 2021, o Brasil apresentou uma melhora tanto na exportação de suco de laranja quanto na receita gerada a partir dessa atividade (Tabela 2). Os principais destinos do suco de laranja brasileiro foram Bélgica e Países Baixos, seguidos pelos Estados Unidos. Em termos de mercado, a CitrusBr especifica que na safra de 2019/20, a Europa representou 65,7% das compras do Brasil, e os norte-americanos 21,1%. Entre julho de 2021 e fevereiro de 2022, esses valores foram de 63,3% e 20%, respectivamente [1].

Tabela 1 - Produção de laranja no Brasil. Fonte: adaptado de Kist *et al.* [1].

Ano	2019	2020	2021	2022
Área / mil ha	589,8	572,7	585,1	583,0
Produção / mil t	17.090,4	16.707,9	16.020,0	16.615,8
Produtividade / kg ha⁻¹	28.978	29.174	17.579	28.502
Valor da produção / milhões de R\$	9.535,3	10.898,3	-	-

Tabela 2 - Exportação de suco de laranja pelo Brasil. Fonte: adaptado de Kist *et al.* [1].

Ano	2020	2021
Quantidade / t	2.043.895,1	2.257.050,9
Receita / mil US\$	1.425.292,0	1.623.471,1

A banana é a fruta mais consumida no território brasileiro, com uma média de 25 quilos por pessoa ano⁻¹. Em razão disso, 98% da produção brasileira de banana é destinada ao abastecimento do mercado interno. Quarto maior produtor de banana do mundo, atrás da Índia, China e Indonésia, o Brasil produz banana em todos os seus estados, com destaque para São Paulo, Bahia, Minas Gerais e Santa Catarina. A Tabela 3 mostra que em 2021 houve um aumento de 2,3% na área plantada em relação ao ano anterior, bem como um aumento na produtividade (3,4%) e na produção (5,7%), que ultrapassou 7,0 milhões de toneladas. A Tabela 4 mostra que a exportação de banana em 2021 aumentou 29% em relação ao ano de 2020. Em termos de receita, esse aumento resultou em uma alta de 42,1% em relação ao ano anterior [1].

Tabela 3 - Produção de banana no Brasil. Fonte: adaptado de Kist *et al.* [1].

Ano	2019	2020	2021	2022
Área / mil ha	462,0	455,0	465,5	464,6
Produção / mil t	6.831,9	6.637,3	7.018,9	7.040,2
Produtividade / kg ha ⁻¹	14.787	14.587	15.078	15.152
Valor da produção / mil R\$	7.545,4	8.638,6	-	-

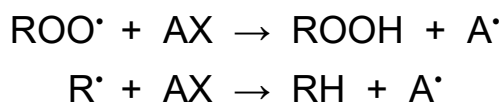
Tabela 4 - Exportação de banana pelo Brasil. Fonte: adaptado de Kist *et al.* [1].

Ano	2020	2021
Quantidade / t	84.304,3	108.752,8
Receita / mil US\$	26.112,0	37.113,1

Cerca de 47% da produção brasileira de frutas é destinada ao mercado de frutas frescas e 53% ao mercado de frutas processadas [3]. O processamento de banana e laranja gera uma grande quantidade de resíduos. Para cada tonelada de banana colhida, aproximadamente 100 kg da fruta são descartados e cerca de 4 toneladas de resíduos são gerados, incluindo cascas, folhas e pseudocaules [4]. Os resíduos do processamento da laranja para obtenção de suco correspondem a cerca de 50 a 60% da massa da fruta fresca e incluem cascas, sementes e bagaço [5,6]. Os resíduos gerados pelo processamento da laranja e da banana, principalmente as cascas, apresentam uma composição rica em fibras, vitaminas, minerais, proteínas, compostos fenólicos e outros nutrientes essenciais para o organismo humano [7]. Em razão disso, dentro de um conceito de biorrefinaria, as cascas oriundas do processamento dessas frutas poderiam ser reaproveitadas para a obtenção de produtos com maior valor agregado.

1.2. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são caracterizados por possuírem um grupo hidroxila (-OH) ligado diretamente ao anel benzênico. Esses compostos são divididos em cinco subclasses: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, cumarinas e taninos [8]. Os compostos fenólicos são conhecidos como antioxidantes devido à sua capacidade de retardar as reações de oxidação, que ocorrem tanto em organismos vivos a nível celular como também em alimentos. O mecanismo de ação de um antioxidante consiste na remoção ou inativação de radicais livres por meio da doação de átomos de hidrogênio para essas espécies durante as reações químicas, interrompendo a reação em cadeia [9]. Ramalho e Jorge [9] apresentaram o mecanismo de ação de uma espécie antioxidante da seguinte forma:



em que ROO^\bullet e R^\bullet são espécies radicais livres, AX é uma espécie antioxidante, e A^\bullet é uma espécie radical inerte.

O átomo de hidrogênio ativo das espécies antioxidantes é consumido pelos radicais livres R^\bullet e ROO^\bullet , formando espécies inativas e um radical inerte (A^\bullet). Este

radical é estabilizado por ressonância e não tem capacidade de iniciar ou propagar reações oxidativas [9].

Devido à sua ação antioxidante, os compostos fenólicos naturais têm despertado a atenção de diversos setores da indústria. O grande interesse por esses compostos se deve ao fato de os antioxidantes sintéticos serem considerados potencialmente cancerígenos e trazerem diversos efeitos adversos à saúde. Esses antioxidantes sintéticos incluem butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), terc-butilhidroquinona (TBHQ) e propilgalato (PG). A Figura 1 mostra a estrutura molecular desses antioxidantes.

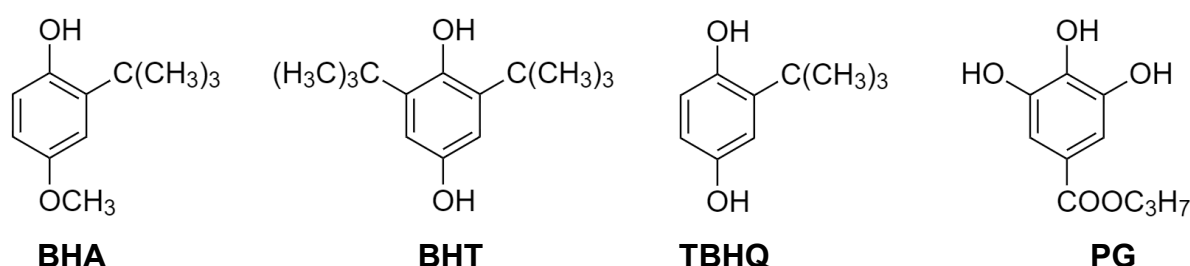


Figura 1 - Estrutura molecular dos antioxidantes BHA, BHT, TBHQ e PG.

Além de atividade antioxidante, os compostos fenólicos naturais possuem diversas outras propriedades benéficas à saúde, como atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antineoplásica e antidiabética, bem como efeito neuroprotetor, hepatoprotetor e vasculodilatador [10–12]. Devido aos seus benefícios à saúde, esses compostos têm sido aplicados na prevenção e/ou tratamento de diversas doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como Alzheimer, diabetes, câncer, aterosclerose e doenças cardiovasculares [13].

1.2.1. Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos são uma subclasse de compostos fenólicos caracterizados por apresentarem um anel benzênico, um grupo carboxila (-COOH) e um ou mais grupos hidroxila (-OH) e/ou metoxila (-OCH₃) em suas estruturas [14]. Os ácidos fenólicos são divididos em duas subclasses: os derivados do ácido benzóico, como os ácidos gálico (GA) e vanílico (VA), e os derivados do ácido hidroxicinâmico, que incluem os ácidos cafeico (CA), ferúlico (FA) e *p*-cumárico (*p*-CA) [8]. A Figura 2 mostra a estrutura molecular dos ácidos GA, VA, CA, FA e *p*-CA.

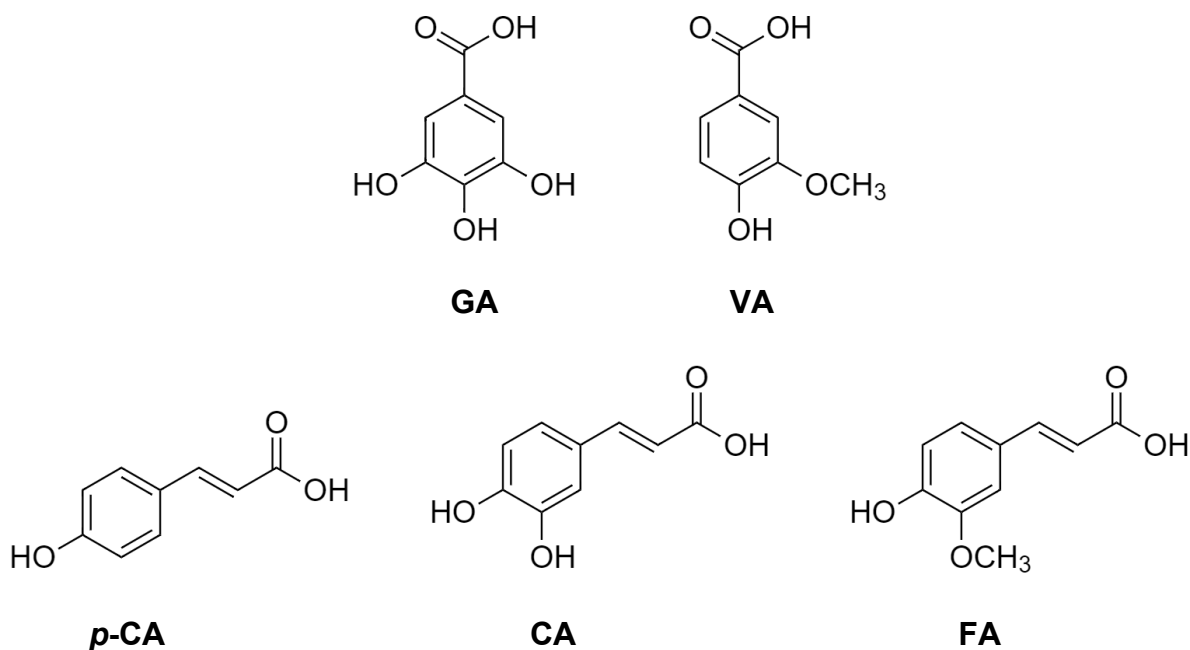


Figura 2 - Estrutura molecular dos ácidos GA, VA, *p*-CA, CA e FA.

Os resíduos gerados pelo processamento da laranja, principalmente as cascas, são ricos em ácidos fenólicos, sendo FA o mais abundante ($\sim 1,5 \text{ mg g}^{-1}$ de casca) [15,16]. O FA é amplamente utilizado pelas indústrias farmacêutica, alimentícia e cosmética como parte da composição de diversos produtos. Na indústria cosmética, por exemplo, o FA é utilizado na produção de protetores solares, pois a combinação desse ácido com as vitaminas C e E aumenta a estabilidade química dessas vitaminas e duplica a fotoproteção à irradiação solar de 4 para 8 vezes. Isso é extremamente importante para proteger o corpo humano do câncer de pele e do fotoenvelhecimento [17].

Além do FA, outros ácidos fenólicos que podem ser encontrados nas cascas de banana e laranja são VA e *p*-CA. Na indústria alimentícia e farmacêutica, o VA pode ser reduzido à vanilina, que é a substância responsável pelo aroma de baunilha encontrado em muitos alimentos e medicamentos [18,19]. O VA também é um inibidor específico da enzima 5'-nucleotidase, que é encontrada no veneno de diferentes serpentes. Em razão disso, o VA pode ser utilizado pela indústria farmacêutica para o desenvolvimento de soros antiofídicos [20].

O *p*-CA é o isômero mais abundante do ácido cumárico na natureza [10]. Devido à sua ação protetora contra o estresse oxidativo, o *p*-CA tem sido utilizado na área médica para o tratamento de várias doenças, incluindo doenças

cardiovasculares, diabetes, câncer, depressão e déficit de memória [21]. O *p*-CA também possui uma estrutura ideal para ser um inibidor competitivo da tirosinase, que catalisa reações-chave na via biossintética da melanina. Em razão disso, este ácido fenólico pode ser utilizado pela indústria cosmética na composição de diversos produtos para o clareamento da pele [22].

Considerando a ampla aplicabilidade industrial dos ácidos FA, VA e *p*-CA, são necessárias metodologias analíticas capazes de quantificar essas espécies em cascas de banana e laranja, a fim de caracterizar esses resíduos para que possam ser reaproveitados em aplicações industriais mais rentáveis e ambientalmente amigáveis.

1.3. Métodos analíticos para determinação de ácidos fenólicos

Os métodos analíticos reportados na literatura para determinação de ácidos fenólicos são baseados em técnicas cromatográficas, eletroforéticas e espectroscópicas. As técnicas cromatográficas incluem cromatografia líquida (LC) com detecção ultravioleta (LC-UV) [23] e acoplada à espectrometria de massas em tandem com ionização por eletrospray (LC-ESI-MS/MS) [24]. A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) tem sido utilizada para a determinação de ácidos fenólicos empregando detecção ultravioleta (HPLC-UV) [25,26], arranjo de diodos (HPLC-DAD) [27,28], detecção amperométrica (HPLC-AD) [29], detecção coulométrica (HPLC-CED) [30], detecção ultravioleta e amperométrica simultânea (HPLC-UV-AD) [31] e acoplada à espectrometria de mobilidade iônica com ionização por eletrospray (HPLC-EIS-IMS) [32].

A técnica de cromatografia líquida de ultra alta performance (UHPLC) tem sido utilizada para a determinação de ácidos fenólicos empregando detector de arranjo de diodos (UHPLC-DAD) [33], e acoplada à espectrometria de massas em tandem (UHPLC-MS/MS) [34,35], espectrometria de massas triplo quadrupolo (UHPLC-QqQ-MS) [36], espectrometria de massas quadrupolo-tempo de voo com ionização por eletrospray (UHPLC-ESI-QTOF MS/MS) [37] e espectrometria de massas quadrupolo com armadilha linear de íons – OrbiTrap (UHPLC-LTQ OrbiTrap MS) [38].

A técnica de eletroforese capilar (CE) também tem sido utilizada para a determinação de ácidos fenólicos quando acoplada à espectrometria de massas por

tempo de voo com ionização por eletrospray (CE-ESI-TOF-MS) [39], e utilizando detecção ultravioleta (CE-UV) [40], arranjo de diodos (CE-DAD) [41–43] e detecção amperométrica (CE-AD) [44]. As técnicas espectroscópicas utilizadas para a determinação de ácidos fenólicos incluem a espectroscopia UV-Visível [45], RAMAN [46], fluorescência [11,47–49], fotoluminescência [50], quimioluminescência [51] e ressonância de *plasmon* [52].

Embora os métodos analíticos supracitados estejam bem estabelecidos na literatura, eles possuem alguns inconvenientes: os métodos cromatográficos e eletroforéticos geralmente requerem o uso de equipamentos caros, procedimentos laboriosos, etapas cuidadosas de pré-tratamento de amostra, grandes quantidades de reagentes/solventes (principalmente orgânicos e de elevada toxicidade) e um tempo relativamente longo para realizar as análises. Os métodos espectroscópicos, por sua vez, comumente carecem de seletividade para a detecção e quantificação de ácidos fenólicos em amostras complexas. Tendo isto em conta, torna-se necessário o desenvolvimento de novos métodos analíticos que sejam simples, sensíveis, seletivos e de baixo custo para a determinação de ácidos fenólicos em cascas de fruta.

Métodos eletroquímicos também têm sido reportados na literatura para a detecção e determinação de FA [53–56], VA [57–60] e *p*-CA [12,61–63]. Estes métodos apresentam simplicidade em termos de preparo de amostra, permitem a realização de análises em um tempo relativamente curto, podem ser miniaturizados e automatizados, utilizam equipamentos mais baratos, e têm sensibilidade comparável às técnicas cromatográficas, eletroforéticas e espectroscópicas. Essas características tornam os métodos eletroquímicos adequados para a realização de análises *in situ* e em tempo real.

1.4. Sensores eletroquímicos

Os sensores eletroquímicos são dispositivos capazes de fornecer informações qualitativas e quantitativas a partir das propriedades elétricas das espécies presentes na amostra em estudo. Fundamentalmente, um sensor é um dispositivo composto por um elemento de reconhecimento, que reconhecerá as espécies de interesse na amostra em estudo; e um transdutor, que irá traduzir o sinal desta interação em um sinal mensurável. Especificamente para os sensores eletroquímicos, este sinal de saída será um sinal elétrico, como corrente, potencial ou condutividade [64].

Basicamente, existem quatro tipos de sensores eletroquímicos: os potenciométricos, que medem o potencial elétrico em função da atividade de uma espécie iônica; os condutométricos, que medem a condutividade elétrica de uma solução; os sensores amperométricos, que medem a variação de corrente sob um potencial fixo; e os sensores voltamétricos, que medem a variação de corrente em um intervalo de potencial. Dentre os sensores eletroquímicos existentes, os sensores voltamétricos são os mais utilizados por algumas de suas características, tais como sensibilidade, ampla faixa linear de concentração, possibilidade de realizar determinações simultâneas e tempo de resposta relativamente curto [64].

Os sensores eletroquímicos podem ser constituídos por eletrodos não modificados (carbono, ouro, platina e outros) e eletrodos modificados. O termo eletrodo quimicamente modificado (do inglês: *chemically modified electrode* – CME) foi introduzido na eletroquímica em 1975 por Murray *et al.* [65] para caracterizar eletrodos que possuíam algum tipo de espécie imobilizada sobre suas superfícies. O principal objetivo desta modificação foi estabelecer um maior controle da natureza físico-química da interface eletrodo/solução, a fim de alterar a reatividade e a seletividade do eletrodo em relação à espécie de interesse [66].

O primeiro relato sobre o uso de um CME foi feito em 1973, quando Lane e Hubbard adsorveram olefinas funcionalizadas sobre a superfície de eletrodos de platina para avaliar a capacidade do ácido 3-alil-salicílico de coordenar seletivamente íons de ferro em função do potencial aplicado [67]. Em 1975, Murray *et al.* [65] reportaram a modificação de eletrodos de SnO₂ com grupos amina, piridil, e etienodiamina. Também em 1975, Watkins *et al.* [68] desenvolveram eletrodos de carbono vítreo modificados com aminoácidos opticamente ativos por meio de ligações covalentes para a eletrossíntese de álcoois a partir da redução de cetonas.

Com base nos trabalhos pioneiros supracitados, uma grande variedade de materiais e técnicas tem sido desenvolvida para a modificação de eletrodos. Isso tem permitido a preparação de sensores eletroquímicos para atender à crescente demanda por análises simples, sensíveis, seletivas e rápidas, principalmente nas áreas médica, industrial e ambiental. No entanto, o maior desafio enfrentado pelos pesquisadores durante o desenvolvimento de sensores eletroquímicos é a regeneração da superfície do eletrodo e a manutenção do sinal analítico por um longo período de tempo. Uma alternativa para contornar essas limitações é o uso de eletrodos descartáveis. A principal vantagem desses dispositivos é a redução do

volume de solventes, reagentes e amostras utilizado durante a medida eletroquímica, o que é interessante do ponto de vista da química verde e da química ambiental [69]. Nesse contexto, os eletrodos serigrafados (do inglês: *screen-printed electrodes* – SPEs) surgiram como uma plataforma viável para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos [70].

A obtenção dos SPEs pelo método de serigrafia consiste em recobrir um substrato não condutor (PVC, PET, cerâmica ou outros) com uma tinta condutora utilizando uma tela de impressão que contém uma configuração pré-definida para o conjunto de eletrodos desejado. Em seguida, essa tinta condutora é parcialmente recoberta com um material isolante para delimitar a área de contato elétrico e a área eletroativa dos eletrodos (Figura 3).



Figura 3 - Etapas do processo de produção dos eletrodos do tipo *screen-printed*. Fonte: adaptado de Pérez-Fernández *et al.* [71]. Reproduzido sob política de acesso aberto, MDPI.

Do ponto de vista comercial, os SPEs são extremamente atrativos, pois apresentam um sistema contendo os eletrodos de trabalho, auxiliar e de referência em um único suporte. Isso possibilita a obtenção de informações *in situ* devido à miniaturização do sistema [70]. Outras vantagens associadas aos SPEs incluem: i) produção em larga escala com custo relativamente baixo; ii) necessidade de volumes muito pequenos de reagentes e amostras para realização das análises; iii) o uso de SPEs elimina a necessidade de limpeza da superfície do eletrodo; e iv) não há efeitos de memória durante as medidas eletroquímicas [71,72]. Além disso, os SPEs são mais suscetíveis à modificação do que os eletrodos sólidos convencionais devido à sua superfície mais rugosa. Isto permite o desenvolvimento de sensores eletroquímicos descartáveis para diferentes espécies de interesse.

Como mencionado anteriormente, as modificações realizadas sobre as superfícies dos eletrodos durante o desenvolvimento de sensores eletroquímicos buscam, na maioria das vezes, aumentar a sensibilidade e a seletividade desses dispositivos em relação às espécies de interesse. Para aumentar a performance dos sensores eletroquímicos, as superfícies dos eletrodos têm sido modificadas com materiais condutores, como grafeno e nanopartículas metálicas [73–77]. Um fator que muitas vezes impossibilita a realização de medidas eletroquímicas é a presença de interferentes na matriz de estudo (como é o caso dos resíduos provenientes da fruticultura). Para contornar essa limitação, as superfícies dos eletrodos têm sido modificadas com materiais que permitam o reconhecimento seletivo das espécies de interesse, como os polímeros molecularmente impressos [73,78–82]. Portanto, a combinação de materiais à base de grafeno, nanopartículas metálicas e polímeros molecularmente impressos é uma estratégia promissora visando a obtenção de sensores eletroquímicos com alta performance analítica para a detecção e quantificação de ácidos fenólicos em cascas de fruta.

1.4.1. Grafeno e derivados

O grafeno é um material bidimensional que consiste em átomos de carbono sp^2 densamente compactados em uma estrutura hexagonal (Figura 4A) [83]. Este material possui alta área superficial, alta condutividade elétrica, excelente flexibilidade e boa resistência térmica e mecânica [84]. No entanto, o grafeno possui um alto custo de produção e sua insolubilidade em meio aquoso dificulta o seu uso como agente modificador de eletrodos [85].

O óxido de grafeno (do inglês: *graphene oxide* – GO) é um derivado de grafeno obtido a partir da oxidação do grafite, que, por sua vez, consiste em várias folhas de grafeno densamente compactadas. Durante o processo de oxidação do grafite para a obtenção do GO, grupos oxigenados (epóxidos, hidroxilas, carboxilas e carbonilas) são introduzidos nas folhas de grafeno, o que altera a hibridização dos átomos de carbono de sp^2 para sp^3 (Figura 4B) [83]. Quando comparado ao grafeno, a presença desses grupos oxigenados torna o GO mais solúvel e mais suscetível à funcionalização com diferentes materiais. Por outro lado, os grupos oxigenados diminuem a condutividade elétrica do GO em relação ao grafeno, uma vez que as ligações conjugadas são interrompidas pela presença de átomos de carbono com hibridização sp^3 [84,85]. Para

contornar esse inconveniente, o GO tem sido reduzido para óxido de grafeno reduzido (do inglês: *reduced graphene oxide* – rGO). Essa etapa de redução remove grande parte dos grupos oxigenados e, conseqüentemente, o domínio das ligações sp^2 é restabelecido (Figura 4C) [83]. Isso deixa o rGO com condutividade elétrica semelhante ao grafeno.

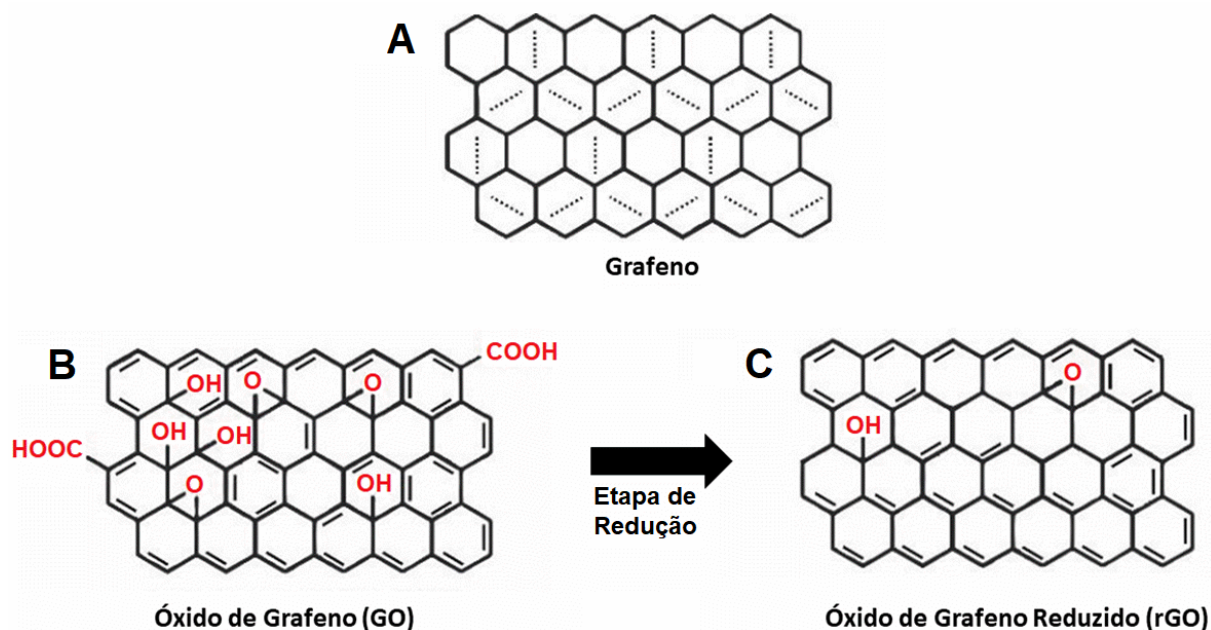


Figura 4 - Estrutura do (A) grafeno, (B) óxido de grafeno e (C) óxido de grafeno reduzido. Fonte: adaptado de Tadyszak *et al.* [83]. Reproduzido sob política de acesso aberto, MDPI.

A redução do GO para rGO pode ser realizada por tratamentos químicos, fotoquímicos, eletroquímicos ou térmicos. Dentre essas abordagens, a redução eletroquímica tem sido amplamente utilizada para a preparação de sensores eletroquímicos, uma vez que o GO pode ser reduzido para rGO diretamente sobre as superfícies dos eletrodos. Além disso, a redução eletroquímica permite um maior controle do processo de redução do GO para rGO por meio dos parâmetros eletroquímicos empregados [86]. Na área de eletroanalítica, eletrodos contendo rGO podem ser facilmente funcionalizados com diferentes materiais, incluindo nanopartículas metálicas e estrutura poliméricas, o que permite um ganho de detectabilidade ao método analítico desenvolvido [74–77].

1.4.2. Nanopartículas metálicas

Nanopartículas são definidas como partículas com tamanhos entre 1 e 100 nm [87]. Em sensores eletroquímicos, nanopartículas metálicas aumentam a área eletroativa e a sensibilidade do eletrodo, facilitam o transporte de massa e a transferência eletrônica na interface eletrodo/solução e, em alguns casos, promovem um efeito eletrocatalítico sobre as reações de oxidação e/ou redução da molécula alvo [88,89].

As nanopartículas de ouro, prata, platina, paládio, rutênio, níquel, cobre e ferro são as mais utilizadas para a preparação de sensores eletroquímicos [88,89]. O ouro metálico é um excelente condutor térmico e elétrico, além de ser conhecido por ser um material maleável e dúctil [89]. As nanopartículas de ouro (AuNPs) são consideradas uma excelente alternativa aos eletrodos de ouro sólido devido ao seu baixo custo, facilidade de preparação, baixa toxicidade, alta área superficial, biocompatibilidade e estabilidade em uma ampla faixa de pH e potencial elétrico [86,89,90].

O ferro é um metal que oxida facilmente, o que dificulta a preparação de nanopartículas de ferro metálico. Em razão disso, nanopartículas de óxido de ferro têm sido amplamente utilizadas para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos [88]. Assim como as AuNPs, as nanopartículas de ferro (FeNPs) podem ser facilmente preparadas, possuem baixo custo, baixa toxicidade e alta biocompatibilidade [88]. Além disso, as FeNPs aumentam a área eletroativa do eletrodo devido à sua alta relação área-volume, o que contribui para um aumento na taxa de transferência eletrônica na interface eletrodo-solução [91].

O níquel é um metal duro, dúctil e de baixo custo, e é considerado uma alternativa aos metais nobres. Assim como o ferro, o níquel também oxida facilmente, o que dificulta a preparação de nanopartículas de níquel metálico e favorece a obtenção de nanopartículas de óxido de níquel [89]. As nanopartículas de níquel (NiNPs) possuem boa estabilidade em uma ampla faixa de pH e potencial elétrico. Essas nanopartículas também apresentam alta condutividade elétrica, o que aumenta a velocidade de transferência eletrônica e, conseqüentemente, diminui o sobrepotencial das reações eletroquímicas [75,89,92].

Tendo em vista as características supracitadas, as AuNPs, FeNPs e NiNPs podem ser utilizadas na preparação de sensores eletroquímicos para a determinação

de ácidos fenólicos devido ao aumento da sensibilidade que essas nanopartículas podem proporcionar aos métodos analíticos desenvolvidos.

As AuNPs, FeNPs e NiNPs podem ser preparadas por vários métodos, tais como sol-gel, decomposição térmica, coprecipitação, microemulsão e eletrodeposição [91]. Neste trabalho, o método de eletrodeposição foi utilizado por permitir a deposição das nanopartículas de interesse diretamente sobre a superfície do eletrodo de forma fácil e rápida. Além disso, a eletrodeposição permite um maior controle da cristalinidade, pureza e tamanho das nanopartículas por meio das condições eletroquímicas empregadas [91].

1.4.3. Polímeros molecularmente impressos

Um polímero molecularmente impresso (do inglês: *molecularly imprinted polymer* – MIP) é um material sintético capaz de reconhecer seletivamente uma molécula alvo. Em outras palavras, é um polímero capaz de mimetizar as interações seletivas que ocorrem em receptores biológicos, como antígeno/anticorpo e enzima/substrato [73].

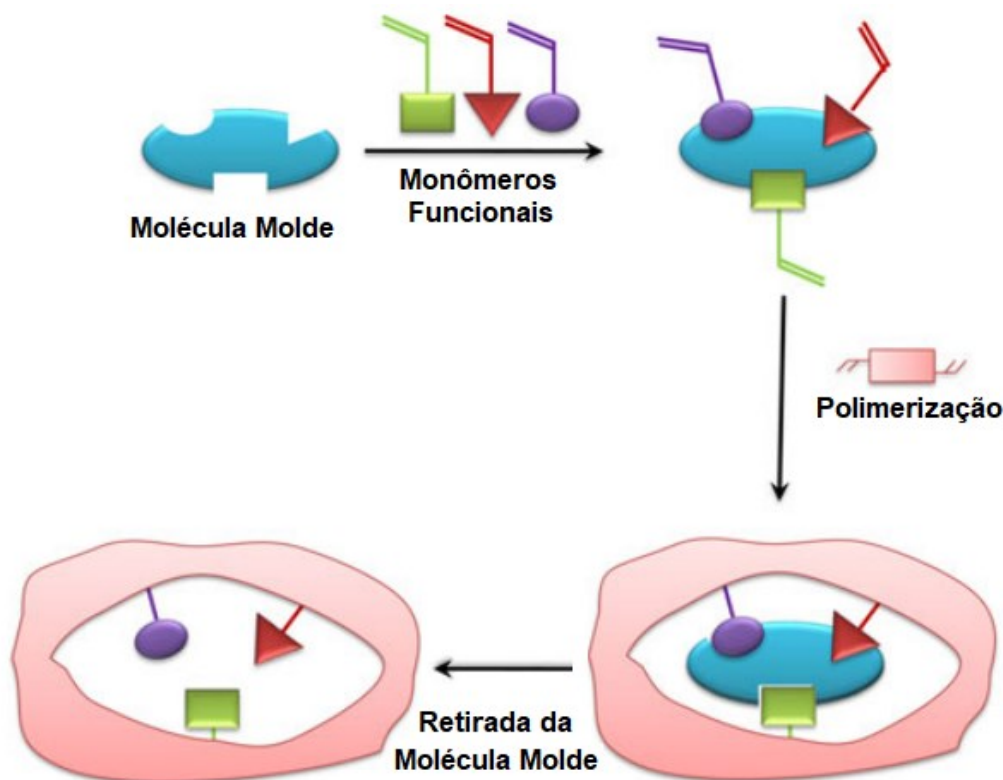


Figura 5 - Esquema geral para preparação do MIP. Fonte: adaptado e reproduzido com permissão de Malitesta *et al.* [93]. Direitos autorais: Springer, 2011.

A síntese do MIP envolve a polimerização de um ou mais monômeros funcionais na presença de uma molécula molde. Após a polimerização, a retirada da molécula molde promove a formação de cavidades tridimensionais com tamanho, forma e orientação espacial complementares à molécula alvo (Figura 5) [74,77,93]. Isso confere ao MIP uma notável capacidade seletiva para o reconhecimento da molécula de interesse. Dependendo do tamanho da molécula molde, as cavidades formadas podem até apresentar uma capacidade enantiosseletiva [94]. Além disso, o MIP possui boa estabilidade química e mecânica, fácil preparação e custo relativamente baixo. Essas características tornam o MIP um material adequado para ser utilizado como unidade de reconhecimento em sensores eletroquímicos [80].

O MIP pode ser preparado por várias técnicas de polimerização, incluindo polimerização em massa, polimerização por precipitação, polimerização por suspensão, polimerização por emulsão, processo sol-gel e eletropolimerização [74,77]. Para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos baseados em MIP, a eletropolimerização é a abordagem mais adequada, uma vez que o filme de MIP pode ser sintetizado diretamente sobre a superfície do eletrodo de forma simples e rápida. Durante a etapa de eletropolimerização, a espessura, morfologia e adesão do filme de MIP à superfície do eletrodo podem ser controladas através dos parâmetros eletroquímicos utilizados. Isso permite a eletrossíntese de filmes finos e compactos, o que é adequado para a obtenção de um curto tempo de resposta para o sensor eletroquímico [86,95].

A quantidade de monômeros funcionais disponíveis para a eletropolimerização torna esta técnica promissora para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos molecularmente impressos [96]. Fenol, pirrol e ácido 3-indoleacético (Figura 6) são monômeros funcionais adequados para a preparação de sensores eletroquímicos baseados em MIPs [75,77–79,97–104].

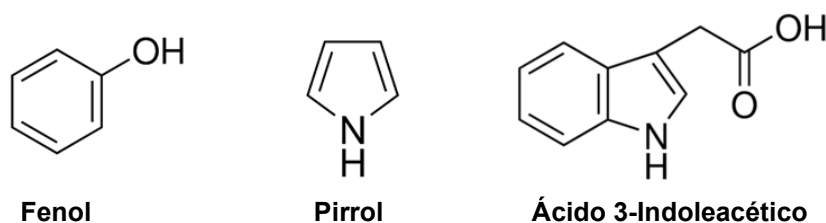


Figura 6 - Estrutura molecular do fenol, pirrol e ácido 3-indoleacético.

O fenol é um monômero bastante utilizado para modificar eletrodos devido à sua capacidade de adsorver sobre vários substratos eletroativos. O uso generalizado do fenol para a preparação de sensores eletroquímicos baseados em MIP é atribuído à capacidade desse monômero de interagir com várias moléculas por meio de interações π - π [77,99–103].

O pirrol (do inglês: *pyrrole* – Py) é um monômero bastante utilizado para a preparação de filmes de MIP por eletropolimerização devido às suas propriedades elétricas bem definidas, o que favorece a eletrossíntese de filmes finos e compactos sobre diferentes superfícies eletródicas. O uso de filmes de polipirrol (PPy) como unidades de reconhecimento se deve à capacidade dos grupos $-\text{NH}_2$ de interagir com várias moléculas por meio de interações de hidrogênio. Além disso, os filmes de PPy apresentam excelente estabilidade química, o que permite seu uso para eletroanálise em meio ácido ou neutro [75,78,79].

O ácido 3-indoleacético (do inglês: *3-indoleacetic acid* – 3IAA) é um monômero funcional que pode ser utilizado para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos baseados em MIP devido à sua fácil polimerização, estabilidade mecânica e capacidade de interagir com várias moléculas por meio de interações de hidrogênio. Além disso, o 3IAA é um polímero biodegradável, o que é interessante dentro dos conceitos de química verde e da química ambiental [97,98,104].

Embora o uso de MIP seja considerado uma boa alternativa para a obtenção de sensores altamente seletivos para uma molécula de interesse, poucos trabalhos foram encontrados na literatura sobre sensores eletroquímicos baseados em MIP para detecção e quantificação de ácidos fenólicos [105–109]. A modificação de SPEs com filmes de MIP também tem sido pouco explorada na literatura. O primeiro trabalho que reporta um SPE modificado com filme de MIP foi publicado em 1999 por Kröger *et al.* [110]. Neste trabalho, os autores desenvolveram um sensor eletroquímico para a determinação de ácido diclorofenoxiacético (também conhecido como 2,4-D) por meio da modificação de um SPE com filme molecularmente impresso de poli(etilenoglicol dimetacrilato-co-4-vinilpiridina) [110]. Após esta publicação, poucos trabalhos foram registrados até 2016, quando as publicações tiveram um aumento significativo (ver Figura 7A). Em 2022, foram publicados 39 trabalhos sobre SPEs modificados com filmes de MIP, o que ainda é pouco em comparação com todas as publicações que envolvem a preparação de sensores eletroquímicos utilizando esses filmes poliméricos (329 trabalhos; Figura 7B).

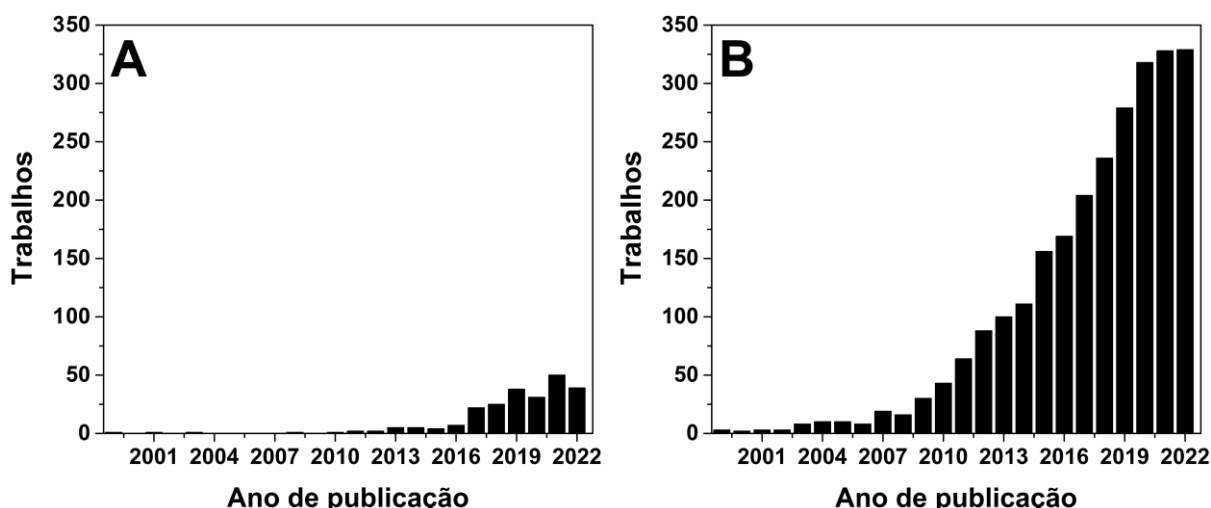


Figura 7 – (A) Evolução das publicações sobre SPEs modificados com filmes de MIP. Fonte: Web of Science; palavras-chave: *electrochemical sensor*, *screen-printed electrode* e *molecularly imprinted polymer*; (B) Evolução das publicações sobre sensores eletroquímicos baseados em MIP. Fonte: Web of Science; palavras-chave: *electrochemical sensor* e *molecularly imprinted polymer*.

A sensibilidade dos sensores eletroquímicos baseados em MIP está diretamente relacionada com o número de cavidades formadas na estrutura polimérica. Para aumentar a sensibilidade desses dispositivos, os filmes de MIP têm sido eletrossintetizados sobre superfícies nanoestruturadas, como aquelas contendo rGO e nanopartículas metálicas [75,76,81,82]. Como discutido anteriormente, esses materiais nanoestruturados aumentam a área eletroativa e a rugosidade dos eletrodos, o que contribui para a adesão dos filmes de MIP sobre as superfícies eletródicas e para a formação de um maior número de cavidades de reconhecimento. Os filmes de MIP preparados sobre superfícies nanoestruturadas podem apresentar até 15 vezes mais cavidades em comparação com aqueles preparados sobre superfícies planas [73,111]. Portanto, eletrodos modificados com rGO, nanopartículas metálicas e filmes de MIP são dispositivos altamente promissores para a detecção e quantificação de ácidos fenólicos em cascas de fruta.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Desenvolver sensores eletroquímicos descartáveis contendo óxido de grafeno reduzido, nanopartículas metálicas e polímeros molecularmente impressos para determinação dos ácidos ferúlico, vanílico e *p*-cumárico em cascas de banana e laranja.

2.2. Objetivos específicos

- Desenvolver um sensor eletroquímico descartável contendo óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de ouro e polímero molecularmente impresso de poli(fenol) para determinação de ácido ferúlico em casca de laranja.
- Desenvolver um sensor eletroquímico descartável contendo óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de ferro e polímero molecularmente impresso de polipirrol para determinação de ácido vanílico em cascas de banana e laranja.
- Desenvolver um sensor eletroquímico descartável contendo óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de níquel e polímero molecularmente impresso de poli(ácido 3-indoleacético) para determinação de ácido *p*-cumárico em cascas de banana e laranja.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiais e reagentes

Ácido ferúlico (FA; pureza: 99,0%), ácido vanílico (VA; pureza: $\geq 97,0\%$), ácido *p*-cumárico (*p*-CA; pureza: $\geq 98,0\%$), ácido gálico (GA; pureza: $\geq 98,0\%$), ácido cafeico (CA; pureza: $\geq 98,0\%$), ácido ascórbico (AA; pureza: $\geq 99,0\%$), ácido sulfúrico (H_2SO_4 ; pureza: 95,0–98,0%), ácido cloroáurico (HAuCl_4 ; pureza: $\geq 99,9\%$), ácido acético glacial (pureza: $\geq 99,0\%$), ácido 3-indoleacético (3IAA; pureza: 98,0%), fenol (pureza: $\geq 99,0\%$), pirrol (Py; pureza: $\geq 98,0\%$), quercetina (QT; pureza: $\geq 95,0\%$), cloreto de ferro hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; pureza: 97,0%), cloreto de potássio (KCl; pureza: $\geq 99,0\%$), sulfato de níquel hexahidratado ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; pureza: $\geq 99,0\%$), sulfato de sódio (Na_2SO_4 ; pureza: $\geq 99,0\%$), fosfato de potássio monobásico (pureza: $\geq 98,0\%$), fosfato de potássio dibásico (pureza: $\geq 98,0\%$), ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; pureza: 99,0%), óxido de grafeno (GO; 4,0 mg mL⁻¹; pureza: $> 95,0\%$) e metanol (pureza: $\geq 99,9\%$) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Etanol (pureza: $> 99,9\%$) foi adquirido da Merck. Todas as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura (18,2 MΩ cm⁻¹), obtida a partir de um sistema Milli-Q.

Para a preparação dos sensores propostos, eletrodos descartáveis do tipo *screen-printed* foram utilizados como base para realização das modificações. Esses eletrodos foram adquiridos da Metrohm DropSens nos modelos DRP-C110 e DRP-C11L. Nestes dispositivos, os eletrodos de trabalho (diâmetro: 4,0 mm) e os eletrodos auxiliares são confeccionados de carbono. Os dispositivos DRP-C110 possuem um eletrodo pseudo-referência de prata, enquanto que os dispositivos DRP-C11L possuem um eletrodo pseudo-referência de prata/cloreto de prata.

3.2. Equipamentos

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT30 controlado pelo software NOVA 1.11 (Metrohm). As caracterizações morfológicas dos eletrodos foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura com canhão de emissão de campo (do inglês: *field emission gun scanning electron microscopy* – FEG-SEM) utilizando um microscópio eletrônico de varredura (JEOL, JSM-7500F) acoplado a um módulo de

espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (do inglês: *energy dispersive X-ray spectroscopy* – EDS) da Thermo Scientific, modelo UltraDry.

Imagens topográficas das superfícies dos eletrodos foram obtidas por microscopia de força atômica (do inglês: *atomic force microscopy* – AFM). Para este fim, o microscópio (Veeco, NanoScope V) foi configurado no modo *tapping* e as imagens foram obtidas utilizando uma velocidade de varredura de $2 \mu\text{m s}^{-1}$ e resolução de 256×256 pixels. Adicionalmente, espectros Raman das superfícies dos eletrodos foram obtidos utilizando um espectrômetro Raman (Horiba Jobin Yvon, LabRAM HR) equipado com laser de He-Ne ($\lambda = 632,8 \text{ nm}$).

A identificação de ligações químicas e grupos funcionais nas superfícies dos eletrodos foi realizada por espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (do inglês: *X-ray photoelectron spectroscopy* – XPS) utilizando um espectrômetro comercial com sistema de alto vácuo (UNI-SPECS UHV Surface Analysis System). Para realização das análises de XPS, a linha Mg $K\alpha$ ($h\nu = 1254,6 \text{ eV}$) foi utilizada como fonte de ionização e a energia de passagem do analisador foi ajustada para 10 eV . O ruído inelástico dos espectros de alta resolução foi subtraído utilizando o método de Shirley. Os espectros foram deconvoluídos utilizando uma função do tipo Voigtiana, com combinações Gaussianas (70%) e Lorentzianas (30%). A largura à meia altura variou entre $1,3$ e $2,1 \text{ eV}$, e a posição dos picos foi determinada com uma precisão de $\pm 0,10 \text{ eV}$.

3.3. Ativação do SPE

O SPE foi ativado por voltametria cíclica (CV) utilizando uma solução de H_2SO_4 $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ para obtenção do eletrodo SPE(a). Para este fim, o SPE foi submetido a varreduras contínuas de potencial em uma faixa de $-0,20$ a $1,2 \text{ V}$ (velocidade de varredura: 100 mV s^{-1}) até que suas correntes apresentassem valores estáveis.

3.4. Modificação do SPE(a) com óxido de grafeno reduzido

Inicialmente, uma suspensão aquosa de GO $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ foi deixada em banho ultrassônico por 4 horas para esfoliação das folhas de GO. Posteriormente, uma suspensão de GO $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$ contendo Na_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada e o SPE(a) foi modificado utilizando um método de eletrodeposição, em que o potencial

de $-1,4$ V foi aplicado até que a carga do eletrodepósito atingisse $1,0$ mC. Em seguida, o eletrodo foi seco à temperatura ambiente e denominado SPE(a)/rGO.

3.5. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de ouro e filme molecularmente impresso de poli(fenol) para detecção de ácido ferúlico

A modificação do eletrodo SPE(a)/rGO com AuNPs foi realizada utilizando uma solução de H_2SO_4 $0,50$ mol L^{-1} contendo HAuCl_4 $6,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} . O método de eletrodeposição foi empregado para a formação das AuNPs sobre a superfície do eletrodo. Neste método, o potencial de $0,70$ V foi aplicado até que a carga do eletrodepósito atingisse $0,50$ mC.

Para a eletrossíntese do filme de MIP, uma quantidade de 50 μL de uma solução de tampão fosfato (PB; $0,10$ mol L^{-1} ; pH $7,0$) contendo $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de fenol e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de FA foi gotejada sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs. A eletropolimerização foi realizada por CV, na qual 40 ciclos voltamétricos foram aplicados em uma faixa de potencial de $0,50$ a $1,2$ V utilizando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Após a eletropolimerização, o eletrodo foi lavado em uma solução hidroalcoólica (9:1; v:v; água:etanol) por 60 s para remover o molde de FA da matriz polimérica de poli(fenol). O dispositivo obtido foi chamado de SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP. Para fins de comparação, um eletrodo modificado com um polímero não impresso (do inglês: *non-imprinted polymer* – NIP) foi preparado na ausência de FA; este eletrodo foi denominado SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP.

3.6. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de ferro e filme molecularmente impresso de polipirrol para detecção de ácido vanílico

As FeNPs foram eletrodepositadas sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO utilizando uma solução de KCl $0,10$ mol L^{-1} contendo $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} . Para este fim, o potencial de $-1,3$ V foi aplicado até que a carga do eletrodepósito atingisse $5,0$ mC. O eletrodo obtido foi denominado SPE(a)/rGO-FeNPs.

Para a eletrossíntese do filme de MIP, uma solução contendo $3,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} de Py e $7,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de VA foi preparada usando PB ($0,10$ mol L^{-1} ; pH $7,0$). Uma quantidade de 50 μL desta solução foi gotejada sobre a superfície do eletrodo e a eletropolimerização foi realizada por CV, na qual três ciclos voltamétricos foram

aplicados em uma faixa de potencial de 0,60 a 1,2 V utilizando uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Após a etapa de eletropolimerização, 50 µL de uma solução de etanol-ácido acético (9:1; v:v) foi colocada sobre a superfície do eletrodo por 60 s para remover o molde de VA e obter o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNP-MIP. Para fins de comparação, um eletrodo não impresso foi preparado na ausência da molécula de VA. O dispositivo obtido nesta etapa foi chamado de SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP.

3.7. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de níquel e filme molecularmente impresso de poli(ácido 3-indoleacético) para detecção de ácido *p*-cumárico

As NiNPs foram eletrodepositadas sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO utilizando uma solução de Na₂SO₄ 0,10 mol L⁻¹ contendo NiSO₄·7H₂O 5,0×10⁻³ mol L⁻¹. Para este fim, o potencial de -1,2 V foi aplicado até que a carga do eletrodeposição atingisse 5,0 mC. O eletrodo obtido foi denominado SPE(a)/rGO-NiNPs.

A preparação do filme de MIP sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs foi realizada por meio da eletropolimerização de 3IAA (monômero funcional) na presença de *p*-CA (molécula molde). Para este fim, 50 µL de uma solução de PB (0,10 mol L⁻¹; pH 8,0) contendo 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ de 3IAA e 4,0×10⁻³ mol L⁻¹ de *p*-CA foram gotejados sobre a superfície do eletrodo. A eletropolimerização foi realizada por CV, na qual uma faixa de potencial de 0 a 0,70 V foi aplicada por três ciclos voltamétricos utilizando uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Em seguida, uma solução contendo etanol e ácido acético (9:1; v:v) foi gotejada sobre a superfície eletropolimerizada por 60 s para remover a molécula molde da estrutura do polímero e permitir a formação de cavidades impressas para reconhecimento da molécula de *p*-CA. Essas etapas levaram à obtenção do sensor SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP. Para fins de comparação, um sensor não impresso foi preparado usando as mesmas condições experimentais na ausência de *p*-CA. Este dispositivo foi chamado de SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP e utilizado como um material controle durante os experimentos de reconhecimento molecular.

3.8. Medidas eletroanalíticas

Após a preparação dos sensores propostos, a detecção dos ácidos fenólicos foi realizada utilizando o seguinte procedimento: para a etapa de religação, 50 μL de uma solução padrão contendo o ácido fenólico de interesse foram gotejados sobre a superfície do eletrodo. Após o processo de religação, a solução padrão do analito foi substituída por uma solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ preparada em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ para realização das medidas eletroquímicas.

A solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ foi usada como sonda eletroquímica para a detecção dos ácidos fenólicos de interesse. Nesse contexto, os ácidos fenólicos ocupam algumas cavidades impressas durante a etapa de religação e, conseqüentemente, diminuem o número de sítios disponíveis para a sonda $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ acessar a superfície do eletrodo. Como resultado, a resposta voltamétrica obtida para a sonda $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ é inversamente proporcional à concentração dos ácidos fenólicos em estudo. Esta abordagem indireta de detecção foi utilizada porque os ácidos fenólicos de interesse adsorvem sobre as superfícies dos eletrodos propostos (ver Apêndice A). Isso compromete a detecção desses analitos e, por consequência, a performance dos métodos analíticos desenvolvidos neste trabalho.

As medidas eletroquímicas foram realizadas por voltametria de pulso diferencial (do inglês: *differential pulse voltammetry* – DPV) usando uma velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} , uma altura de pulso de 50 mV , uma largura de pulso de 50 ms e um tempo de pulso de $0,50 \text{ s}$. As correntes dos sensores foram obtidas utilizando a seguinte equação: $\Delta i = i_0 - i_x$, em que i_0 e i_x correspondem as correntes antes e após o processo de religação, respectivamente. As curvas analíticas foram obtidas plotando as correntes de cada sensor (Δi) vs. as concentrações de cada ácido fenólico. A sensibilidade amperométrica (m) e os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) de cada sensor foram estimados através das curvas analíticas. Esses limites foram calculados usando as seguintes equações: $\text{LOD} = 3\text{SD}/m$ e $\text{LOQ} = 10\text{SD}/m$, em que “SD” e “ m ” correspondem ao desvio padrão e à inclinação da curva analítica, respectivamente ($n = 3$).

3.9. Determinação dos ácidos fenólicos em cascas de banana e laranja

Bananas e laranjas frescas foram adquiridas em um supermercado de Araraquara (São Paulo, Brasil). As frutas foram descascadas e as cascas coletadas foram secas em uma estufa (SOLAB, SL-100) por 24 h a 40 °C. Posteriormente, as cascas secas foram moídas em um moinho analítico (IKA, A11). As extrações dos ácidos fenólicos das cascas de banana e laranja foram realizadas por processos assistidos por ultrassom (UAP). Para este fim, um banho ultrassônico com controlador de temperatura (Eco-Sonics, Q8.6/25A) foi utilizado; este equipamento possui uma frequência de 25 kHz e uma potência de 300 watts.

Para extração dos ácidos fenólicos das cascas de laranja, 1 grama de casca moída e 20 mL de uma solução de metanol 80% (v:v) foram colocados em um frasco de 50 mL. A extração de FA e *p*-CA foi realizada por 40 min a 30 °C, enquanto que a extração de VA foi conduzida a 40 °C por 10 min [112]. Para extração de VA e *p*-CA das cascas de banana, 1 grama de casca moída e 20 mL de uma solução de etanol 95% (v:v) foram colocados em um frasco de 50 mL e o UAP foi realizado por 30 min a 60 °C [113].

Os extratos de banana e laranja obtidos foram filtrados utilizando papel de filtro qualitativo (gramatura: 80 g m⁻²) e diluídos adequadamente em solução de PB (0,10 mol L⁻¹) para a realização das medidas eletroquímicas. A determinação dos ácidos fenólicos foi realizada pelo método de adição padrão. Os resultados obtidos foram validados por ensaios de recuperação, em que concentrações conhecidas dos analitos foram adicionadas às amostras.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Modificação do SPE(a) com óxido de grafeno reduzido

Inicialmente, uma varredura cíclica exploratória foi realizada para identificar o potencial de redução do GO. A Figura 8A mostra que a redução eletroquímica do GO para rGO sobre a superfície do SPE(a) ocorreu em aproximadamente $-1,4$ V. Durante esta etapa de redução, os grupos oxigenados das folhas de GO foram reduzidos para restaurar a hibridização sp^2 dos átomos de carbono (ver Figura 4). Isso conferiu ao rGO alta condutividade elétrica e boas propriedades térmicas e mecânicas [83].

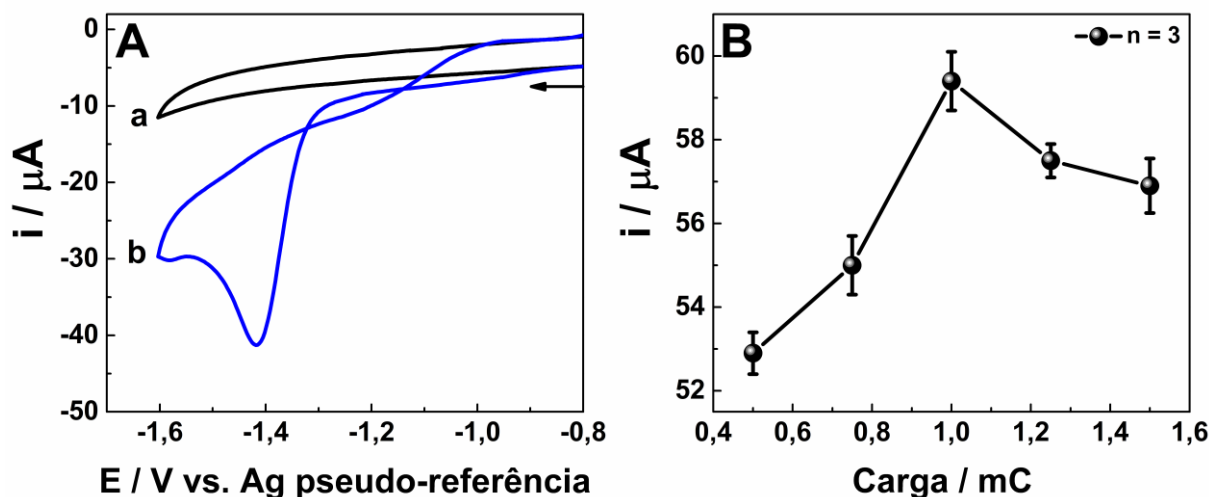


Figura 8 - Estudo de otimização para eletrodeposição de rGO sobre o eletrodo SPE(a): (A) Voltamogramas cíclicos em (a) solução de Na_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e (b) solução de Na_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo GO $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$; velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . (B) Efeito da carga do eletrodepósito de rGO sobre a corrente de pico anódica da sonda $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada usando KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

Após identificar o potencial de redução do GO, a etapa de eletrodeposição foi otimizada através da carga do eletrodepósito de rGO. Para isso, o potencial de $-1,4$ V foi aplicado para promover a redução do GO para rGO. A influência da carga do eletrodepósito de rGO sobre a resposta do eletrodo foi investigada usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. A Figura 8B mostra que a corrente de pico anódica da sonda $K_3[Fe(CN)_6]$ aumentou em função da carga de rGO e atingiu seu máximo em $1,0 \text{ mC}$. Para valores de carga maiores que $1,0 \text{ mC}$, a corrente da sonda eletroquímica apresentou uma considerável diminuição, possivelmente devido à formação de uma

camada muito espessa de rGO sobre a superfície do eletrodo, o que dificultou a transferência de elétrons na interface eletrodo/solução.

Portanto, a modificação do SPE(a) com rGO foi realizada utilizando uma solução de Na_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo GO $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$. Para a eletrodeposição do rGO sobre a superfície do SPE(a), o potencial de $-1,4 \text{ V}$ foi aplicado até que a carga do eletrodepósito atingisse $1,0 \text{ mC}$. Por fim, o eletrodo SPE(a)/rGO foi seco à temperatura ambiente e utilizado para o desenvolvimento das próximas etapas deste trabalho.

4.2. Sensor eletroquímico descartável para determinação de ácido ferúlico em cascas de laranja

Esta seção reporta o desenvolvimento de um sensor eletroquímico descartável contendo rGO, AuNPs e filme molecularmente impresso de poli(fenol) para detecção e quantificação de FA. A Figura 9 ilustra as etapas de preparação do sensor proposto.

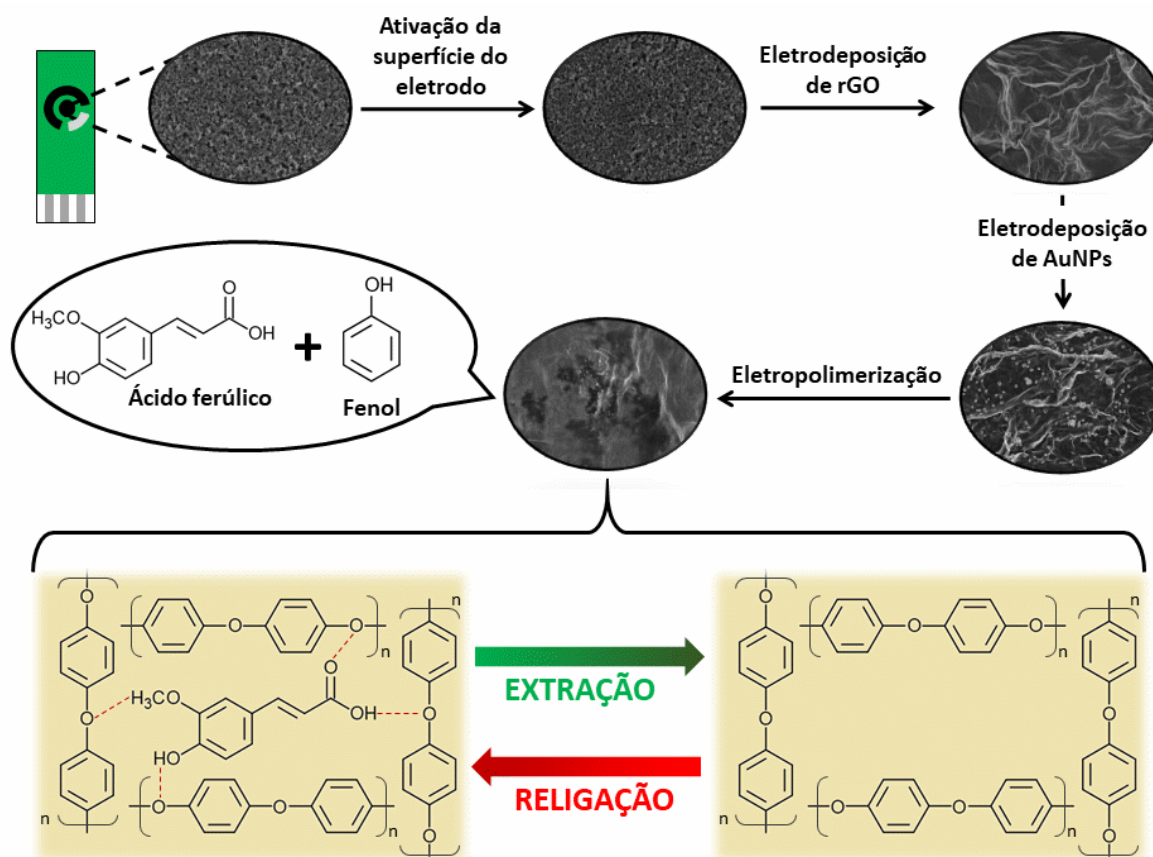


Figura 9 - Esquema ilustrativo das etapas de preparação do sensor SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

4.2.1. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de ouro

A eletrodeposição das AuNPs sobre o SPE(a)/rGO foi controlada por meio da carga do eletrodepósito formado sobre a superfície deste eletrodo. Para este fim, uma voltametria cíclica exploratória foi realizada para diagnosticar os potenciais de oxidação/redução das espécies de ouro. A Figura 10A mostra o voltamograma cíclico obtido para o eletrodo SPE(a)/rGO em uma solução de H_2SO_4 $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ contendo HAuCl_4 $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Olhando para esta figura, é possível observar um pico catódico em torno de $0,70 \text{ V}$ devido à redução das espécies de ouro (pico I) e picos anódicos sobrepostos entre $1,1$ e $1,2 \text{ V}$ (picos II e III, respectivamente). De acordo com Eissa e Zourob [115] e Wang *et al.* [116], o perfil voltamétrico mostrado na Figura 10A é típico de AuNPs, o que confirma a eletrodeposição dessas nanopartículas sobre o eletrodo SPE(a)/rGO.

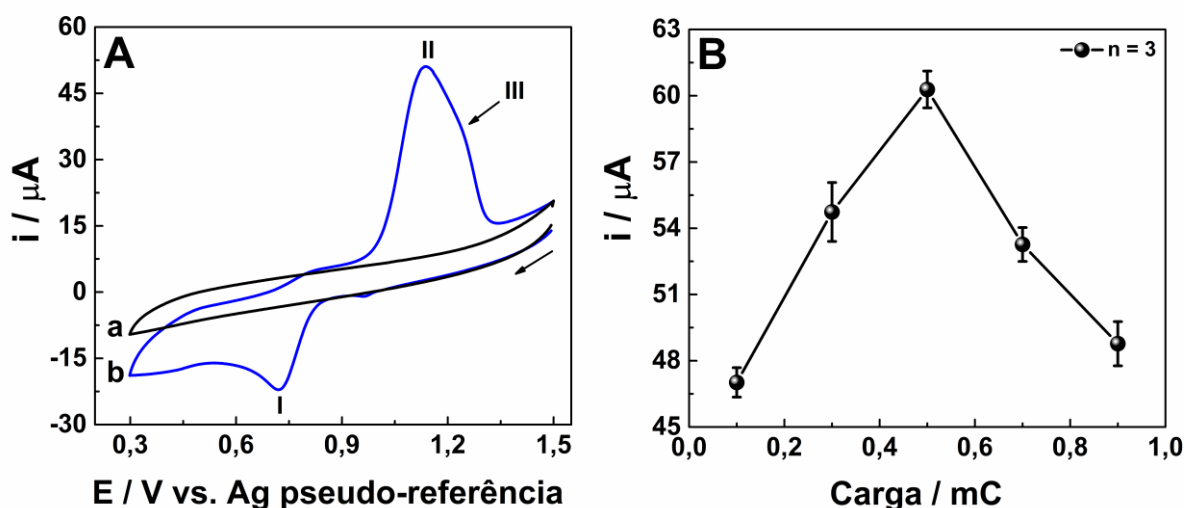


Figura 10 - Estudo de otimização para eletrodeposição de AuNPs sobre o eletrodo SPE(a)/rGO. (A) Voltamogramas cíclicos em (a) solução de H_2SO_4 $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e (b) solução de H_2SO_4 $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ contendo HAuCl_4 $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . (B) Efeito da carga do eletrodepósito de AuNPs sobre a corrente de pico anódica da sonda $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada usando KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

A carga do eletrodepósito foi otimizada usando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. A Figura 10B mostra que a corrente de pico anódica da sonda $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ aumentou em função da carga de AuNPs e atingiu seu máximo em $0,50 \text{ mC}$. Para valores de carga acima de $0,50 \text{ mC}$, a corrente da sonda eletroquímica apresentou uma considerável diminuição,

possivelmente devido à aglomeração das AuNPs e à formação de um filme de ouro sobre a superfície do eletrodo. Eletrodos modificados com filmes metálicos têm uma menor área eletroativa em comparação aos modificados com nanopartículas metálicas [88,89]. Em razão disso, a carga de AuNPs escolhida para modificar o eletrodo SPE(a)/rGO foi de 0,50 mC.

4.2.2. Eletropolimerização do filme molecularmente impresso de poli(fenol) e caracterização eletroquímica do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP

O eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP foi caracterizado eletroquimicamente por CV e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Inicialmente, o processo de ativação em H₂SO₄ 0,50 mol L⁻¹ foi realizado com o objetivo de remover possíveis impurezas adsorvidas sobre a superfície do eletrodo. A Figura 11A mostra o voltamograma obtido para o SPE sem qualquer pré-tratamento (curva a). Após o processo de ativação, houve um aumento nas intensidades de corrente e uma melhora nos critérios de reversibilidade dos picos redox da sonda eletroquímica (curva b). Após modificar a superfície do eletrodo com rGO, um novo aumento nas intensidades de corrente da sonda eletroquímica foi observado (curva c); isso foi atribuído à eletrodeposição das folhas de grafeno sobre a superfície do SPE(a), o que promoveu um aumento na área eletroativa do eletrodo. Além disso, após decorar as folhas de grafeno com AuNPs, a sonda eletroquímica apresentou uma intensidade de corrente ainda maior (curva d). Esse comportamento foi atribuído à maior área eletroativa do eletrodo, uma vez que as nanopartículas foram incorporadas às folhas de grafeno.

As medidas de EIS foram realizadas com o objetivo de caracterizar a superfície do eletrodo após as modificações. Os resultados obtidos com a aplicação desta técnica são frequentemente apresentados por diagramas de Nyquist, os quais apresentam uma região semicircular em altas frequências e uma região linear em baixas frequências. Nestes diagramas, o tamanho do semicírculo é proporcional ao valor da resistência à transferência de carga (R_{ct}); o R_{ct} pode ser determinado pela modelagem de um circuito elétrico teórico que simula os dados experimentais obtidos. A Figura 11B mostra os diagramas de Nyquist obtidos após cada etapa de modificação

do eletrodo e um circuito equivalente que está de acordo com os dados experimentais. Este circuito equivalente é baseado nos seguintes elementos: R_{ct} , resistência da solução (R_s), elemento de constante de fase (CPE) e elemento de difusão de Warburg (W).

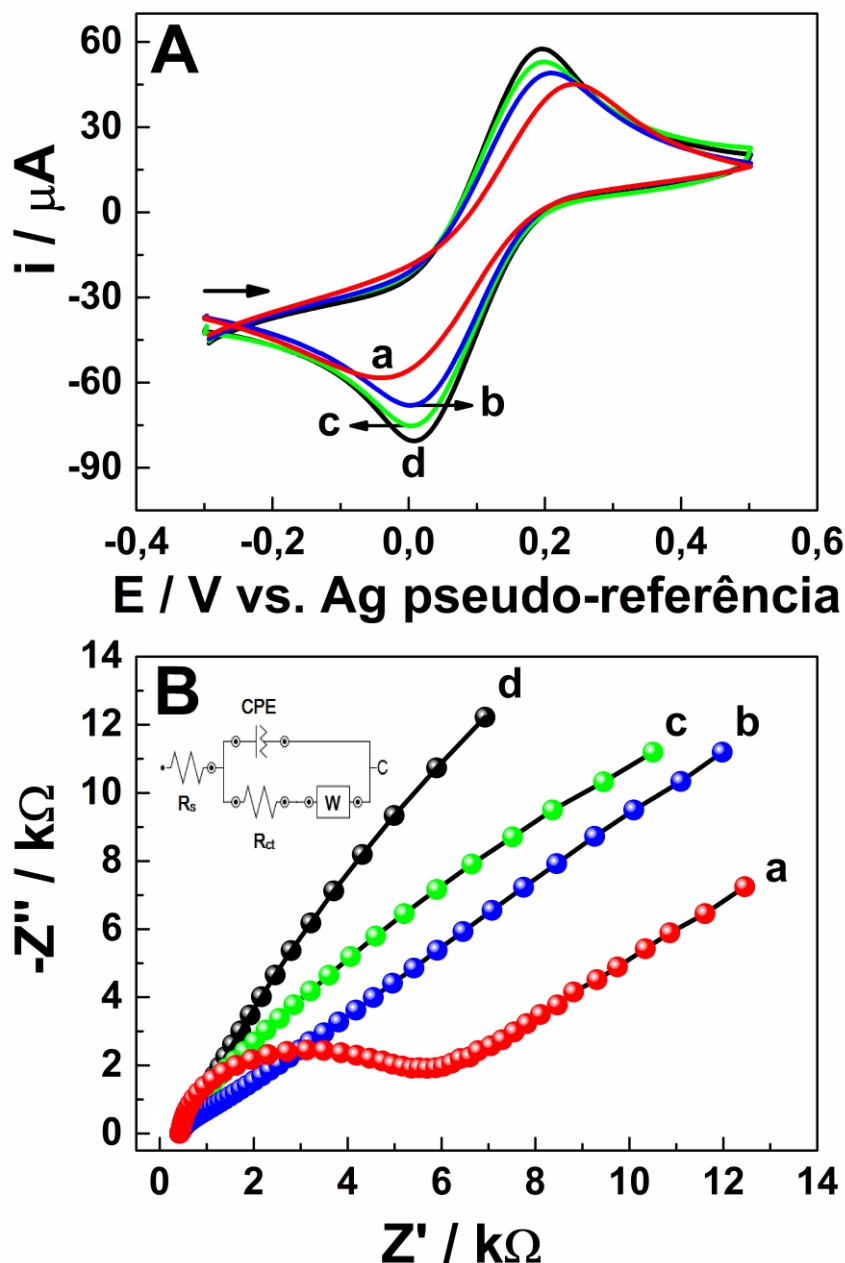


Figura 11 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,10 Hz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV para: (a) SPE, (b) SPE(a), (c) SPE(a)/rGO e (d) SPE(a)/rGO-AuNPs. Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

A Figura 11B mostra um semicírculo para o SPE, que apresentou um R_{ct} de 4,7 k Ω (curva a). Após o processo de ativação (curva b), uma notável diminuição no tamanho do semicírculo foi observada ($R_{ct} = 987 \Omega$); isso indica que o processo de ativação favoreceu a transferência de carga na interface eletrodo/solução. Após modificar a superfície do eletrodo com rGO (curva c), o tamanho do semicírculo ficou extremamente pequeno ($R_{ct} = 1,5 \Omega$); isto mostra que o aumento da área eletroativa do eletrodo devido à eletrodeposição das folhas de grafeno favoreceu ainda mais a transferência de carga na interface eletrodo/solução. Além disso, a inserção das AuNPs sobre as folhas de grafeno contribuiu para um aumento ainda maior da área eletroativa do eletrodo. Como resultado, nenhum semicírculo foi observado após a modificação do eletrodo com essas nanopartículas (curva d). Esse resultado indica que praticamente não há resistência à transferência de carga na interface eletrodo/solução, de modo que o circuito equivalente que melhor descreve a transferência de carga na superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs é composto apenas por R_s e CPE.

Os resultados apresentados na Figura 11 demonstram claramente que as etapas de ativação e modificação contribuíram significativamente para uma diminuição na resistência à transferência de carga. Além disso, as folhas de grafeno decoradas com AuNPs foram utilizadas para aumentar a rugosidade da superfície do eletrodo, o que favoreceu a adesão e o crescimento do filme molecularmente impresso de poli(fenol) durante o processo de eletropolimerização.

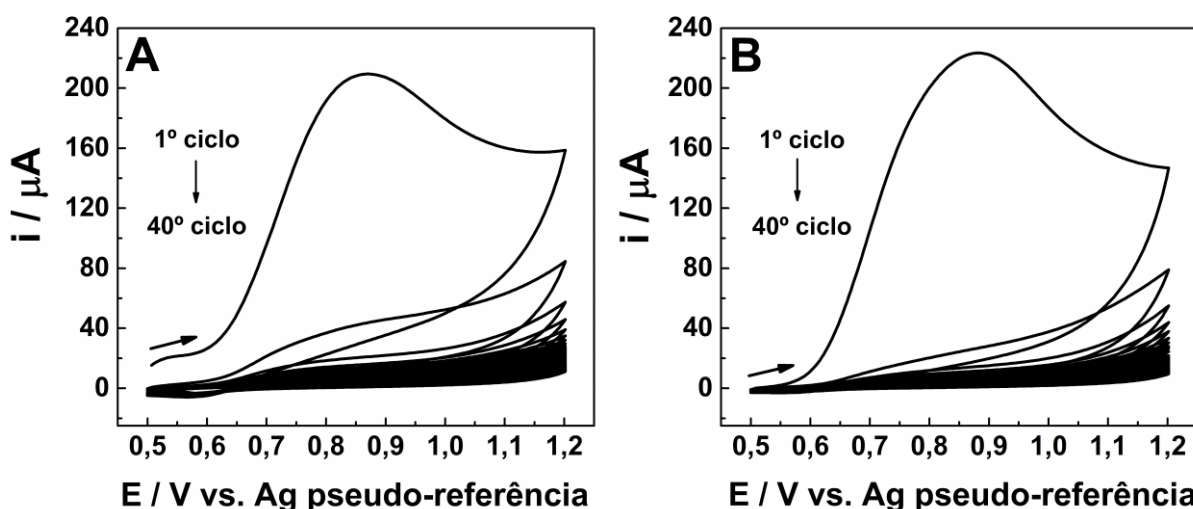


Figura 12 - Voltamogramas cíclicos obtidos durante a eletropolimerização de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de fenol na (A) presença e (B) ausência de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de FA (PB; $0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 7,0); velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

A Figura 12A mostra os voltamogramas obtidos durante a eletropolimerização de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de fenol na presença de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de FA. Nesta figura, nota-se a presença de um pico anódico em 0,87 V, que está relacionado à eletrooxidação do íon fenato ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}^-$). Em meio aquoso, o fenol forma ânions fenato e cátions H^+ , conforme mostrado na etapa 1 da Figura 13. O ânion fenato é oxidado em 0,87 V sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs para formar radicais fenólicos, que coexistem como diferentes isômeros (etapa 2). Os radicais fenólicos gerados a partir da oxidação do ânion fenato se acoplam para formar dímeros de fenoxifenol (etapa 3). Como o fenol, os dímeros de fenoxifenol formam ânions de fenoxifenol e cátions H^+ (etapa 4). Os ânions de fenoxifenol, por sua vez, perdem um elétron e geram radicais de fenoxifenol (etapa 5). Esses radicais então se acoplam com outros radicais fenólicos para formar a estrutura polimérica de poli(fenol) [77,117]. A equação geral para a eletropolimerização do fenol é apresentada na etapa 6 da Figura 13.

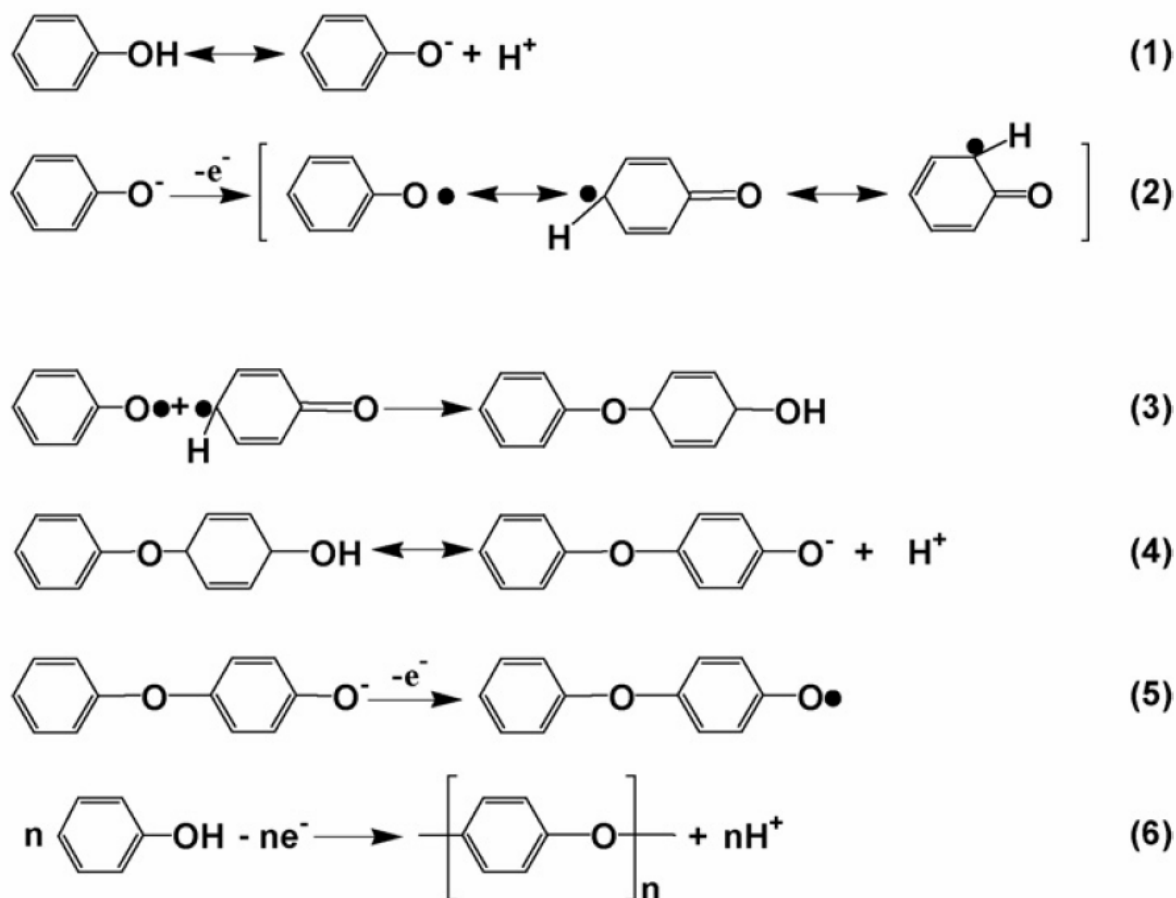


Figura 13 - Mecanismo de eletropolimerização do fenol. Fonte: adaptado e reproduzido com permissão de Bao *et al.* [117]. Direitos autorais: Elsevier, 2010.

Durante o processo de eletropolimerização, as moléculas de FA ficam presas na estrutura polimérica de poli(fenol) devido às suas interações intermoleculares com os monômeros de fenol. Essas interações podem ocorrer entre os grupos hidroxila, metoxila e/ou carboxila da molécula de FA e os grupos hidroxila das unidades de fenol, bem como por meio de interações π - π entre os anéis benzênicos.

Quando os voltamogramas das Figuras 12A e 12B são comparados, há uma pequena diferença nos valores de corrente no início do primeiro ciclo voltamétrico de cada figura; essa diferença aponta para o fato de que a molécula de FA participa do processo de eletropolimerização do filme de MIP. Por outro lado, a corrente de pico relacionada à eletrooxidação do íon fenato apresentou maior intensidade na ausência da molécula de FA (Figura 12B). Durante a etapa de eletropolimerização, a molécula de FA pode atuar como um agente interferente no processo de formação das cadeias poliméricas de poli(fenol). Como resultado, uma menor intensidade de corrente é observada quando a eletropolimerização é realizada na presença de FA. Além disso, as Figuras 12A e 12B mostram uma diminuição na intensidade da corrente de pico à medida que o número de ciclos voltamétricos aumenta, isso aponta para o crescimento de um filme não condutor de poli(fenol) sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs.

Após a eletropolimerização, o eletrodo modificado foi novamente caracterizado por CV e EIS usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Observando a Figura 14A, nota-se a ausência de picos redox relacionados à sonda eletroquímica para os eletrodos SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP após o processo de eletropolimerização (curvas a e b, respectivamente). Isso mostra que um filme não condutor de poli(fenol) foi formado sobre as superfícies desses eletrodos durante o processo de eletropolimerização. No entanto, após a lavagem do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP em uma solução hidroalcoólica (9:1; v:v; água:etanol) por 60 s, a Figura 14A mostra a presença de picos redox característicos da sonda eletroquímica (curva c). Esse resultado indica que o processo de lavagem foi eficaz para remoção das moléculas de FA da matriz polimérica de poli(fenol), o que possibilitou a formação das cavidades impressas. Após o procedimento de religação usando uma solução de FA $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ (PB; 0,10 mol L⁻¹; pH 6,0), houve uma diminuição perceptível na intensidade de corrente da sonda eletroquímica (curva d), isso indica que as cavidades formadas na estrutura polimérica de poli(fenol) detectaram as moléculas de FA em solução.

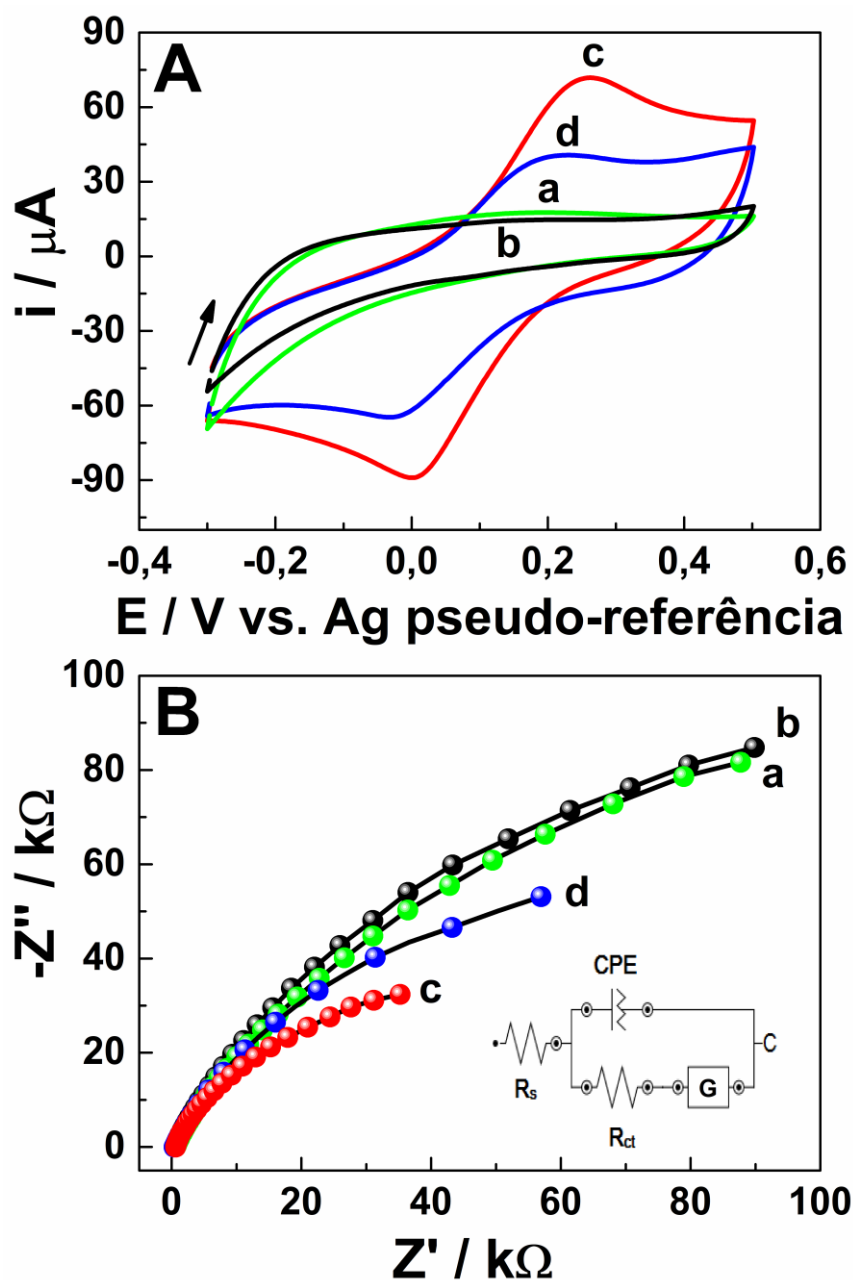


Figura 14 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,050 Hz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV para: (a) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e (b) SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP após a eletropolimerização, (c) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP após a remoção do molde de FA e (d) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP após o processo de religação por 20 min usando uma solução de FA $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (PB; 0,10 mol L^{-1} ; pH 6,0). Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas usando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl 0,50 mol L^{-1} como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

A Figura 14B mostra os diagramas de Nyquist obtidos após o processo de eletropolimerização e um circuito equivalente aos dados experimentais; este circuito

é baseado nos seguintes elementos: R_{ct} , R_s , CPE e elemento de difusão de Gerischer (G). Na Figura 14B, uma alta resistência à transferência de carga é observada para os eletrodos SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP (curvas a e b, respectivamente); isso mostra que o filme polimérico de poli(fenol) imobilizado sobre esses eletrodos impediu qualquer transferência de elétrons entre as superfícies desses dispositivos e a sonda eletroquímica. No entanto, a remoção das moléculas molde da matriz polimérica levou a uma diminuição da resistência à transferência de carga (curva c), que foi atribuída à formação das cavidades impressas. Isso permitiu que a sonda eletroquímica atingisse a superfície do eletrodo por meio de um processo difusional [80]. Por outro lado, após o processo de religação, observa-se um aumento na resistência à transferência de carga (curva d). Isso foi atribuído à recombinação/religação das moléculas de FA às cavidades impressas, o que impediu a sonda eletroquímica de atingir a superfície do eletrodo. Os resultados apresentados na Figura 14 confirmam que as cavidades impressas para a detecção de FA foram formadas com sucesso na estrutura polimérica de poli(fenol).

4.2.3. Caracterização da superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP

As modificações realizadas sobre a superfície do SPE foram confirmadas por FEG-SEM. A Figura 15A mostra o SPE sem qualquer modificação, na qual pode-se observar as partículas de carbono da superfície deste eletrodo. Após o processo de ativação, a Figura 15B mostra que as partículas de carbono apresentaram um tamanho mais homogêneo, e uma superfície menos porosa foi observada. Isso promoveu um aumento na intensidade de corrente e uma melhora nos critérios de reversibilidade da sonda eletroquímica (ver Figura 11). A Figura 15C mostra a superfície do eletrodo após a modificação com rGO. Nesta figura, a superfície do eletrodo apresentou um aspecto mais enrugado devido às folhas de grafeno que foram eletrodepositadas sobre o SPE(a). A Figura 15D, por sua vez, mostra que as AuNPs foram eletrodepositadas homogeneamente sobre as folhas de grafeno. As Figuras 15E e 15F mostram as superfícies dos eletrodos SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP após o processo de eletropolimerização, nas quais pode-se observar que o filme polimérico de poli(fenol) recobriu todas as folhas de grafeno e as nanopartículas. Vale ressaltar que o filme polimérico de poli(fenol) apresentou uma espessura muito fina, uma vez que algumas nanopartículas podem ser observadas

mesmo após o processo de eletropolimerização (ver Figuras 15E e 15F). A especiação química das nanopartículas foi investigada por EDS, em que um pico intenso em 2,1 keV foi observado para as espécies de Au (Figura 15G). Além disso, o histograma da Figura 15F mostra que as AuNPs apresentaram um diâmetro médio de 61 nm ($n = 100$).

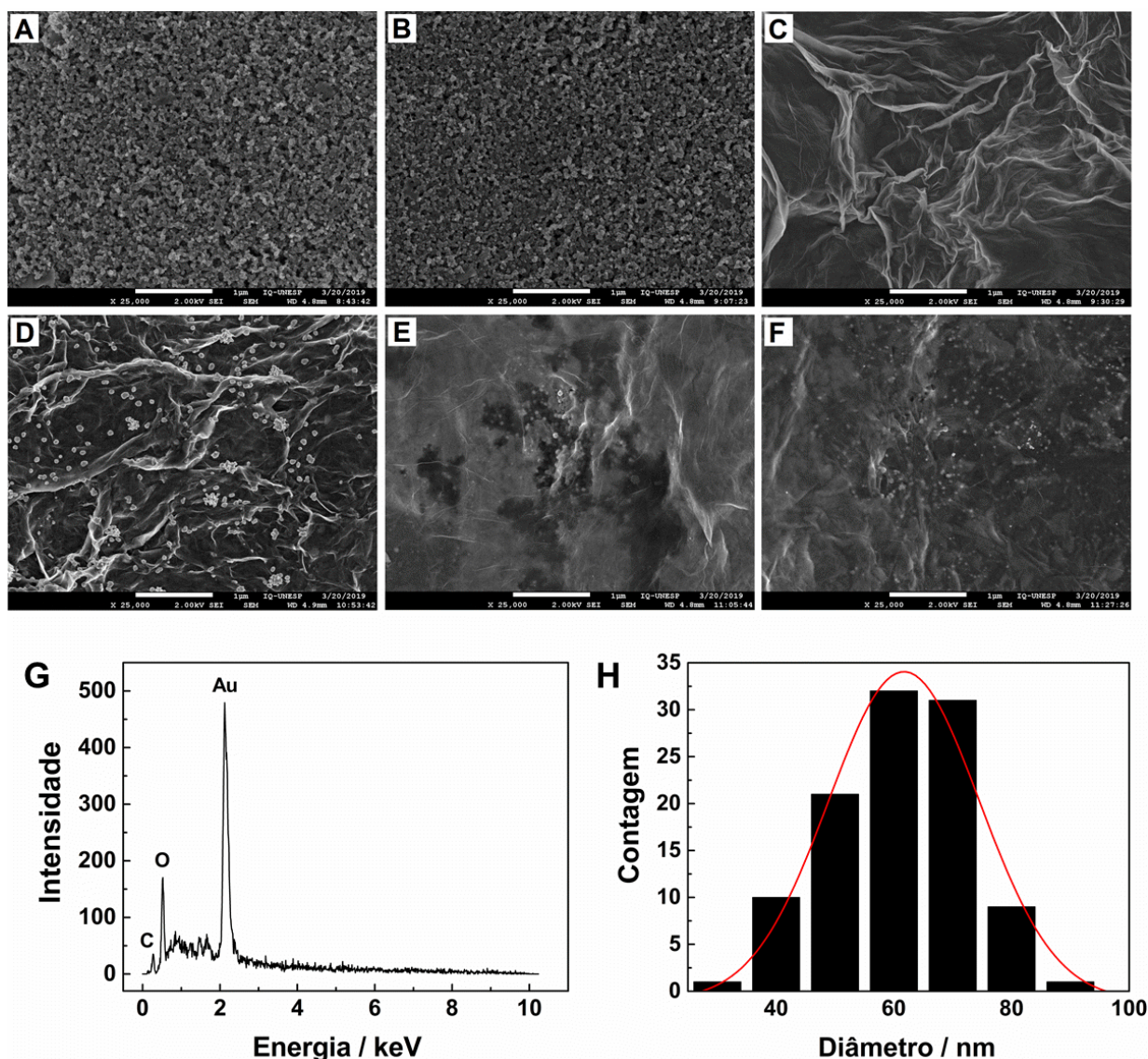


Figura 15 - Imagens de FEG-SEM para: (A) SPE, (B) SPE(a), (C) SPE(a)/rGO, (D) SPE(a)/rGO-AuNPs, (E) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e (F) SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP; (G) espectro de EDS e (H) histograma para a distribuição de tamanho das nanopartículas de ouro eletrodepositadas sobre o eletrodo SPE(a)/rGO ($n = 100$). Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

A espectroscopia RAMAN também foi usada para avaliar as modificações realizadas sobre a superfície do SPE. A Figura 16 mostra os espectros RAMAN obtidos após cada etapa de modificação do eletrodo, na qual pode-se observar a

presença das bandas D e G, que são características de materiais de carbono. A banda D em 1325 cm^{-1} corresponde a defeitos e imperfeições na estrutura dos materiais de carbono, enquanto que a banda G em 1580 cm^{-1} está associada ao domínio da hibridização sp^2 nessas estruturas [77].

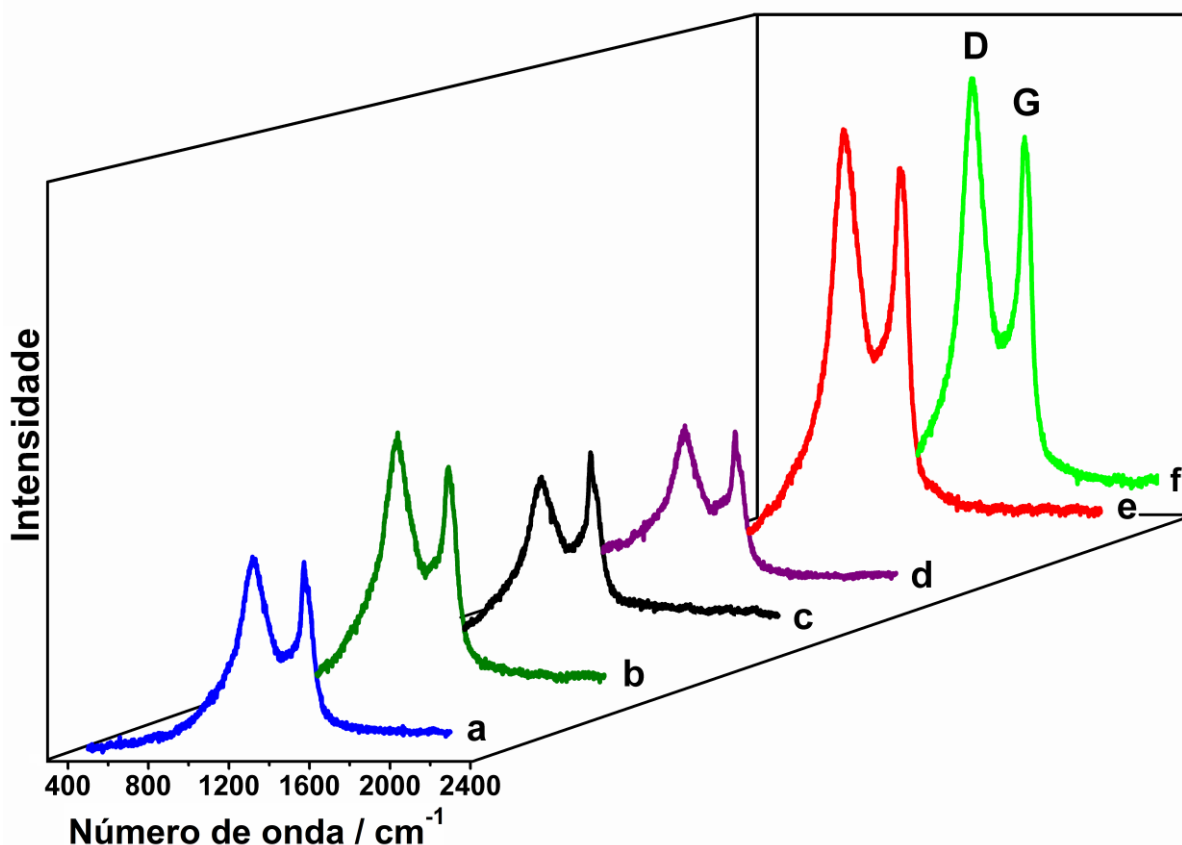


Figura 16 - Espectros RAMAN para: (a) SPE, (b) SPE(a), (c) SPE(a)/rGO, (d) SPE(a)/rGO-AuNPs, (e) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e (f) SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

A razão entre as intensidades das bandas D e G (I_D/I_G) fornece a quantidade de defeito ou o grau de desordem do material analisado [74,77]. A Figura 16 mostra os espectros RAMAN obtidos para o eletrodo antes (curva a) e após (curva b) a etapa de ativação de sua superfície. Nesta figura, pode-se observar que o processo de ativação levou a um aumento na intensidade da banda D, o que resultou em um aumento da razão I_D/I_G de 1,02 para 1,13. Esse resultado mostra que o processo de ativação promoveu um aumento no número de defeitos na superfície do SPE, o que facilitou a imobilização dos materiais utilizados para modificar este eletrodo.

Após a modificação do SPE(a) com rGO, a banda G apresentou uma intensidade relativamente maior em relação à banda D (curva c), e a razão I_D/I_G

diminuiu de 1,13 para 0,88. Isso mostra que a eletrodeposição das folhas de grafeno aumentou a concentração de carbono sp^2 sobre o SPE(a), o que diminuiu o número de defeitos na superfície desse eletrodo. Após a inserção das AuNPs sobre as folhas de grafeno (curva d) e a imobilização dos filmes de MIP (curva e) e NIP (curva f) sobre o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs, a razão I_D/I_G aumentou de 0,88 para 1,02; 1,12 e 1,19; respectivamente. Esses valores mostram que a presença das AuNPs e do filme de poli(fenol) sobre as folhas de rGO levou a um aumento no número de defeitos de carbono na estrutura desse material.

Além disso, pode-se observar na Figura 16 que as intensidades das bandas D e G aumentaram significativamente após o processo de eletropolimerização, isso indica que a formação da matriz polimérica de poli(fenol) sobre o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs contribuiu para um aumento na concentração de carbono sobre a superfície deste eletrodo. Os resultados obtidos a partir da análise de espectroscopia RAMAN estão de acordo com as imagens de FEG-SEM e essencialmente confirmam que as modificações sobre a superfície do eletrodo foram realizadas com sucesso.

A Figura 17 mostra as imagens topográficas da superfície do eletrodo modificado, que foram obtidas por meio da técnica de microscopia de força atômica. As mudanças observadas na rugosidade média (R_a) da superfície do eletrodo sugerem a ocorrência dos processos de remoção e religação das moléculas de FA. Os valores de R_a obtidos para os eletrodos SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP foram 7,9 nm (Figura 17A) e 6 nm (Figura 17B), respectivamente. Além disso, todas as modificações realizadas sobre a superfície do SPE(a) para obter os eletrodos SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP resultaram em uma espessura de 34 e 22 nm, respectivamente. Essas modificações incluíram rGO, AuNPs e o filme polimérico de poli(fenol). Os valores obtidos para a rugosidade da superfície eletródica e para a espessura das modificações apontam para uma matriz polimérica mais fina e compacta para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP, isso foi atribuído à ausência da molécula de FA durante o processo de eletropolimerização.

Após a extração da molécula molde, o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP apresentou uma superfície mais irregular e um aumento de rugosidade ($R_a = 17$ nm), isso indica que as moléculas de FA foram removidas da matriz polimérica de poli(fenol) para a formação das cavidades impressas (ver Figura 17C). No entanto, após o processo de religação, o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP exibiu uma superfície mais

uniforme e uma diminuição de rugosidade ($R_a = 8$ nm), o que foi atribuído à recombinação das moléculas de FA às cavidades impressas (ver Figura 17D). Esses resultados indicam que as cavidades necessárias para o reconhecimento de FA foram formadas sobre a superfície do eletrodo.

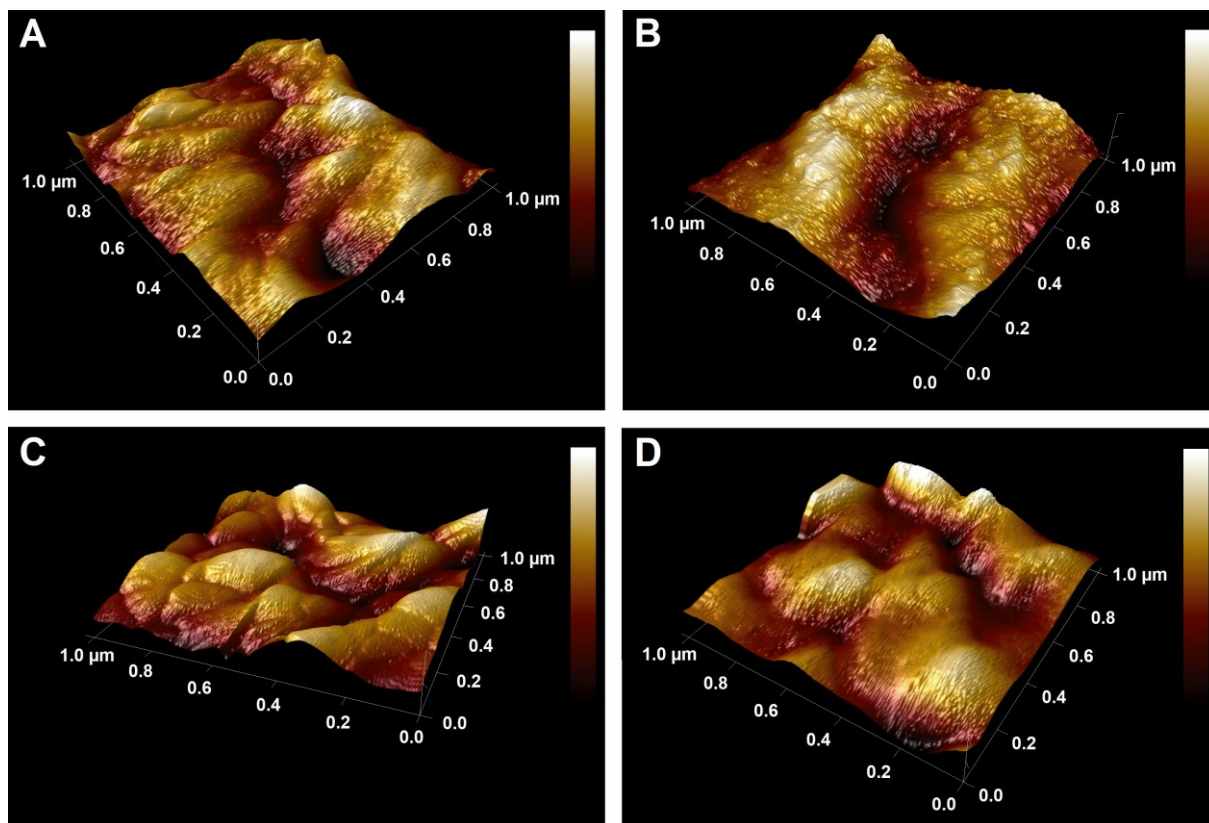


Figura 17 - Imagens 3D de AFM para: (A) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP após a eletropolimerização; (B) SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP após a eletropolimerização; (C) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP após a remoção das moléculas molde e (D) SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP após o processo de religação das moléculas de FA. Fonte: Buffon e Stradiotto [114].

4.2.4. Otimização das condições experimentais

Quando se trata do desenvolvimento de um método eletroanalítico baseado em impressão molecular, otimizar as condições experimentais é extremamente importante para maximizar a resposta analítica do eletrodo. Neste trabalho, os parâmetros que influenciam a resposta analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP foram otimizados através da mudança de corrente da sonda eletroquímica (Δi) antes e após o processo de reconhecimento molecular. Esses parâmetros incluíram: a razão molar entre o monômero funcional (fenol) e a molécula molde (FA), o número de ciclos voltamétricos e o pH usados para a eletropolimerização, a solução empregada para a

extração da molécula molde, e o tempo e o pH requeridos para o processo de religação.

4.2.4.1. Razão molar entre fenol e ácido ferúlico

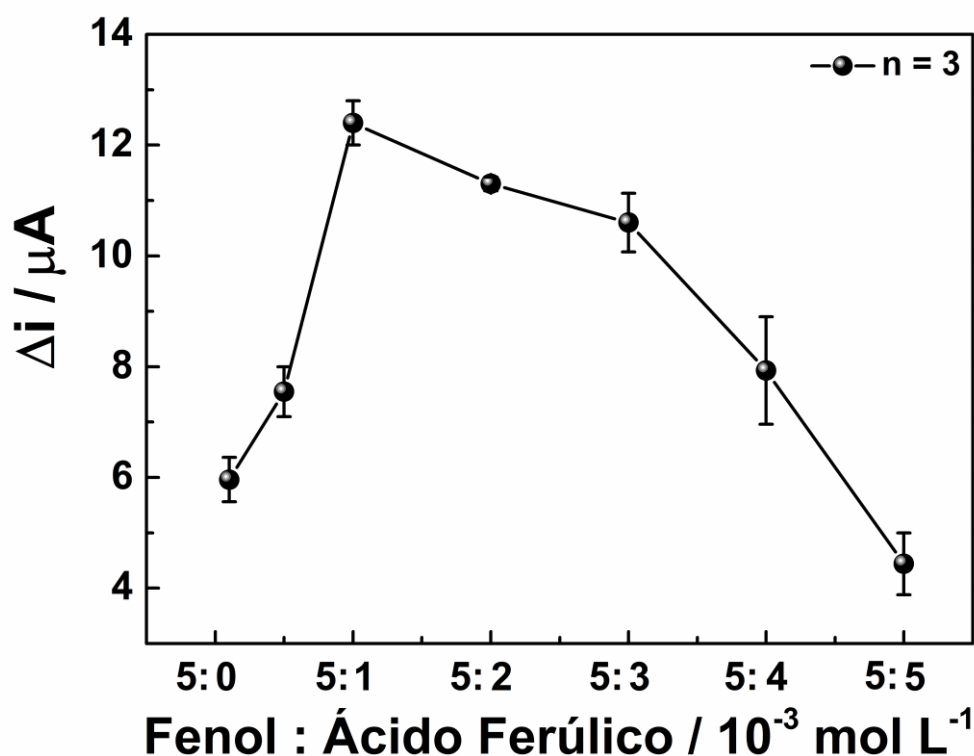


Figura 18 - Estudo de otimização para a razão molar entre fenol e FA. A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

As concentrações de fenol e FA usadas durante o processo de eletropolimerização afetam diretamente a espessura da matriz polimérica e o número de cavidades formadas. A Figura 18 mostra que o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP atingiu seu máximo de corrente na razão molar de 5:1 (fenol:FA; $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Após a razão molar de 5:1 (fenol:FA; $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), pode-se observar claramente uma diminuição na resposta de corrente do eletrodo em função do aumento da concentração de FA. Esse comportamento foi atribuído à aglomeração das moléculas de FA, o que favoreceu a formação de cavidades maiores. Como resultado, a sensibilidade do eletrodo ao processo de reconhecimento molecular foi drasticamente reduzida. Portanto, a melhor razão molar para a realização do processo de eletropolimerização foi 5:1 (fenol:FA; $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

4.2.4.2. Número de ciclos voltamétricos necessários para o processo de eletropolimerização

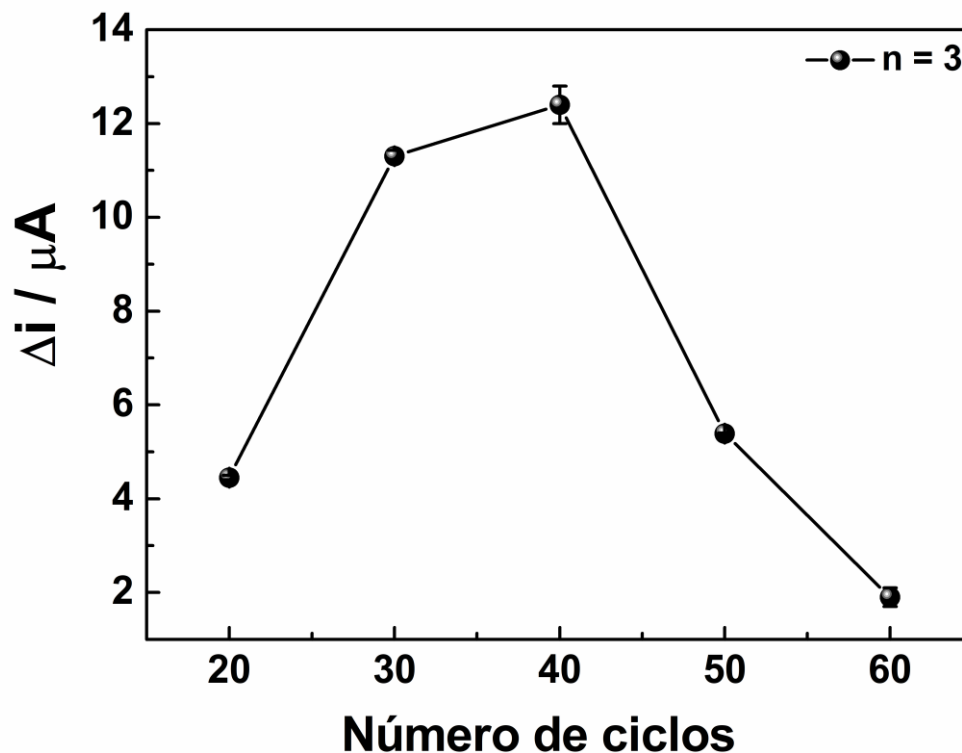


Figura 19 - Estudo de otimização para o número de ciclos voltamétricos usados durante o processo de eletropolimerização. A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

O número de ciclos voltamétricos usados durante o processo de eletropolimerização é outro parâmetro que afeta a espessura da matriz polimérica e a sensibilidade do eletrodo. A Figura 19 mostra que o eletrodo proposto atingiu sua maior variação de corrente em 40 ciclos, e uma diminuição na intensidade do sinal foi observada nos ciclos subsequentes. A diminuição na resposta de corrente do eletrodo após 40 ciclos foi atribuída à formação de uma matriz polimérica muito espessa, o que aumentou a resistência à transferência de massa na interface eletrodo-solução. Em outras palavras, a difusão da sonda eletroquímica até a superfície do eletrodo foi limitada pela espessura da camada polimérica de poli(fenol) [77]. Em vista disso, o número ideal de ciclos voltamétricos para realização do processo de eletropolimerização foi 40.

4.2.4.3. pH da solução de eletropolimerização

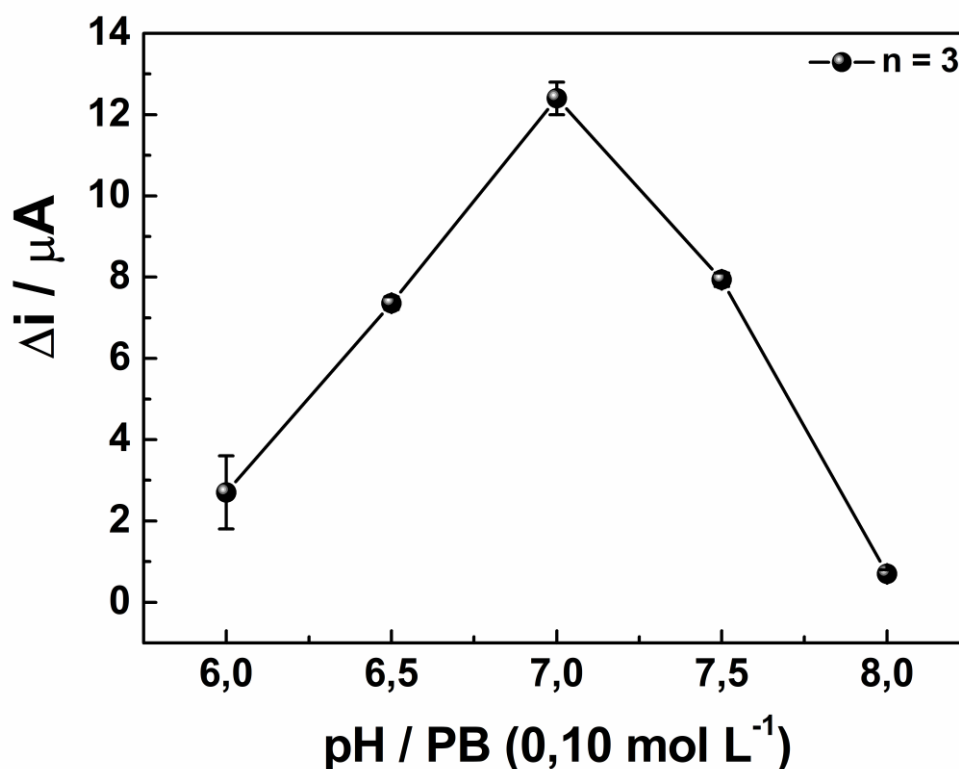


Figura 20 - Estudo de otimização para o pH da solução de eletropolimerização. A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

O pH da solução utilizada no processo de eletropolimerização afeta a interação que ocorre entre o monômero funcional (fenol) e a molécula molde (FA), bem como a formação das espécies radicais responsáveis pela formação da matriz polimérica. Neste estudo, uma faixa de pH entre 6,0 e 8,0 foi investigada usando soluções de PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$). A Figura 20 mostra que a resposta do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP aumentou em função do pH e atingiu seu máximo em pH 7,0; isso mostra que as interações entre o fenol e as moléculas de FA foram favorecidas neste valor de pH. Como pode ser observado, a resposta do eletrodo diminuiu consideravelmente em valores de pH acima de 7,0. Portanto, o pH escolhido como ideal para a realização do processo de eletropolimerização foi 7,0 (PB; $0,10 \text{ mol L}^{-1}$).

4.2.4.4. Solução e tempo necessário para remover as moléculas molde da estrutura de poli(fenol)

Solventes orgânicos são amplamente utilizados para remover moléculas molde de filmes de MIP [118]. Sob esta abordagem, o solvente permeia a matriz polimérica e enfraquece as interações entre o filme de poli(fenol) e as moléculas de FA. A ruptura dessas interações resulta na liberação das moléculas molde, e isso leva à formação das cavidades impressas. Nesta etapa, soluções contendo diferentes proporções de acetonitrila-ácido acético, etanol-ácido acético e etanol-água foram utilizadas para remover a molécula de FA da matriz polimérica de poli(fenol). Os melhores resultados foram obtidos utilizando uma solução hidroalcoólica (9:1; v:v; água:etanol).

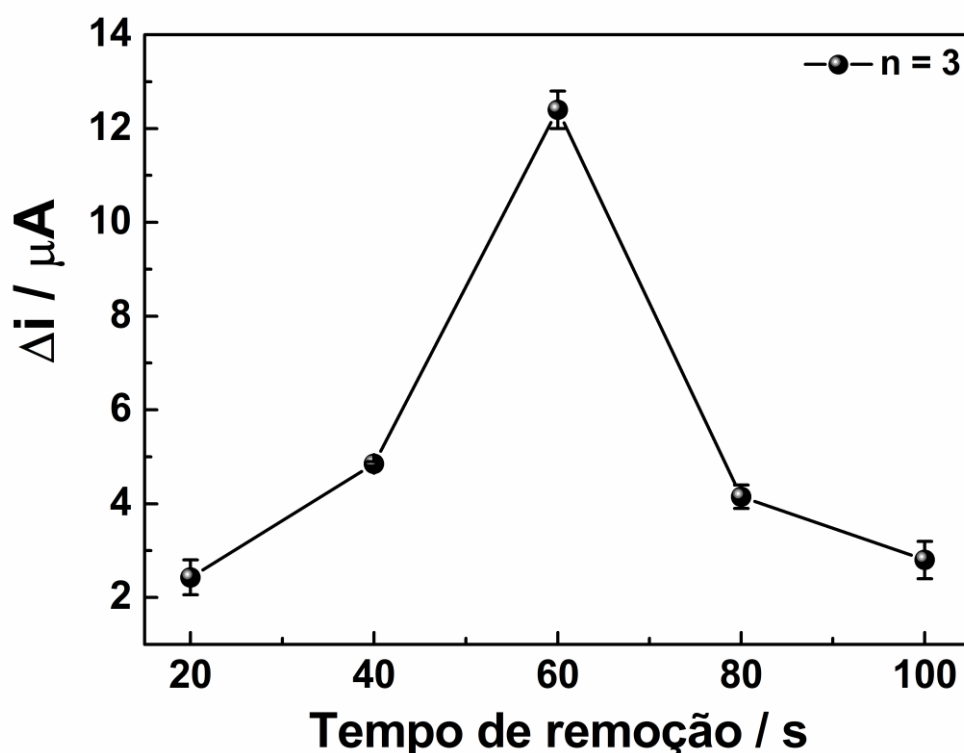


Figura 21 - Estudo de otimização para o tempo de remoção da molécula de FA da matriz polimérica de poli(fenol). A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em solução de KCl $0,50$ mol L^{-1} como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

O tempo empregado na lavagem do eletrodo deve ser adequado o suficiente para permitir a remoção das moléculas molde sem afetar a estrutura do filme de poli(fenol). A Figura 21 mostra que a resposta do eletrodo aumentou ao longo do tempo até 60 s e depois diminuiu até 100 s. Essa diminuição na resposta do eletrodo

foi atribuída ao intumescimento do filme de poli(fenol), o que possivelmente levou à deformação das cavidades impressas. Como resultado, a capacidade do eletrodo de reconhecer as moléculas de FA foi reduzida quando mais de 60 s foram empregados para a remoção das moléculas molde da matriz polimérica. Em vista disso, utilizando uma solução hidroalcoólica (9:1; água:etanol), o tempo ideal para lavar o eletrodo e consequentemente permitir a formação das cavidades impressas foi 60 s.

4.2.4.5. pH da solução de religação

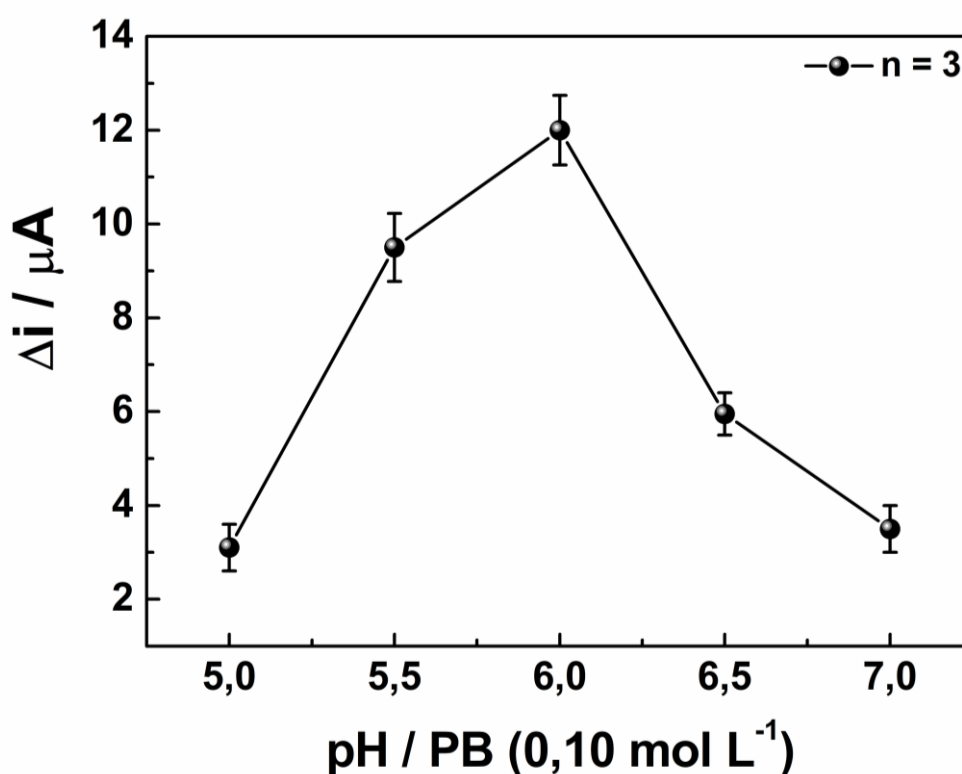


Figura 22 - Estudo de otimização para o pH da solução de religação. A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl $0,50$ mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

O pH da solução de religação é um parâmetro que influencia o desempenho analítico do eletrodo. Neste estudo, uma faixa de pH de 5,0 a 7,0 foi investigada usando soluções de PB ($0,10$ mol L⁻¹). Como pode ser visto na Figura 22, a resposta do eletrodo atingiu seu máximo em pH 6,0 e, em seguida, diminuiu com o aumento do valor do pH. O grupo carboxila da molécula de FA está completamente desprotonado em pH 6,0 ($pK_a = 3,58$). Isso parece favorecer as interações das moléculas de FA com as cavidades impressas da matriz polimérica de poli(fenol). Diante disso, o pH ideal

para a realização dos experimentos de religação durante os estudos subsequentes foi 6,0 (PB; 0,10 mol L⁻¹).

4.2.4.6. Tempo necessário para o processo de religação

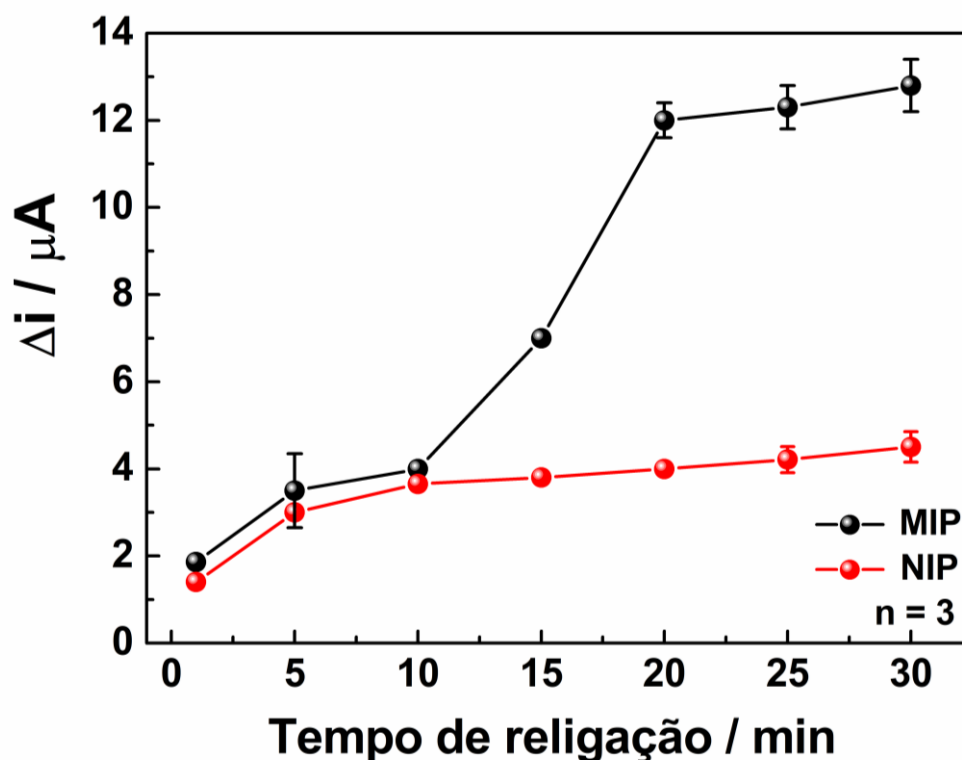


Figura 23 - Estudo de otimização para o tempo de religação das moléculas de FA às cavidades impressas. A resposta do eletrodo foi obtida por DPV usando K₃[Fe(CN)₆] 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

O tempo de religação é um parâmetro que influencia diretamente a sensibilidade do eletrodo durante o processo de reconhecimento das moléculas de FA. Após a formação das cavidades impressas, 50 μL de uma solução contendo FA 1,0×10⁻⁷ mol L⁻¹ (PB; 0,10 mol L⁻¹; pH 6,0) foram gotejados sobre a superfície do eletrodo e o procedimento de religação foi realizado por um período de 1 a 30 min. Para fins de comparação, os experimentos de religação também foram realizados utilizando o polímero não impresso (NIP). Como pode ser visto na Figura 23, a resposta do NIP apresentou uma pequena variação de corrente com o aumento do tempo de religação; isso mostra que o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP não possui cavidades impressas em sua superfície para realizar a detecção de FA.

O eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP, por sua vez, apresentou uma maior variação de corrente em comparação com o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP devido à presença de cavidades impressas na superfície do filme de MIP. Essas cavidades atuaram como receptores das moléculas de FA durante o processo de religação. A Figura 23 mostra que a resposta do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP aumentou em função do tempo de religação até 20 min e, em seguida, apresentou um sinal praticamente constante até 30 min. Esses resultados mostram que um tempo de 20 min é suficiente para que o equilíbrio de adsorção entre as cavidades impressas e as moléculas de FA seja alcançado. Portanto, o tempo de religação ideal para a realização dos estudos subsequentes foi 20 min.

A Tabela 5 mostra os parâmetros avaliados durante os estudos de otimização, os intervalos investigados para cada variável, e as condições otimizadas para a preparação e utilização do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP.

Tabela 5 - Otimização dos parâmetros experimentais que influenciam a performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP.

Parâmetros	Intervalos estudados	Condições otimizadas
Fenol : Ácido ferúlico (10^{-3} mol L ⁻¹)	5:0 – 5:5	5:1
Número de ciclos	20 – 60	40
pH da solução de eletropolimerização	6,0 – 8,0	7,0
Tempo de remoção (s)	20 – 100	60
pH da solução de religação	5,0 – 7,0	6,0
Tempo de religação (min)	1 – 30	20

4.2.5. Performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP

Sob condições otimizadas, a inserção na Figura 24 mostra a resposta voltamétrica do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP após o procedimento de religação utilizando diferentes concentrações de FA. Como pode ser observado, a corrente da sonda eletroquímica diminuiu com o aumento da concentração de FA; isso foi atribuído ao reacoplamento das moléculas de FA às cavidades impressas, o que

reduziu os locais disponíveis para a sonda $K_3[Fe(CN)_6]$ acessar a superfície do eletrodo. A Figura 24 mostra que a diminuição na intensidade de corrente da sonda eletroquímica variou linearmente em função da concentração de FA em duas faixas de concentração: $1,0 \times 10^{-8}$ a $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $2,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com as seguintes equações de regressão linear: Δi (A) = 3,0 C (mol L⁻¹) + $2,4 \times 10^{-6}$ ($R^2 = 0,9994$) e Δi (A) = 0,1 C (mol L⁻¹) + $5,5 \times 10^{-6}$ ($R^2 = 0,9889$), respectivamente. Os valores de LOD e LOQ obtidos com base na primeira faixa linear foram $3,1 \times 10^{-9}$ e $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ (n = 3), respectivamente.

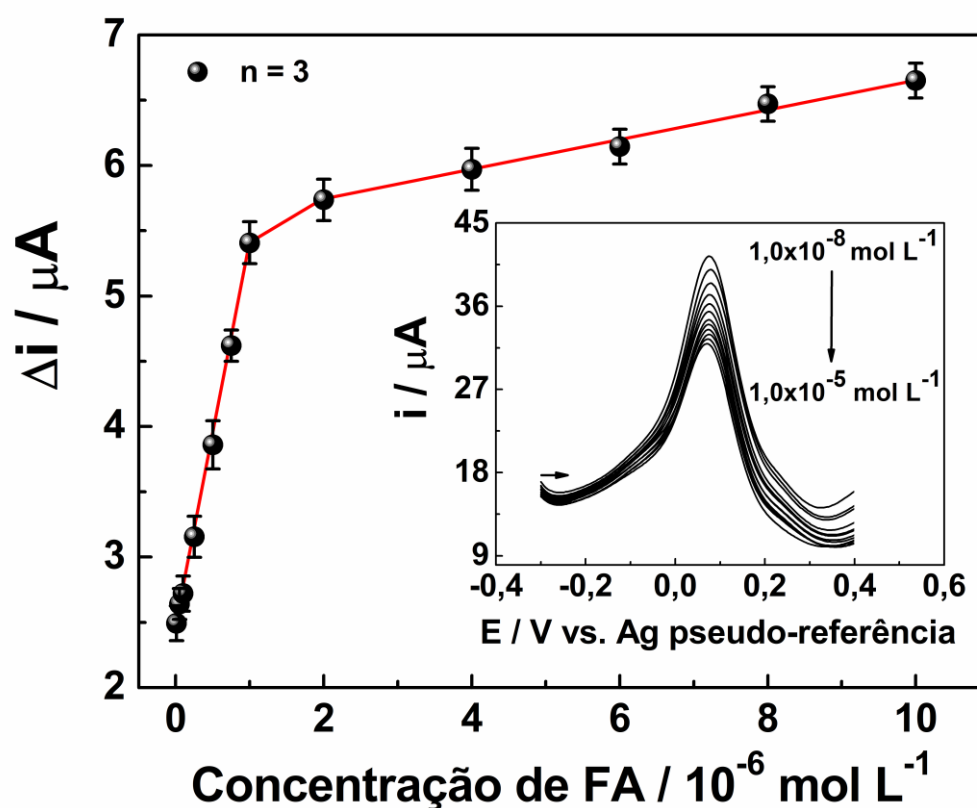


Figura 24 - Curva analítica para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-8}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Inserção: voltamogramas de pulso diferencial obtidos após o processo de religação por 20 min utilizando soluções de PB (0,10 mol L⁻¹; pH 6,0) contendo diferentes concentrações de FA. Os voltamogramas foram obtidos usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

A presença de duas faixas lineares distintas para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP foi atribuída às diferentes localizações das cavidades impressas ao longo da matriz polimérica de poli(fenol). Durante o processo de religação, as moléculas de FA ocuparam inicialmente as cavidades localizadas na superfície do filme polimérico. Com o aumento da concentração, todas essas

cavidades foram ocupadas e as próximas recombinações passaram a ocorrer nas cavidades localizadas no interior da matriz polimérica. No entanto, para que isso acontecesse, as moléculas de FA precisaram superar a resistência à transferência de massa imposta pelo filme de poli(fenol), o que deixou as cavidades localizadas no interior do filme polimérico menos acessíveis ao processo de reconhecimento molecular. Como resultado, o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP apresentou um declínio na inclinação da curva analítica com o aumento da concentração de FA (ver Figura 24) [74,77,78,80,119].

Tabela 6 - Análise comparativa do método proposto e alguns métodos analíticos reportados na literatura para detecção de FA. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

Método de detecção	Faixa linear (mol L ⁻¹)	LOD (mol L ⁻¹)	Ref.
CPE/MWCNTs-Ag ^a	4,0×10 ⁻⁸ – 1,0×10 ⁻³	3,0×10 ⁻⁸	[53]
MIPs/QD-grafted-COFs ^b	1,5×10 ⁻⁷ – 3,1×10 ⁻⁴	2,6×10 ⁻⁸	[47]
ERGO/GCE ^c	8,5×10 ⁻⁸ – 3,9×10 ⁻⁵	2,1×10 ⁻⁸	[55]
CPE/MBIBr/NiO-SWCNTs ^d	6,0×10 ⁻⁸ – 9,0×10 ⁻⁴	2,0×10 ⁻⁸	[56]
CdTe-QDs@MIPs ^e	1,0×10 ⁻⁸ – 5,2×10 ⁻⁷	4,4×10 ⁻⁹	[48]
MgO/SWCNTs [Bmim][Tf2N]-CPE ^f	9,0×10 ⁻⁹ – 4,5×10 ⁻⁴	3,0×10 ⁻⁹	[54]
SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP	1,0×10 ⁻⁸ – 1,0×10 ⁻⁶	3,1×10 ⁻⁹	Este trabalho

^a CPE/MWCNTs-Ag significa eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas contendo nanopartículas de prata; ^b MIP/QD-grafted-COFs significa polímero molecularmente impresso baseado em estruturas orgânicas covalentes contendo pontos quânticos de CdSe/ZnS para determinação de FA por fluorescência; ^c ERGO/GCE significa eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente; ^d CPE/MBIBr/NiO-SWCNTs significa eletrodo de pasta de carbono modificado com composto de nanotubos de carbono de parede única incorporado em NiO e brometo de n-metil-3-butimidazólio; ^e CdTe-QDs@MIPs significa pontos quânticos de CdTe revestidos com polímero molecularmente impresso para determinação de FA por fluorescência; ^f MgO/SWCNTs-[Bmim][Tf2N]-CPE significa eletrodo de pasta de carbono modificado com nanocomposto de óxido de magnésio/nanotubos de carbono de parede única e 1-butil-3-metilimidazólio-bis(trifluorometilsulfonil)imida.

O desempenho analítico do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP foi comparado com outros métodos analíticos reportados na literatura para detecção de FA. Como

pode ser visto na Tabela 6, o método proposto neste trabalho possui uma faixa linear e um LOD comparável a outros métodos encontrados na literatura. A grande vantagem do método proposto em relação a outras metodologias eletroanalíticas reportadas na literatura é sua alta seletividade para detecção de FA; isso se deve à presença do filme molecularmente impresso de poli(fenol) sobre a superfície do eletrodo. Além disso, o sensor eletroquímico baseado em MIP desenvolvido neste trabalho foi confeccionado sobre uma plataforma descartável, isso permite que a detecção seletiva de FA seja realizada utilizando um pequeno volume de solução e sem a necessidade de regenerar a superfície do eletrodo por meio de tediosos processos de limpeza.

4.2.6. Estudo de religação para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP

O modelo da isoterma de adsorção de Langmuir foi utilizado para avaliar a afinidade das cavidades impressas às moléculas de FA [74]. A Equação 1 foi empregada para realizar esta análise:

$$\Delta i = \frac{\Delta i_{\max} \cdot K_A \cdot C}{1 + K_A \cdot C} \quad (\text{Equação 1})$$

em que C corresponde à concentração de FA no estado de equilíbrio, Δi representa a variação da corrente para a adsorção no estado de equilíbrio, Δi_{\max} representa a variação da corrente para a adsorção máxima e K_A representa a constante de adsorção de Langmuir.

A isoterma de adsorção de Langmuir obtida com base na Equação 1 é mostrada na Figura 25. Os parâmetros de afinidade, como a constante de adsorção (K_A) e a constante de dessorção (K_D), foram calculados por meio da linearização da Equação 1, que é mostrada na inserção da Figura 25. A forma linear da isoterma de adsorção de Langmuir apresentou a seguinte equação de regressão linear: $C \Delta i^{-1} (\text{mol L}^{-1} \text{ A}^{-1}) = 1,5 \times 10^5 C (\text{mol L}^{-1}) + 3,8 \times 10^{-2}$ ($R^2 = 0,9979$). Os valores de K_A e K_D foram estimados em $3,8 \times 10^6$ e $2,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Essencialmente, esses valores indicam que as cavidades impressas têm uma alta afinidade para o reconhecimento de FA [80,120,121].

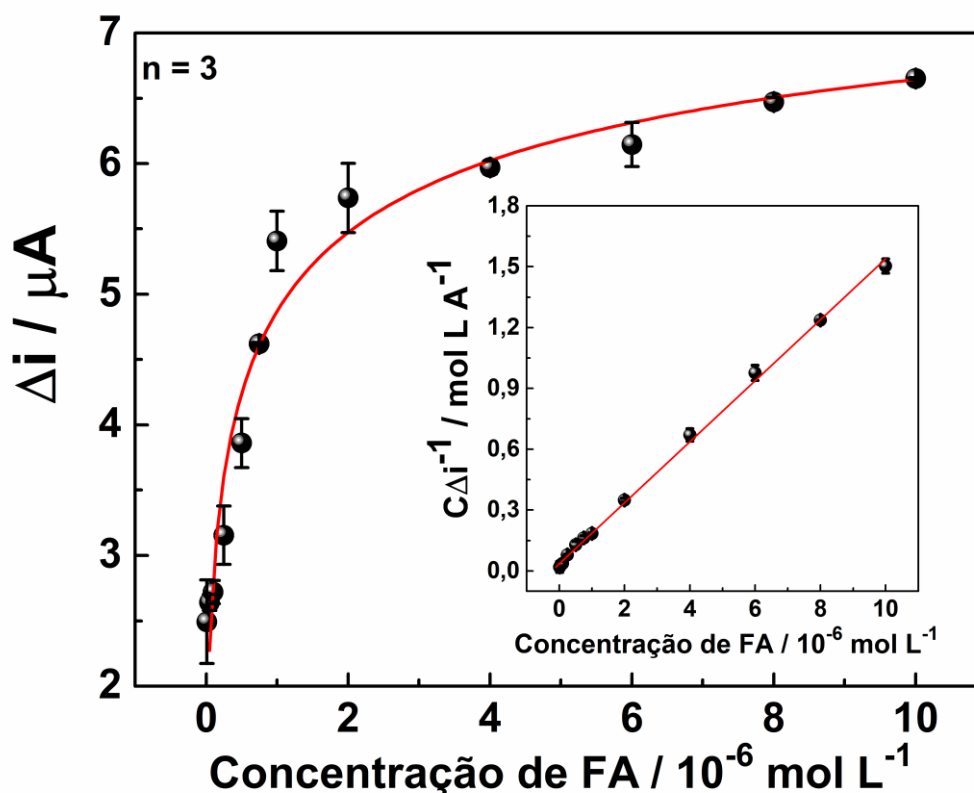


Figura 25 - Isotherma de adsorção de Langmuir para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP. Inserção: forma linear da isoterma de adsorção de Langmuir. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

4.2.7. Estudo de seletividade para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP

A capacidade dos métodos analíticos baseados em MIP de reconhecer seletivamente a molécula de interesse pode ser prejudicada pela presença de outros compostos com tamanho, grupos funcionais e orientação espacial complementares às cavidades impressas. A seletividade do método proposto foi avaliada por meio da comparação da sensibilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP para o reconhecimento de FA e outras moléculas, tais como GA, CA, AA e VA. Esses compostos podem estar presentes na amostra em estudo e, conseqüentemente, interferir na detecção seletiva da molécula de FA. Nesta análise de seletividade, o processo de religação foi realizado usando soluções de FA, GA, CA, AA e VA em três concentrações diferentes ($1,0 \times 10^{-8}$; $5,0 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹). Esta abordagem é considerada adequada porque permite avaliar a resposta do eletrodo para a detecção de FA e outras moléculas potencialmente interferentes em três níveis de concentração: baixo, médio e alto.

A Figura 26 mostra que a sensibilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP para detecção de FA foi 6,5 vezes maior em comparação com o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP. Este resultado forneceu evidências que confirmam a formação de cavidades impressas sobre a matriz polimérica de poli(fenol). O eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP, por sua vez, exibiu uma pequena resposta de corrente para todos os compostos estudados (FA, GA, CA, AA e VA); isso foi atribuído à adsorção não específica dessas moléculas sobre a superfície do filme de poli(fenol).

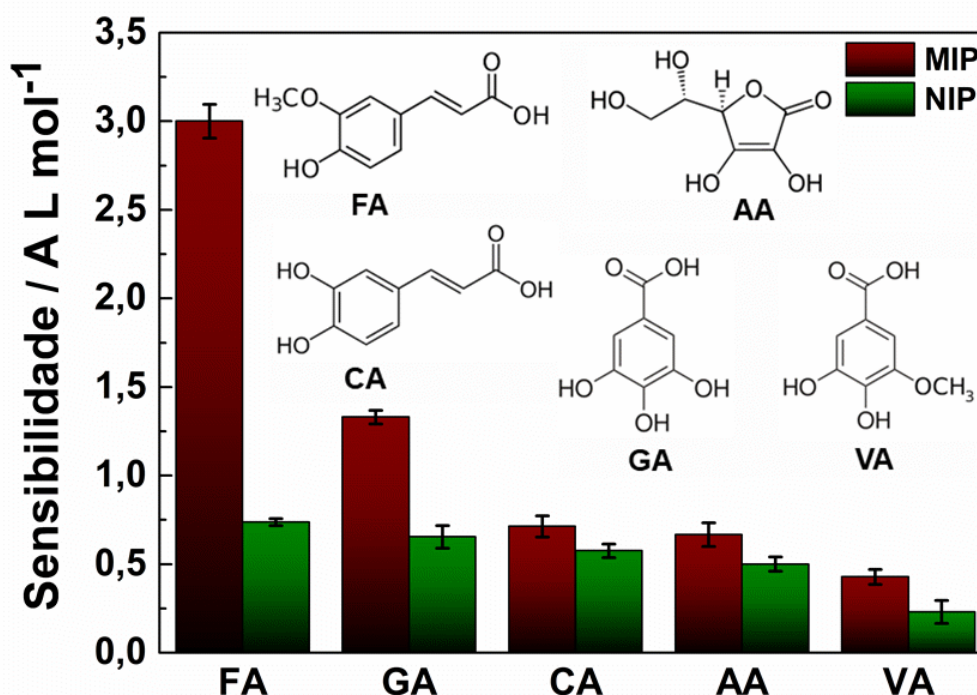


Figura 26 - Sensibilidade dos eletrodos SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP e SPE(a)/rGO-AuNPs-NIP para detecção de FA, GA, CA, AA e VA. O procedimento de religação de cada molécula foi realizado utilizando soluções em três níveis de concentração: $1,0 \times 10^{-8}$; $5,0 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. O monitoramento das respostas dos eletrodos foi realizado usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl $0,50$ mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

O eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP apresentou uma sensibilidade de aproximadamente 2,3; 4,2; 4,5 e 7,0 vezes maior para a detecção de FA do que para as moléculas de GA, CA, AA e VA, respectivamente. Essa diferença em termos de sensibilidade indica que, dentre todas as moléculas submetidas ao processo de religação, o eletrodo proposto detectou preferencialmente a molécula de FA. Os fatores de impressão (α) e seletividade (β) foram calculados com base nos resultados

obtidos neste estudo. A Tabela 7 mostra que o valor encontrado para α foi de 4,1 para FA e menor que 2,0 para as outras moléculas investigadas (GA, CA, AA e VA). Esses valores indicam a existência de cavidades impressas para detecção de FA sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP. Além disso, o valor de β maior que 1,0 para as moléculas de GA, CA, AA e VA sugere que essas cavidades são seletivas para o reconhecimento de FA.

Tabela 7 - Valores relacionados aos parâmetros de seletividade obtidos para o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP em termos da detecção de FA e moléculas potencialmente interferentes. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

Molécula	Sensibilidade (A L mol ⁻¹)		α *	β **
	MIP	NIP		
Ácido ferúlico (FA)	3,0	0,7	4,3	-
Ácido gálico (GA)	1,3	0,7	1,9	2,3
Ácido cafeico (CA)	0,7	0,6	1,2	3,7
Ácido ascórbico (AA)	0,7	0,5	1,4	3,1
Ácido vanílico (VA)	0,4	0,2	2,0	2,1

$$* \alpha = \frac{\Delta i_{(MIP)}}{\Delta i_{(NIP)}}$$

$$** \beta = \frac{\alpha_{(Ácido\ ferúlico)}}{\alpha_{(Interferente)}}$$

A Figura 26 mostra que GA foi a molécula que apresentou a maior resposta de corrente em comparação com os outros interferentes; isso foi atribuído ao menor tamanho da molécula de GA frente às demais moléculas e à quantidade relativamente grande de grupos funcionais disponíveis para interagir com as cavidades impressas. A molécula de CA, que possui estrutura semelhante à molécula de FA, apresentou pouca interferência sobre a resposta do eletrodo; isso sugere que o grupo hidroxila não tem uma orientação espacial adequada para interagir com os sítios ativos das cavidades impressas. A molécula de AA, que possui uma estrutura química diferente da molécula de FA, apresentou menos interferência sobre a resposta do eletrodo em comparação com as moléculas de GA e CA. Isso foi atribuído ao impedimento estérico que existe entre as cavidades impressas e a estrutura de AA, o que não favorece a

interação desta molécula com os sítios de reconhecimento presentes na estrutura polimérica de poli(fenol).

Dentre os compostos analisados, a molécula de VA exibiu a menor interferência sobre a resposta do eletrodo. Uma comparação entre as moléculas de GA e VA mostra que a única diferença entre essas espécies é a natureza do grupo funcional: a molécula de VA possui um grupo metoxila ligado ao anel de benzeno, enquanto que a molécula de GA possui um grupo hidroxila na mesma posição (ver Figura 26). A estrutura dessas moléculas sugere que VA pode ter algum tipo de impedimento estérico para interagir com as cavidades impressas; isso não acontece com GA porque o grupo hidroxila possui um tamanho menor em comparação com o grupo metoxila. Esses resultados mostram que a natureza do grupo funcional exerce um papel importante no que diz respeito à seletividade do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP.

4.2.8. Repetibilidade intra-dia, inter-dia e estabilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP

Para avaliar a repetibilidade intra-dia, um mesmo eletrodo foi usado para detectar a molécula de FA ($1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹) em uma solução de PB (0,10 mol L⁻¹; pH 6,0) por cinco vezes consecutivas. Para conduzir esta análise, uma solução hidroalcoólica (9:1; água:etanol) foi usada para regenerar as cavidades de reconhecimento. O desvio padrão relativo (RSD) obtido para as cinco medidas consecutivas foi de 3,9% (n = 5). Este resultado mostrou que o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP pode ser usado para detecção de FA por pelo menos cinco vezes consecutivas sem perda significativa de seu desempenho analítico.

A repetibilidade inter-dia do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP foi avaliada usando cinco eletrodos preparados independentemente de acordo com o procedimento descrito na Seção 3.5. Os eletrodos obtidos foram utilizados para detectar a molécula de FA ($1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹) em uma solução de PB (0,10 mol L⁻¹; pH 6,0). As respostas de corrente obtidas apresentaram um RSD de 4,3% (n = 5). Esse resultado mostrou que o sensor proposto possui reprodutibilidade satisfatória para detecção de FA.

A estabilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP foi investigada por meio do armazenamento deste dispositivo em contato com o ar à temperatura ambiente por

15 dias. Após este período, a resposta de corrente do eletrodo apresentou 92% de seu valor inicial; este resultado mostrou que o sensor possui uma considerável estabilidade ao longo do tempo para detecção de FA.

4.2.9. Determinação de FA em cascas de laranja

Para avaliar a aplicabilidade do método proposto neste trabalho, o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs-MIP foi utilizado para realizar a determinação de FA em cascas de laranja. A extração de FA das cascas de laranja foi realizada de acordo com o procedimento descrito na Seção 3.9. O extrato obtido foi diluído 50 vezes em uma solução de PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,0) para a realização das medidas eletroquímicas. A determinação da molécula de FA na amostra de casca de laranja foi realizada pelo método de adição padrão (Figura 27), que apresentou a seguinte equação de regressão linear: $\Delta i \text{ (A)} = 3,5 C \text{ (mol L}^{-1}) + 9,1 \times 10^{-7}$; $R^2 = 0,9994$.

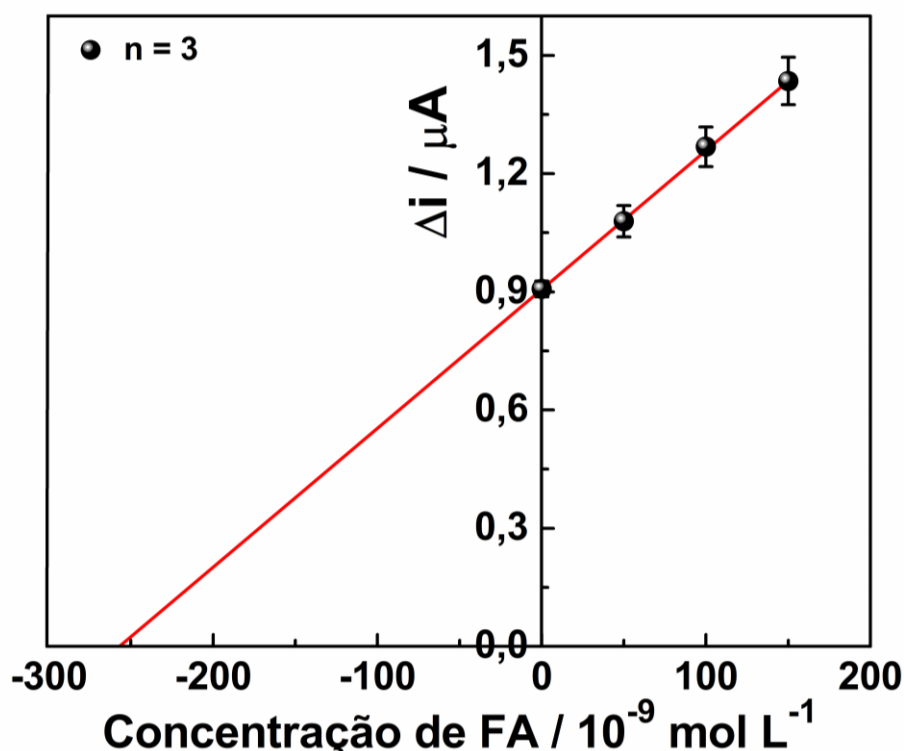


Figura 27 - Curva de adição padrão para determinação FA em amostra de casca de laranja. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

A quantidade de FA encontrada na amostra de casca de laranja foi de $(13 \pm 5) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 3$), o que corresponde a cerca de $(2,5 \pm 0,1) \text{ mg}$ de FA por

grama de casca de laranja seca ($n = 3$). Os resultados obtidos foram validados por ensaios de recuperação e os valores obtidos estão resumidos na Tabela 8. Os valores de recuperação média variaram de 99 a 103%, com RSDs entre 1,7 e 2,0%. Essencialmente, esses resultados mostram que o método eletroanalítico desenvolvido possui boa precisão quando aplicado para determinação de FA em amostra de casca de laranja.

Tabela 8 - Determinação de FA em amostra de casca de laranja ($n = 3$). Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [114].

Amostra	Quant. Adicionada (10^{-9} mol L$^{-1}$)	Quant. Detectada (10^{-9} mol L$^{-1}$)	Recuperação (%)	RSD (%)
	–	257 ± 7	–	–
Extrato de Casca de Laranja	50	316 ± 6	103	1,9
	100	357 ± 7	100	2,0
	150	406 ± 7	99	1,7

4.3. Sensor eletroquímico descartável para determinação de ácido vanílico em cascas de banana e laranja

Esta seção reporta o desenvolvimento de um sensor eletroquímico descartável contendo rGO, FeNPs e filme molecularmente impresso de PPy para detecção e quantificação de VA. A Figura 28 ilustra as etapas de preparação do sensor proposto.

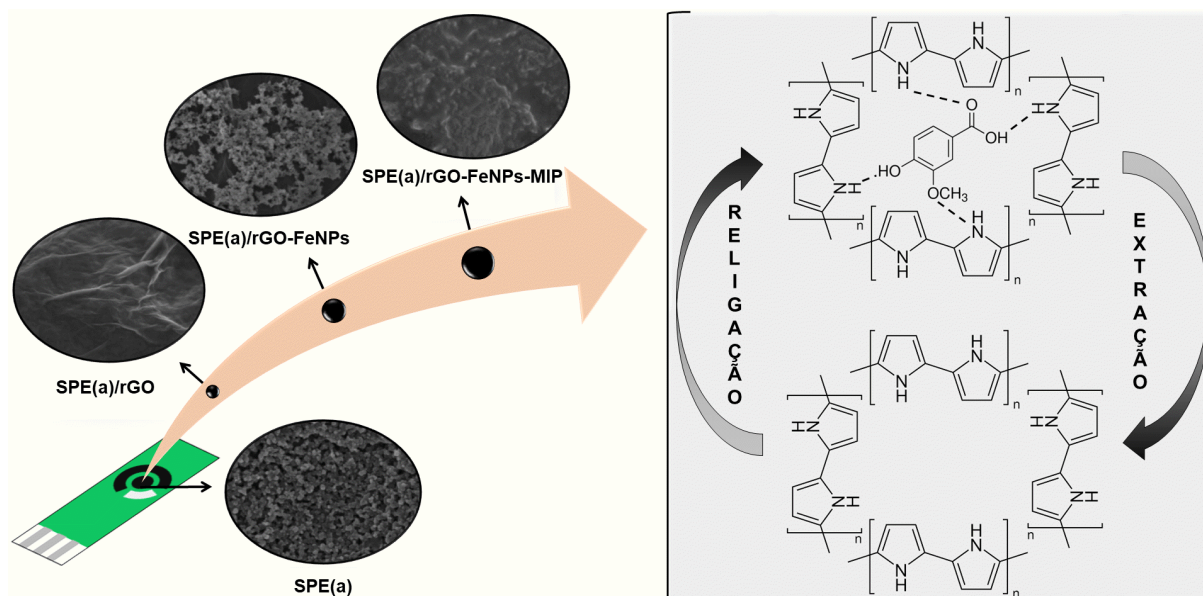


Figura 28 - Esquema ilustrativo das etapas de preparação do sensor SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

4.3.4. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de ferro

A eletrodeposição das FeNPs sobre o SPE(a)/rGO foi controlada por meio da carga do eletrodósito formado sobre a superfície deste eletrodo. Para este fim, uma voltametria cíclica exploratória foi realizada para diagnosticar os potenciais de oxidação/redução das espécies de ferro. A Figura 29A mostra o voltamograma cíclico obtido para o eletrodo SPE(a)/rGO em uma solução de KCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Olhando para essa figura, é possível observar dois picos catódicos (picos I e II) e dois picos anódicos (picos III e IV). Os picos I ($0,37 \text{ V}$) e II ($-1,3 \text{ V}$) são atribuídos à redução de $\text{Fe}^{3+}_{(\text{aq})}$ para $\text{Fe}^{2+}_{(\text{aq})}$ e Fe^{2+} para $\text{Fe}^0_{(\text{s})}$, respectivamente. Enquanto que os picos III ($-0,47 \text{ V}$) e IV ($0,60 \text{ V}$) correspondem à oxidação de $\text{Fe}^0_{(\text{s})}$ para $\text{Fe}^{2+}_{(\text{aq})}$ e $\text{Fe}^{2+}_{(\text{aq})}$ para $\text{Fe}^{3+}_{(\text{aq})}$, respectivamente.

A carga do eletrodósito de FeNPs foi otimizada usando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Para este fim, o

potencial de $-1,3$ V foi aplicado para a eletrodeposição das FeNPs até a obtenção da carga desejada. A Figura 29B mostra que a corrente de pico anódica da sonda $K_3[Fe(CN)_6]$ aumentou em função da carga de FeNPs e atingiu seu máximo em $5,0$ mC. Para valores de carga acima de $5,0$ mC, a corrente da sonda eletroquímica apresentou uma considerável diminuição, possivelmente devido à aglomeração das FeNPs e à formação de um filme metálico sobre a superfície do eletrodo. Conforme discutido na Seção 4.2.1, eletrodos modificados com filmes metálicos possuem uma menor área eletroativa quando comparados com aqueles modificados com nanopartículas metálicas [88,89]. Portanto, a carga de FeNPs escolhida para modificar o eletrodo SPE(a)/rGO foi de $5,0$ mC.

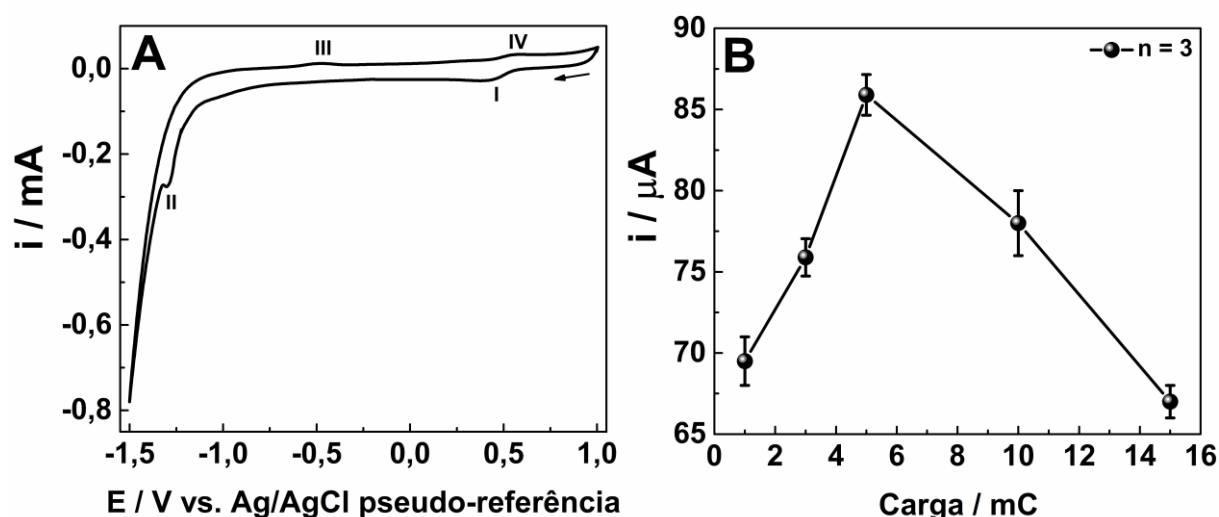


Figura 29 - Estudo de otimização para eletrodeposição de FeNPs sobre o eletrodo SPE(a)/rGO. (A) Voltamograma cíclico em solução de KCl $0,10$ mol L^{-1} contendo $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} ; velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . (B) Efeito da carga do eletrodepósito de FeNPs sobre a corrente de pico anódica da sonda $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} . A solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} foi preparada usando KCl $0,50$ mol L^{-1} como eletrólito suporte. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

4.3.5. Eletropolimerização do filme molecularmente impresso de polipirrol e caracterização eletroquímica do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP

O comportamento eletroquímico do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs foi investigado por CV e EIS usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em solução de KCl $0,50$ mol L^{-1} como sonda eletroquímica. A Figura 30A (curvas a e b) mostra que após o processo de ativação, os picos redox da sonda eletroquímica apresentaram um aumento em suas intensidades de corrente e um perfil voltamétrico mais reversível. Além disso, as

modificações realizadas sobre a superfície do eletrodo com rGO (curva c) e FeNPs (curva d) promoveram um aumento gradual nas intensidades de corrente da sonda eletroquímica. Esse aumento nas intensidades de corrente foi atribuído ao aumento da área eletroativa do eletrodo, uma vez que esses materiais nanoestruturados (rGO e FeNPs) são conhecidos por terem uma alta condutividade [83,88,89].

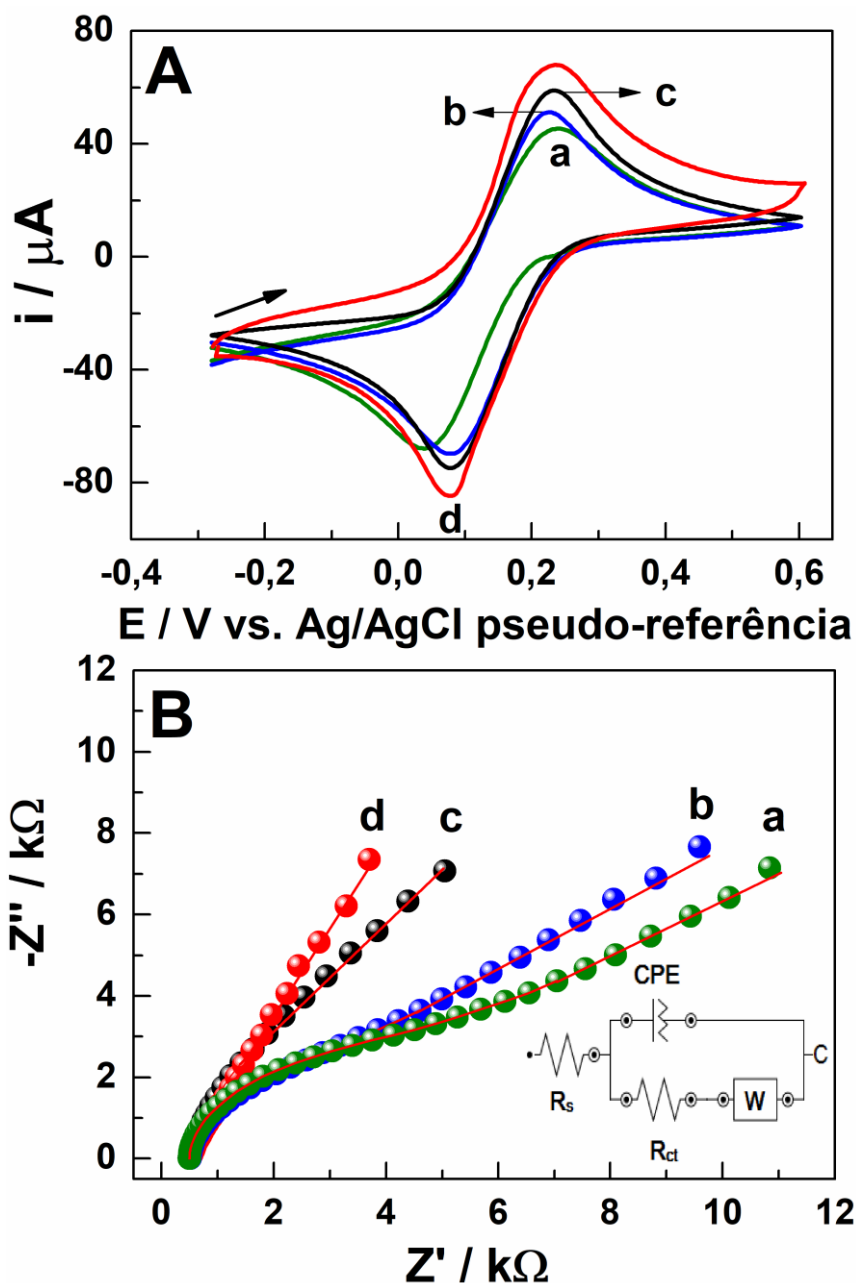


Figura 30 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,10 Hz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV para: (a) SPE, (b) SPE(a), (c) SPE(a)/rGO e (d) SPE(a)/rGO-FeNPs. Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

Análises de EIS também foram realizadas para investigar o comportamento eletroquímico do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs. A Figura 30B mostra o diagrama de Nyquist obtido após cada etapa de preparação deste eletrodo. A inserção na Figura 30B mostra o circuito equivalente obtido a partir dos dados experimentais; este circuito equivalente é composto pelos seguintes elementos: R_{ct} , R_s , CPE e W. Os resultados obtidos durante as análises de EIS foram discutidos em função de R_{ct} , que é o elemento do circuito que melhor descreve a transferência de carga ocorrida na superfície do eletrodo. A Figura 30B (curva a) mostra um semicírculo para o SPE com um R_{ct} de 3,9 k Ω . Após os processos de ativação (curva b) e eletrodeposição de rGO (curva c), o valor de R_{ct} diminuiu para 3,0 k Ω e 186 m Ω , respectivamente. Além disso, nenhum semicírculo foi observado após a incorporação das FeNPs sobre as folhas de rGO (curva d). Nesse contexto, o circuito equivalente que melhor descreve a transferência de carga na superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs é composto apenas por R_s e CPE. Esses resultados mostram que as etapas de ativação e modificação do SPE com rGO e FeNPs facilitaram o processo de transferência de carga na superfície deste eletrodo.

As modificações realizadas na superfície do SPE com rGO e FeNPs também promoveram um aumento na rugosidade deste eletrodo; isso favoreceu a adesão do filme de MIP durante o processo de eletropolimerização e contribuiu para o aumento do número de cavidades formadas para o reconhecimento da molécula de VA. As Figuras 31A e 31B mostram os voltamogramas obtidos durante a eletrossíntese dos filmes de MIP e NIP sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs, respectivamente. Esses voltamogramas mostram a presença de uma onda anódica em 0,90 V, que é atribuída à oxidação do monômero de Py. A oxidação desse monômero leva à perda de um elétron da unidade de Py para a formação de um cátion radical primário (Py^+); este íon então se acopla com outro íon Py^+ para desencadear o processo de eletropolimerização do filme de PPy sobre a superfície do eletrodo [78,79].

A Figura 32 mostra o mecanismo de eletropolimerização do Py. Nesta figura, observa-se que o acoplamento de dois cátions radicais primários leva à formação de um dímero com carga positiva. A presença de dois prótons na estrutura desse dímero distorce sua conjugação, o que leva a um processo de rearomatização por meio de uma reação de desprotonação para formação de um dímero neutro, que é energeticamente favorável [123]. O dímero neutro é então oxidado para formar um

cátion radical secundário. Nas próximas etapas do processo de eletropolimerização, ocorre o acoplamento de cátions radicais primários e secundários, seguido por uma liberação de prótons e rearomatização. Em seguida, as etapas de oxidação, acoplamento e rearomatização são repetidas sucessivamente para formar da cadeia polimérica de PPy sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs [123,124].

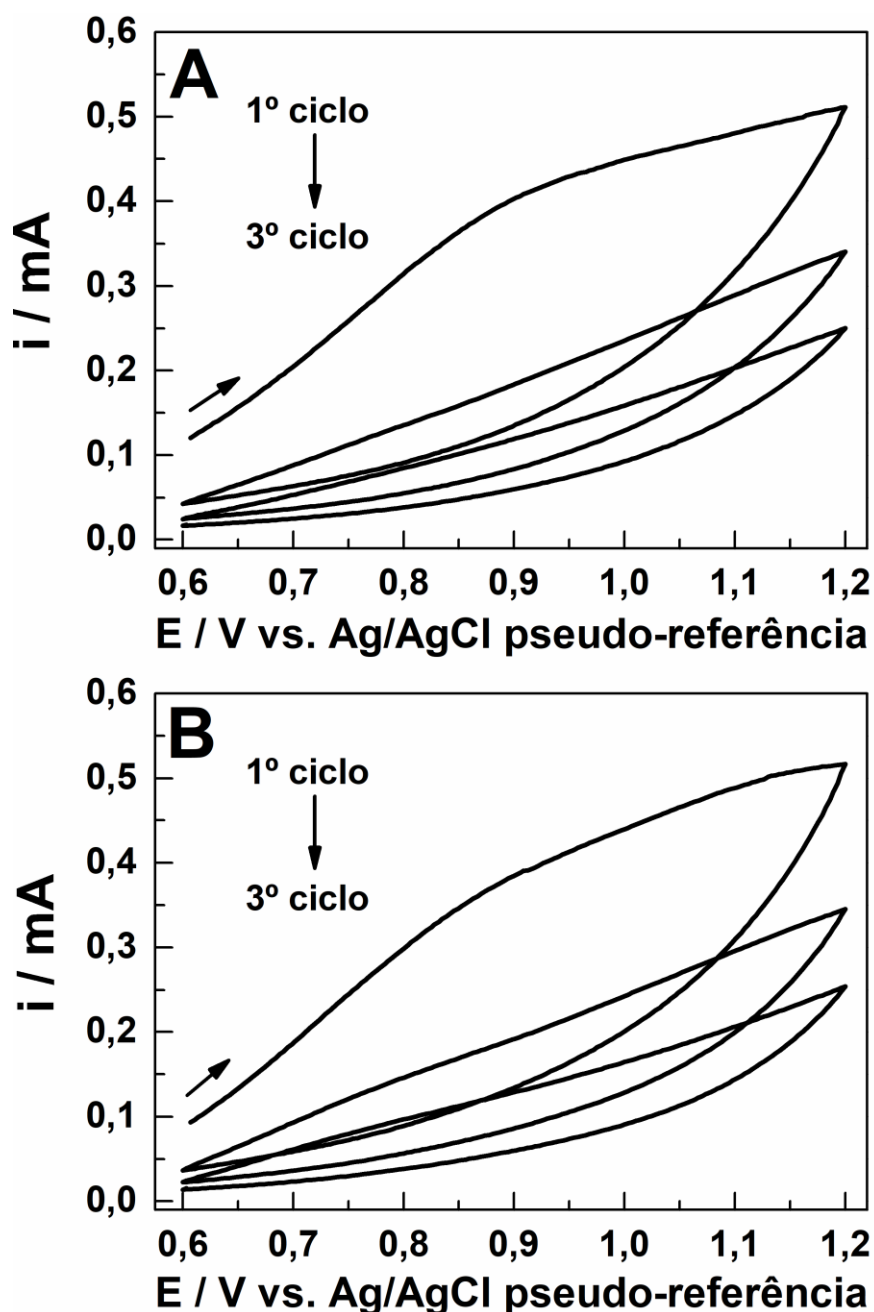


Figura 31 - Voltamogramas cíclicos obtidos durante a eletropolimerização de $3,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ de Py na (A) presença e (B) ausência de $7,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de VA (PB; $0,10$ mol L⁻¹; pH 7,0); velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

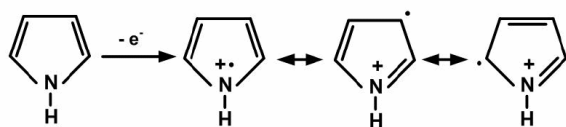
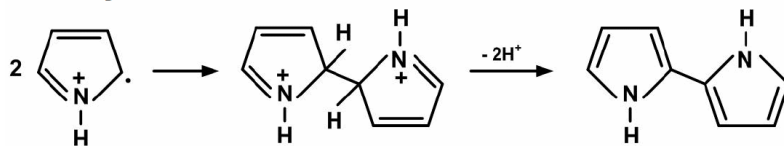
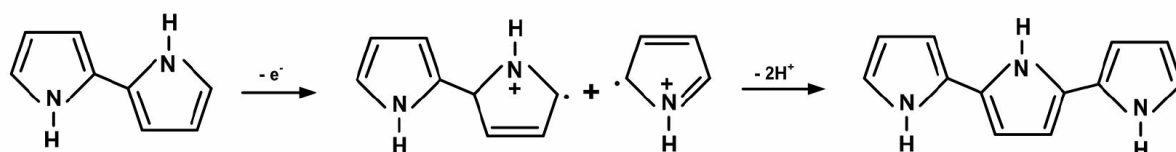
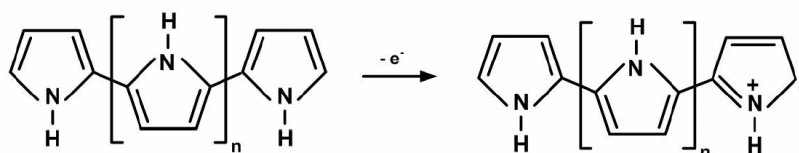
Oxidação do Py**Formação do dímero****Oxidação, acoplamento e rearomatização****Formação da cadeia polimérica de PPy**

Figura 32 - Mecanismo de eletropolimerização do Py. Fonte: adaptado de Gvozdenović *et al.* [123]. Reproduzido sob política de acesso aberto, Association of Chemical Engineers of Serbia.

Durante a formação do filme molecularmente impresso, as moléculas de VA são aprisionadas na estrutura polimérica de PPy devido às suas interações com as unidades de Py. Essas interações são necessárias para a formação das cavidades impressas e podem ocorrer entre os grupos hidroxila, metoxila e/ou carboxila da estrutura de VA e o átomo de nitrogênio do monômero de Py. Nas Figura 31A e 31B, os segundos e os terceiros ciclos voltamétricos exibiram intensidades de corrente mais baixas em comparação aos primeiros ciclos; isso está associado ao recobrimento da superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs pelo filme de PPy, o que reduz a condutividade deste dispositivo.

A Figura 31B mostra os voltamogramas obtidos na ausência da molécula de VA durante a preparação do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP. Nesta figura, observa-se que esses voltamogramas não apresentaram diferenças significativas em comparação com aqueles obtidos na presença da molécula de VA (ver Figura 31A). Este resultado mostra que a estrutura de VA não interfere na formação das cadeias poliméricas de PPy.

Após a eletropolimerização, o eletrodo modificado foi novamente caracterizado por CV e EIS usando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica.

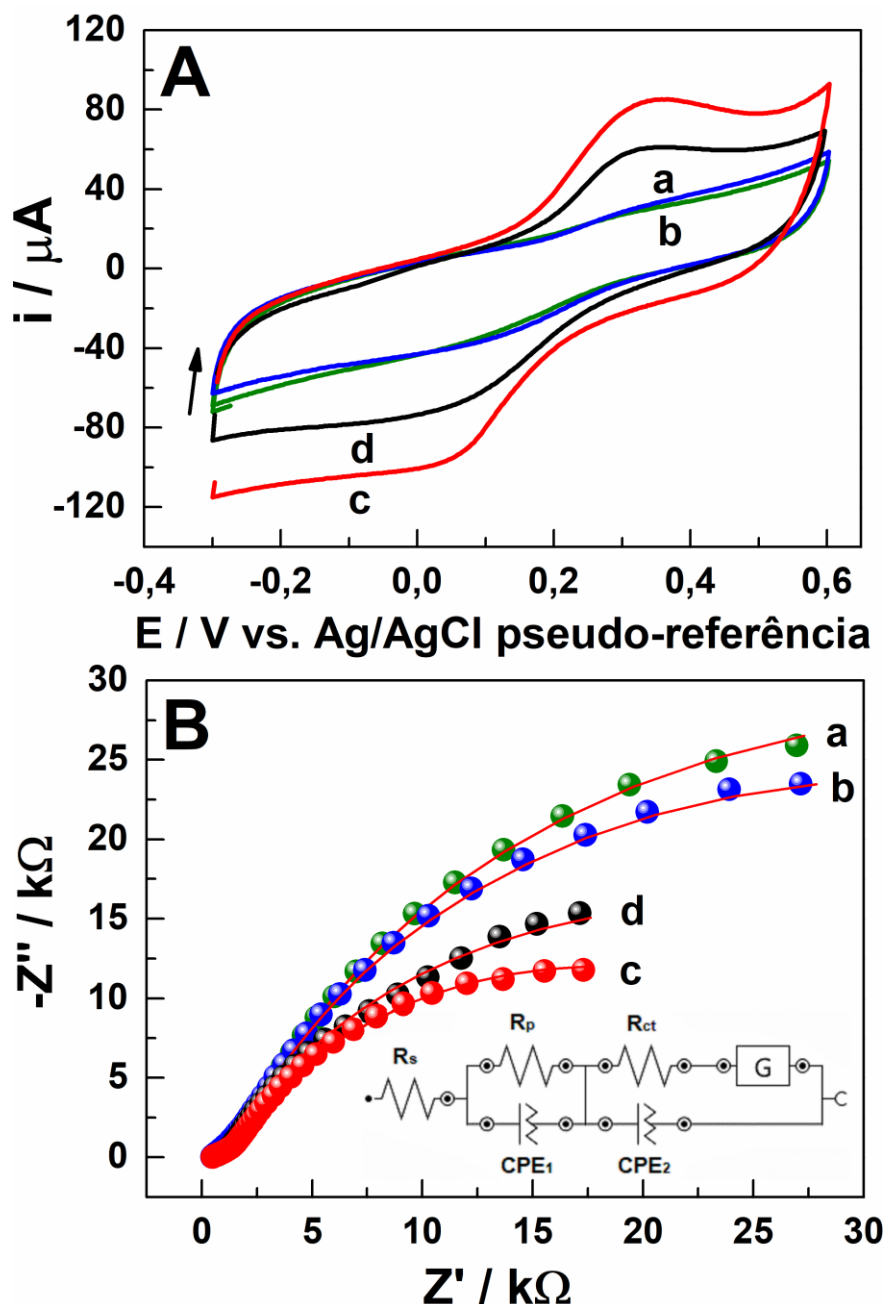


Figura 33 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 10 mHz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV para: (a) SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP e (b) SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP após a eletropolimerização, (c) SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP após a remoção da molécula molde de VA e (d) SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP após o processo de religação por 10 min usando uma solução de VA $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ (PB; 0,10 mol L⁻¹; pH 6,0). Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

Após o processo de eletropolimerização, a Figura 33A (curvas a e b) mostra que os picos redox da sonda eletroquímica não foram observados para os eletrodos SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP e SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP, respectivamente. Isso foi atribuído à presença do filme de PPy sobre esses eletrodos. A estrutura polimérica de PPy possui baixa condutividade e tende a bloquear a superfície do eletrodo durante o processo de eletropolimerização; isso dificulta a ocorrência dos processos redox provenientes da sonda eletroquímica. No entanto, os picos redox da sonda eletroquímica foram novamente observados após a remoção das moléculas molde de VA da estrutura polimérica de PPy (curva c). A remoção das moléculas molde promoveu a formação de cavidades impressas na estrutura de PPy. Essas cavidades, por sua vez, permitiram que a sonda eletroquímica acessasse a superfície do eletrodo, e isso abriu caminho para a oxidação e/ou redução das moléculas de $K_3[Fe(CN)_6]$ sobre a superfície de SPE(a)/rGO-FeNPs.

Após o processo de religação utilizando uma solução de PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,0) contendo $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de VA, uma diminuição na intensidade de corrente da sonda eletroquímica foi observada (Figura 33A, curva d). Durante o processo de religação, as moléculas de VA se recombinaram com algumas cavidades impressas presentes na estrutura de PPy, e isso reduziu a quantidade de sítios disponíveis para a sonda eletroquímica chegar à superfície do eletrodo. Como resultado, menos moléculas de $K_3[Fe(CN)_6]$ foram oxidadas e/ou reduzidas sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs.

Ao analisar os resultados de EIS obtidos após eletropolimerização, a Figura 33B mostra duas resistências no circuito equivalente: R_{ct} e R_p . Esta última resistência (R_p) se deve à resistência difusional do filme de PPy, o que dificulta a transferência da carga na superfície do eletrodo. Esse comportamento foi confirmado pelo aumento no valor de R_{ct} para os eletrodos SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP (curva a; $R_{ct} = 70,6 \text{ k}\Omega$) e SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP (curva b; $R_{ct} = 53,5 \text{ k}\Omega$) após a eletropolimerização. O aumento no valor de R_{ct} confirmou a natureza não condutora do filme de PPy formado sobre as superfícies desses eletrodos.

Após a remoção das moléculas de VA e a formação das cavidades impressas, houve uma diminuição significativa na resistência à transferência de carga (curva c; $R_{ct} = 32,1 \text{ k}\Omega$); isso mostra que as cavidades formadas na estrutura de PPy facilitaram a transferência de carga, pois permitiram que a sonda eletroquímica atingisse a superfície do eletrodo. Por outro lado, durante o processo de religação utilizando uma

solução de PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,0) contendo $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de VA, algumas cavidades impressas foram ocupadas pelas moléculas de VA e houve um aumento no valor de R_{ct} porque menos sítios estavam disponíveis para a sonda eletroquímica atingir a superfície do eletrodo (curva d; $R_{ct} = 62,1 \text{ k}\Omega$). Esses resultados, junto com aqueles obtidos por CV, mostram que as cavidades formadas na estrutura de PPy foram capazes de reconhecer com sucesso as moléculas de VA em solução.

4.3.6. Caracterização da superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP

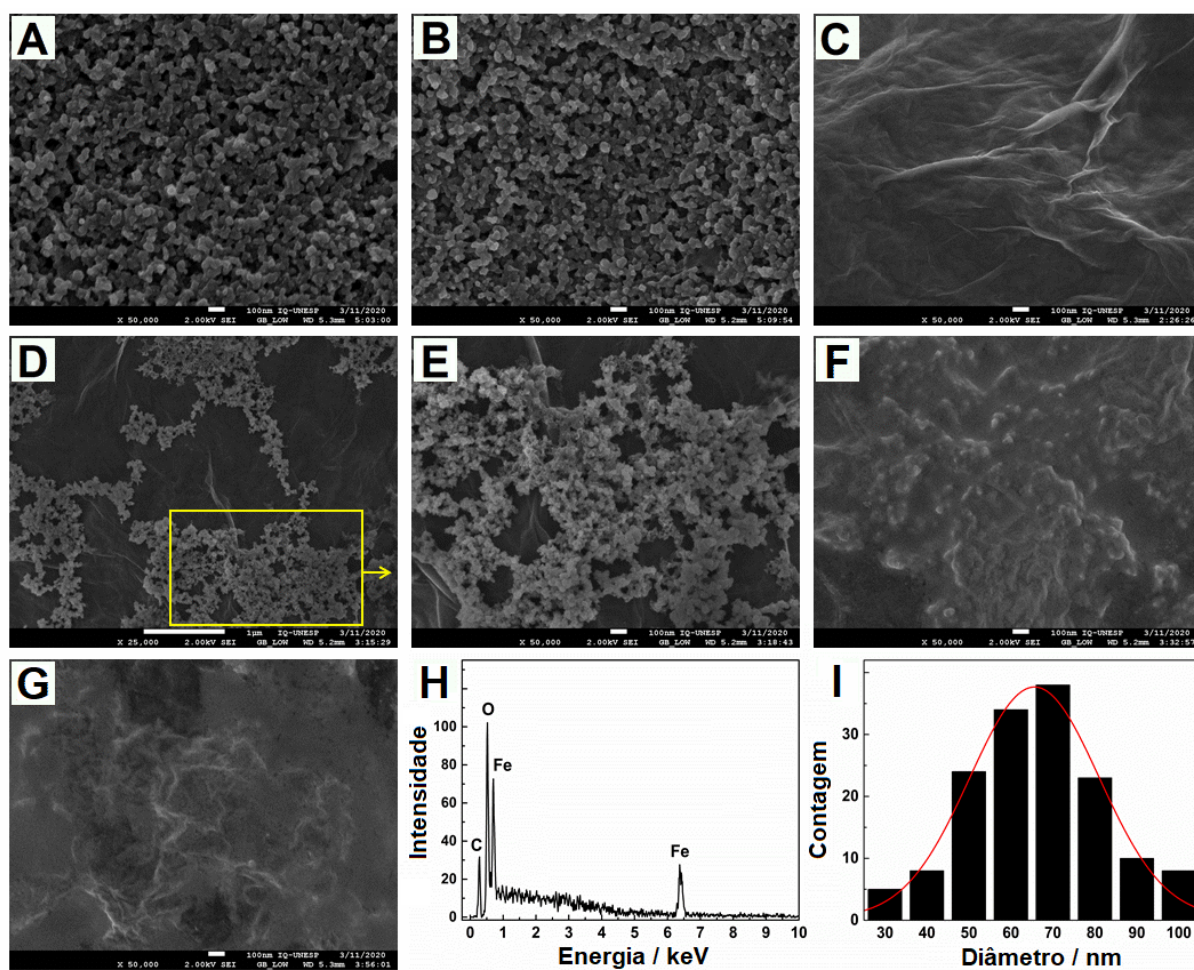


Figura 34 - Imagens de FEG-SEM para: (A) SPE antes e (B) após o processo de ativação, (C) SPE(a)/rGO, (D e E) SPE(a)/rGO-FeNPs, (F) SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP e (G) SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP; (H) espectro de EDS e (I) histograma para a distribuição de tamanho das FeNPs eletrodepositadas sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO ($n = 150$). Taxas de ampliação das imagens: (E) 25.000 e (A–C, D–F) 50.000 vezes. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

A caracterização da superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP foi realizada por FEG-SEM. As Figuras 34A e 34B mostram imagens do SPE antes e

depois do processo de ativação; olhando para essas figuras, é possível observar a presença das partículas de carbono provenientes da superfície do SPE. A Figura 34C mostra a superfície do SPE(a) modificada com rGO; a superfície deste eletrodo modificado apresentou uma aparência mais enrugada devido à presença das folhas de grafeno que foram eletrodepositadas sobre ele. As Figuras 34D e 34E mostram a superfície do SPE(a)/rGO decorada com FeNPs em taxas de ampliação de 25.000 e 50.000 vezes, respectivamente; essas imagens mostram claramente que as FeNPs formam aglomerados sobre as folhas de rGO.

As Figuras 34F e 34G mostram as superfícies dos eletrodos SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP e SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP, respectivamente. Observando essas imagens, pode-se observar que o filme de PPy foi eletropolimerizado de maneira homogênea sobre as folhas de rGO e as FeNPs. Além disso, vale ressaltar que o filme polimérico formado sobre a superfície do eletrodo parece ser muito fino em termos de espessura, uma vez que algumas FeNPs podem ser observadas sob a estrutura de PPy após o processo de eletropolimerização. A presença das FeNPs sobre a superfície do eletrodo foi confirmada pela análise de EDS; a Figura 34H mostra dois picos em 0,70 e 6,40 keV que correspondem às espécies de ferro. A Figura 34I, por sua vez, mostra que as FeNPs apresentaram um diâmetro médio de 71 nm ($n = 150$).

Análises de XPS também foram realizadas para identificar as ligações químicas e os grupos funcionais presentes na superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP. Como pode ser visto na Figura 35A, o espectro de alta resolução para C 1s possui sete componentes: a componente principal (51,8%) em 284,4 eV está relacionada com os carbonos aromáticos (CC sp^2), enquanto que a componente em 285,2 eV (17,9%) é atribuída as ligações C–CH. Na região de alta energia de ligação, pode-se observar a presença de grupos oxigenados de álcool/éter (C–O em 286,5 eV; 17,4%), carbonila (C=O em 287,9 eV; 5,8%) e carboxila (O–C=O em 289,3 eV; 2,4%) [75]. Além disso, dois picos *plasmon* podem ser observados em 291,1 eV (3,6%) e 292,9 eV (1,1%); esses picos são atribuídos às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ na camada de valência e à assimetria da componente CC sp^2 . Vale ressaltar que os picos *plasmon* são tipicamente característicos de sistemas aromáticos ou conjugados [125].

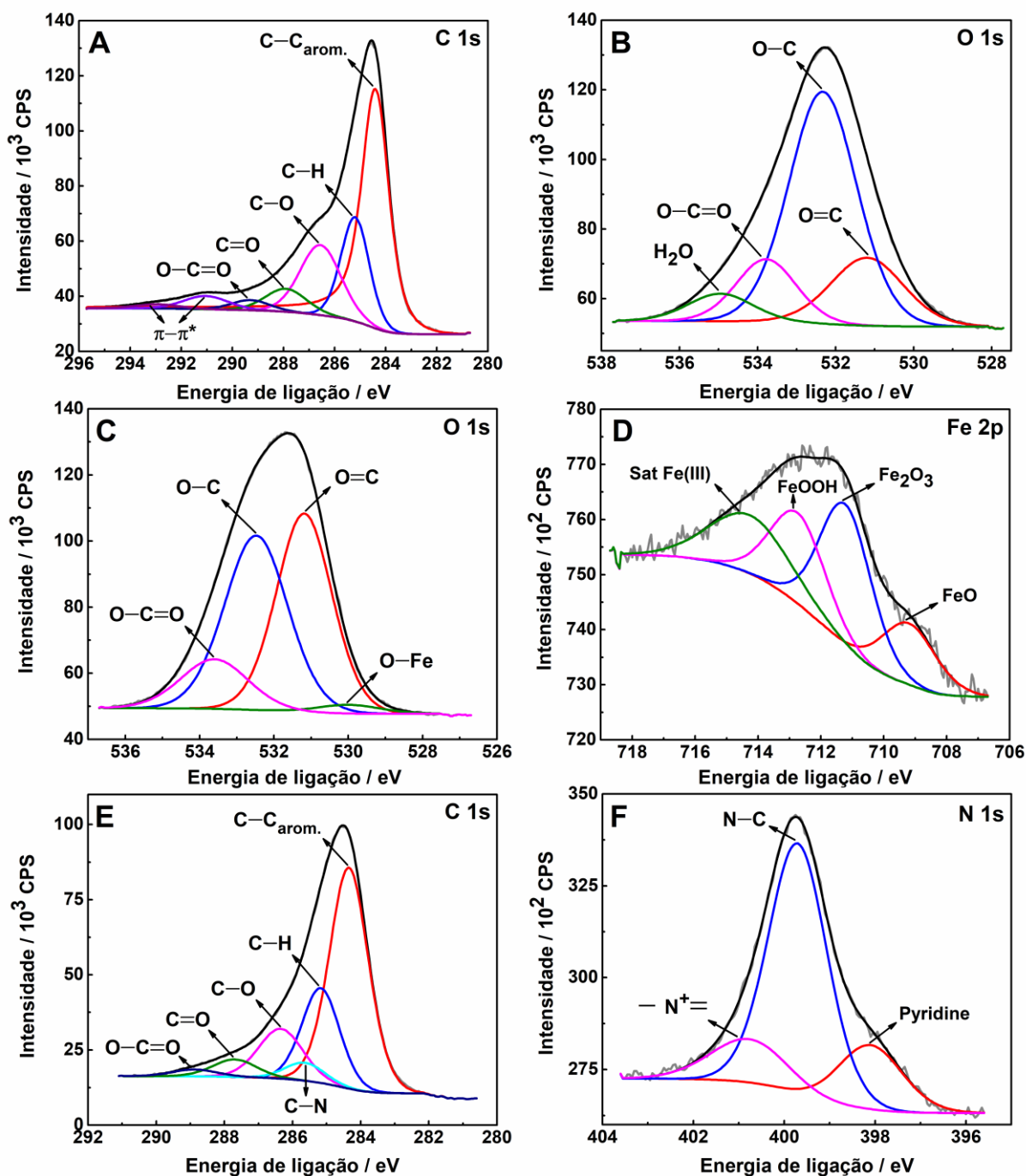


Figura 35 - Espectros de XPS deconvoluídos: (A) C 1s e (B) O 1s para SPE(a)/rGO; (C) O 1s e (D) Fe 2p_{3/2} para SPE(a)/rGO-FeNPs; (E) C 1s e (F) N 1s para SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

Na Figura 35B, o espectro de alta resolução para O 1s mostra as componentes dos grupos oxigenados (O=C em 531,2 eV; 18,8%), (O-C em 532,3 eV; 60,1%) e (O-C=O em 533,8 eV; 14,3 %). Na região de alta energia de ligação, pode-se observar a presença de um pico em 335 eV (6,8%); este pico é atribuído à água molecular adsorvida na estrutura de rGO [75]. Na Figura 35C, o espectro de alta resolução para

O 1s obtido após a modificação do eletrodo com FeNPs mostra os mesmos picos descritos na Figura 35B; além desses picos, uma banda de baixa intensidade relacionada ao óxido de ferro (O^{-2}) é observada em 530,0 eV [126]. Na Figura 35D, o espectro de alta resolução para Fe $2p_{3/2}$ foi deconvoluído em quatro componentes: FeO em 709,2 eV (14,7%), Fe_2O_3 em 711,2 eV (35,4%), FeOOH em 712,8 eV (27,6%) e um pico satélite (*shake up*) de Fe^{+3} em 714,6 eV (22,3%) [127]. Essas componentes mostram que as FeNPs estão predominantemente presentes na forma de óxidos sobre a superfície do eletrodo.

Na Figura 35E, o espectro de alta resolução para C 1s obtido após o processo de eletropolimerização exibe os mesmos picos descritos na Figura 35A. Além desses picos, pode-se observar também a presença de uma banda relacionada à ligação C–N em 654 eV; esta banda indica a presença do filme de PPy sobre a superfície do eletrodo. Na Figura 35F, o espectro de alta resolução para N 1s foi deconvoluído em três componentes: piridina em 398,1 eV (18,6%), N–C (amina) em 399,7 eV (66,3%) e nitrogênio deficiente de elétrons (*shake up*) em 400,8 eV (15,1%) [75]. Fundamentalmente, os resultados obtidos durante as análises de XPS mostram claramente que a superfície do SPE foi modificada com rGO, FeNPs e filme de PPy.

4.3.7. Otimização das condições experimentais

Como discutido na Seção 4.2.4, as condições experimentais empregadas durante a preparação dos sensores eletroquímicos baseados em MIP afetam diretamente o desempenho analítico desses dispositivos. Nesse sentido, os parâmetros que afetam a performance do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNP-MIP durante o reconhecimento da molécula de VA foram otimizados utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em solução de KCl 0,50 mol L^{-1} como sonda eletroquímica. Esses parâmetros incluíram: a quantidade de monômero funcional (Py) e molécula molde (VA), o número de ciclos voltamétricos e o pH empregado durante o processo de eletropolimerização, o tempo necessário para remover as moléculas de VA da estrutura polimérica de PPy, e o tempo e o pH requeridos para o processo de religação. A performance do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNP-MIP para detecção de $1,0 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} de VA foi avaliada através da diferença de corrente (Δi) da sonda $K_3[Fe(CN)_6]$ antes e após o processo de religação.

4.3.4.1. Quantidade de monômero funcional e molécula molde necessária para o processo de eletropolimerização

A quantidade de monômero funcional e molécula molde utilizada no processo de eletropolimerização é um parâmetro experimental que influencia diretamente no número de cavidades formadas para o reconhecimento da molécula alvo. Neste estudo, a formação do filme de PPy sobre a superfície do eletrodo não foi observada quando concentrações de Py abaixo de $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foram utilizadas durante o processo de eletropolimerização. Em razão disso, a concentração de Py foi mantida constante em $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e a concentração de VA foi estudada em uma faixa de $1,0 \times 10^{-3}$ a $1,1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

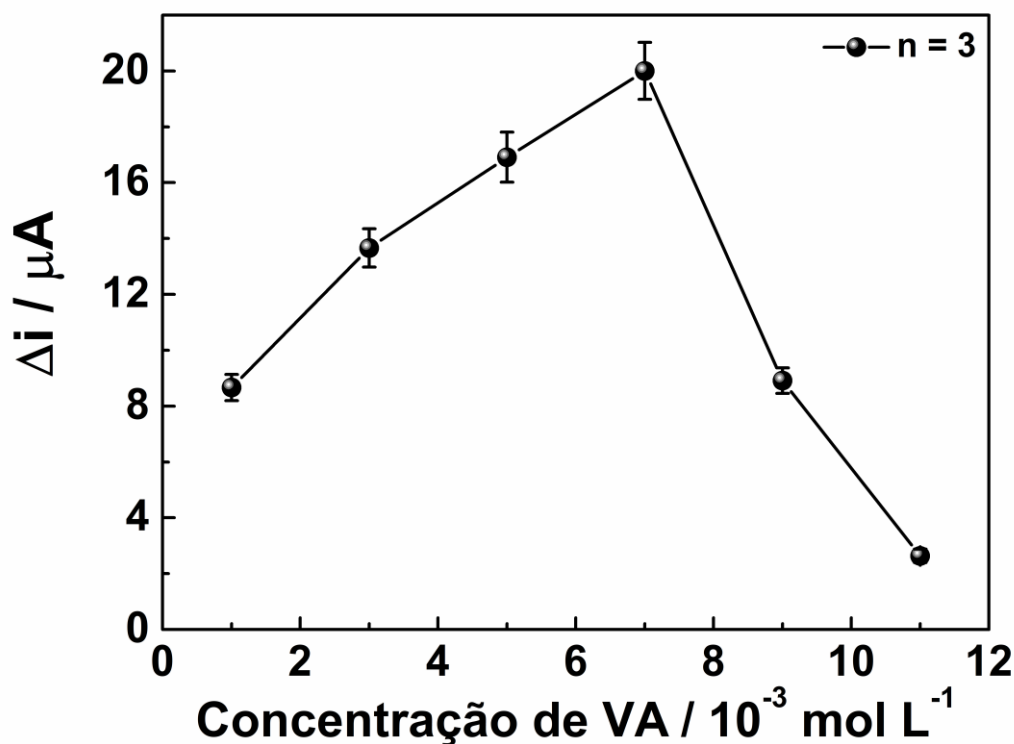


Figura 36 - Influência da concentração de VA sobre a resposta do eletrodo quando uma quantidade de $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ Py foi empregada no processo de eletropolimerização. A corrente foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

A Figura 36 mostra que a resposta do eletrodo aumentou gradualmente em função da concentração de VA até $7,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; isso mostra que o número de cavidades formadas na superfície do eletrodo é fortemente afetado pela concentração

de VA utilizada durante o processo de eletropolimerização. Em concentrações de VA acima de $7,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, observa-se uma diminuição considerável na resposta do eletrodo devido à formação de aglomerados desta molécula. Isso indica que a quantidade de unidades de Py disponíveis em solução não foi suficiente para interagir com todas as moléculas de VA, e isso resultou na formação de cavidades maiores e menos seletivas. Portanto, a quantidade ideal de monômero funcional (Py) e molécula molde (VA) para o processo de eletropolimerização foi de $3,0 \times 10^{-2}$ e $7,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

4.3.4.2. Número de ciclos voltamétricos necessários para o processo de eletropolimerização

A quantidade de ciclos voltamétricos utilizada para a eletrossíntese do filme molecularmente impresso de PPy sobre a superfície do eletrodo também é um parâmetro que afeta diretamente a espessura da estrutura polimérica e, por consequência, o desempenho analítico do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP.

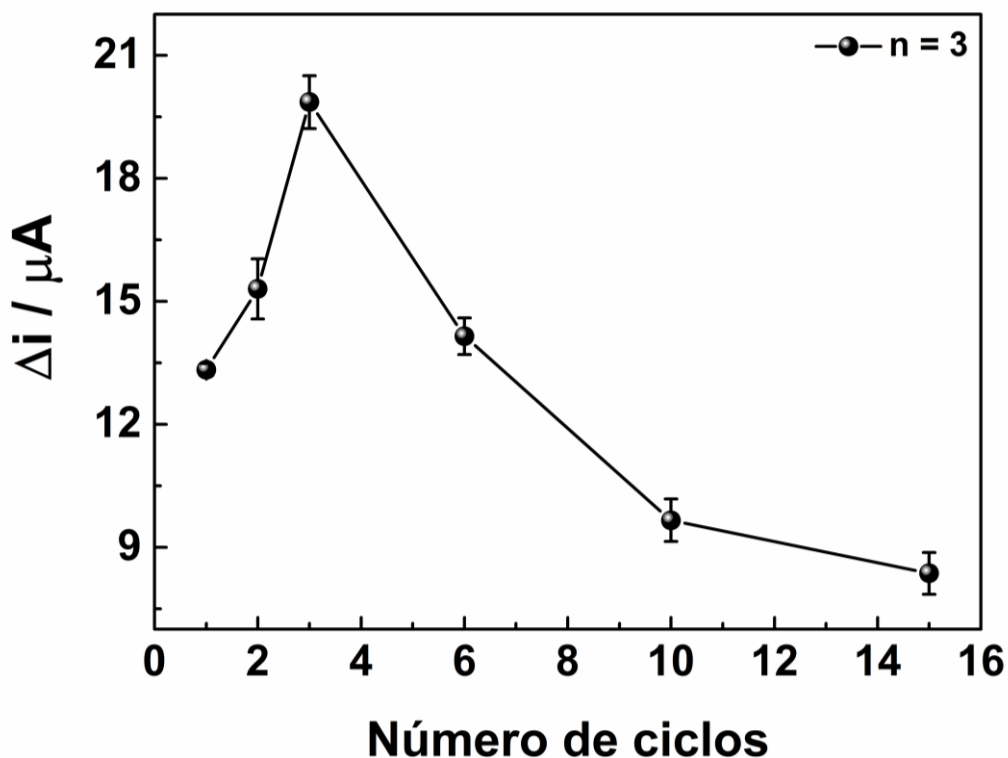


Figura 37 - Influência do número de ciclos voltamétricos sobre a resposta do eletrodo durante o processo de eletropolimerização. A corrente foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

A Figura 37 mostra que a corrente do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP aumentou com o número de ciclos e atingiu seu máximo quando 3 ciclos voltamétricos são utilizados para a eletrossíntese do filme de PPy. Este resultado mostra que um maior número de cavidades impressas foi formado sobre a superfície do eletrodo com o aumento do número de ciclos. No entanto, a resposta do eletrodo diminuiu consideravelmente após três ciclos voltamétricos; isso sugere que a aplicação de mais de três ciclos voltamétricos durante o processo de eletropolimerização leva à formação de uma camada polimérica muito espessa sobre a superfície do eletrodo. Filmes espessos, por sua vez, estão associados a uma maior resistência à transferência eletrônica na interface eletrodo-solução, o que resulta em uma diminuição da sensibilidade do eletrodo para o reconhecimento da molécula de VA. Portanto, o número ideal de ciclos voltamétricos para a eletrossíntese do filme molecularmente impresso de PPy sobre a superfície do eletrodo foi 3.

4.3.4.3. pH da solução de eletropolimerização

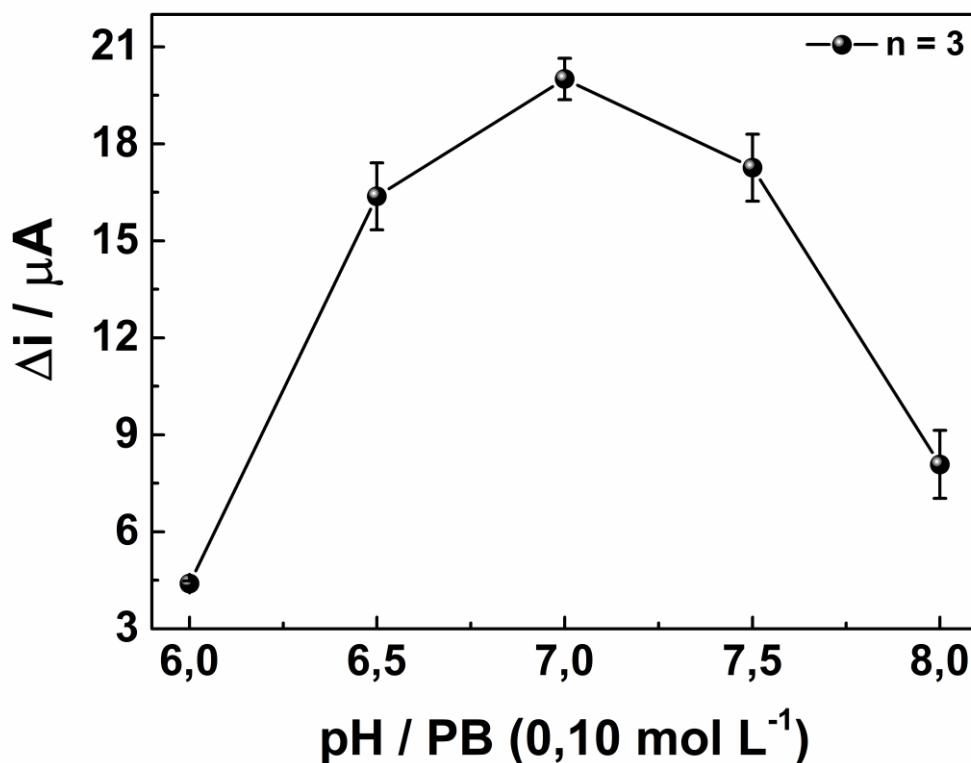


Figura 38 - Influência do pH sobre a resposta do eletrodo durante o processo de eletropolimerização. A corrente foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

O pH da solução de eletropolimerização afeta a interação entre as unidades de Py e as moléculas de VA e, conseqüentemente, a formação de cavidades impressas no filme de PPy. Neste estudo, o pH da solução de eletropolimerização foi investigado em uma faixa de 6,0 a 8,0 utilizando PB (0,10 mol L⁻¹). A Figura 38 mostra que a resposta do eletrodo aumentou em função do pH e atingiu seu máximo em pH 7,0. A molécula de VA possui um grupo carboxila (pK_a = 4,16) e um grupo hidroxila (pK_a = 10,14) em sua estrutura (ver Figura 2). A molécula de VA é encontrada em sua forma neutra em baixos valores de pH, enquanto que o grupo carboxila é gradualmente desprotonado à medida que o pH aumenta para 7,0. Por outro lado, o grupo hidroxila da molécula de VA é gradualmente desprotonado em valores de pH a partir de 7,0 [122]. Os resultados obtidos neste estudo mostram que as interações entre as moléculas de VA e as unidades de Py são favorecidas apenas quando o grupo carboxila é desprotonado. Em razão disso, o pH escolhido para conduzir o processo de eletropolimerização durante os estudos subsequentes foi 7,0 (PB; 0,10 mol L⁻¹).

4.3.4.4. Tempo necessário para remover as moléculas molde da estrutura de PPy

Como discutido na Seção 4.2.4.4, o tempo empregado para remover as moléculas molde da matriz polimérica afeta a quantidade de cavidades formadas e, por conseqüência, o desempenho analítico do eletrodo. A técnica amplamente utilizada para a remoção das moléculas molde durante a preparação de filmes de MIPs por eletropolimerização envolve o uso de solventes orgânicos. Esses solventes são capazes de permear a estrutura polimérica e enfraquecer as interações entre os monômeros e as moléculas molde devido ao intumescimento do polímero. Isso permite a liberação das moléculas molde dos filmes de MIP e, conseqüentemente, a formação de cavidades para o reconhecimento da molécula alvo. Nesta etapa, soluções contendo etanol, etanol-água, etanol-acetonitrila e etanol-ácido acético em diferentes proporções foram utilizadas para remover as moléculas de VA da estrutura polimérica de PPy; os melhores resultados foram obtidos utilizando uma solução de etanol-ácido acético (9:1; v:v).

O tempo necessário para remover as moléculas de VA da estrutura polimérica de PPy foi estudado em uma faixa de 5 a 120 s. Para fins de comparação, o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP foi submetido às mesmas análises. A Figura 39 mostra que

o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP apresentou sua maior variação de corrente em comparação com o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP; isso foi atribuído à presença de cavidades de reconhecimento sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP, enquanto que as respostas observadas para o eletrodo não impresso foram atribuídas à adsorção não específica das moléculas de VA sobre a superfície do filme de PPy.

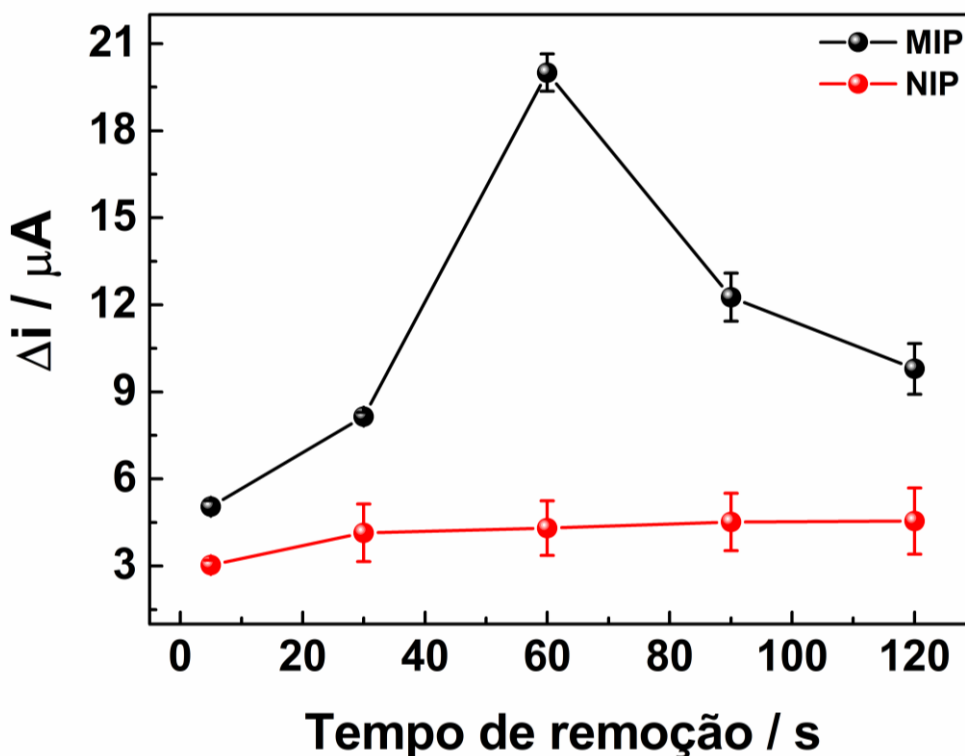


Figura 39 - Influência do tempo durante a remoção das moléculas de VA da estrutura polimérica de PPy utilizando uma solução de solução de etanol-ácido acético (9:1; v:v). A corrente foi monitorada por DPV utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

Como pode ser observado na Figura 39, a resposta de corrente do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP aumentou ao longo do tempo e atingiu seu máximo em 60 s. Quando tempos maiores que 60 s são utilizados para remover as moléculas de VA, observa-se uma diminuição considerável na resposta do eletrodo. Esse comportamento está associado ao inchaço excessivo da estrutura polimérica, o que causa uma obstrução das cavidades de reconhecimento e afeta significativamente a sensibilidade do eletrodo. Portanto, o tempo ideal para remover as moléculas molde da estrutura polimérica de PPy e conseqüentemente permitir a formação das cavidades impressas para o reconhecimento das moléculas de VA foi 60 s.

4.3.4.5. pH da solução de religação

O pH da solução utilizada para a religação das moléculas de VA às cavidades impressas é outro parâmetro que influencia a performance analítica do eletrodo. Neste estudo, o pH da solução de religação foi estudado em uma faixa de 5,0 a 7,0 usando solução de PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$). A Figura 40 mostra que a resposta do eletrodo aumentou consideravelmente em função do pH e atingiu seu máximo em pH 6,0. Por outro lado, uma diminuição na resposta do eletrodo foi observada para valores de pH acima de 6,0. Portanto, esses resultados mostram que 6,0 é o valor de pH que mais favorece as interações entre as moléculas de VA e as cavidades impressas na estrutura polimérica de PPy. Em vista disso, o pH escolhido para conduzir o processo de religação durante os estudos posteriores foi 6,0 (PB; $0,10 \text{ mol L}^{-1}$).

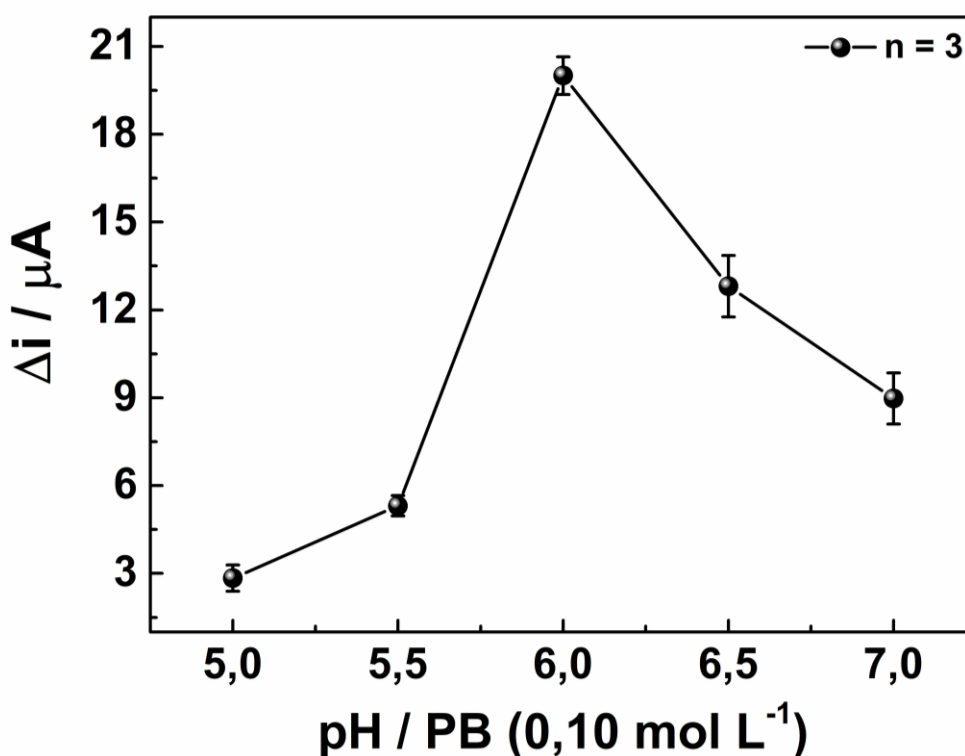


Figura 40 - Influência do pH sobre a resposta do eletrodo durante o processo de religação. A corrente foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

4.3.4.6. Tempo necessário para o processo de religação

O tempo de religação também influencia a performance analítica do eletrodo durante o reconhecimento das moléculas de VA. Nesta etapa, o tempo necessário para o processo de religação foi investigado em uma faixa de 1 a 20 min. Para fins de comparação, o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP foi submetido às mesmas análises.

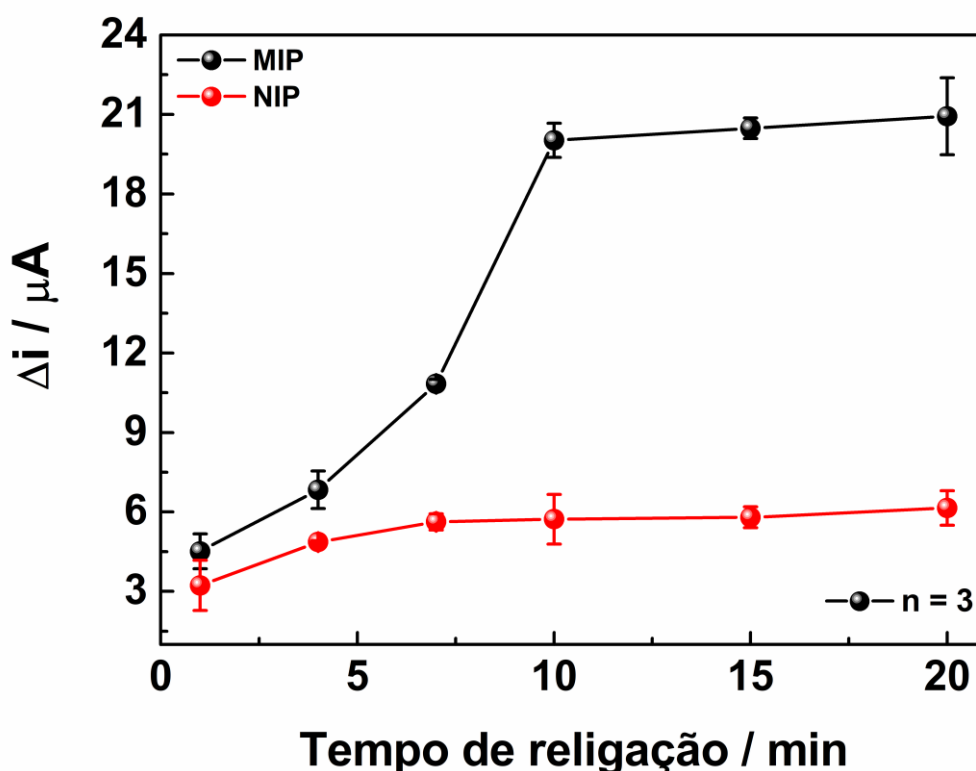


Figura 41 - Influência do tempo durante o processo de religação das moléculas de VA às cavidades impressas. A corrente foi monitorada por DPV utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

A Figura 41 mostra que o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP apresentou uma intensidade de corrente relativamente maior em comparação com o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP; conforme discutido na Seção 4.3.4.4, esse comportamento é atribuído à presença de cavidades de reconhecimento na superfície do filme de PPy para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP. Por outro lado, as respostas observadas para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP podem ser atribuídas à adsorção não específica das moléculas de VA sobre a superfície deste dispositivo.

A Figura 41 mostra que a resposta do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP aumentou consideravelmente ao longo do tempo até 10 min e apresentou um sinal

praticamente estável entre 10 e 20 min. Esses resultados mostram que um tempo de 10 min é suficiente para que o estado de equilíbrio entre as cavidades impressas e as moléculas de VA seja alcançado. Portanto, o tempo escolhido como ideal para a realização do processo de religação durante os estudos subsequentes foi 10 min.

A Tabela 9 mostra os parâmetros avaliados durante os estudos de otimização, os intervalos investigados para cada variável, e as condições otimizadas para a preparação e utilização do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP.

Tabela 9 - Otimização dos parâmetros experimentais que influenciam a performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP.

Parâmetros	Intervalos estudados	Condições otimizadas
Concentração de Py (10^{-3} mol L $^{-1}$)	–	30
Concentração de VA (10^{-3} mol L $^{-1}$)	1 – 11	7
Número de ciclos	1 – 15	3
pH da solução de eletropolimerização	6,0 – 8,0	7,0
Tempo de remoção (s)	5 – 120	60
pH da solução de religação	5,0 – 7,0	6,0
Tempo de religação (min)	1 – 20	10

4.3.5. Performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP

Sob condições otimizadas, a Figura 42 mostra a performance do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNP-MIP para a detecção de VA. Olhando para a inserção da Figura 42, observa-se que a resposta da sonda $K_3[Fe(CN)_6]$ diminuiu devido ao aumento da concentração de VA em um faixa de $1,0 \times 10^{-9}$ a $1,5 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$. Durante o processo de religação, as moléculas de VA se recombinaram com as cavidades impressas e, conseqüentemente, bloquearam o acesso da sonda $K_3[Fe(CN)_6]$ à superfície do eletrodo. Como resultado, a resposta voltamétrica obtida para a sonda eletroquímica foi inversamente proporcional à concentração de VA. A Figura 42 mostra que a corrente da sonda $K_3[Fe(CN)_6]$ foi linearmente proporcional à concentração de VA em

dois intervalos lineares: $1,0 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e $2,5 \times 10^{-8}$ a $1,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, com as seguintes equações de regressão linear: Δi (A) = 452 C (mol L⁻¹) + $1,5 \times 10^{-5}$ ($R^2 = 0,9987$) e Δi (A) = 21,5 C (mol L⁻¹) + $2,0 \times 10^{-5}$ ($R^2 = 0,9973$), respectivamente.

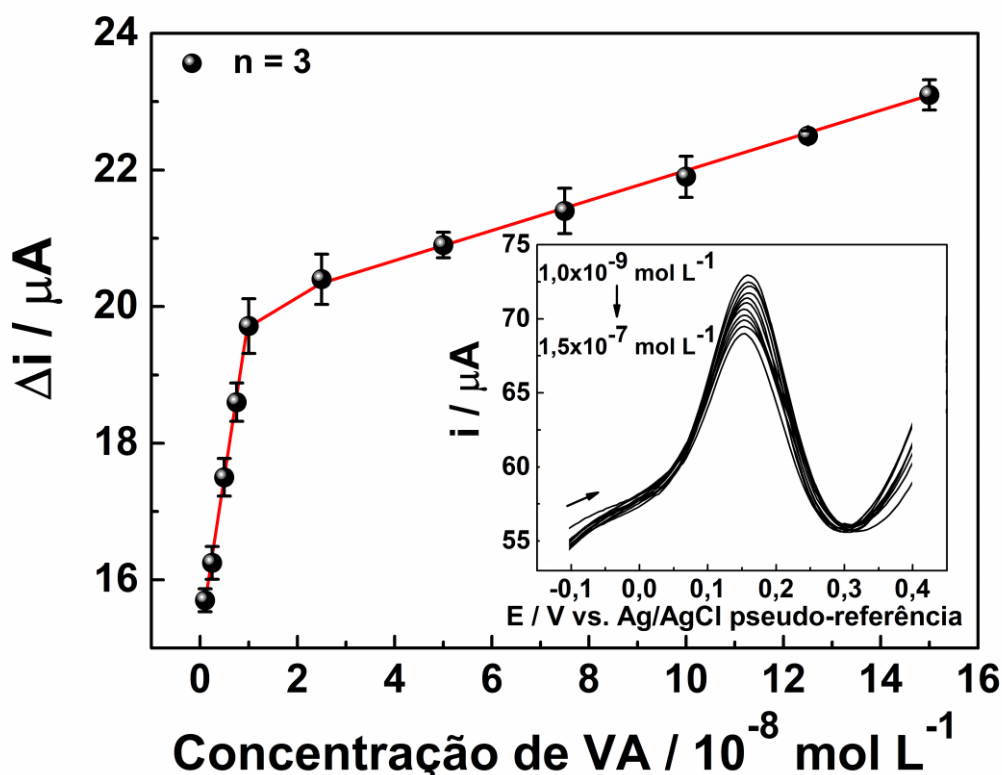


Figura 42 - Curva analítica para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-9}$ a $1,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Inserção: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos após o processo de religação por 10 min utilizando soluções de PB ($0,10$ mol L⁻¹; pH 6,0) contendo diferentes concentrações de VA. Os voltamogramas foram obtidos utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl $0,50$ mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

Como discutido na Seção 4.2.5, a existência de diferentes regiões lineares para os sensores eletroquímicos baseados em MIPs pode ser atribuída à distribuição das cavidades impressas ao longo da estrutura polimérica de PPy. Nesse contexto, sob baixas concentrações de VA, as cavidades localizadas na superfície do filme de PPy são preferencialmente ocupadas por serem mais acessíveis ao processo de religação. Com o aumento gradual da concentração de VA, as cavidades localizadas na superfície do filme de PPy são todas ocupadas e as moléculas de VA passam a ocupar as cavidades localizadas no interior desse filme polimérico. No entanto, essas cavidades possuem baixa acessibilidade à religação devido à resistência à transferência de massa imposta pela estrutura polimérica de PPy, o que as torna

menos sensíveis à detecção de VA e, como consequência, um declínio na inclinação da curva analítica é observado.

Tabela 10 - Performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP e outros métodos reportados na literatura para detecção de VA. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

Método de detecção	Faixa linear (mol L ⁻¹)	LOD (mol L ⁻¹)	Ref.
CE-DAD ^a	1,2×10 ⁻⁵ – 1,8×10 ⁻⁴	8,9×10 ⁻⁶	[42]
CE-EIS-TOF-MS ^b	5,9×10 ⁻⁶ – 3,0×10 ⁻⁴	5,8×10 ⁻⁶	[39]
MMIRs-HPLC ^c	1,8×10 ⁻⁶ – 1,2×10 ⁻⁴	2,1×10 ⁻⁷	[25]
Espectroscopia de Fotoluminescência	1,2×10 ⁻⁷ – 5,4×10 ⁻⁶	4,5×10 ⁻⁸	[50]
UHPLC-ESI-QTOF-MS ^d	5,9×10 ⁻⁸ – 5,9×10 ⁻⁶	3,0×10 ⁻⁸	[37]
Espectrometria de Fluorescência	8,9×10 ⁻⁸ – 4,5×10 ⁻⁶	1,8×10 ⁻⁸	[49]
LC-MS ^e	5,0×10 ⁻⁸ – 2,5×10 ⁻⁶	1,1×10 ⁻⁸	[24]
HPLC-CED ^f	3,6×10 ⁻⁹ – 2,4×10 ⁻⁴	8,9×10 ⁻¹⁰	[30]
SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP	1,0×10 ⁻⁹ – 1,5×10 ⁻⁷	3,1×10 ⁻¹⁰	Este trabalho

^a CE-DAD significa eletroforese capilar com detector de arranjo de diodos; ^b CE-EIS-TOF-MS significa eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massas por tempo de voo com ionização por eletrospray; ^c MMIRs-HPLC significa resinas magnéticas molecularmente impressas para cromatografia líquida de alta eficiência; ^d UHPLC-ESI-QTOF-MS significa cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada à espectrometria de massas quadrupolo-tempo de voo com ionização por eletrospray; ^e LC-MS significa cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas; ^f HPLC-CED significa cromatografia líquida de alta eficiência com detector eletroquímico coulométrico.

Com base na primeira faixa linear, os valores de LOD e LOQ obtidos para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNP-MIP foram 3,1×10⁻¹⁰ e 1,0×10⁻⁹ mol L⁻¹ (n = 3), respectivamente. A performance desse eletrodo foi comparada com outras metodologias analíticas reportadas na literatura para detecção de VA. Essas metodologias são baseadas em técnicas cromatográficas, eletroforéticas e espectroscópicas. Como pode ser visto na Tabela 10, o método eletroanalítico

desenvolvido neste trabalho apresentou o menor LOD quando comparado com outros métodos encontrados na literatura para detecção e quantificação de VA.

O valor de LOD obtido neste trabalho para a plataforma eletroquímica proposta pode ser atribuído à presença das folhas de rGO e das FeNPs sobre a superfície do eletrodo. Esses nanomateriais aumentaram a condutividade e, conseqüentemente, a sensibilidade desse dispositivo para o reconhecimento da molécula alvo. Além de possuir maior sensibilidade para detecção de VA, outras vantagens associadas ao eletrodo SPE(a)/rGO-FeNP-MIP quando comparado aos métodos encontrados na literatura incluem o uso de pequenos volumes de reagentes e soluções, facilidade de operação, análise rápida e baixo custo de produção.

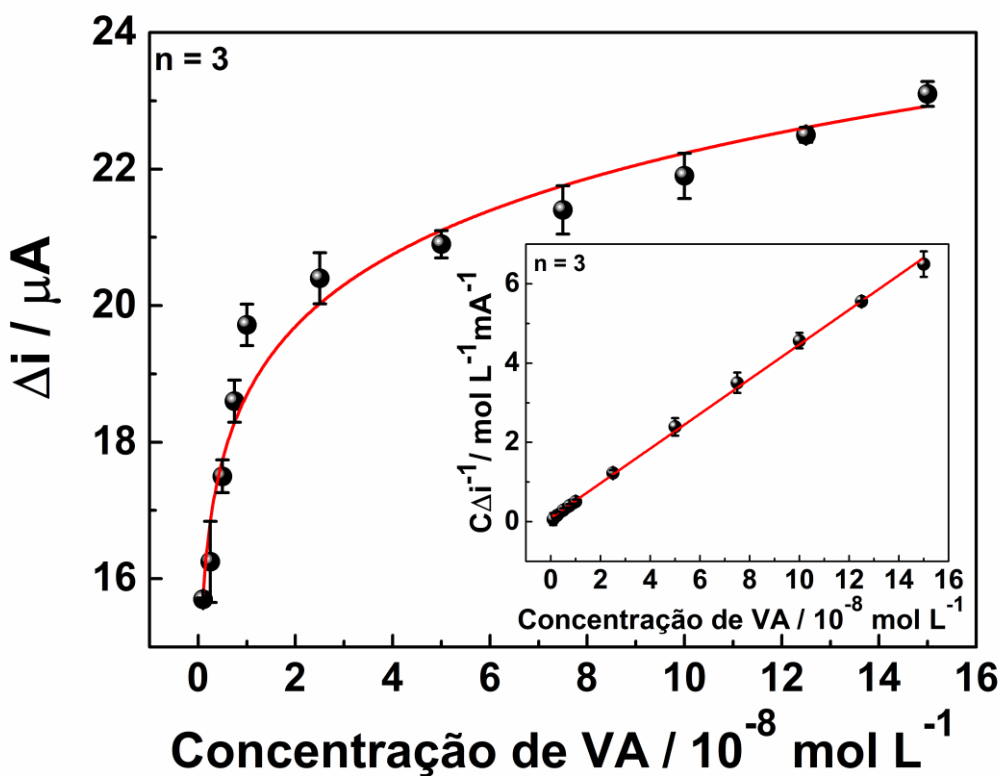


Figura 43 - Isoterma de adsorção de Langmuir obtida para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP. Inserção: forma linear da isoterma de adsorção de Langmuir. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

A afinidade das cavidades impressas às moléculas de VA foi calculada usando o modelo da isoterma de adsorção de Langmuir (Equação 1). A Figura 43 mostra a isoterma de adsorção de Langmuir obtida para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP durante a detecção de VA. O valor de K_A foi calculado com base na linearização da curva de adsorção de Langmuir (inserção na Figura 43). De acordo com a

Equação 1, o gráfico de $C\Delta i^{-1}$ vs. C é uma linha reta com uma inclinação que permite a determinação de K_A . Para o sistema em estudo, o gráfico de $C\Delta i^{-1}$ vs. C apresentou a seguinte equação de regressão linear: $C\Delta i^{-1}$ ($\text{mol L}^{-1} \text{A}^{-1}$) = $4,4 \times 10^4 C$ (mol L^{-1}) + $9,6 \times 10^{-5}$ ($R^2 = 0,9985$), e o valor de K_A obtido foi de $4,5 \times 10^8 \text{ mol L}^{-1}$. Este resultado indica que as cavidades impressas na estrutura de PPy possuem uma alta afinidade para o reconhecimento das moléculas de VA [80,120,121].

4.3.6. Estudo de seletividade para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP

Para avaliar a seletividade das cavidades impressas para o reconhecimento da molécula de VA, o processo de religação foi realizado na presença de outros compostos fenólicos com estruturas semelhantes à estrutura de VA; esses compostos incluíram GA, FA, CA e QT. Para realizar este estudo, os experimentos foram conduzidos usando três níveis de concentração (baixo, médio e alto) em uma faixa de $1,0$ a $10,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, e os resultados obtidos foram discutidos com base na sensibilidade dos eletrodos. A Figura 44 mostra a sensibilidade dos eletrodos SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP e SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP para o reconhecimento das moléculas de VA, GA, QT, FA e CA. Como pode ser observado, quando aplicado para a detecção das moléculas em estudo, o eletrodo não impresso apresentou uma sensibilidade relativamente menor em relação ao eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP. As respostas observadas para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP foram atribuídas à adsorção não específica dos compostos fenólicos investigados sobre a superfície do filme de PPy. O eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP apresentou um valor de sensibilidade de aproximadamente 2,3; 3,4; 5,8 e 8,5 vezes maior para a detecção de VA do que para as moléculas de GA, QT, FA e CA, respectivamente. Esses valores indicam que as cavidades impressas na superfície do filme de PPy reconhecem preferencialmente a molécula VA do que as outras moléculas utilizadas neste estudo.

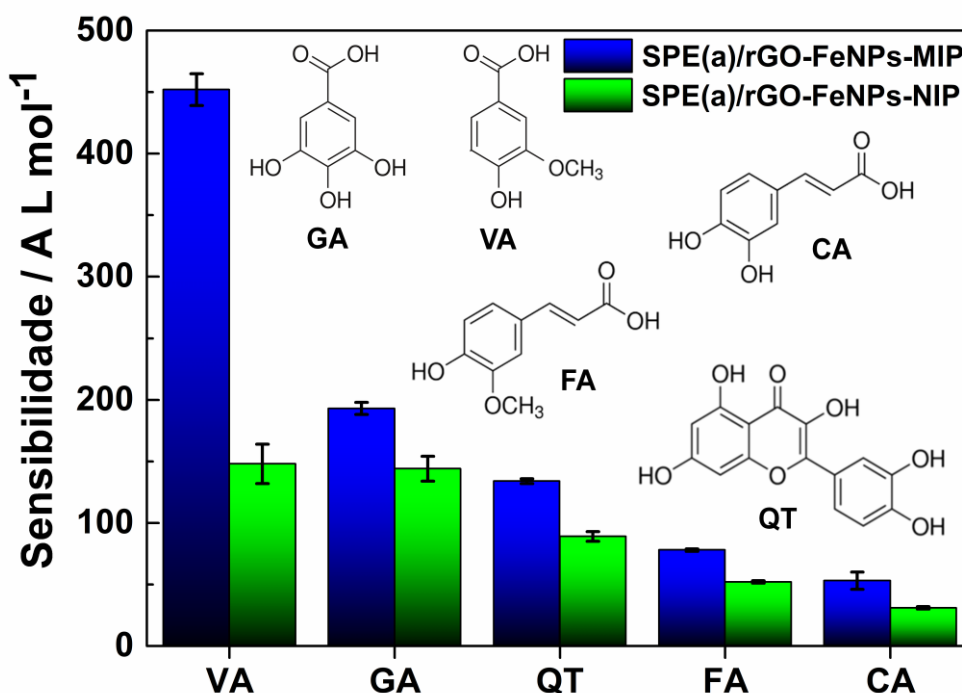


Figura 44 - Sensibilidade dos eletrodos SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP e SPE(a)/rGO-FeNPs-NIP para detecção de VA, GA, QT, FA e CA. Os valores de sensibilidade foram obtidos após o processo de religação por 10 min usando soluções de PB (0,10 mol L⁻¹; pH 6,0) contendo cada molécula em uma faixa de concentração de 1,0×10⁻⁹ a 1,0×10⁻⁸ mol L⁻¹. A corrente foi monitorada usando K₃[Fe(CN)₆] 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

Em comparação com as outras moléculas potencialmente interferentes utilizadas neste estudo, GA apresentou o maior nível de interação com as cavidades impressas devido ao fato de ter uma estrutura semelhante à da molécula de VA. Mesmo assim, o eletrodo proposto exibiu uma sensibilidade 2,3 vezes maior para a detecção de VA do que para a detecção de GA. A molécula de QT, que possui a maior estrutura química entre os compostos estudados, exibiu uma intensidade de resposta mais elevada do que a apresentada pelas moléculas de FA e CA. Este resultado pode ser atribuído às interações π - π que ocorrem entre a estrutura de QT e a estrutura de PPy, uma vez que a molécula de QT possui um grande impedimento estérico para interagir com as cavidades impressas. Em razão disso, a molécula de QT não interfere significativamente no processo de detecção de VA.

Dentre os interferentes investigados, as moléculas de FA e CA apresentaram as menores intensidades de resposta. A molécula de FA apresentou uma maior interferência em comparação com a molécula de CA (1,5 vezes). Isso foi atribuído à

estrutura da molécula de FA, que, tal como o VA, possui um grupo metoxila ligado ao anel benzênico (ver Figura 44). Nesse sentido, o grupo metoxila, quando comparado ao grupo hidroxila, parece ter uma orientação espacial mais adequada para interagir com as cavidades impressas. Esses resultados mostram que o tamanho da molécula e a natureza do grupo funcional desempenham um papel importante quando se trata da seletividade do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP.

Tabela 11 - Parâmetros de seletividade obtidos para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP em relação à detecção de VA e outros compostos fenólicos potencialmente interferentes. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

Molécula	Sensibilidade (A L mol ⁻¹)		α *	β **
	MIP	NIP		
Ácido vanílico (VA)	452 ± 13	148 ± 16	3,1	-
Ácido gálico (GA)	193 ± 5	144 ± 10	1,3	2,4
Quercetina (QT)	134 ± 2	89 ± 4	1,5	2,1
Ácido ferúlico (FA)	78 ± 1	52 ± 1	1,5	2,1
Ácido cafeico (CA)	53 ± 7	31 ± 1	1,7	1,8

$$* \alpha = \frac{\Delta i_{(MIP)}}{\Delta i_{(NIP)}}$$

$$** \beta = \frac{\alpha_{(Ácido\ vanílico)}}{\alpha_{(Interferente)}}$$

A capacidade do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP para reconhecer seletivamente a molécula de VA também foi avaliada usando os parâmetros α e β . Os valores inerentes a esses parâmetros foram obtidos a partir dos valores de sensibilidade dos eletrodos. O parâmetro α está associado à capacidade das cavidades impressas interagirem com os compostos sob detecção, enquanto que o parâmetro β indica se essas cavidades possuem maior afinidade para o reconhecimento da molécula alvo [80]. A Tabela 11 mostra que o valor de α obtido para VA foi de 3,1; enquanto que o valor desse parâmetro para GA, QT, FA e CA foi inferior a 1,7. Além disso, o valor de β obtido para GA, QT, FA e CA foi superior a 1,0. Esses resultados confirmam que as cavidades impressas na superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP são seletivas para o reconhecimento de VA.

4.3.7. Repetibilidade inter-dia, intra-dia e estabilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP

A repetibilidade intra-dia do processo de reconhecimento molecular foi avaliada por meio de 10 detecções consecutivas de VA $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ usando o mesmo eletrodo. Após cada processo de detecção, uma quantidade de 50 µL de solução de etanol-ácido acético (9:1; v:v) foi colocada sobre a superfície do eletrodo por 60 s para regenerar as cavidades impressas; isso permitiu que o eletrodo fosse usado novamente para a detecção de VA. As respostas de corrente obtidas para o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP durante essas medidas variaram de 19,5 a 20,5 µA e apresentaram um RSD de 1,5% (n = 10). Para investigar a repetibilidade inter-dia do eletrodo proposto, as correntes voltamétricas obtidas para 10 eletrodos diferentes durante a detecção de VA $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ foram comparadas. As respostas de corrente obtidas para esses eletrodos variaram de 18,9 a 21,2 µA, com RSD de 3,6% (n = 10).

Para estudar a estabilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP, um eletrodo foi preparado conforme descrito na Seção 3.6 e utilizado diariamente para a detecção de VA $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ durante três semanas (21 dias). Após cada medida, o procedimento de extração foi realizado para remover a molécula molde, e o eletrodo foi lavado e armazenado em um local seco à temperatura ambiente. Os resultados obtidos mostraram que a plataforma eletroquímica proposta apresentou uma diminuição na intensidade de corrente de 10,8; 12,4 e 16,4% após 10; 15 e 21 dias de uso, respectivamente. Os resultados obtidos nestes estudos apontam claramente para uma satisfatória repetibilidade e estabilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP quando aplicado para a detecção de VA.

4.3.8. Determinação de VA em cascas de banana e laranja

A aplicabilidade da plataforma eletroquímica proposta foi avaliada utilizando cascas de laranja e banana. As amostras foram preparadas conforme descrito na Seção 3.9. Os extratos de laranja e banana obtidos foram filtrados e diluídos 1000 e 2000 vezes em solução de PB ($0,10$ mol L⁻¹; pH 6,0), respectivamente. A determinação de VA nesses extratos foi realizada pelo método de adição padrão (Figura 45).

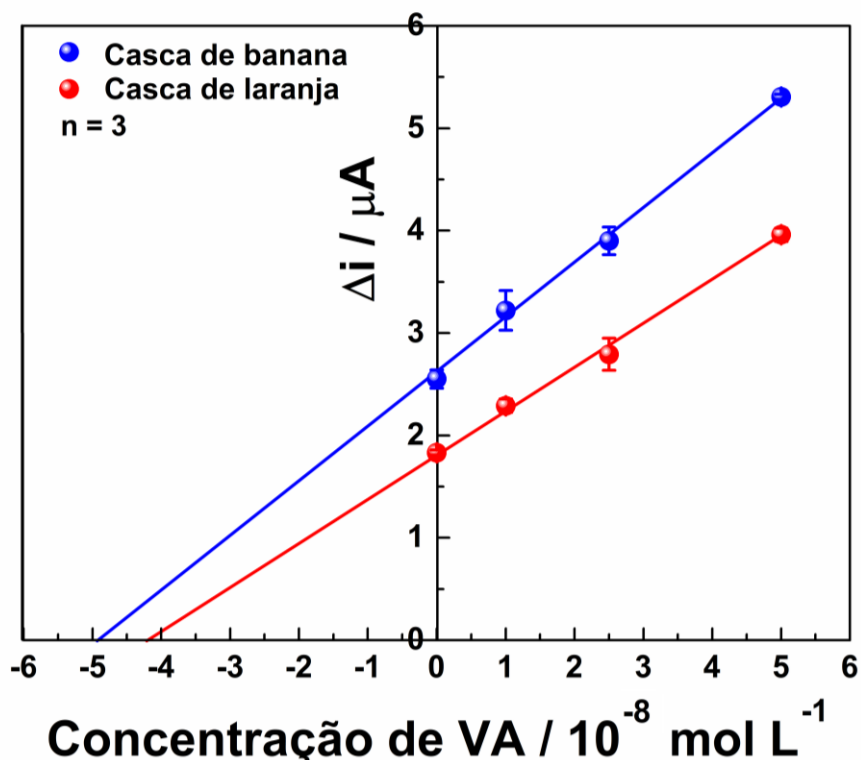


Figura 45 - Curvas de adição de padrão para determinação de VA em extratos de casca de banana e laranja. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

A Figura 45 mostra as curvas de adição de padrão obtidas para a determinação de VA nos extratos de casca de banana e laranja, que apresentaram as seguintes equações de regressão linear: Δi (A) = 538 C (mol L $^{-1}$) + 2,6 $\times 10^{-6}$ ($R^2 = 0,9770$) e Δi (A) = 424 C (mol L $^{-1}$) + 1,8 $\times 10^{-6}$ ($R^2 = 0,9989$), respectivamente. A quantidade de VA encontrada nos extratos de banana e laranja foi de $(9,8 \pm 0,2) \times 10^{-6}$ e $(4,2 \pm 0,4) \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ ($n = 3$), respectivamente. Isso significa que as cascas de banana e laranja analisadas neste trabalho continham $(16,6 \pm 0,5) \times 10^{-4}$ e $(7,1 \pm 0,6) \times 10^{-4}$ gramas de VA por grama de casca seca ($n = 3$), respectivamente.

A quantidade de VA encontrada nos extratos analisados foi validada por ensaios de recuperação. Como pode ser observado na Tabela 12, os valores de recuperação variaram de 99 a 119%, com valores de RSD entre 1,0 e 4,3%. Esses resultados mostram que o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs-MIP possui uma boa precisão quando se trata da detecção de VA.

Tabela 12 - Determinação de VA em cascas de banana e laranja (n = 3). Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [122].

Amostra	Quant. Adicionada (10⁻⁹ mol L⁻¹)	Quant. Detectada (10⁻⁹ mol L⁻¹)	Recuperação (%)	RSD (%)
Extrato de Casca de Banana	-	4,9 ± 0,1	-	-
	1,0	6,3 ± 0,2	107	3,2
	2,5	7,3 ± 0,3	99	4,1
	5,0	9,8 ± 0,1	99	1,0
Extrato de Casca de Laranja	-	4,2 ± 0,4	-	-
	1,0	5,1 ± 0,1	119	2,0
	2,5	6,6 ± 0,1	99	1,5
	5,0	9,3 ± 0,4	101	4,3

4.4. Sensor eletroquímico descartável para determinação de ácido *p*-cumárico em cascas de banana e laranja

Esta seção reporta o desenvolvimento de um sensor eletroquímico descartável contendo rGO, NiNPs e filme molecularmente impresso de poli(3-IAA) para detecção e quantificação de *p*-CA. A Figura 46 ilustra as etapas de preparação do sensor proposto.

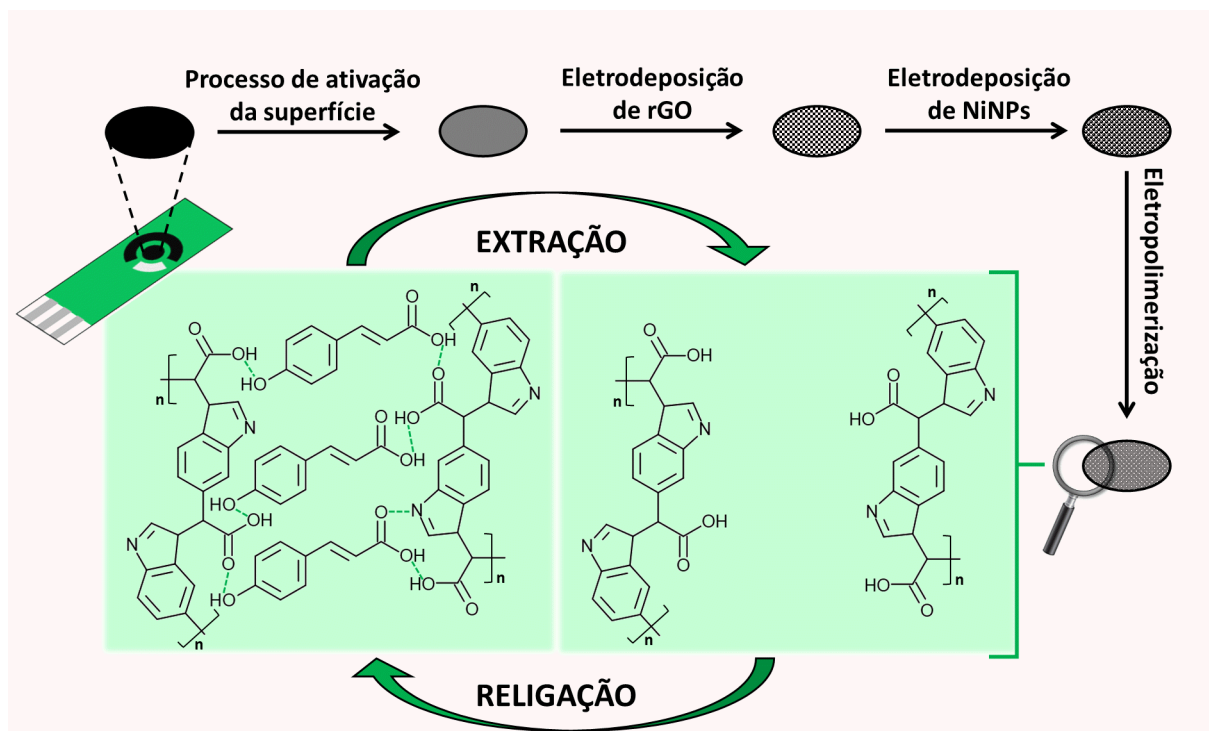


Figura 46 - Esquema ilustrativo das etapas de preparação do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

4.4.1. Modificação do SPE(a)/rGO com nanopartículas de níquel

A eletrodeposição das NiNPs sobre o SPE(a)/rGO foi controlada por meio da carga do eletrodósito formado sobre a superfície deste eletrodo. Para este fim, uma voltametria cíclica exploratória foi realizada para diagnosticar os potenciais de oxidação/redução das espécies de níquel. A Figura 47A mostra o voltamograma cíclico obtido para o eletrodo SPE(a)/rGO em uma solução de Na_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Nesta figura, é possível observar um pico catódico (pico I) e um pico anódico (pico II). O pico I ($-1,2 \text{ V}$) foi atribuído à redução de $\text{Ni}^{2+}_{(\text{aq.})}$ para $\text{Ni}^0_{(\text{s})}$, enquanto que o pico II ($-0,48 \text{ V}$) corresponde à oxidação de $\text{Ni}^0_{(\text{s})}$ para $\text{Ni}^{2+}_{(\text{aq.})}$.

A carga do eletrodepósito de NiNPs foi otimizada usando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em solução de KCl $0,50$ mol L^{-1} como sonda eletroquímica. Para este fim, o potencial de $-1,2$ V foi aplicado para a eletrodeposição das NiNPs até a obtenção da carga desejada. A Figura 47B mostra que a corrente de pico anódica da sonda $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ aumentou em função da carga de NiNPs e atingiu seu máximo em $5,0$ mC. Para valores de carga acima de $5,0$ mC, a corrente da sonda eletroquímica apresentou uma considerável diminuição, possivelmente devido à aglomeração das NiNPs e à formação de um filme metálico sobre a superfície do eletrodo. Como discutido anteriormente, eletrodos modificados com filmes metálicos possuem uma menor área eletroativa em comparação aos modificados com nanopartículas metálicas. Portanto, a carga de NiNPs escolhida para modificar o eletrodo SPE(a)/rGO foi de $5,0$ mC.

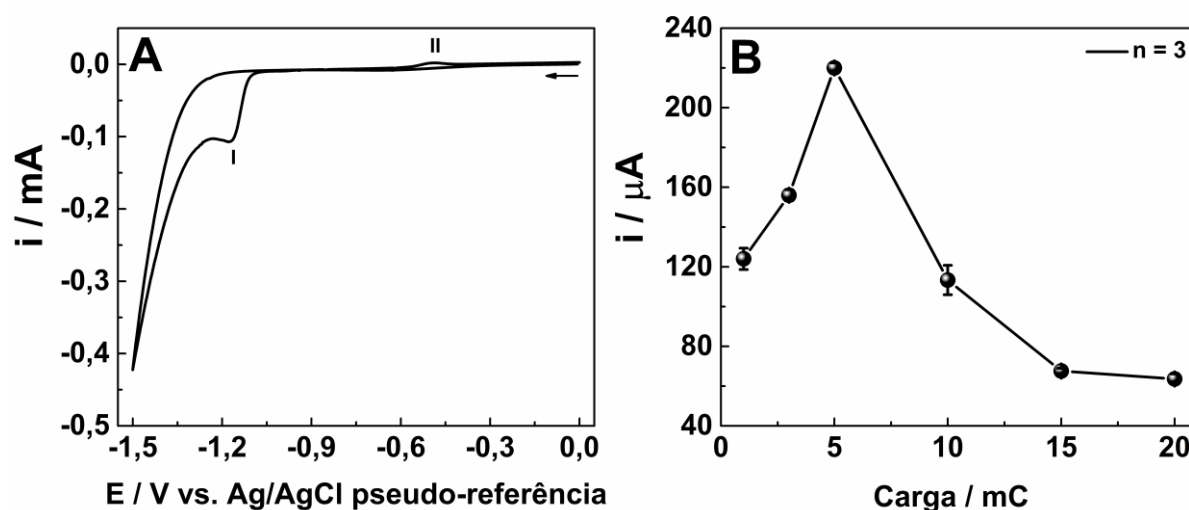


Figura 47 - Estudo de otimização para eletrodeposição de NiNPs sobre o eletrodo SPE(a)/rGO. (A) Voltamograma cíclico em solução de Na_2SO_4 $0,10$ mol L^{-1} contendo $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} ; velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . (B) Efeito da carga do eletrodepósito de NiNPs sobre a corrente de pico anódica da sonda $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} . A solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} foi preparada usando KCl $0,50$ mol L^{-1} como eletrólito suporte. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

4.4.2. Eletropolimerização do filme molecularmente impresso de poli(ácido 3-indoleacético) e caracterização eletroquímica do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP

O comportamento eletroquímico do sensor proposto foi investigado por CV e EIS utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em solução de KCl $0,50$ mol L^{-1} como

sonda eletroquímica. A Figura 48A (curvas a e b) mostra que a etapa de ativação do eletrodo promoveu um aumento nas intensidades de pico da sonda redox, possivelmente devido à remoção de impurezas adsorvidas na superfície do SPE.

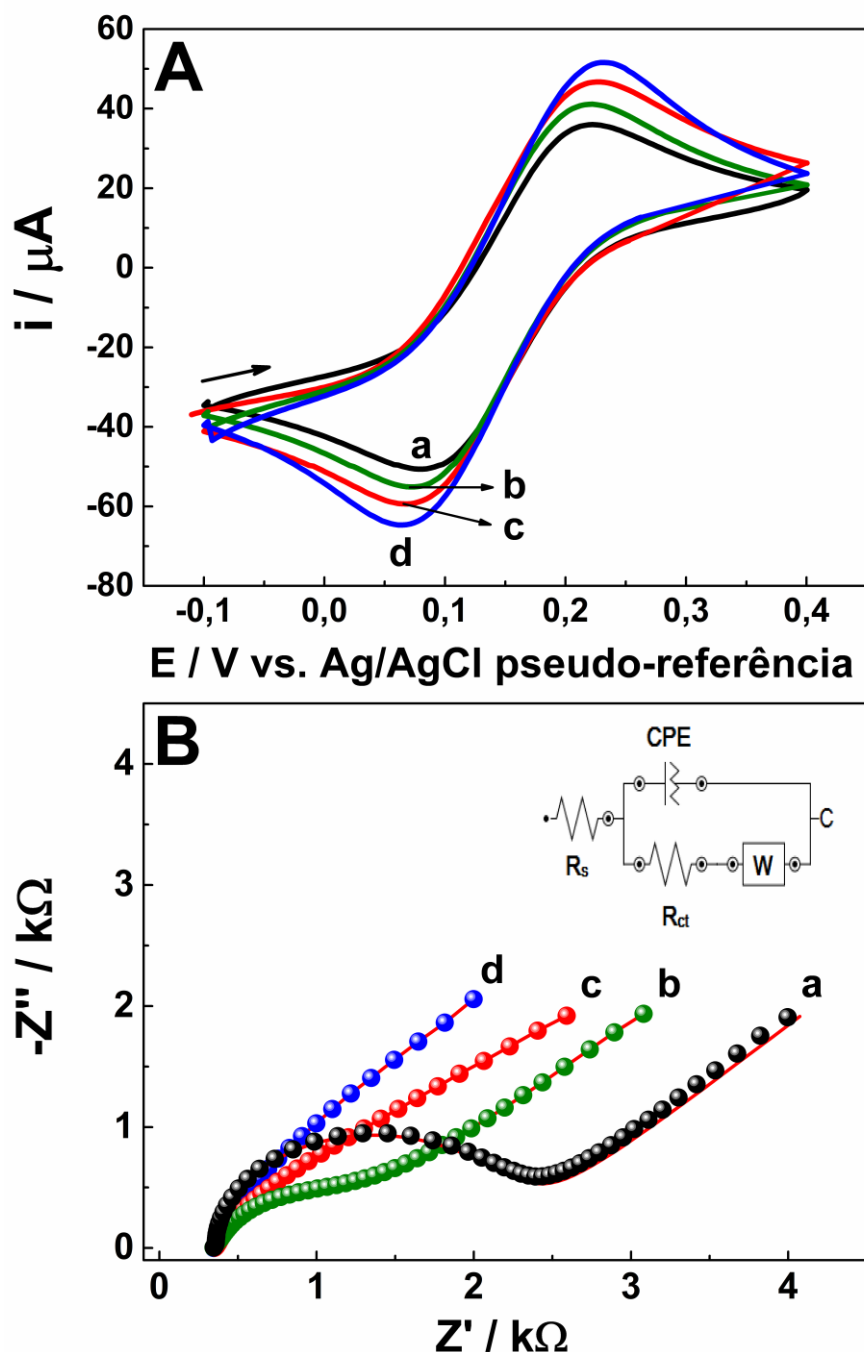


Figura 48 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,10 Hz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV para: (a) SPE antes da etapa de ativação, (b) SPE após a etapa de ativação, (c) SPE(a)/rGO e (d) SPE(a)/rGO-NiNPs. Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

O eletrodo SPE(a)/rGO (Figura 48A, curva c) apresentou uma maior intensidade de corrente quando comparado ao SPE antes e após a etapa de ativação (curvas a e b, respectivamente). Além disso, o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs exibiu uma intensidade de corrente ainda maior para a sonda $K_3[Fe(CN)_6]$ (curva d). Isso indica que o rGO e as NiNPs aumentaram a área eletroativa do eletrodo devido à alta área superficial desses materiais.

A capacidade de transferência de carga dos eletrodos SPE (antes e após a etapa de ativação), SPE(a)/rGO e SPE(a)/rGO-NiNPs foi investigada por EIS. A Figura 48B mostra os diagramas de Nyquist obtidos durante os estudos de EIS. Os resultados foram analisados em função de R_{ct} , que é proporcional ao tamanho do semicírculo nos diagramas de Nyquist. A Figura 48B mostra um semicírculo para o SPE não modificado (curva a; $R_{ct} = 2,1 \text{ k}\Omega$). O tamanho deste semicírculo diminuiu gradativamente após as modificações ocorridas sobre superfície do eletrodo, de modo que os valores de R_{ct} obtidos para o SPE após a etapa de ativação (curva b), SPE(a)/rGO (curva c) e SPE(a)/rGO-NiNPs (curva d) foram $1,5 \text{ k}\Omega$, $44,3 \Omega$ e $11,6 \Omega$, respectivamente. Esses valores de R_{ct} indicam que as modificações na superfície do SPE diminuíram a resistência à transferência de carga na interface eletrodo/solução.

A Figura 49 mostra o mecanismo geral de eletropolimerização do monômero de 3IAA na presença da molécula de *p*-CA, enquanto que os voltamogramas cíclicos obtidos durante a etapa de eletropolimerização do filme molecularmente impresso de poli(3IAA) sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs são mostrados na Figura 50A.

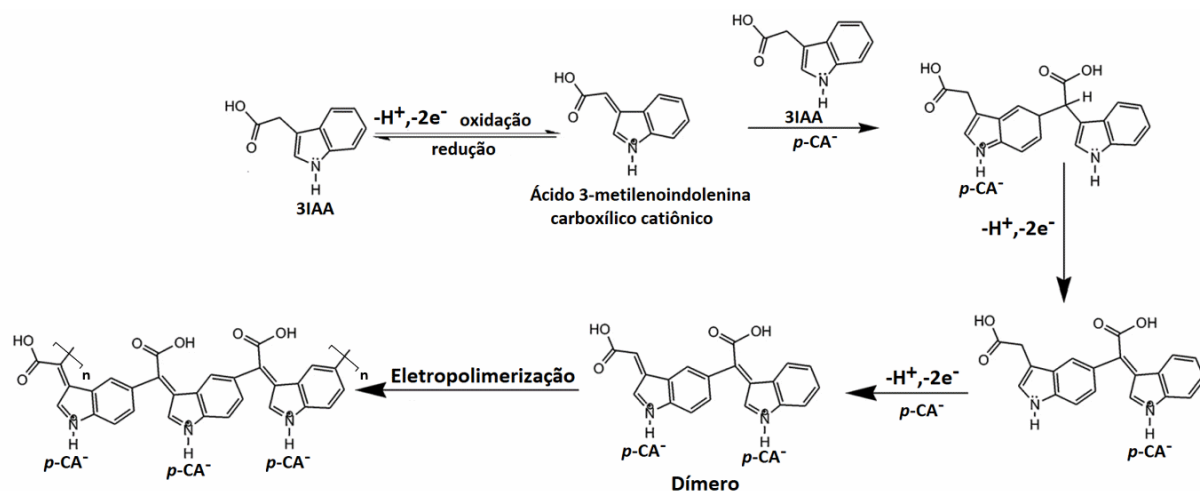


Figura 49 - Mecanismo de eletropolimerização do monômero de 3IAA na presença da molécula de *p*-CA. Fonte: adaptado e reproduzido com permissão de Prasad e Pandey [104]. Direitos autorais: Elsevier, 2012.

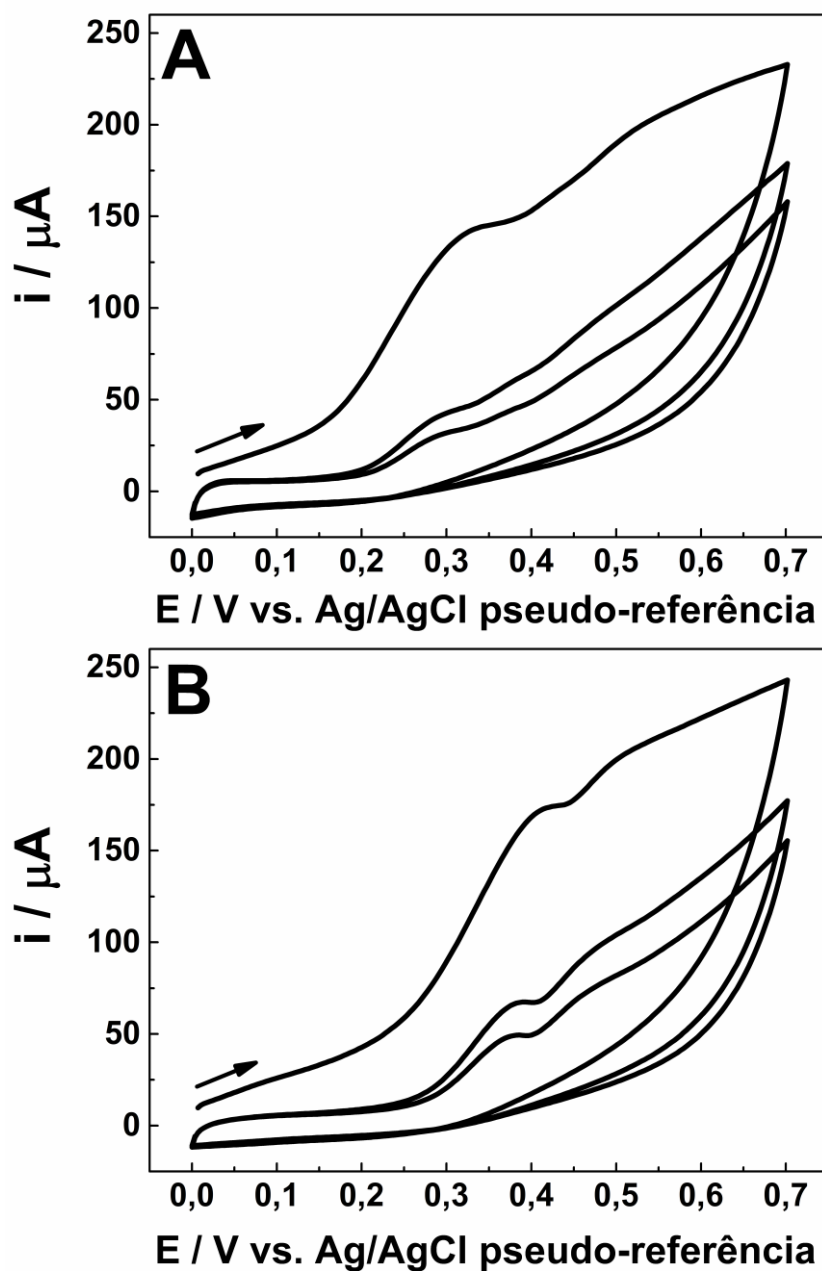


Figura 50 - Voltamogramas obtidos durante a eletropolimerização de 3IAA $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ na (A) presença e (B) ausência de *p*-CA $4,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ (PB; 0,10 mol L⁻¹; pH 8,0); velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

Na Figura 50A, um pico anódico é observado em 0,35 V devido à eletrooxidação do monômero de 3IAA, o que leva à formação do ácido 3-metilenoindolenina carboxílico catiônico em uma única etapa envolvendo $-2e^-$ e $-H^+$ [104]. Além disso, uma onda anódica é observada em 0,54 V devido à formação de um dímero a partir do ácido 3-metilenoindolenina carboxílico catiônico. Este dímero então desencadeia todo o processo de eletropolimerização na presença da molécula *p*-CA através de

oxidações eletroquímicas subsequentes (Figura 49) [104]. Na Figura 50A, a diminuição das intensidades de corrente indica o crescimento do filme de poli(3IAA) sobre o SPE(a)/rGO-NiNPs, o que leva ao bloqueio da superfície deste eletrodo.

Durante a etapa de eletropolimerização, as moléculas de *p*-CA ficam presas na estrutura polimérica devido às suas interações com os monômeros de 3IAA, que podem ocorrer entre os grupos hidroxila e carboxila da estrutura de *p*-CA e o grupo NH₂ das unidades de 3IAA. Além disso, as moléculas de *p*-CA também podem interagir por meio de interações de hidrogênio com as unidades catiônicas do filme de poli(3IAA) [104]. Essas interações são importantes para a formação dos sítios de reconhecimento sobre a superfície do eletrodo. A Figura 50B mostra os voltamogramas obtidos durante a eletropolimerização de 3IAA na ausência da molécula de *p*-CA. Nesta figura, os perfis voltamétricos são praticamente idênticos aos obtidos na presença de *p*-CA (Figura 50A). No entanto, o pico anódico relacionado à eletrooxidação do monômero de 3IAA teve um deslocamento de 80 mV para potenciais mais positivos. Esse deslocamento de potencial pode ser atribuído às interações das moléculas de *p*-CA com as unidades de 3IAA e, portanto, confirma a presença dessa molécula durante a preparação do filme molecularmente impresso de poli(3IAA).

Após a etapa de eletropolimerização, as medidas de CV e EIS foram realizadas novamente utilizando K₃[Fe(CN)₆] 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ para caracterizar eletroquimicamente o sensor proposto. A Figura 51A mostra que após a eletrossíntese do filme de poli(3IAA) para obter os dispositivos SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP, os processos redox da sonda eletroquímica quase não foram observados (curvas a e b, respectivamente). Isso indica que o filme de poli(3IAA) tem a capacidade de bloquear efetivamente a superfície desses eletrodos devido às suas características não condutoras. Após a remoção das moléculas molde para formar as cavidades impressas na estrutura de poli(3IAA), a sonda K₃[Fe(CN)₆] exibiu seu comportamento eletroquímico característico, e um par de picos redox foi observado (curva c). Isso indica que as cavidades presentes na estrutura do polímero permitiram a difusão da sonda K₃[Fe(CN)₆] até a superfície de SPE(a)/rGO-NiNPs. No entanto, após o processo de religação durante 10 min utilizando uma solução de *p*-CA 1,0×10⁻⁸ mol L⁻¹ (PB; 0,10 mol L⁻¹; pH 6,5), as intensidades de corrente da sonda eletroquímica apresentaram uma considerável diminuição (curva d). Isso mostra que as cavidades formadas foram

capazes de reconhecer as moléculas de *p*-CA em solução, o que levou a uma diminuição na quantidade de sítios disponíveis para a sonda $K_3[Fe(CN)_6]$ atingir a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs.

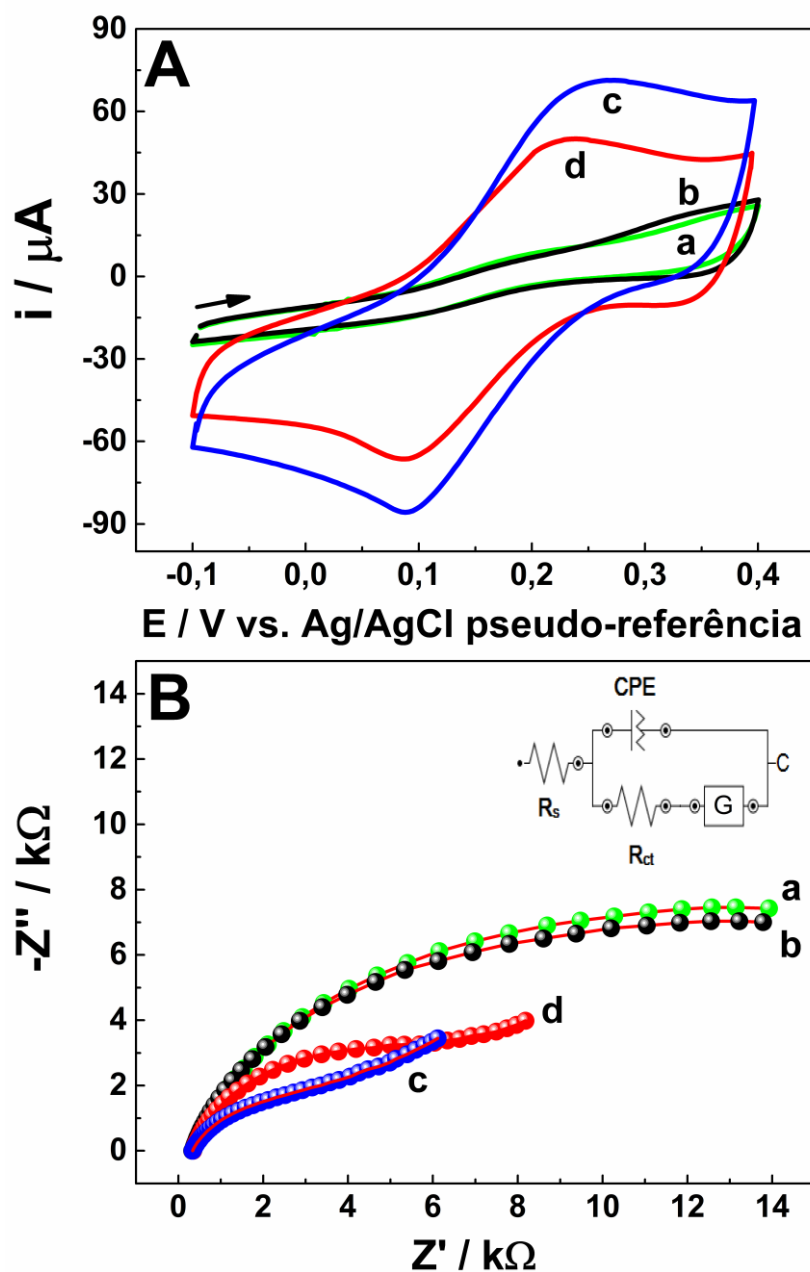


Figura 51 - (A) Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} e (B) Diagramas de Nyquist obtidos em uma faixa de frequência de 100 kHz a 10 mHz usando um potencial fixo de 0,23 V e uma amplitude de potencial de 10 mV para: (a) SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e (b) SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP após a eletropolimerização, (c) SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP após a remoção do molde de *p*-CA e (d) SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP após o processo de religação durante 10 min usando uma solução de *p*-CA $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (PB; $0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,5). Inserção: circuito equivalente de Randles. As medidas de CV e EIS foram realizadas utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

Os resultados de EIS obtidos após a eletropolimerização corroboram os estudos de CV. A Figura 51B mostra um grande semicírculo para os eletrodos SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP (curva a) e SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP (curva b); o valor de R_{ct} desses dispositivos, quando comparado ao SPE(a)/rGO-NiNPs, aumentou de 11,6 Ω para 22,1 k Ω e 21,8 k Ω , respectivamente. Este aumento considerável no valor de R_{ct} foi atribuído às propriedades não condutoras do filme de poli(3IAA). Após a remoção das moléculas molde da estrutura do polímero, o valor de R_{ct} para o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP diminuiu de 22,1 para 5,6 k Ω devido à formação das cavidades impressas (curva c). Por outro lado, após o processo de religação durante 10 min utilizando uma solução de *p*-CA $1,0 \times 10^{-8}$ mol L $^{-1}$ (PB; 0,10 mol L $^{-1}$; pH 6,5), o valor de R_{ct} aumentou de 5,6 para 9,3 k Ω (curva d). Isso foi atribuído à ocupação das cavidades impressas pelas moléculas de *p*-CA, o que restringiu a passagem da sonda eletroquímica através do filme de poli(3IAA). Estes resultados mostram claramente que cavidades para reconhecimento de *p*-CA foram formadas com sucesso na estrutura polimérica de poli(3IAA).

4.4.3. Caracterização da superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP

A caracterização morfológica da superfície do eletrodo modificado foi realizada por SEM. As Figuras 52A e 52B mostram a superfície do SPE antes e depois da etapa de ativação, respectivamente. Como pode ser visto, o processo de ativação não promoveu nenhuma alteração significativa na superfície do eletrodo. A Figura 52C mostra a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO, na qual as folhas de rGO foram eletrodepositadas sobre o substrato de SPE. Quando comparada ao SPE, a superfície do SPE(a)/rGO apresentou um aspecto mais rugoso devido à presença das folhas de rGO; este material de carbono também contribuiu para o aumento da área eletroativa do eletrodo modificado (ver Figura 48A). A Figura 52D mostra a superfície do SPE(a)/rGO-NiNPs, revelando que as NiNPs foram eletrodepositadas sobre as folhas de rGO sem a formação de aglomerados. As Figuras 52E e 52F mostram os eletrodos SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP após o processo de eletropolimerização, respectivamente. Nestas figuras, pode-se observar claramente a presença de um filme de poli(3IAA) sobre a superfície de SPE(a)/rGO-NiNPs; este filme polimérico foi eletropolimerizado uniformemente sobre a superfície deste eletrodo e recobriu todas as folhas de rGO e as NiNPs.

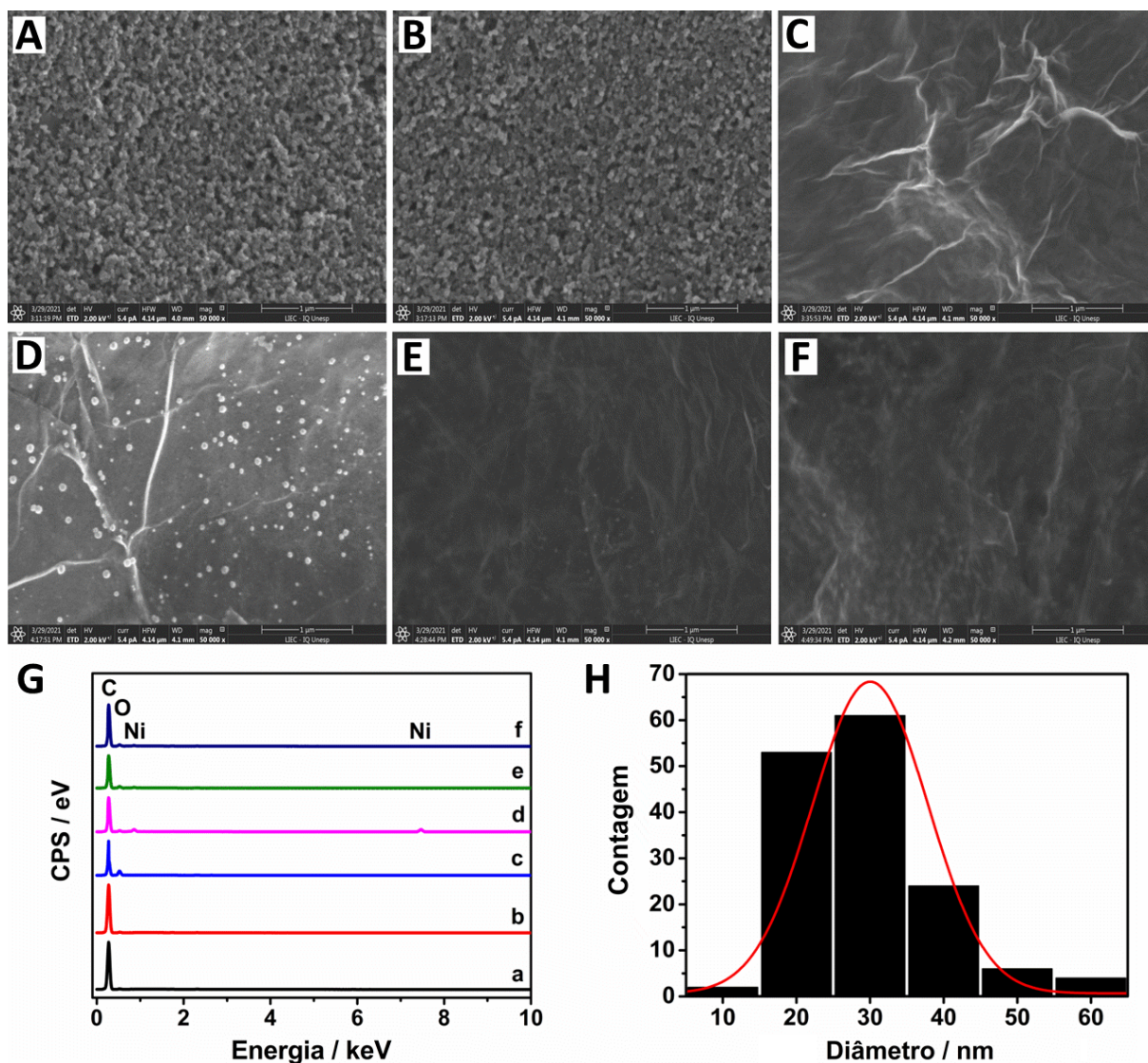


Figura 52 - Imagens de SEM para: SPE (A) antes e (B) após a etapa de ativação, (C) SPE(a)/rGO, (D) SPE(a)/rGO-NiNPs, (E) SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e (F) SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP; (G) espectros de EDS para: SPE (a) antes e (b) após a etapa de ativação, (c) SPE(a)/rGO, (d) SPE(a)/rGO-NiNPs, (e) SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e (f) SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP; (H) histograma para a distribuição de tamanho das NiNPs eletrodepositadas sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO ($n = 150$). Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

Análises de EDS também foram realizadas para confirmar as modificações realizadas sobre a superfície do SPE. A Figura 52G mostra os espectros de EDS obtidos após cada etapa de modificação do eletrodo. Em todos os espectros, um pico bem definido em 0,28 keV pode ser observado para as espécies de carbono presentes na superfície do eletrodo. Nenhuma diferença foi observada antes e após o processo de ativação da superfície do SPE. No entanto, após a eletrodeposição de rGO sobre a superfície do eletrodo o pico atribuído às espécies de oxigênio em 0,52 keV

apresentou um aumento em termos de intensidade de $4,2 \times 10^4$ contagens por segundo (CPS), o que foi atribuído à presença das folhas de óxido de grafeno sobre a superfície deste eletrodo. Após a eletrodeposição das NiNPs sobre as folhas de rGO, dois picos referentes às espécies de níquel foram observados em 0,85 e 7,5 keV. Essas nanopartículas apresentaram um formato esférico, com um diâmetro médio de 34 nm (ver Figura 52H). Por outro lado, após a etapa de eletropolimerização dos filmes de MIP e NIP sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs, o pico em 7,5 keV não foi mais observado e o pico em 0,85 keV apresentou uma diminuição em termos de intensidade de $1,7 \times 10^4$ CPS. Isso indica que o filme de poli(3IAA) recobriu as NiNPs durante a etapa de eletropolimerização, o que levou a uma diminuição na intensidade dos picos relacionados às espécies de níquel.

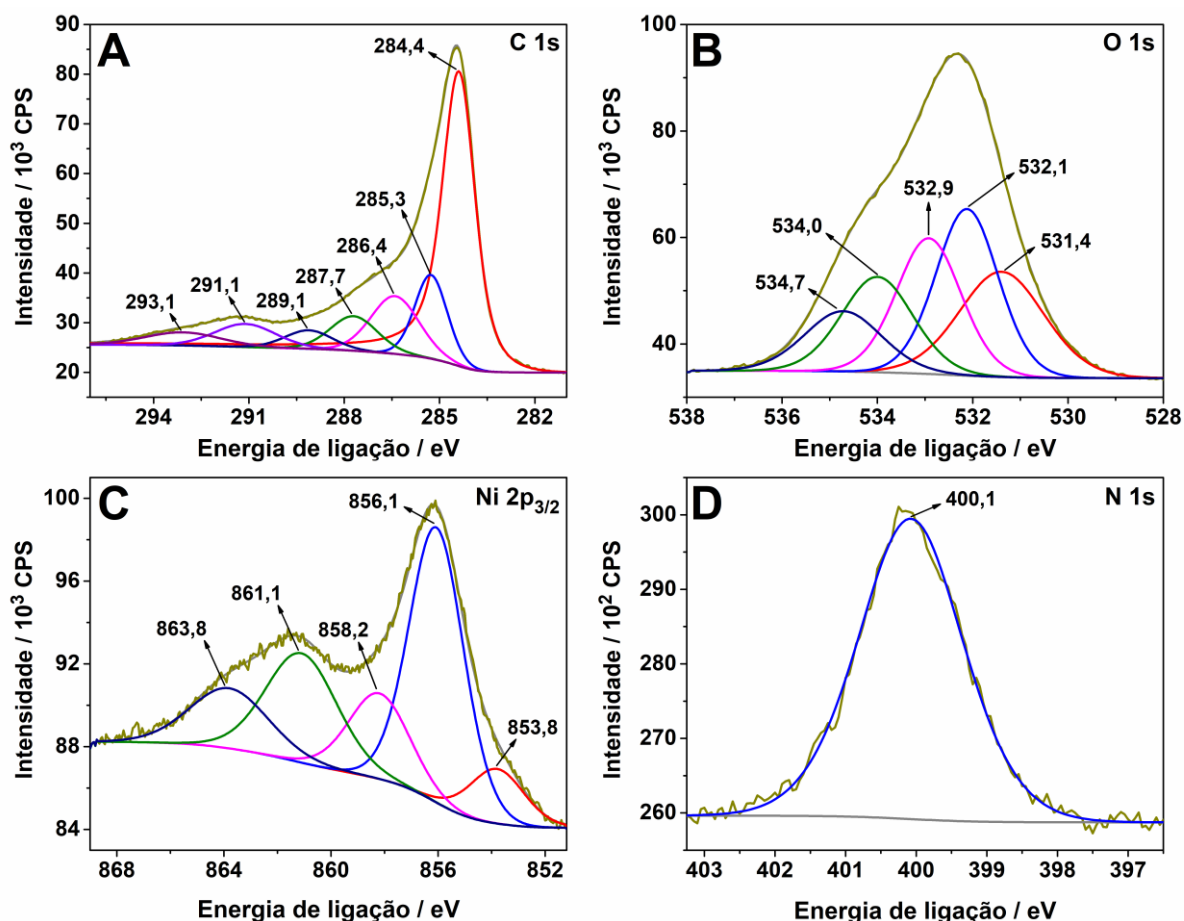


Figura 53 - Espectros de XPS deconvoluídos para: (A) C 1s, (B) O 1s, (C) Ni 2p_{3/2} e (D) N 1s. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

Medidas de XPS foram realizadas para identificar as espécies químicas e os grupos funcionais presentes na superfície do eletrodo. A Figura 53A mostra o espectro

de alta resolução obtido para C 1s após a etapa de eletrodeposição das folhas de grafeno; este espectro foi deconvoluído em sete componentes: a componente principal (54,7%) em 284,4 eV está associada a carbonos aromáticos (CC sp²), a componente em 285,3 eV (11,8%) é atribuída às ligações C–CH (sp³), as componentes entre 286,4 e 289,1 eV referem-se aos grupos oxigenados de álcool/éter (C–O em 286,4 eV; 12,1%), carbonila (C=O em 287,7 eV; 7,1%) e carboxila (O–C=O em 289,1 eV; 3,8%) [75]. A aromaticidade da estrutura de rGO foi observada por meio de dois picos *plasmon* em 291,1 eV (6,1%) e 293,1 eV (4,4%); esses picos são atribuídos às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ na camada de valência e à assimetria da componente CC sp², respectivamente. Esses picos *plasmon* são tipicamente característicos de sistemas aromáticos ou conjugados [125].

A presença de rGO sobre a superfície do eletrodo também foi confirmada através do espectro de alta resolução obtido para O 1s (Figura 53B). Neste espectro, pode-se observar as componentes dos grupos O=C (531,4 eV; 22,6%), O–C (532,9 eV; 22,2%) e O–C=O (534,0 eV; 17,2%). A componente em 534,7 eV (11,7%) é atribuída à água molecular adsorvida na estrutura de rGO, enquanto que a componente em 532,1 eV (26,3%) está associada ao grupo SO₄ proveniente da solução de Na₂SO₄, que foi utilizada como eletrólito suporte durante a etapa de eletrodeposição das folhas de rGO sobre a superfície do eletrodo [75,129].

A Figura 53C mostra o espectro de alta resolução obtido para Ni 2p_{3/2} após a funcionalização da superfície do eletrodo SPE(a)/rGO com NiNPs. Nesse espectro, cinco componentes podem ser observadas: a componente principal em 856,1 eV (42%) é atribuída ao Ni₂O₃, enquanto que a componente em 853,8 eV (8,3%) se refere à espécie de NiO [130]. Além disso, também foram identificados picos satélites (*shake up*) de Ni⁺² (858,2 eV; 14,6%) e Ni⁺³ (861,1 eV; 21,9% e 863,8 eV, 13,2%) [131]. A presença do filme de poli(3IAA) sobre a superfície do eletrodo foi confirmada pelo espectro de alta resolução obtido para N 1s (Figura 53D). Neste espectro, apenas uma componente é observada em 400,1 eV devido à ligação N–C do grupo amina [75]. Fundamentalmente, os resultados obtidos a partir das análises de SEM, EDS e XPS corroboram entre si e indicam que a superfície do SPE foi modificada com rGO, NiNPs e filme de poli(3IAA).

4.4.4. Otimização das condições experimentais

Como discutido anteriormente, os parâmetros experimentais inerentes à preparação dos filmes de MIP devem ser cuidadosamente estudados para se obter um sensor eletroquímico molecularmente impresso com alta performance para o processo de reconhecimento molecular. Nesta etapa do trabalho, os parâmetros experimentais incluíram: a quantidade de 3IAA e *p*-CA necessária para o processo de eletropolimerização, o número de ciclos voltamétricos e o pH da solução de eletropolimerização, o tempo necessário para remover as moléculas molde, o pH da solução de religação e o tempo necessário para uma etapa de religação eficiente. Esses parâmetros foram otimizados por DPV utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl $0,50$ mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. A performance do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP para detecção de $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ de *p*-CA foi avaliada através da diferença de corrente (Δi) da sonda eletroquímica antes e após o processo de religação.

4.4.4.1. Concentrações necessárias de 3IAA e *p*-CA para o processo de eletropolimerização

As quantidades de 3IAA e *p*-CA empregadas para a eletrossíntese do filme molecularmente impresso afetam o desempenho do sensor durante o processo de reconhecimento molecular. Em concentrações de 3IAA abaixo de $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, a formação do filme de MIP sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs não foi observada. Por outro lado, altas concentrações de 3IAA favorecem a formação de uma estrutura polimérica com poucas cavidades impressas. Diante disso, a concentração de 3IAA foi fixada em $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e a concentração de *p*-CA foi investigada em um intervalo de $1,0$ a $6,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. A Figura 54 mostra que o eletrodo apresentou sua maior variação de corrente quando $4,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de *p*-CA foram utilizados para a eletrossíntese do filme de MIP. Este resultado indica que esta condição favorece a formação de um maior número de cavidades impressas para a difusão da sonda eletroquímica até a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs. Portanto, as quantidades adequadas de *p*-CA e 3IAA para a eletropolimerização do filme molecularmente impresso de poli(3IAA) sobre o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs foram $4,0 \times 10^{-3}$ e $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, respectivamente.

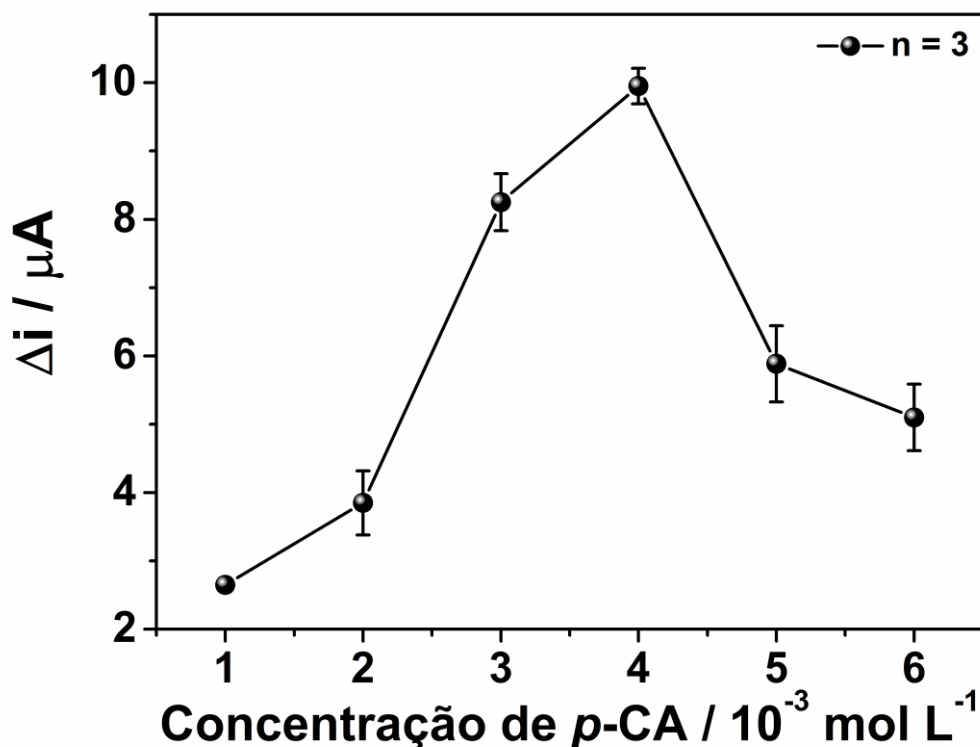


Figura 54 - Influência da concentração de *p*-CA sobre a resposta do eletrodo durante a eletropolimerização de 3IAA $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

4.4.4.2. Número de ciclos voltamétricos necessários para o processo de eletropolimerização

O número de ciclos voltamétricos aplicados para a eletropolimerização do filme molecularmente impresso de poli(3IAA) afeta a espessura deste filme e a sensibilidade do eletrodo durante o processo de reconhecimento molecular. Neste estudo, o filme de MIP foi eletropolimerizado utilizando diferentes números de ciclos em um intervalo de 1 a 15. A Figura 55 mostra que o eletrodo exibiu sua maior variação de corrente quando três ciclos voltamétricos foram utilizados na etapa de eletropolimerização. Para os ciclos subsequentes, observou-se uma diminuição gradual na intensidade de corrente do eletrodo. Isso foi atribuído à formação de um filme de poli(3IAA) muito espesso, o que dificultou a remoção das moléculas molde dessa estrutura polimérica. Conseqüentemente, poucas cavidades impressas foram

formadas para a difusão da sonda eletroquímica até a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs. Portanto, o número ideal de ciclos voltamétricos para realização do processo de eletropolimerização foi 3.

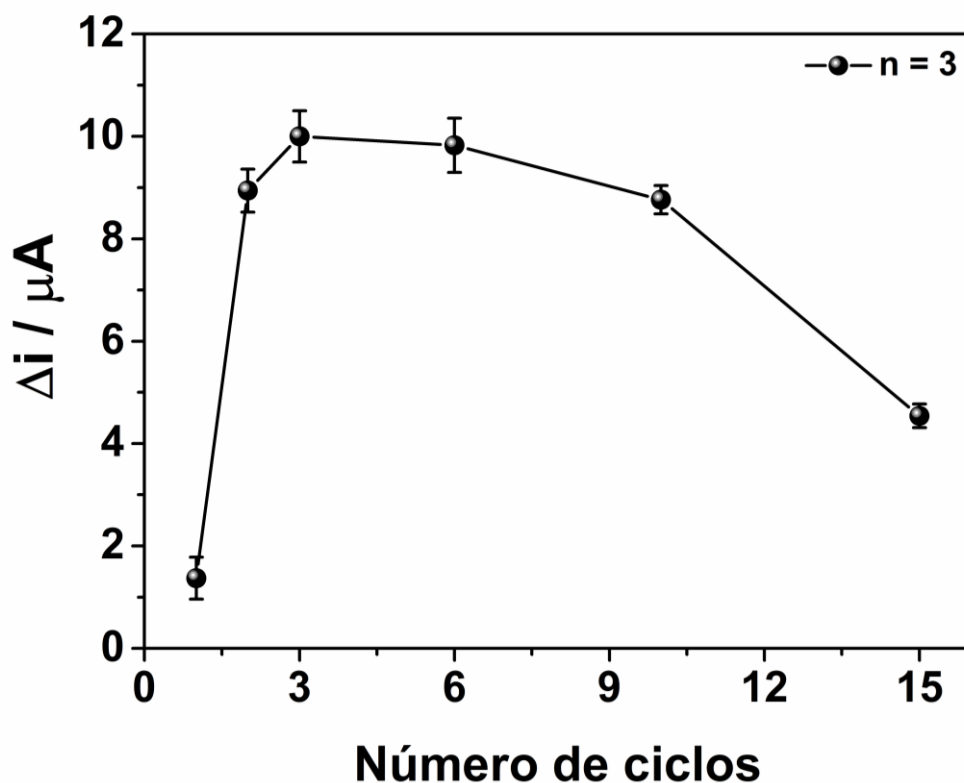


Figura 55 - Influência do número de ciclos voltamétricos sobre a resposta do eletrodo durante a eletropolimerização de 3IAA $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ na presença de *p*-CA $4,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl $0,50$ mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

4.4.4.3. pH da solução de eletropolimerização

O pH da solução de eletropolimerização afeta a interação dos monômeros de 3IAA com as moléculas de *p*-CA, bem como a formação de espécies radicais a partir da eletrooxidação das unidades de 3IAA. Esses radicais são importantes para o processo de eletropolimerização, pois são responsáveis pela formação da cadeia polimérica de poli(3IAA) sobre a superfície do eletrodo. Neste estudo, o processo de eletropolimerização foi realizado em diferentes valores de pH utilizando soluções de PB ($0,10$ mol L⁻¹). A Figura 56 mostra que o eletrodo exibiu sua maior variação de corrente em pH 8,0. Em valores de pH superiores a 8,0 (PB; $0,10$ mol L⁻¹), a resposta do eletrodo apresentou uma considerável diminuição, possivelmente devido à redução

na quantidade de radicais formados durante a eletrooxidação das unidades de 3IAA. Diante disso, o pH escolhido como ótimo para realizar o processo de eletropolimerização em estudos posteriores foi 8,0 (PB; 0,10 mol L⁻¹).

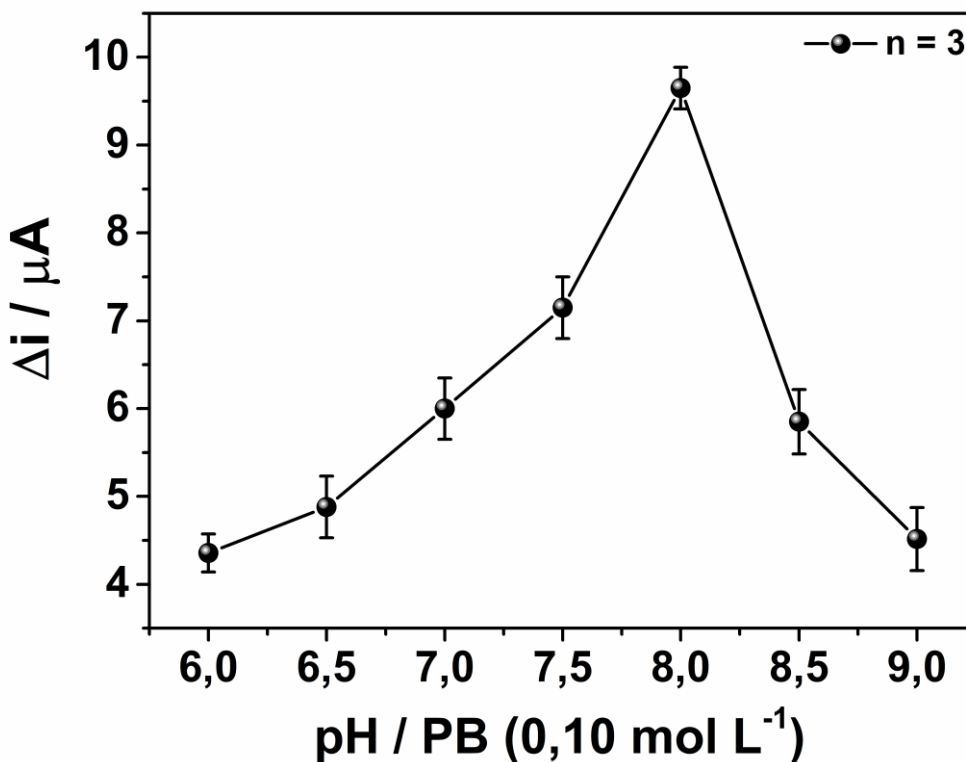


Figura 56 - Influência do pH sobre a resposta do eletrodo durante o processo de eletropolimerização de 3IAA 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ na presença de *p*-CA 4,0×10⁻³ mol L⁻¹. A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando K₃[Fe(CN)₆] 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

4.4.4.4. Tempo necessário para remover as moléculas molde da estrutura de poli(3IAA)

Como discutido anteriormente, a remoção das moléculas molde da estrutura do polímero é uma etapa essencial para a formação de cavidades impressas na superfície do eletrodo. Solventes orgânicos têm sido amplamente utilizados para a formação de sítios de reconhecimento durante a preparação de sensores eletroquímicos baseados em MIP; estes solventes incluem etanol, metanol, acetonitrila e ácido acético. Nesse sentido, soluções contendo etanol e ácido acético em diferentes proporções foram aplicadas para remover as moléculas molde da

estrutura de poli(3IAA). Aqui, os melhores resultados foram obtidos utilizando uma solução de etanol-ácido acético (9:1; v:v).

O tempo de exposição do filme molecularmente impresso de poli(3IAA) ao solvente orgânico foi investigado em uma faixa de 10 a 150 s. A Figura 57 mostra que o eletrodo apresentou sua maior variação de corrente quando 60 s foram utilizados para remover as moléculas molde e, conseqüentemente, promover a formação das cavidades impressas. Após 60 s, a intensidade de corrente do eletrodo diminuiu gradualmente até 150 s, o que foi atribuído à exposição excessiva da estrutura polimérica ao solvente orgânico. A exposição por tempos prolongados (> 60 s) pode levar à deformação das cavidades impressas e comprometer a sensibilidade do eletrodo durante o processo de reconhecimento molecular. Portanto, utilizando uma solução de etanol-ácido acético (9:1; v:v), o tempo ótimo para remover as moléculas molde da estrutura de poli(3IAA) foi 60 s.

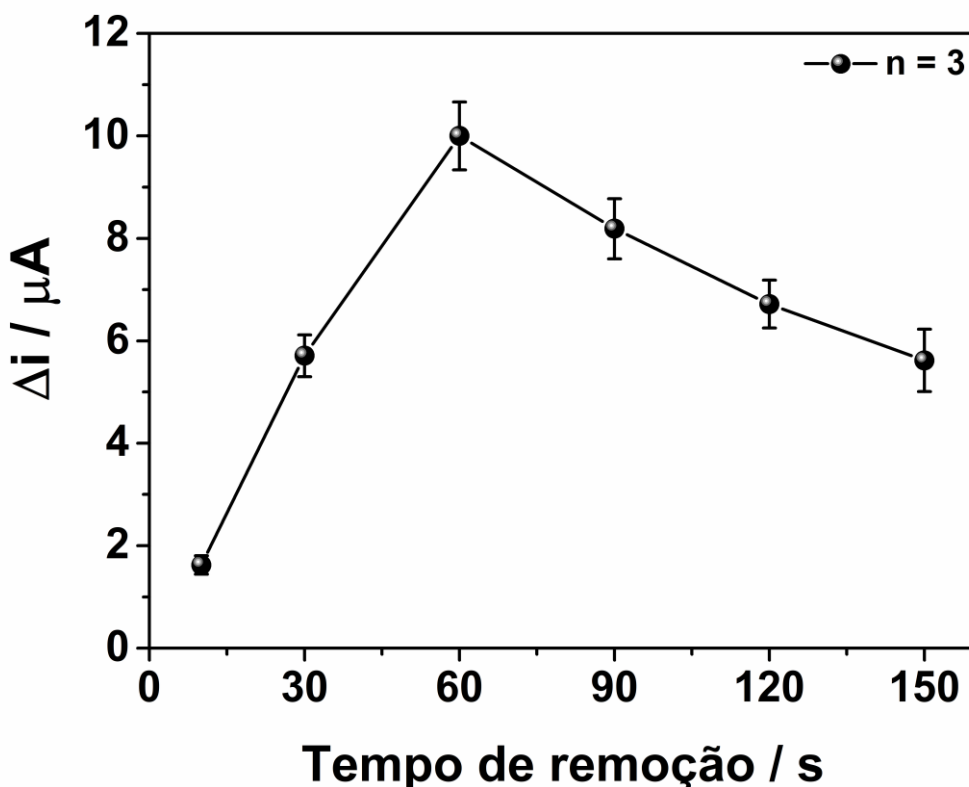


Figura 57 - Influência do tempo sobre a resposta do eletrodo durante a remoção das moléculas molde da estrutura de poli(3IAA). A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em solução de KCl $0,50$ mol L^{-1} como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

4.4.4.5. pH da solução de religação

O pH da solução de religação pode afetar a estrutura da molécula alvo e o desempenho do eletrodo durante o processo de reconhecimento molecular. Neste estudo, o processo de religação foi realizado utilizando soluções contendo $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ de *p*-CA em diferentes valores de pH; essas soluções foram preparadas com PB (0,10 mol L⁻¹). A Figura 58 mostra que o eletrodo exibiu sua maior variação de corrente em pH 6,5 (PB; 0,10 mol L⁻¹). Vale ressaltar que neste valor de pH o grupo carboxila da estrutura de *p*-CA está completamente desprotonado ($pK_a = 3,81$). Isso parece favorecer as interações das moléculas de *p*-CA com as cavidades impressas contidas na estrutura de poli(3IAA). Portanto, o pH escolhido como ideal para conduzir o processo de religação em estudos subsequentes foi 6,5 (PB; 0,10 mol L⁻¹).

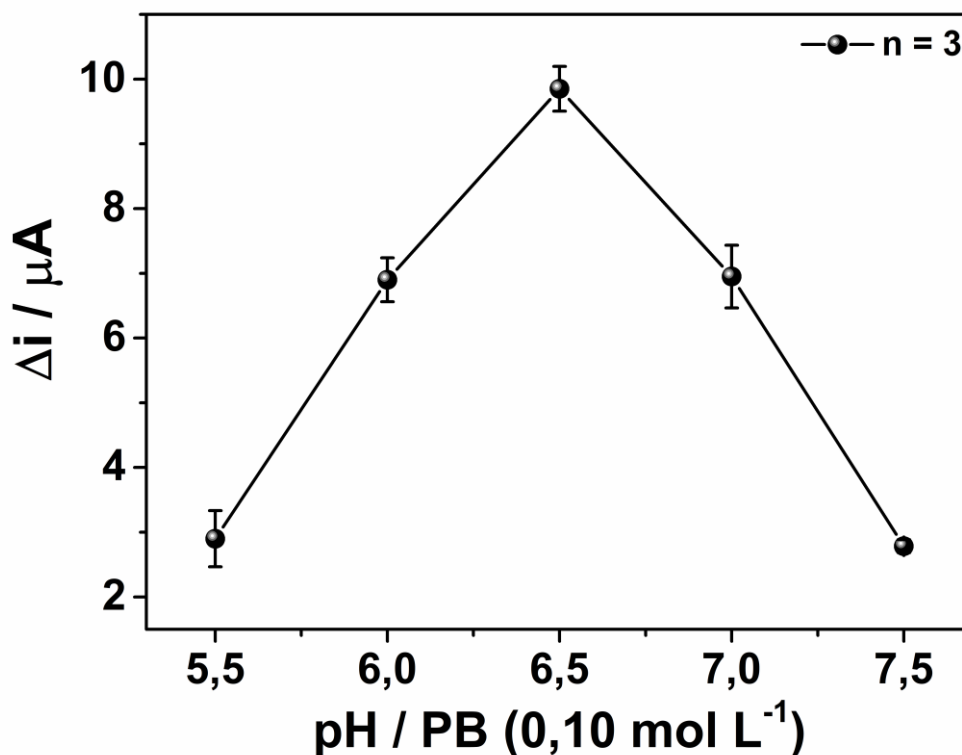


Figura 58 - Influência do pH sobre a resposta do eletrodo durante o processo de religação utilizando soluções de PB (0,10 mol L⁻¹) contendo $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ de *p*-CA. A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

4.4.4.6. Tempo necessário para o processo de religação

O tempo de religação é um fator que afeta significativamente a sensibilidade do eletrodo durante o processo de reconhecimento molecular. Após a formação das cavidades impressas, o processo de religação foi realizado usando soluções de PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,5) contendo $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de *p*-CA por um período de 1 a 20 min. A Figura 59 mostra que a intensidade de corrente do eletrodo aumentou até 10 min e depois permaneceu praticamente constante até 20 min. Isso indica que o equilíbrio de religação entre as cavidades impressas e as moléculas de *p*-CA foi alcançado. Por conseguinte, o tempo utilizado para realizar o processo de religação em estudos subsequentes foi 10 min.

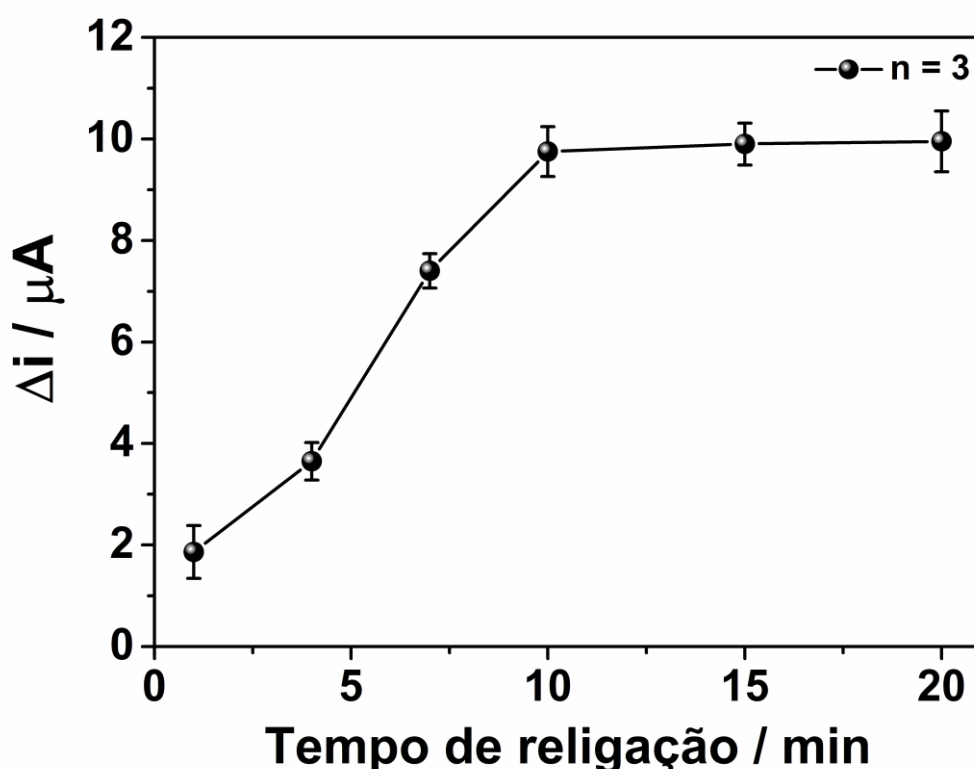


Figura 59 - Influência do tempo sobre a resposta do eletrodo durante o processo de religação usando soluções de PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,5) contendo $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de *p*-CA. A resposta do sensor foi monitorada por DPV utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

A Tabela 13 mostra os parâmetros avaliados durante os estudos de otimização, os intervalos investigados para cada variável, e as condições otimizadas para a preparação e utilização do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP.

Tabela 13 - Otimização dos parâmetros experimentais que influenciam a performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP.

Parâmetros	Intervalos estudados	Condições otimizadas
Concentração de 3IAA (10^{-3} mol L ⁻¹)	–	5
Concentração de <i>p</i> -CA (10^{-3} mol L ⁻¹)	1 – 6	4
Número de ciclos	1 – 15	3
pH da solução de eletropolimerização	6,0 – 9,0	8,0
Tempo de remoção (s)	10 – 150	60
pH da solução de religação	5,5 – 7,5	6,5
Tempo de religação (min)	1 – 20	10

4.4.5. Detecção de *p*-CA usando o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP

Após a otimização dos parâmetros experimentais, soluções de PB (0,10 mol L⁻¹; pH = 6,5) contendo diferentes concentrações de *p*-CA foram gotejadas sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP por 10 min para a realização do processo de religação. A performance analítica deste dispositivo para o reconhecimento de *p*-CA foi avaliada por DPV utilizando K₃[Fe(CN)₆] 5,0×10⁻³ mol L⁻¹ em solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. A inserção na Figura 60 mostra que a intensidade de corrente da sonda eletroquímica diminuiu gradualmente à medida que a concentração de *p*-CA aumentou de 1,0×10⁻¹⁰ para 1,0×10⁻⁸ mol L⁻¹. Isso indica que as cavidades impressas foram ocupadas pelas moléculas de *p*-CA, o que impediu que a sonda eletroquímica atingisse a superfície de SPE(a)/rGO-NiNPs por meio de um processo difusional [80].

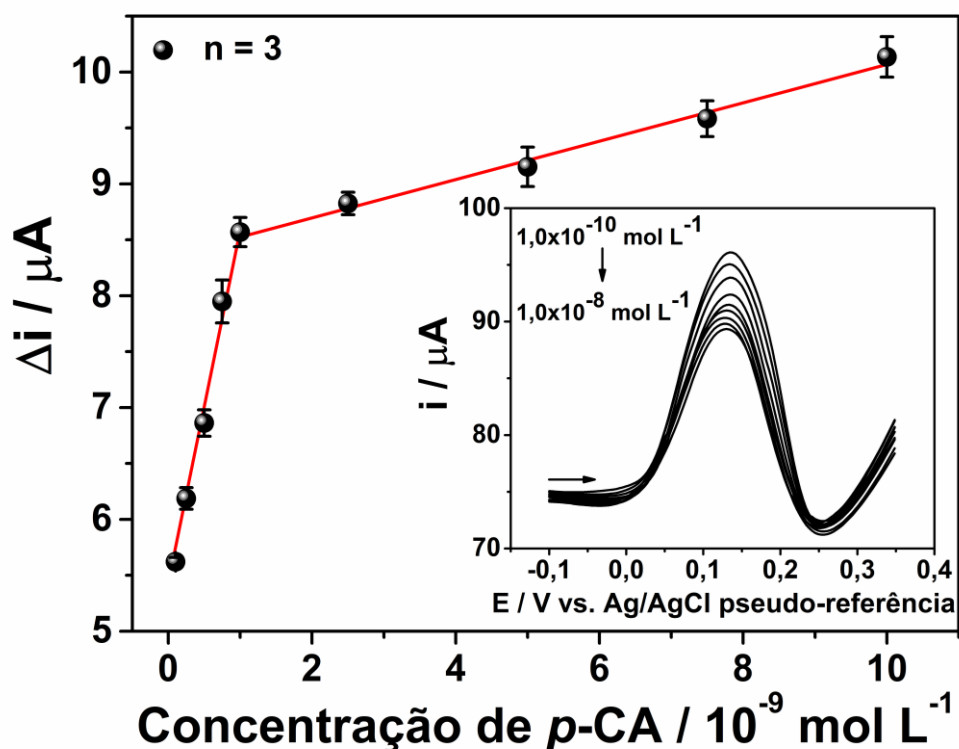


Figura 60 - Curva analítica obtida para o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP em uma faixa de concentração de *p*-CA de $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 3$). Inserção: DPVs obtidos para o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP após o processo de religação por 10 min usando soluções de PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 6,5) contendo diferentes concentrações de *p*-CA. A resposta do eletrodo foi monitorada por DPV utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

A Figura 60 mostra que a diminuição na intensidade de corrente da sonda $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ foi proporcional ao aumento da concentração de *p*-CA em duas faixas lineares: $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Essas faixas de concentração apresentaram as seguintes equações de regressão linear: $\Delta i (\text{A}) = 3.326 C_{p\text{-CA}} (\text{mol L}^{-1}) + 5,3 \times 10^{-6}$ ($R^2 = 0,9910$) e $\Delta i (\text{A}) = 169,6 C_{p\text{-CA}} (\text{mol L}^{-1}) + 8,4 \times 10^{-6}$ ($R^2 = 0,9877$), respectivamente. As figuras de mérito foram calculadas a partir da primeira faixa linear ($1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$). Os valores obtidos foram: LOD = $8,1 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ e LOQ = $2,7 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$. Esses valores indicam que o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP possui um bom desempenho analítico para detecção de *p*-CA.

A presença de duas faixas lineares de concentração para os sensores eletroquímicos baseados em MIP é comumente reportada na literatura

[74,75,77,79,80]. Como discutido anteriormente, isso se deve à localização das cavidades de reconhecimento ao longo da estrutura de poli(3IAA). Nesse sentido, quando a concentração de *p*-CA não é superior a $1,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, as moléculas de *p*-CA ocupam as cavidades presentes na superfície do filme de poli(3IAA). Por outro lado, quando a concentração de *p*-CA é superior a $1,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, todas as cavidades localizadas na superfície do polímero são ocupadas e os próximos processos de reconhecimento molecular ocorrem nas cavidades localizadas no interior da estrutura de poli(3IAA). Isso causa uma diminuição na sensibilidade do eletrodo e, conseqüentemente, uma diminuição na inclinação da curva analítica quando a concentração de *p*-CA é superior a $1,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ (ver Figura 60).

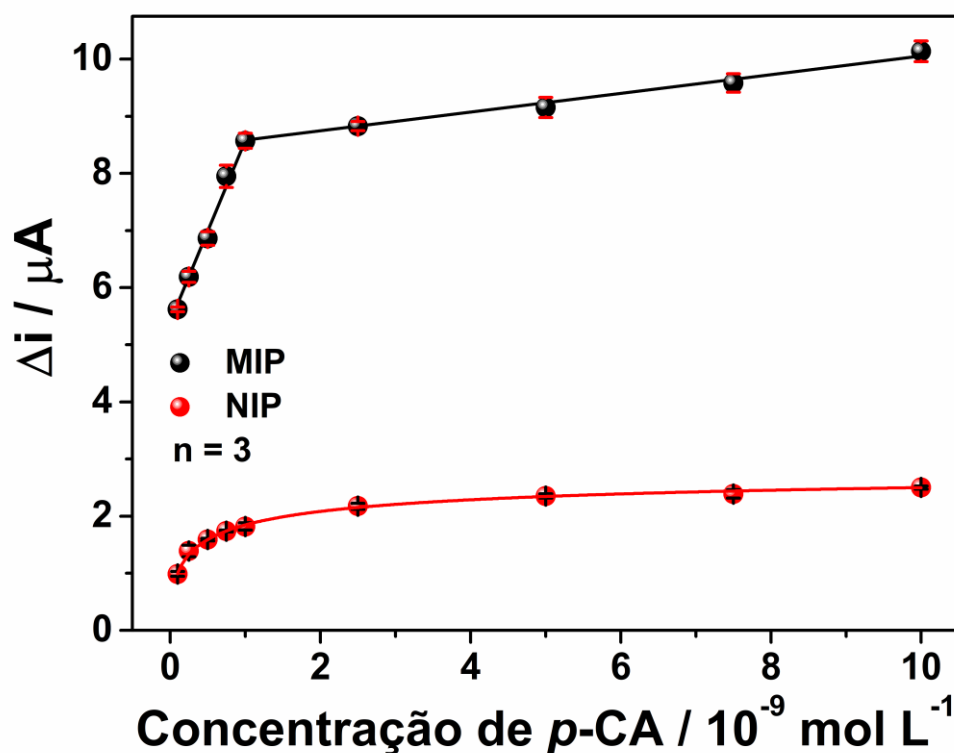


Figura 61 - Comparação entre as curvas analíticas obtidas com os eletrodos SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP em uma faixa de concentração de *p*-CA de $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ ($n = 3$). A resposta dos eletrodos foi monitorada por DPV utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl $0,50$ mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

A Figura 61 mostra uma comparação entre as respostas dos eletrodos SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP durante a detecção de *p*-CA em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Nesta figura, observa-se

que o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP apresentou uma menor intensidade de corrente quando comparado ao eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP. Além disso, o dispositivo SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP não possui duas faixas lineares de concentração, que são características dos sensores eletroquímicos baseados em MIP [74,75,77,79,80]. Esses resultados são evidências irrefutáveis da ausência de cavidades impressas na superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP e confirmam que o dispositivo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP possui uma melhor performance para a detecção de *p*-CA.

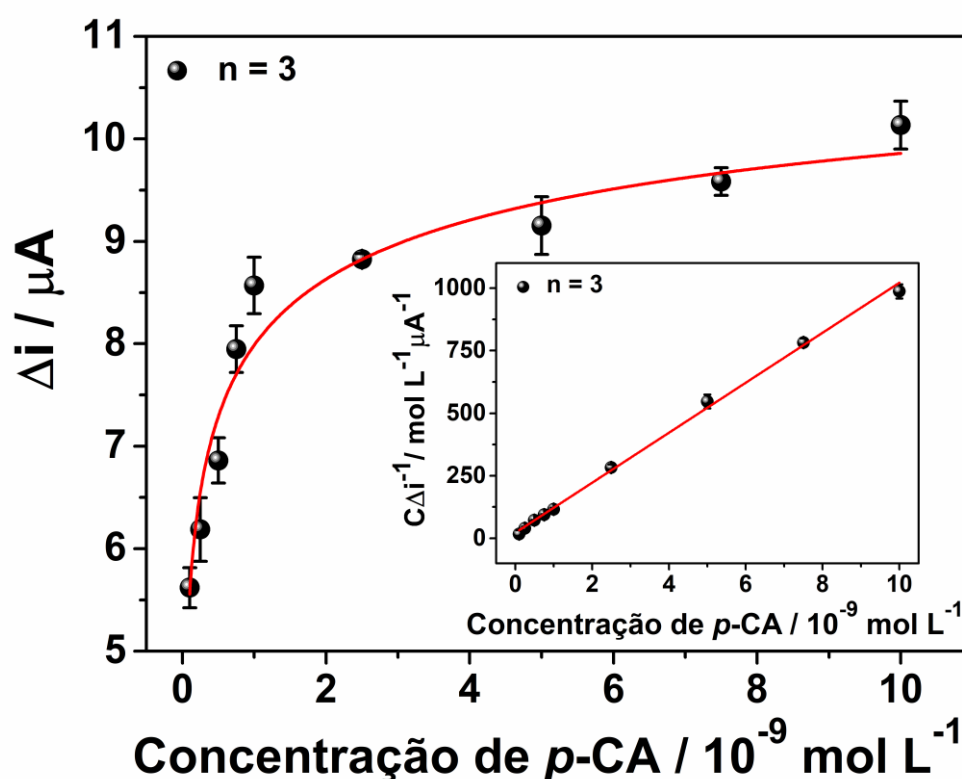


Figura 62 - Isoterma de adsorção de Langmuir obtida para o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP durante a detecção de *p*-CA em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Inserção: linearização da isoterma de adsorção de Langmuir. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

A constante de adsorção entre as cavidades impressas e as moléculas de *p*-CA foi calculada usando o modelo da isoterma de adsorção de Langmuir (Eq. 1). O valor de K_A foi encontrado por meio da linearização da curva isotérmica obtida a partir da Eq. 1 (Figura 62). Nesta abordagem, um alto valor de K_A indica que as cavidades impressas têm uma alta performance para o reconhecimento das moléculas de *p*-CA, enquanto que um baixo valor de K_A sugere que o processo de reconhecimento

molecular é ineficiente. A inserção na Figura 62 mostra a linearização da curva de adsorção de Langmuir, que apresentou a seguinte equação de regressão linear: $C\Delta i^{-1} (\text{mol L}^{-1} \text{ A}^{-1}) = 1,0 \times 10^5 C (\text{mol L}^{-1}) + 2,2 \times 10^{-5}$ ($R^2 = 0,9974$). O valor K_A obtido com este ajuste foi de $4,5 \times 10^9 \text{ mol L}^{-1}$. Essencialmente, este valor indica uma alta afinidade das cavidades impressas para reconhecer as moléculas de *p*-CA em solução [80,120,121].

Tabela 14 - Performance analítica do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e outros métodos reportados na literatura para detecção e quantificação de *p*-CA. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

Método de detecção	Faixa linear (mol L ⁻¹)	LOD (mol L ⁻¹)	Ref.
SPE-CB-WS ₂ /AuNP-CT ^a	$9,0 \times 10^{-7} - 1,8 \times 10^{-4}$	$3,0 \times 10^{-7}$	[62]
Fe ₃ O ₄ @ZIF-4/GCE ^b	$5,0 \times 10^{-7} - 1,2 \times 10^{-5}$	$1,8 \times 10^{-7}$	[63]
CdTe-QDs@MIPs ^c	$1,2 \times 10^{-7} - 6,1 \times 10^{-6}$	$4,1 \times 10^{-8}$	[11]
HPLC-ECD ^d	$2,1 \times 10^{-6} - 4,3 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^{-8}$	[29]
HPLC-UV@MMIP ^e	$3,0 \times 10^{-8} - 6,0 \times 10^{-6}$	$1,0 \times 10^{-8}$	[26]
HPLC-DAD ^f	$6,1 \times 10^{-9} - 1,2 \times 10^{-6}$	$1,2 \times 10^{-9}$	[28]
HPLC-CED ^g	$8,5 \times 10^{-9} - 1,4 \times 10^{-4}$	$1,8 \times 10^{-10}$	[30]
SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP	$1,0 \times 10^{-10} - 1,0 \times 10^{-9}$	$8,1 \times 10^{-11}$	Este trabalho

^a SPE-CB-WS₂/AuNP-CT significa *screen-printed electrode* contendo flocos de dissulfeto de tungstênio decorados com nanopartículas de ouro recobertas com catequina e negro de fumo; ^b Fe₃O₄@ZIF-4/GCE significa eletrodo de carbono vítreo contendo nanopartículas de ferro funcionalizadas com estrutura metal-orgânica de imidazolato zeolítico; ^c CdTe-QDs@MIPs significa sensor fluorescente baseado no revestimento de polímeros molecularmente impressos sobre a superfície de pontos quânticos de CdTe; ^d HPLC-ECD significa cromatografia líquida de alta eficiência usando detecção eletroquímica; ^e HPLC-UV@MMIP significa cromatografia líquida de alta eficiência com detecção ultravioleta usando um método de extração em fase sólida baseado em polímero molecularmente impresso magnético; ^f HPLC-DAD significa cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos; ^g HPLC-CED significa cromatografia líquida de alta eficiência com detector eletroquímico coulométrico.

O desempenho analítico do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP foi comparado, em termos de LOD, com outras metodologias analíticas reportadas na literatura para detecção de *p*-CA. Essas metodologias são baseadas em técnicas eletroanalíticas,

cromatográficas e espectroscópicas. Como pode ser observado na Tabela 14, o método eletroanalítico desenvolvido neste trabalho apresentou o menor valor de LOD quando comparado a outras metodologias reportadas na literatura para detecção de *p*-CA. Além disso, as principais vantagens do dispositivo proposto em relação a outros métodos analíticos encontrados na literatura para a detecção e quantificação dessa molécula incluem o uso do 3IAA como um monômero biodegradável e o uso de pequenos volumes de solução para a realização das medidas eletroquímicas, o que é interessante do ponto de vista da química ambiental e da química verde.

4.4.6. Estudo de seletividade para o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP

A seletividade do eletrodo proposto foi avaliada com base na sensibilidade deste dispositivo para o reconhecimento de moléculas com grupos funcionais e tamanhos semelhantes à estrutura de *p*-CA. Essas moléculas incluíram GA, CA, FA, AA e QT. Para este fim, os estudos de detecção foram conduzidos usando três níveis de concentração: baixo ($1,0 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹), médio ($5,0 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹) e alto ($1,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹). A Figura 63 mostra a sensibilidade dos eletrodos SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP para a detecção das moléculas de *p*-CA, GA, CA, FA, AA e QT. Como pode ser visto, o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP mostrou-se menos sensível que o dispositivo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP para a detecção de todas as moléculas em estudo. Essa diferença nos valores de sensibilidade foi atribuída à ausência de cavidades impressas na superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP, o que reduz a sensibilidade deste dispositivo para as medidas eletroquímicas.

O eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP apresentou maior sensibilidade para detecção de *p*-CA quando comparado às demais moléculas em estudo; isto foi atribuído à capacidade das cavidades impressas para reconhecer seletivamente a molécula de *p*-CA. Dentre as moléculas consideradas como interferentes neste estudo, o GA apresentou a maior interferência sobre a resposta do eletrodo devido ao tamanho relativamente pequeno de sua estrutura. No entanto, o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP apresentou uma sensibilidade 4,5 vezes maior para *p*-CA do que para GA. Isso pode ser explicado pela orientação dos grupos funcionais das moléculas de *p*-CA e GA. Portanto, o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP tem uma maior

sensibilidade para a detecção de *p*-CA porque esta molécula foi usada como molde para a preparação do filme molecularmente impresso de poli(3IAA).

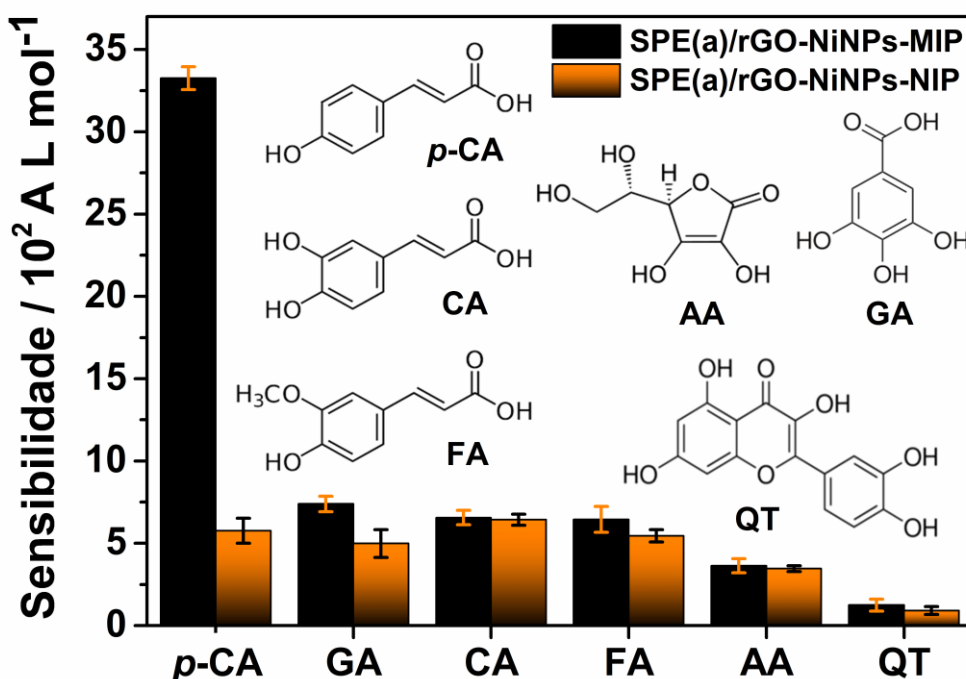


Figura 63 - Sensibilidade dos eletrodos SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP e SPE(a)/rGO-NiNPs-NIP para detecção de *p*-CA, GA, CA, FA, AA e QT em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ ($n = 3$). A resposta dos eletrodos foi monitorada por DPV utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de KCl $0,50$ mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

As moléculas de CA e FA possuem estruturas análogas ao *p*-CA, e mesmo assim apresentaram pouca interferência sobre a resposta do eletrodo. A interação dessas moléculas com as cavidades impressas parece ser prejudicada pela presença dos grupos hidroxila e metoxila nas estruturas de CA e FA, respectivamente. Isso destaca a alta capacidade das cavidades impressas para reconhecer seletivamente a molécula de *p*-CA.

A molécula de AA apresentou menos interferência sobre a resposta do eletrodo quando comparada com as estruturas de GA, CA e FA. A molécula de AA não pertence à classe dos compostos fenólicos e seus grupos funcionais possivelmente não possuem uma orientação espacial adequada para interagir com os sítios ativos das cavidades impressas.

A molécula de QT apresentou a menor interferência entre todas as moléculas em estudo, o que foi atribuído ao seu tamanho relativamente grande. Portanto, QT não é capaz de interagir com os sítios de reconhecimento devido ao impedimento estérico que existe entre esta molécula e as cavidades impressas formadas para *p*-CA. Esses resultados indicam que o tamanho da molécula alvo e a orientação dos grupos funcionais são fatores determinantes para a seletividade do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP.

Os fatores α e β também foram calculados para avaliar a performance do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP durante o reconhecimento seletivo da molécula de *p*-CA. A Tabela 15 mostra que o valor de α obtido para *p*-CA foi de 5,8; enquanto que o valor desse parâmetro para as demais moléculas em estudo foi inferior a 1,5. Esses valores mostram que as cavidades formadas na estrutura de poli(3IAA) têm maior capacidade para detectar a molécula de *p*-CA devido ao efeito de impressão molecular. Os valores de β , por sua vez, mostram que o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP apresentou maior capacidade seletiva para a molécula de *p*-CA quando comparado às demais moléculas utilizadas neste estudo, o que indica que os sítios ativos das cavidades impressas possuem uma orientação espacial mais adequada para o reconhecimento da molécula de *p*-CA.

Tabela 15 - Parâmetros de seletividade obtidos para o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP em relação à detecção de *p*-CA e outros compostos potencialmente interferentes. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

Molécula	Sensibilidade (A L mol ⁻¹)		α *	β **
	MIP	NIP		
Ácido <i>p</i>-cumárico (<i>p</i>-CA)	3.326 ± 70	576 ± 76	5,8	-
Ácido gálico (GA)	739 ± 47	498 ± 84	1,5	3,9
Ácido cafeico (CA)	656 ± 44	643 ± 34	1,0	5,7
Ácido ferúlico (FA)	645 ± 79	545 ± 38	1,2	4,9
Ácido ascórbico (AA)	363 ± 43	346 ± 18	1,0	5,5
Quercetina (QT)	124 ± 37	91 ± 24	1,4	4,2

$$* \alpha = \frac{\Delta i_{(MIP)}}{\Delta i_{(NIP)}}$$

$$** \beta = \frac{\alpha_{(\text{Ácido } p\text{-cumárico})}}{\alpha_{(\text{Interferente})}}$$

4.4.7. Repetibilidade inter-dia, intra-dia e estabilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP

Em relação à repetibilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP, estudos inter-dia foram realizados usando 10 eletrodos diferentes, que foram preparados conforme descrito na Seção 3.7. A intensidade de corrente (Δi) de cada eletrodo após o processo de religação usando uma solução de *p*-CA $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ (PB; 0,10 mol L⁻¹; pH 6,5) foi medida por DPV, e o valor de RSD obtido neste estudo foi de 4,8% (n = 10). Para os estudos intra-dia, o processo de religação com uma solução de *p*-CA $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ (PB; 0,10 mol L⁻¹; pH 6,5) foi realizado 15 vezes consecutivas usando um único eletrodo, e o valor de RSD obtido neste estudo foi de 3,1% (n = 15).

A estabilidade do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP foi avaliada monitorando sua intensidade de corrente (Δi) durante a detecção de *p*-CA $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ por vários dias. Após 15 dias de armazenamento em contato com o ar à temperatura ambiente, a resposta de corrente deste dispositivo diminuiu para 91,3% em relação à sua corrente inicial. Este resultado mostra claramente que o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP possui uma boa estabilidade ao longo do tempo para detecção de *p*-CA.

4.4.8. Determinação de *p*-CA em cascas de banana e laranja

As amostras de casca de banana e laranja foram tratadas conforme descrito na Seção 3.9. Os extratos obtidos a partir das cascas de banana e laranja foram filtrados e diluídos 10.000 e 15.000 vezes em PB ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,5), respectivamente. A determinação de *p*-CA nesses extratos foi realizada pelo método de adição padrão (Figura 64).

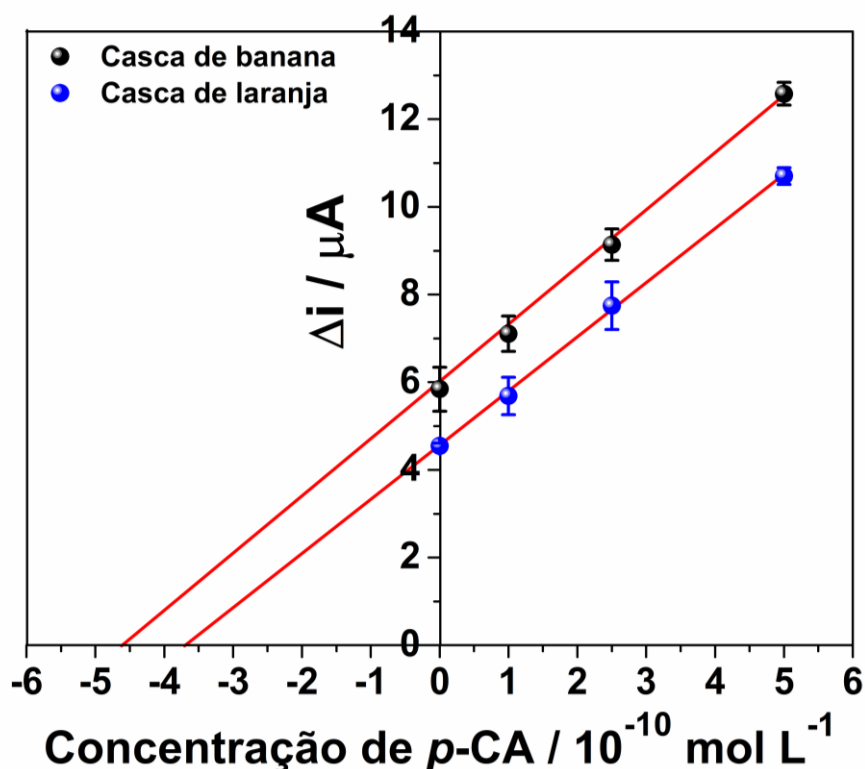


Figura 64 - Curvas de adição de padrão para determinação de *p*-CA em extratos de casca de banana e laranja. Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

A Figura 64 mostra as curvas de adição de padrão obtidas para a determinação de *p*-CA nos extratos de casca de banana e laranja, que apresentaram as seguintes equações de regressão linear: $\Delta i \text{ (A)} = 1,4 \times 10^4 \text{ C (mol L}^{-1}) + 5,8 \times 10^{-6}$ ($R^2 = 0,9997$) e $\Delta i \text{ (A)} = 1,2 \times 10^4 \text{ C (mol L}^{-1}) + 4,5 \times 10^{-6}$ ($R^2 = 0,9986$), respectivamente. A concentração inicial de *p*-CA encontrada nas amostras de casca de banana e laranja foi de $(4,6 \pm 0,6) \times 10^{-10}$ e $(3,7 \pm 0,3) \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 3$), respectivamente. Levando em consideração os fatores de diluição, a concentração de *p*-CA encontrada nas amostras de casca de banana e laranja foi de $(4,6 \pm 0,6) \times 10^{-6}$ e $(5,6 \pm 0,5) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 3$), respectivamente. Isso significa que as cascas de banana e laranja

analisadas neste trabalho continham $(7,0 \pm 1,0) \times 10^{-4}$ e $(9,0 \pm 0,6) \times 10^{-4}$ gramas de *p*-CA por grama de casca seca ($n = 3$), respectivamente.

A quantidade de *p*-CA encontrada nos extratos analisados foi validada por ensaios de recuperação. Como pode ser observado na Tabela 16, os valores médios de recuperação variaram de 96 a 102%, com RSDs $\leq 4,8\%$. Esses resultados mostram que o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs-MIP possui uma alta taxa de precisão para determinação de *p*-CA em cascas de banana e laranja.

Tabela 16 - Determinação de *p*-CA em cascas de banana e laranja ($n = 3$). Fonte: adaptado de Buffon e Stradiotto [128].

Amostra	Quant. Adicionada (10^{-10} mol L $^{-1}$)	Quant. Detectada (10^{-10} mol L $^{-1}$)	Recuperação (%)	RSD (%)
Extrato de Casca de Banana	–	$4,6 \pm 0,6$	–	–
	1,0	$5,5 \pm 0,2$	98	3,6
	2,5	$6,9 \pm 0,1$	97	1,4
	5,0	$9,7 \pm 0,4$	101	4,1
Extrato de Casca de Laranja	–	$3,7 \pm 0,3$	–	–
	1,0	$4,5 \pm 0,2$	96	4,4
	2,5	$6,3 \pm 0,3$	102	4,8
	5,0	$8,6 \pm 0,4$	99	4,7

5. CONCLUSÕES

Este trabalho reportou o desenvolvimento e aplicação de sensores eletroquímicos descartáveis molecularmente impressos para determinação de FA, VA e *p*-CA em cascas de banana e laranja. Para este fim, eletrodos do tipo *screen-printed* foram modificados com óxido de grafeno reduzido, nanopartículas metálicas e polímeros molecularmente impressos utilizando procedimentos amperométricos e voltamétricos. O uso do óxido de grafeno reduzido e das nanopartículas metálicas contribuiu para aumentar a sensibilidade do eletrodo, enquanto que o uso dos polímeros molecularmente impressos garantiu a seletividade das metodologias eletroanalíticas desenvolvidas. Todos os sensores desenvolvidos neste trabalho apresentaram baixos limites de detecção e quantificação, excelente seletividade para o reconhecimento das moléculas alvo, bem como respostas voltamétricas com boa repetibilidade e estabilidade ao longo do tempo.

Devido ao forte caráter adsorptivo dos compostos fenólicos de interesse sobre a superfície dos eletrodos propostos, a detecção e determinação dessas espécies foi realizada por meio de uma abordagem indireta utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$ como sonda eletroquímica. As análises das cascas de banana e laranja foram conduzidas utilizando apenas 50 μ L de solução. Isso é claramente benéfico porque contribui para a redução da quantidade de resíduos químicos gerados durante a análise, o que é interessante do ponto de vista da química verde e ambiental.

Os sensores desenvolvidos neste trabalho foram utilizados para a determinação dos compostos fenólicos de interesse em cascas de banana e laranja através de uma metodologia simples, ambientalmente amigável e de baixo custo. Esses dispositivos apresentaram excelente performance para a determinação dos compostos fenólicos de interesse em cascas de banana e laranja, com taxas de precisão entre 96 e 119%. As cascas de laranja analisadas continham em sua composição $2,5 \pm 0,1$ mg de FA; $0,9 \pm 0,1$ mg de *p*-CA e $0,7 \pm 0,1$ mg de VA por grama de casca seca. Enquanto que as cascas de banana estudadas continham em sua composição $1,7 \pm 0,1$ mg de VA e $0,7 \pm 0,1$ mg de *p*-CA por grama de casca seca.

A quantidade de FA, VA e *p*-CA encontrada nas amostras de casca de banana e laranja sugere que esses resíduos provenientes da fruticultura brasileira podem ser reaproveitados pelas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia para a obtenção de produtos de maior valor agregado a partir dessas moléculas, o que pode conferir a estes resíduos um destino mais rentável e ambientalmente amigável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] KIST, B. B. *et al.* **Brazilian Horti & Fruit Yearbook 2022**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2022. 96 p.
- [2] REZZADORI, K.; BENEDETTI, S.; AMANTE, E. R. Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products. **Food Bioprod. Process.**, v. 90, p. 606–614, 2012.
- [3] SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. de. Total phenolics and in vitro antioxidant capacity of tropical fruit pulp wastes. **Braz. J. Food Technol.**, v. 14, p. 202–210, 2011.
- [4] FERNANDES, E. R. K.; MARANGONI, C.; SOUZA, O.; SELLIN, N. Thermochemical characterization of banana leaves as a potential energy source. **Energy Convers. Manag.**, v. 75, p. 603–608, 2013.
- [5] SATARI, B.; KARIMI, K. Citrus processing wastes: Environmental impacts, recent advances, and future perspectives in total valorization. **Resour. Conserv. Recycl.**, v. 129, p. 153–167, 2018.
- [6] JOHN, I.; MUTHUKUMAR, K.; ARUNAGIRI, A. A review on the potential of citrus waste for D-Limonene, pectin, and bioethanol production. **Int. J. Green Energy**, v. 14, p. 599–612, 2017.
- [7] CLEMENTE, E.; FLORES, A. C.; ROSA, C. I. L. F.; OLIVEIRA, D. M. Characteristics of flour residues from the orange processing. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 14, p. 257–269, 2012.
- [8] LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **J. Nutr.**, v. 134, p. 3479S–3485S, 2004.
- [9] RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidants used in oils, fats and fatty foods. **Quim. Nova**, v. 29, p. 755–760, 2006.
- [10] FERREIRA, P. S.; VICTORELLI, F. D.; FONSECA-SANTOS, B.; CHORILLI, M. A review of analytical methods for *p*-coumaric acid in plant-based products, beverages, and biological matrices. **Crit. Rev. Anal. Chem.**, v. 49, p. 21–31, 2019.
- [11] LONG, R.; LI, T.; TONG, C.; WU, L.; SHI, S. Molecularly imprinted polymers coated CdTe quantum dots with controllable particle size for fluorescent determination of *p*-coumaric acid. **Talanta**, v. 196, p. 579–584, 2019.

- [12] FERREIRA, L. M.; SOUZA, F. D. de; AGUILERA, F. J. N.; VIEIRA, I. N. Electrochemical sensor based on rhodium nanoparticles stabilized in zwitterionic surfactant for *p*-coumaric acid analysis. **Can. J. Chem.**, v. 95, p. 113–119, 2017.
- [13] HIGUCHI, M. Antioxidant properties of wheat bran against oxidative stress. *In*: WATSON, R. R.; PREEDY, V. R.; ZIBADI, S. (Eds.). **Wheat and rice in disease prevention and health**. Cambridge: Academic Press, 2014, p. 181–199.
- [14] SOARES, S. E. Phenolic acids as antioxidants. **Rev. Nutr.**, v. 15, p. 71–81, 2002.
- [15] BOCCO, A.; CUVELIER, M.-E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, p. 2123–2129, 1998.
- [16] PELEG, H.; NAIM, M.; ROUSE, R. L.; ZEHAVI, U. Distribution of bound and free phenolic acids in oranges (*Citrus sinensis*) and grapefruits (*Citrus paradisi*). **J. Sci. Food Agric.**, v. 57, p. 417–426, 1991.
- [17] LIN, F.-H.; LIN, J.-Y.; GUPTA, R. D.; TOURNAS, J. A.; BURCH, J. A.; SELIM, M. A.; MONTEIRO-RIVIERE, N. A.; GRICHNIK, J. M.; ZIELINSKI, J.; PINNELL, S. R. Ferulic acid stabilizes a solution of vitamins C and E and doubles its photoprotection of skin. **J. Invest. Dermatol.**, v. 125, p. 826–832, 2005.
- [18] DAUGSCH, A.; PASTORE, G. Production of vanillin: a biotechnological opportunity. **Quim. Nova**, v. 28, p. 642–645, 2005.
- [19] ALMEIDA, I. V.; CAVALCANTE, F. M. L.; VICENTINI, V. E. P. Different responses of vanillic acid, a phenolic compound, in HTC cells: cytotoxicity, antiproliferative activity, and protection from DNA-induced damage. **Genet. Mol. Res.**, v. 15, n. 15049388, 2016.
- [20] DHANANJAYA, B. L.; NATARAJU, A.; GOWDA, C. D. R.; SHARATH, B. K.; D'SOUZA, C. J. M. Vanillic acid as a novel specific inhibitor of snake venom 5'-nucleotidase: A pharmacological tool in evaluating the role of the enzyme in snake envenomation. **Biochem.**, v. 74, p. 1315–1319, 2009.
- [21] YU, X.-D.; ZHANG, D.; XIAO, C.-L.; ZHOU, Y.; LI, X.; WANG, L.; HE, Z.; REILLY, J.; XIAO, Z.-Y.; SHU, X. *p*-Coumaric acid reverses depression-like behavior and memory deficit via inhibiting AGE-RAGE-mediated neuroinflammation. **Cells**, v. 11, n. 1594, 2022.

- [22] BOO, Y. C. *p*-Coumaric acid as an active ingredient in cosmetics: A review focusing on its antimelanogenic effects. **Antioxidants**, v. 8, n. 275, 2019.
- [23] GALARCE-BUSTOS, O.; NOVOA, L.; PAVON-PEREZ, J.; HENRIQUEZ-AEDO, K.; ARANDA, M. Chemometric optimization of QuEChERS extraction method for polyphenol determination in beers by liquid chromatography with ultraviolet detection. **Food Anal. Methods**, v. 18, p. 448–57, 2019.
- [24] MORENO-GONZÁLEZ, R.; JUAN, M. E.; PLANAS, J. M. Table olive polyphenols: A simultaneous determination by liquid chromatography–mass spectrometry. **J. Chromatogr. A**, v. 1609, n. 460434, 2020.
- [25] LI, H.; LONG, R.; TONG, C.; LI, T.; LIU, Y.; SHI, S. Shell thickness controlled hydrophilic magnetic molecularly imprinted resins for high-efficient extraction of benzoic acids in aqueous samples. **Talanta**, v. 194, p. 969–976, 2019.
- [26] TASHAKKORI, P.; ERDEM, P.; BOZKURT, S. S. Molecularly imprinted polymer based on magnetic ionic liquid for solid-phase extraction of phenolic acids. **J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.**, v. 40, p. 657–666, 2017.
- [27] SHALASH, M.; MAKAHLEH, A.; SALHIMI, S. M.; SAAD, B. Vortex-assisted liquid-liquid-liquid microextraction followed by high performance liquid chromatography for the simultaneous determination of fourteen phenolic acids in honey, iced tea and canned coffee drinks. **Talanta**, v. 174, p. 428–435, 2017.
- [28] PEI, M.; HUANG, X. Determination of trace phenolic acids in fruit juice samples using multiple monolithic fiber solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography. **Anal. Methods**, v. 8, p. 3831–3838, 2016.
- [29] LIANG, Y.; CAO, W.; CHEN, W.-J.; XIAO, X.-H.; ZHENG, J.-B. Simultaneous determination of four phenolic components in citrus honey by high performance liquid chromatography using electrochemical detection. **Food Chem.**, v. 114, p. 1537–1541, 2009.
- [30] BAYRAM, B.; OZCELIK, B.; SCHULTHEISS, G.; FRANK, J.; RIMBACH, G. A validated method for the determination of selected phenolics in olive oil using high-performance liquid chromatography with coulometric electrochemical detection and a fused-core column. **Food Chem.**, v. 138, p. 1663–1669, 2013.
- [31] LAMARCA, R. S.; MATOS, R. C.; MATOS, M. A. C. Determination of phenolic acids in palm oil samples by HPLC-UV-AD using homemade flow cell. **Anal. Methods**, v. 10, p. 4535–4542, 2018.

- [32] LU, Y.; GUO, J.; YU, J.; GUO, J.; JIA, X.; LIU, W.; TIAN, P. Two-dimensional analysis of phenolic acids in seedling roots by high performance liquid chromatography-electrospray ionization-ion mobility spectrometry. **Anal. Methods**, v. 11, p. 610–617, 2019.
- [33] FERRONE, V.; GENOVESE, S.; CARLUCCI, M.; TIECCO, M.; GERMANI, R.; PREZIUSO, F.; EPIFANO, F.; CARLUCCI, G.; TADDEO, V. A. A green deep eutectic solvent dispersive liquid-liquid micro-extraction (DES-DLLME) for the UHPLC-PDA determination of oxyprenylated phenylpropanoids in olive, soy, peanuts, corn, and sunflower oil. **Food Chem.**, v. 245, p. 578–585, 2018.
- [34] CHEN, X.; ZHU, P.; LIU, B.; WEI, L.; XU, Y. Simultaneous determination of fourteen compounds of *Hedyotis diffusa Willd* extract in rats by UHPLC–MS/MS method: Application to pharmacokinetics and tissue distribution study. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 159, p. 490–512, 2018.
- [35] SENES, C. E. R.; RODRIGUES, C. A.; NICÁCIO, A. E.; BOEING, J. S.; MALDANER, L.; VISENTAINER, J. V. Determination of phenolic acids and flavonoids from *Myrciaria cauliflora* edible part employing vortex-assisted matrix solid-phase dispersion (VA-MSPD) and UHPLC-MS/MS. **J. Food Compos. Anal.**, v. 95, n. 103667, 2021.
- [36] CHEN, Y.; CHEN, W.; LAN, Y.; WANG, K.; WU, Y.; ZHONG, X.; YING, K.; LI, J.; YANG, G. Determination of 18 phenolic acids in tobacco and rhizosphere soil by ultra high performance liquid chromatography combined with triple quadrupole mass spectrometry. **J. Sep. Sci.**, v. 42, p. 816–825, 2019.
- [37] LEE, J.; CHAN, B. L. S.; MITCHELL, A. E. Identification/quantification of free and bound phenolic acids in peel and pulp of apples (*Malus domestica*) using high resolution mass spectrometry (HRMS). **Food Chem.**, v. 215, p. 301–310, 2017.
- [38] KEČKEŠ, S.; GAŠIĆ, U.; VELIČKOVIĆ, T. Ć.; MILOJKOVIĆ-OPSENICA, D.; NATIĆ, M.; TEŠIĆ, Ž. The determination of phenolic profiles of Serbian unifloral honeys using ultra-high-performance liquid chromatography/high resolution accurate mass spectrometry. **Food Chem.**, v. 138, p. 32–40, 2013.
- [39] GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; VERARDO, V.; SEGURA-CARRETERO, A.; CABONI, M. F.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Development of a rapid method to determine phenolic and other polar compounds in walnut by capillary electrophoresis-electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. **J Chromatogr. A**, v. 1209, p. 238–245, 2008.

- [40] HURTADO-FERNÁNDEZ, E.; CONTRERAS-GUTIÉRREZ, P. K.; CUADROS-RODRÍGUEZ, L.; CARRASCO-PANCORBO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Merging a sensitive capillary electrophoresis-ultraviolet detection method with chemometric exploratory data analysis for the determination of phenolic acids and subsequent characterization of avocado fruit. **Food Chem.**, v. 141, p. 3492–3503, 2013.
- [41] YANG, X.; HAO, L.; ZHANG, S.; WANG, C.; WANG, Z. Sweeping-micelle to solvent stacking for the on-line preconcentration and determination of organic acids in *Angelica sinensis* by capillary electrophoresis. **RSC Adv.**, v. 8, p. 7949–7955, 2018.
- [42] LAHOUIDAK, S.; SALGHI, R.; ZOUGAGH, M.; RÍOS, A. Capillary electrophoresis method for the discrimination between natural and artificial vanilla flavor for controlling food frauds. **Electrophoresis**, v. 39, p. 1628–1633, 2018.
- [43] PARVEEN, S.; MEMON, S. Q.; SIYAL, A. N.; MEMON, N.; KHUHAWAR, M. Y. Large-volume sample stacking of rice polyphenols prior to their determination by non-aqueous capillary electrophoresis. **Food Anal. Methods**, v. 9, p. 2152–2160, 2016.
- [44] MAO, H.; ZHANG, Y.; CHEN, G. Determination of three phenolic acids in *Cimicifugae rhizoma* by capillary electrophoresis with a graphene – phenolic resin composite electrode. **Anal. Methods**, v. 11, p. 303–308, 2019.
- [45] PAULA, V. B.; ESTEVINHO, L. M.; DIAS, L. G. Quantification of three phenolic classes and total phenolic content of propolis extracts using a single UV-vis spectrum. **J. Apic. Res.**, v. 56, p. 569–580, 2017.
- [46] AGUILAR-HERNÁNDEZ, I.; AFSETH, N. K.; LÓPEZ-LUKE, T.; CONTRERAS-TORRES, F. F.; WOLD, J. P.; ORNELAS-SOTO, N. Surface enhanced Raman spectroscopy of phenolic antioxidants: A systematic evaluation of ferulic acid, *p*-coumaric acid, caffeic acid and sinapic acid. **Vib. Spectrosc.**, v. 89, p. 113–122, 2017.
- [47] WANG, Y.; WANG, Y.; LIU, H. A novel fluorescence and SPE adsorption nanomaterials of molecularly imprinted polymers based on quantum dot-grafted covalent organic frameworks for the high selectivity and sensitivity detection of ferulic acid. **Nanomaterials** v. 9, n. 305, 2019.

- [48] WANG, Z.; LONG, R.; PENG, M.; LI, T.; SHI, S. Molecularly Imprinted polymers-coated CdTe quantum dots for highly sensitive and selective fluorescent determination of ferulic acid. **J. Anal. Methods Chem.**, v. 2019, n. 1505878, 2019.
- [49] ŽIAK, Ľ.; SÁDECKÁ, J.; MÁJEK, P.; HROBOŇOVÁ, K. Simultaneous determination of phenolic acids and scopoletin in brandies using synchronous fluorescence spectrometry coupled with partial least squares. **Food. Anal. Methods**, v. 7, p. 563–570, 2014.
- [50] ABDOLMOHAMMAD-ZADEH, H.; MAHMOUDI-KORDI, F.; RAHMATI, M. Utilizing a nano-sorbent for the selective solid-phase extraction of vanillic acid prior to its determination by photoluminescence spectroscopy. **Luminescence**, v. 29, p. 1162–1168, 2014.
- [51] FU, Z.; LI, G.; HU, Y. Chemiluminescence of nitrogen-rich quantum dots in diperiodatoargentate(III) solution and its application in ferulic acid analysis. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 408, p. 8813–8820, 2016.
- [52] WANG, H. Y.; LI, Y. F.; HUANG, C. Z. Detection of ferulic acid based on the plasmon resonance light scattering of silver nanoparticles. **Talanta**, v. 72, p. 1698–1703, 2007.
- [53] ERADY, V.; MASCARENHAS, R. J.; SATPATI, A. K.; DETRICHE, S.; MEKHALIF, Z.; DALHALLE, J.; DHASON, A. Sensitive detection of ferulic acid using multi-walled carbon nanotube decorated with silver nano-particles modified carbon paste electrode. **J. Electroanal. Chem.**, v. 806, p. 22–31, 2017.
- [54] ZABIHPOUR, T.; SHAHIDI, S.-A.; KARIMI-MALEH, H.; GHORBANI-HASANSARAEI, A. An ultrasensitive electroanalytical sensor based on MgO/SWCNTs-1-Butyl-3-methylimidazolium bis(trifluoromethylsulfonyl)imide paste electrode for the determination of ferulic acid in the presence sulfite in food samples. **Microchem. J.**, v. 154, n. 104572, 2020.
- [55] LIU, L.; GOU, Y.; GAO, X.; ZHANG, P.; CHEN, W.; FENG, S.; HU, F.; LI, Y. Electrochemically reduced graphene oxide-based electrochemical sensor for the sensitive determination of ferulic acid in *A. sinensis* and biological samples. **Mater. Sci. Eng. C**, v. 42, p. 227–233, 2014.

- [56] KARIMI-MALEH, H.; FARAHMANDFAR, R.; HOSSEINPOUR, R.; ALIZADEH, J.; ABBASPOURRAD, A. Determination of ferulic acid in the presence of butylated hydroxytoluene as two phenolic antioxidants using a highly conductive food nanostructure electrochemical sensor. **Chem. Pap.**, v. 73, p. 2441–2447, 2019.
- [57] HAGHIGHI, B.; RAHMATI-PANAH, A.; SHLEEV, S.; GORTON, L. Carbon ceramic electrodes modified with laccase from *Trametes hirsuta*: Fabrication, characterization and their use for phenolic compounds detection. **Electroanalysis**, v. 19, p. 907–917, 2007.
- [58] GÓRSKI, Ł.; SORDOŃ, W.; JAKUBOWSKA, M. Voltammetric determination of ternary phenolic antioxidants mixtures with peaks separation by ICA. **J. Electrochem. Soc.**, v. 164, p. H42–H48, 2017.
- [59] CIEPIELA, F.; SORDOŃ, W.; JAKUBOWSKA, M. Principal components - based techniques in voltammetric determination of caffeic, syringic and vanillic acids. **Electroanalysis**, v. 28, p. 546–554, 2016.
- [60] APETREI, C.; APETREI, I. M.; SAJA, J. A. de; RODRIGUEZ-MENDEZ, M. L. Carbon paste electrodes made from different carbonaceous materials: Application in the study of antioxidants. **Sensors**, v. 11, p. 1328–1344, 2011.
- [61] SANGER, K.; ZÓR, K.; JENDRESEN, C. B.; HEISKANEN, A.; AMATO, L.; NIELSEN, A. T.; BOISEN, A. Lab-on-a-disc platform for screening of genetically modified *E. coli* cells via cell-free electrochemical detection of *p*-Coumaric acid. **Sens. Actuators B Chem.**, v. 253, p. 999–1005, 2017.
- [62] PELLE, F. D.; ROJAS, D.; SILVERI, F.; FERRARO, G.; FRATINI, E.; SCROCCARELLO, A.; ESCARPA, A.; COMPAGNONE, D. Class-selective voltammetric determination of hydroxycinnamic acids structural analogs using a WS₂/catechin-capped AuNPs/carbon black-based nanocomposite sensor. **Microchim. Acta**, v. 187, n. 296, 2020.
- [63] ŞENOCAK, A. Fast, simple and sensitive determination of coumaric acid in fruit juice samples by magnetite nanoparticles-zeolitic imidazolate framework material. **Electroanalysis**, v. 32, p. 2330–2339, 2020.
- [64] STRADIOTTO, N. R.; YAMANAKA, H.; ZANONI, M. V. B. Electrochemical sensors: A powerful tool in analytical chemistry. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, p.159–173, 2003.

- [65] MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Anal. Chem.**, v. 47, p. 1882–1886, 1975.
- [66] LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Electrochemical sensors: fundamentals and applications in microenvironments. **Quim. Nova**, v. 29, p. 1318–1325, 2006.
- [67] LANE, R. F.; HUBBARD, A. T.; Electrochemistry of chemisorbed molecules. I. Reactants connected to electrodes through olefinic substituents. **J. Phys. Chem.**, v. 77, p. 1401–1410, 1975.
- [68] WATKINS, B. F.; BEHLING, J. R.; KARIV, E.; MILLER, L. L. A Chiral Electrode. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 97, p. 3549–3550, 1975.
- [69] TALEAT, Z.; KHOSHROO, A.; MAZLOUM-ARDAKANI, M. Screen-printed electrodes for biosensing: a review (2008–2013). **Microchim. Acta**, v. 181, p. 865–891, 2014.
- [70] NASCIMENTO, V. B.; ANGNES, L. Eletrodos fabricados por “silk-screen”. **Quim. Nova**, v. 21, p. 614–629, 1998.
- [71] PÉREZ-FERNÁNDEZ, B.; COSTA-GARCÍA, A.; ESCOSURA- MUÑIZ, A. de la. Electrochemical (bio)sensors for pesticides detection using screen-printed electrodes. **Biosensors**, v. 10, n. 32, 2020.
- [72] MOHAMED, H. M. Screen-printed disposable electrodes: Pharmaceutical applications and recent developments. **Trends Anal. Chem.**, v. 82, p. 1–11, 2016.
- [73] BELUOMINI, M. A.; SILVA, J. L. da; SÁ, A. C. de; BUFFON, E.; PEREIRA, T. C.; STRADIOTTO, N. R. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymer on nanostructured carbon materials: A review. **J. Electroanal. Chem.**, v. 840, p. 343–366, 2019.
- [74] MOREIRA, L. F. P. P.; BUFFON, E.; SÁ, A. C. de; STRADIOTTO, N. R. Fructose determination in fruit juices using an electrosynthesized molecularly imprinted polymer on reduced graphene oxide modified electrode. **Food Chem.**, v. 352, n. 129430, 2021.
- [75] BELUOMINI, M. A.; SILVA, J. L. da; STRADIOTTO, N. R. Amperometric determination of myo-inositol by using a glassy carbon electrode modified with molecularly imprinted polypyrrole, reduced graphene oxide and nickel nanoparticles. **Microchim. Acta**, v. 185, n. 170, 2018.

- [76] BELUOMINI, M. A.; SILVA, J. L. da; SEDENHO, G. C.; STRADIOTTO, N. R. D-mannitol sensor based on molecularly imprinted polymer on electrode modified with reduced graphene oxide decorated with gold nanoparticles. **Talanta**, v. 165, p. 231–239, 2017.
- [77] MOREIRA, L. F. P. P.; BUFFON, E.; STRADIOTTO, N. R. Electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and molecularly imprinted poly(phenol) for D-xylose determination. **Talanta**, v. 208, n. 120379, 2020.
- [78] SILVA, J. L. da; BUFFON, E.; BELUOMINI, M. A.; PRADELA-FILHO, L. A.; ARAÚJO, D. A. G.; SANTOS, A. L.; TAKEUCHI, R. M.; STRADIOTTO, N. R. Non-enzymatic lactose molecularly imprinted sensor based on disposable graphite paper electrode. **Anal. Chim. Acta**, v. 1143, p. 53–64, 2021.
- [79] FALONE, M. F.; BUFFON, E.; STRADIOTTO, N. R. Molecularly imprinted electrochemical sensor for monitoring mercaptan sulfur in aviation biofuel. **Fuel**, v. 307, n. 121783, 2022.
- [80] BUFFON, E.; STRADIOTTO, N. R. Electrochemical sensor based on molecularly imprinted poly(ortho-phenylenediamine) for determination of hexahydrofarnesol in aviation biokerosene. **Sens. Actuators B Chem.**, v. 287, p. 371–379, 2019.
- [81] PEREIRA, T. C.; STRADIOTTO, N. R. Electrochemical sensing of lactate by using an electrode modified with molecularly imprinted polymers, reduced graphene oxide and gold nanoparticles. **Microchim. Acta**, v. 186, n. 764, 2019.
- [82] MARIANO, T. M.; BELUOMINI, M. A.; STRADIOTTO, N. R. Molecularly imprinted polypyrrole on glassy carbon electrode modified with reduced graphene oxide and gold nanoparticles for isoamyl alcohol analysis in fusel oil. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 32, p. 249–259, 2021.
- [83] TADYSZAK, K.; WYCHOWANIEC, J. K.; LITOWCZENKO, J. Biomedical applications of graphene-based structures. **Nanomaterials**, v. 8, n. 944, 2018.
- [84] SHAO, Y.; WANG, J.; WU, H.; LIU, J.; AKSAY, I. A.; LIN, Y. Graphene based electrochemical sensors and biosensors: A review. **Electroanalysis**, v. 22, p. 1027–1036, 2010.
- [85] RATINAC, K. R.; YANG, W.; GOODING, J. J.; THORDARSON, P.; BRAET, F. Graphene and related materials in electrochemical sensing. **Electroanalysis**, v. 23, p. 803–826, 2011.

- [86] ZHANG, C.; ZHAO, F.; SHE, Y.; HONG, S.; CAO, X.; ZHENG, L.; WANG, S.; LI, T.; WANG, M.; JIN, M.; JIN, F.; SHAO, H.; WANG, J. A disposable molecularly imprinted sensor based on Graphene@AuNPs modified screen-printed electrode for highly selective and sensitive detection of cyhexatin in pear samples. **Sens. Actuators B Chem.**, v. 284, p. 13–22, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.12.075>.
- [87] AUFFAN, M.; ROSE, J.; BOTTERO, J.-Y.; LOWRY, G. V.; JOLIVET J.-P.; WIESNER, M. R. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. **Nat. Nanotechnol.**, v. 4, p. 634–641, 2009.
- [88] WELCH, C. M.; COMPTON, R. G. The use of nanoparticles in electroanalysis: a review. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 384, p. 601–619, 2006.
- [89] CAMPBELL, F. W.; COMPTON, R. G. The use of nanoparticles in electroanalysis: An updated review. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 396, p. 241–259, 2010.
- [90] SAHA, K.; AGASTI, S. S.; KIM, C.; LI, X.; ROTELLO, V. M. Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. **Chem. Rev.**, v. 112, p. 2739–2779, 2012.
- [91] KARIMZADEH, I.; AGHAZADEH, M.; DOROUDI, T.; GANJALI, M. R.; KOLIVAND, P. H. Superparamagnetic iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles coated with PEG/PEI for biomedical applications: A facile and scalable preparation route based on the cathodic electrochemical deposition method. **Adv. Phys. Chem.**, v. 2017, n. 9437487, 2017.
- [92] SHARIFI, E.; SALIMI, A.; SHAMS, E.; NOORBAKHS, A.; AMINI, M. K. Shape-dependent electron transfer kinetics and catalytic activity of NiO nanoparticles immobilized onto DNA modified electrode: Fabrication of highly sensitive enzymeless glucose sensor. **Biosens. Bioelectron.**, v. 56, p. 313–319, 2014.
- [93] MALITESTA, C.; MAZZOTTA, E.; PICCA, R. A.; POMA, A.; CHIANELLA, I.; PILETSKY, S. A. MIP sensors – the electrochemical approach. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 402, p. 1827–1846, 2012.
- [94] HILT, J. Z.; BYRNE, M. E. Configurational biomimesis in drug delivery: molecular imprinting of biologically significant molecules. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 56, p. 1599–1620, 2004.

- [95] REBELO, P.; COSTA-RAMA, E.; SEGURO, I.; PACHECO, J. G.; NOUWS, H. P. A.; CORDEIRO, M. N. D. S.; DELERUE-MATOS, C. Molecularly imprinted polymer-based electrochemical sensors for environmental analysis. **Biosens. Bioelectron.**, v. 172, n. 112719, 2021.
- [96] SHARMA, P. S.; PIETRZYK-LE, A.; D'SOUZA, F.; KUTNER, W. Electrochemically synthesized polymers in molecular imprinting for chemical sensing. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 402, p. 3177–3204, 2012.
- [97] FEIER, B.; BLIDAR, A.; PUSTA, A.; CARCIUC, P.; CRISTEA, C. Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer for the detection of cefalexin. **Biosensors**, v. 9, n. 31, 2019.
- [98] GLIGA, L.-E.; IACOB, B.-C.; CHEȘCHEȘ, B.; FLOREA, A.; BARBU-TUDORAN, L.; BODOKI, E.; OPREAN, R. Electrochemical platform for the detection of adenosine using a sandwich-structured molecularly imprinted polymer-based sensor. **Electrochim. Acta**, v. 354, n. 136656, 2020.
- [99] QADER, B.; BARON, M.; HUSSAIN, I.; SEVILLA, J. M.; JOHNSON, R. P.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, J. Electrochemical determination of disulfoton using a molecularly imprinted poly-phenol polymer. **Electrochim. Acta**, v. 295, p. 333–339, 2019.
- [100] BEYTUR, M.; KARDAŞ, F.; AKYILDIRIM, O.; ÖZKAN, A.; BANKOĞLU, B.; YÜKSEK, H.; YOLA, M. L.; ATAR, N. A highly selective and sensitive voltammetric sensor with molecularly imprinted polymer based silver@gold nanoparticles/ionic liquid modified glassy carbon electrode for determination of ceftizoxime. **J. Mol. Liq.**, v. 251, p. 212–217, 2018.
- [101] YOLA, M. L.; ATAR, N. A novel detection approach for serotonin by graphene quantum dots/two-dimensional (2D) hexagonal boron nitride nanosheets with molecularly imprinted polymer. **Appl. Surf. Sci.**, v. 458, p. 648–655, 2018.
- [102] PACHECO, J. G.; REBELO, P.; FREITAS, M.; NOUWS, H. P. A.; DELERUE-MATOS, C. Breast cancer biomarker (HER2-ECD) detection using a molecularly imprinted electrochemical sensor. **Sens. Actuators B Chem.**, v. 273, p. 1008–1014, 2018.
- [103] RIBEIRO, J. A.; PEREIRA, C. M.; SILVA, A. F.; SALES, M. G. F. Electrochemical detection of cardiac biomarker myoglobin using polyphenol as imprinted polymer receptor. **Anal. Chim. Acta**, v. 981, p. 41–52, 2017.

- [104] PRASAD, B. B.; PANDEY, I. Electrochemically imprinted molecular recognition sites on multiwalled carbon-nanotubes/pencil graphite electrode surface for enantioselective detection of D- and L-aspartic acid. **Electrochim. Acta**, v. 88, p. 24–34, 2013.
- [105] LEITE, F. R. F.; SANTOS, W. de J. R.; KUBOTA, L. T. Selective determination of caffeic acid in wines with electrochemical sensor based on molecularly imprinted siloxanes. **Sens. Actuators B Chem.**, v. 193, p. 238–246, 2014.
- [106] YE, C.; CHEN, X.; XU, J.; XI, H.; WU, T.; DENG, D.; ZHANG, J.; HUANG, G. Highly sensitive detection to gallic acid by polypyrrole-based MIES supported by MOFs-Co²⁺@Fe₃O₄. **J. Electroanal. Chem.**, v. 859, n. 113839, 2020.
- [107] SHOJAEI, S.; NASIRIZADEH, N.; ENTEZAM, M.; KOOSHA, M.; AZIMZADEH M. An Electrochemical nanosensor based on molecularly imprinted polymer (MIP) for detection of gallic acid in fruit juices. **Food Anal. Methods**, v. 9, p. 2721–2731, 2016.
- [108] YANG, T.; ZHANG, Q.; CHEN, T.; WU, W.; TANG, X.; WANG, G.; FENG, J.; ZHANG, W. Facile potentiometric sensing of gallic acid in edible plants based on molecularly imprinted polymer. **J. Food Sci.**, v. 85, p. 2622–2628, 2020.
- [109] JARA-ULLOA, P.; SALGADO-FIGUEROA, P.; MOSCOSO, R.; SQUELLA, J. A. Polypyrrole molecularly imprinted modified glassy carbon electrode for the recognition of gallic acid. **J. Electrochem. Soc.**, v. 160, p. H243–H246, 2013.
- [110] KRÖGER, S.; TURNER, A. P. F.; MOSBACH, K.; HAUPT, K. Imprinted polymer-based sensor system for herbicides using differential-pulse voltammetry on screen-printed electrodes. **Anal. Chem.**, v. 71, p. 3698–3702, 1999.
- [111] WHITCOMBE, M. J.; CHIANELLA, I.; LARCOMBE, L.; PILETSKY, S. A.; NOBLE, J.; PORTER, R.; HORGAN, A. The rational development of molecularly imprinted polymer-based sensors for protein detection. **Chem. Soc. Rev.**, v. 40, p. 1547–1571, 2011.
- [112] MA, Y.-Q.; CHEN, J.-C.; LIU, D.-H.; YE, X.-Q. Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. **Ultrason. Sonochem.**, v. 16, p. 57–62, 2009.
- [113] ANAL, A. K.; JAISANTI, S.; NOOMHORM, A. Enhanced yield of phenolic extracts from banana peels (*Musa acuminata* Colla AAA) and cinnamon barks (*Cinnamomum varum*) and their antioxidative potentials in fish oil. **J. Food. Sci. Technol.**, v. 51, p. 2632–2639, 2014.

- [114] BUFFON, E.; STRADIOTTO, N. R. A molecularly imprinted polymer on reduced graphene oxide-gold nanoparticles modified screen-printed electrode for selective determination of ferulic acid in orange peels. **Microchem. J.**, v. 167, n. 106339, 2021.
- [115] EISSA, S.; ZOUROB, M. Competitive voltammetric morphine immunosensor using a gold nanoparticle decorated graphene electrode. **Microchim. Acta**, v. 184, p. 2281–2289, 2017.
- [116] WANG, Y.; LABORDA, E.; CROSSLEY, A.; COMPTON, R. G. Surface oxidation of gold nanoparticles supported on a glassy carbon electrode in sulphuric acid medium: contrasts with the behaviour of “macro” gold. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 15, p. 3133–3136, 2013.
- [117] BAO, L.; XIONG, R.; WEI, G. Electrochemical polymerization of phenol on 304 stainless steel anodes and subsequent coating structure analysis. **Electrochim. Acta**, v. 55, p. 4030–4038, 2010.
- [118] LORENZO, R. A.; CARRO, A. M.; ALVAREZ-LORENZO, C.; CONCHEIRO, A. To remove or not to remove? The challenge of extracting the template to make the cavities available in molecularly imprinted polymers (MIPs). **Int. J. Mol. Sci.**, v. 12, p. 4327–4347, 2011.
- [119] BUFFON, E.; HUGUENIN, J. A. O.; SILVA L. da; CARNEIRO, P. A.; STRADIOTTO, N. R. Spectroscopic ellipsometry studies of an electrochemically synthesized molecularly imprinted polymer for the detection of an aviation biokerosene contaminant. **React. Funct. Polym.**, v. 155, n. 104698, 2020.
- [120] MOREIRA, F. T. C.; SHARMA, S.; DUTRA, R. A. F.; NORONHA, J. P. C.; CASS, A. E. G.; SALES, M. G. F. Protein-responsive polymers for point-of-care detection of cardiac biomarker. **Sens. Actuators B Chem.**, v. 196, p. 123–132, 2014.
- [121] PEDROSO, M. M.; FOGUEL, M. V.; SILVA, D. H. S.; SOTOMAYOR, M. del P. T.; YAMANAKA, H. Electrochemical sensor for dodecyl gallate determination based on electropolymerized molecularly imprinted polymer. **Sens. Actuators B Chem.**, v. 253, p. 180–186, 2017.
- [122] BUFFON, E.; STRADIOTTO, N. R. Using a disposable platform based on reduced graphene oxide, iron nanoparticles and molecularly imprinted polymer for voltammetric determination of vanillic acid in fruit peels. **Food Chem.**, v. 397, n. 133786, 2022.

- [123] GVOZDENOVIĆ, M. M.; JUGOVIĆ, B. Z.; STEVANOVIĆ, J. S.; GRGUR, B. N. Electrochemical synthesis of electroconducting polymers. **Hem. Ind.**, v. 68, p. 673–684, 2014.
- [124] WALLACE, G. G.; TEASDALE, P. R.; SPINKS, G. M.; KANE-MAGUIRE, L. A. P. **Conductive electroactive polymers: Intelligent polymer systems**. 3rd ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2009. 263 p.
- [125] ZHANG, X.; ZHANG, D.-C.; CHEN, Y.; SUN, X.-Z.; MA, Y.-W. Electrochemical reduction of graphene oxide films: Preparation, characterization and their electrochemical properties. **Chinese Sci. Bull.**, v. 57, p. 3045–3050, 2012.
- [126] GLARIA, A.; SOULÉ, S.; HALLALI, N.; OJO, W. S.; MIRJOLET, M.; FUKS, G.; CORNEJO, A.; ALLOUCHE, J.; DUPLIM, J. C.; MARTINEZ, H.; CARREY, J.; CHAUDRET, B.; DELPECH, F.; LACHAIZE, S.; NAYRAL, C. Silica coated iron nanoparticles: Synthesis, interface control, magnetic and hyperthermia properties. **RSC Adv.**, v. 8, p. 32146–32156, 2018.
- [127] AYALA-DURÁN, S. C.; HAMMER, P.; NOGUEIRA, R. F. P. Surface composition and catalytic activity of an iron mining residue for simultaneous degradation of sulfonamide antibiotics. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 27, p. 1710–1720, 2020.
- [128] BUFFON, E.; STRADIOTTO, N. R. Disposable *p*-coumaric acid sensor containing reduced graphene oxide, nickel nanoparticles and biodegradable molecularly imprinted polymer for fruit peel analysis. **J. Food Compost. Anal.**, v. 118, n. 105186, 2023.
- [129] ZHANG, Y.; DONG, K.; LIU, Z.; WANG, H.; MA, S.; ZHANG, A.; LI, M.; YU, L.; LI, Y. Sulfurized hematite for photo-Fenton catalysis. **Prog. Nat. Sci. Mater. Int.**, v. 27, p. 443–451, 2017.
- [130] CHIA-CHING, W.; CHENG-FU, Y. Investigation of the properties of nanostructured Li-doped NiO films using the modified spray pyrolysis method. **Nanoscale Res. Lett.**, v. 8, n. 33, 2013.
- [131] GROSVENOR, A. P.; BIESINGER, M. C.; SMART, R. S. C.; MCINTYRE, N. S. New interpretations of XPS spectra of nickel metal and oxides. **Surf. Sci.**, v. 600, p. 1771–1779, 2006.

APÊNDICE A – COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DOS ANALITOS SOBRE OS ELETRODOS PROPOSTOS

A1. Comportamento eletroquímico do ácido ferúlico sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs

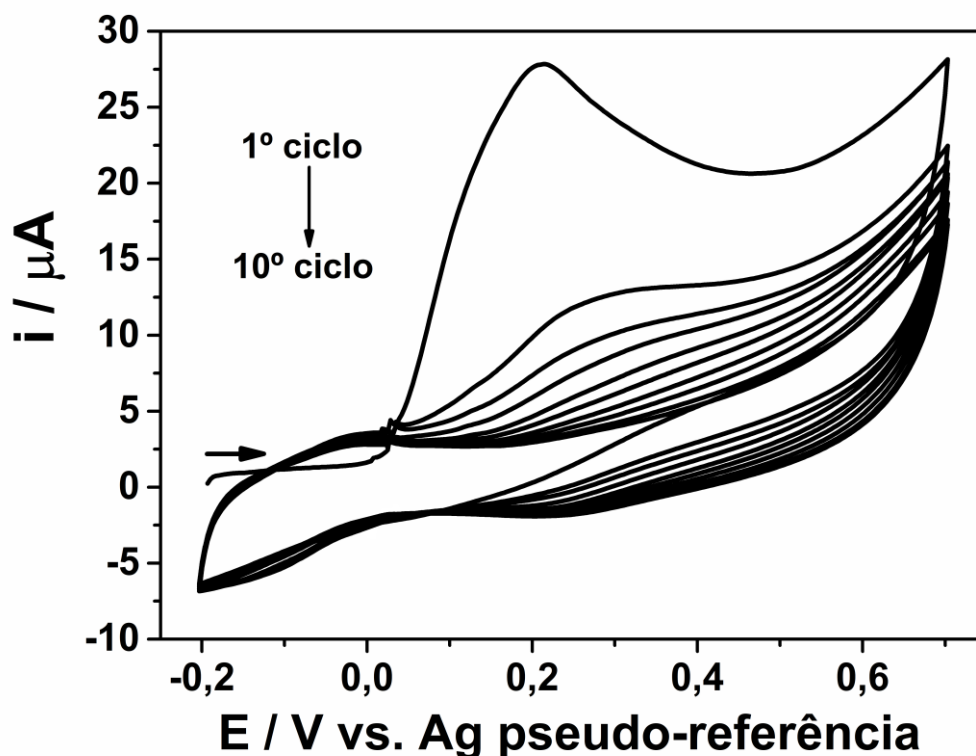


Figura A1.1 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs utilizando uma solução de PB (0,10 mol L⁻¹; pH 7,0) contendo FA 1,0×10⁻³ mol L⁻¹.

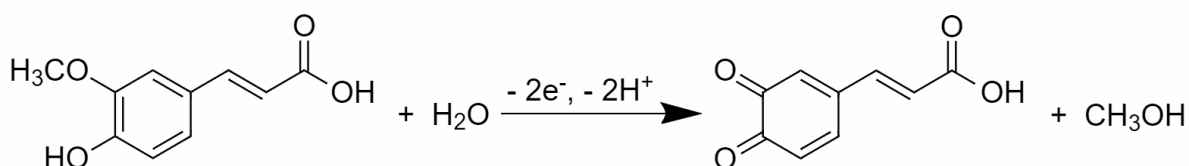


Figura A1.2 – Reação proposta para a eletrooxidação de FA sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-AuNPs.

A2. Comportamento eletroquímico do ácido vanílico sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs

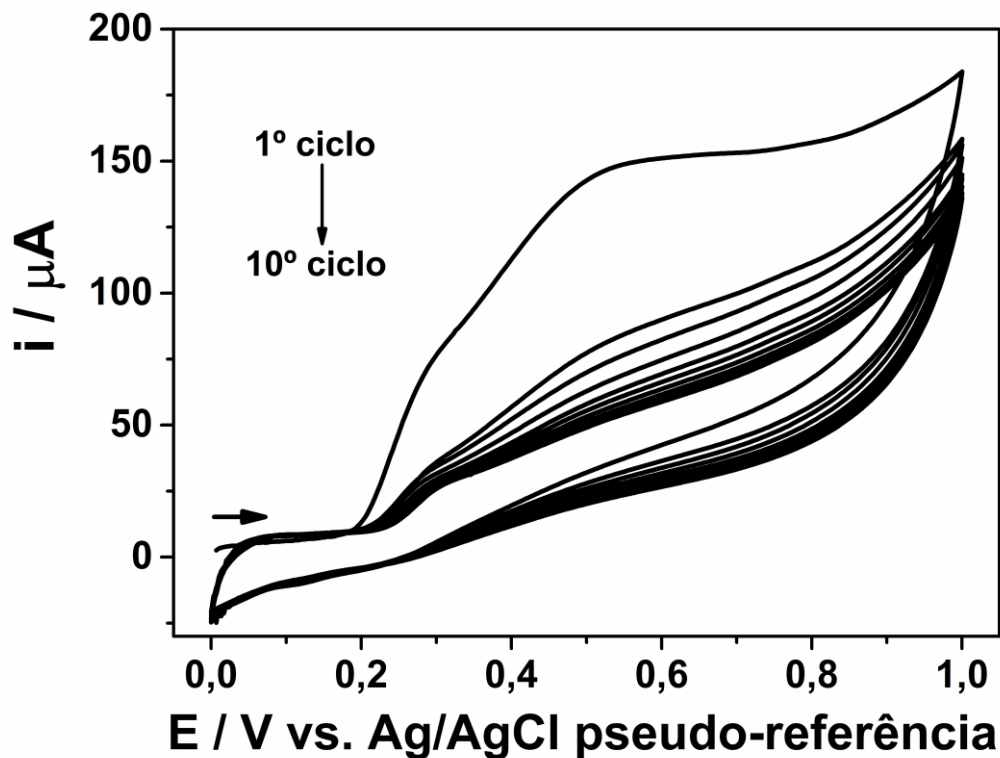


Figura A2.1 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs utilizando uma solução de PB (0,10 mol L⁻¹; pH 7,0) contendo VA 1,0×10⁻³ mol L⁻¹.

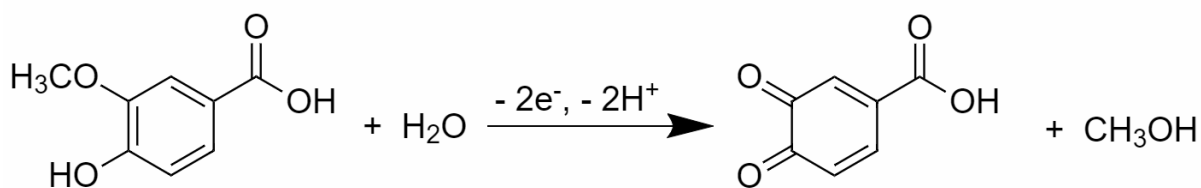


Figura A2.2 – Reação proposta para a eletrooxidação de VA sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-FeNPs.

A3. Comportamento eletroquímico do ácido *p*-cumárico sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs

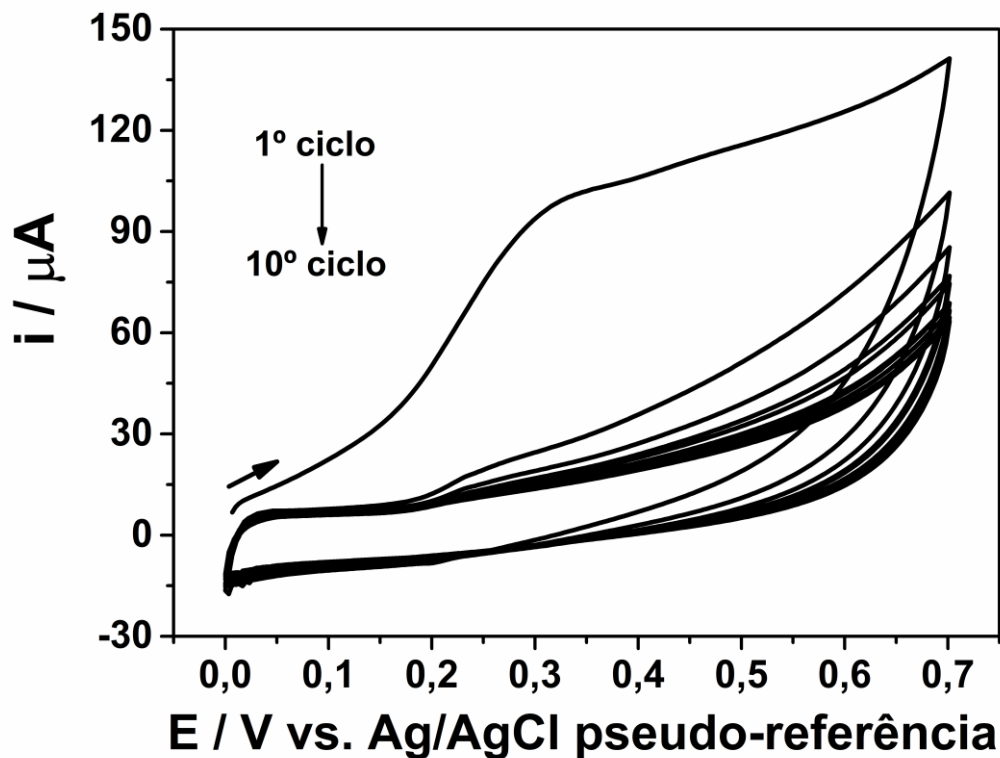


Figura A3.1 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs utilizando uma solução de PB (0,10 mol L⁻¹; pH 7,0) contendo *p*-CA 1,0×10⁻³ mol L⁻¹.

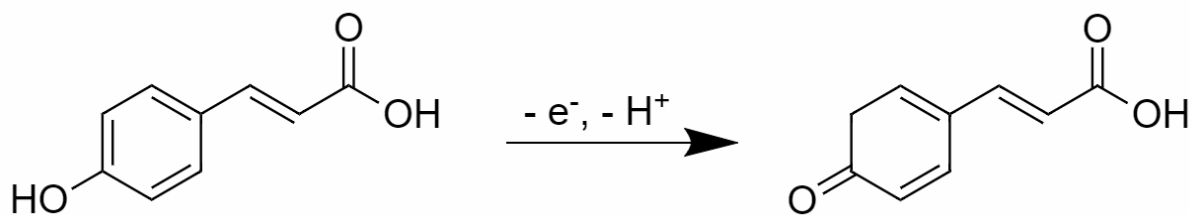


Figura A3.2 – Reação proposta para a eletrooxidação de *p*-CA sobre a superfície do eletrodo SPE(a)/rGO-NiNPs.