

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

**Instituto de Biociências de Botucatu**

**Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia**

Desenvolvimento de Nanocompósito à Base de  
Nanocelulose Bacteriana, Nanotubos de carbono e  
Nanopartículas de Prata na Modificação de Sensor  
Eletroquímico para Determinação de Furosemida

Gloria Tersis Vieira dos Santos

**Botucatu**

**2026**

GLORIA TERSIS VIEIRA DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para  
obtenção do título de Mestre no Programa de Pós  
Graduação em Biotecnologia.  
Área de concentração: Biotecnologia Ambiental.  
Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ivana Cesarino.

**Botucatu**  
**2026**

***Ficha Catalográfica***

---

**Sistema de geração automática de fichas catalográficas**

---

Santos, Gloria Tersis Vieira dos

Desenvolvimento de nanocompósito à base de nanocelulose bacteriana, nanotubos de carbono e nanopartículas de prata na modificação de sensor eletroquímico para determinação de furosemida [recurso eletrônico] / Gloria Tersis Vieira dos Santos. — Botucatu, 2026.

71 p. ; PDF ; 5000kB : fotos color.

Recurso educacional derivado de dissertação em Biotecnologia - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu. Orientado por Ivana Cesarino Leão.

1. Detectores eletroquímicos 2. Materiais nanoestruturados 3. Análise eletroquímica 4. Compósitos nanoestruturados 5. Fármacos

---



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



### **CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** Desenvolvimento de Nanocompósitos à Base de Nanocelulose Bacteriana, Nanotubos de carbono e Nanopartículas de Prata na Modificação de Sensores Eletroquímicos para Determinação de Furosemida

**AUTORA:** GLORIA TERSIS VIEIRA DOS SANTOS

**ORIENTADORA:** IVANA CESARINO LEÃO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Biotecnologia, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. IVANA CESARINO LEÃO (Participação Presencial)  
Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia / UNESP / Câmpus de Botucatu - FCA

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> KARINE CAPPUCCIO DE CASTRO MAGALHÃES (Participação Presencial)  
Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia / UNESP / Câmpus de Botucatu - FCA

Pós-doutorando MARTIN KÁSSIO LEME DA SILVA (Participação Presencial)  
Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia / UNESP / Câmpus de Botucatu - FCA

Botucatu, 08 de maio de 2026.



Renan Codeco da Silva

Assistente Técnico Administrativo I da Seção Técnica de Pós-Graduação  
Instituto de Biociências de Botucatu

Instituto de Biociências - Câmpus de Botucatu

Rua Doutor Antonio Celso Wagner Zanin, s/nº, 18618-680

<https://www.ibb.unesp.br/ensino/pos-graduacao/programas-stricto-sensu/biotecnologia/> - CNPJ: 48031918002250.

## ***Contextualização Biotecnológica e Social***

A crescente demanda por soluções sustentáveis tem impulsionado o uso de materiais obtidos a partir de fontes renováveis, especialmente no contexto da biotecnologia e da química verde. Nesse cenário, o desenvolvimento de rotas de síntese mais sustentáveis torna-se essencial para minimizar o uso de reagentes tóxicos e reduzir os impactos ambientais associados aos processos convencionais.

Paralelamente, o elevado consumo de cerveja em escala global gera grandes quantidades de resíduos agroindustriais, os quais representam um desafio ambiental, mas também uma oportunidade para valorização. A utilização desses resíduos como matéria-prima para a produção de materiais de alto valor agregado, como a nanocelulose bacteriana, tem despertado crescente interesse científico. Esse biopolímero apresenta propriedades relevantes, como biocompatibilidade e elevada área superficial, possibilitando sua aplicação em diversas áreas, incluindo a biomédica e o desenvolvimento de compósitos avançados.

No âmbito da saúde, a furosemida é um fármaco amplamente utilizado no tratamento de condições clínicas, como hipertensão e edemas, sendo importante o monitoramento de sua concentração para garantir eficácia terapêutica e segurança. Além disso, essa substância também é utilizada de forma indevida por atletas para mascarar o uso de compostos ilícitos, o que reforça a necessidade de métodos rápidos, sensíveis e confiáveis para sua detecção.

Diante desse contexto, o presente trabalho propõe o desenvolvimento de um sensor eletroquímico modificado com um nanocompósito obtido a partir de materiais derivados de resíduos agroindustriais, empregando rotas de síntese em meio aquoso. Essa abordagem visa não apenas a valorização de resíduos, mas também a obtenção de um dispositivo de alto valor agregado, com potencial aplicação na detecção rápida e eficiente de furosemida.

## **Agradecimentos**

Primeiramente, agradeço à Deus por todas as bênçãos em minha vida e pelas oportunidades. Agradeço aos meus pais, Jailson e Gabriella, por tudo que sempre fizeram por mim. Graças a eles, posso estar evoluindo e aprendendo um pouco mais a cada dia. Meu amor por vocês é infinito.

Agradeço às minhas amigas de infância, Adriane, Juliana e Luiza por sempre me darem apoio e não me deixarem desistir nunca.

Agradeço aos meus grandes amigos de Mestrado, Luís Guilherme e Aline por serem companheiros de dificuldades da vida e de pós-graduação, as longas conversas que tivemos foi fundamental durante esse período.

Agradeço imensamente à professora Ivana e aos companheiros de laboratório, Martin e Francisco, por me ensinarem tanto durante todos esses anos. Agradeço a todos do Laboratório de Eletroquímica e Nanotecnologia (LEN).

Agradeço ao meu namorado Matheus por estar tornando minha vida mais leve, mesmo em tempos difíceis durante o projeto, lembrando-me que tudo vai valer a pena quando for Mestra em Biotecnologia.

Agradeço à toda minha família e à família Benvindo por estarem sempre me dando apoio nos meus estudos.

Agradeço à UNESP, IBB e LACEM pela oportunidade de cursar o mestrado e pela estrutura para que eu pudesse desenvolver a pesquisa.

Agradeço à CAPES pelo financiamento e agradeço à FAPESP pelo financiamento de equipamentos e materiais do laboratório.

Sou grata à Prof. Quan He e à Mitacs pela oportunidade de estudar na Dalhousie University no Canadá durante o período do mestrado. Foi um sonho que pude realizar ao ser contemplada com o Globalink Research Award.

E por fim, agradeço a mim mesma por toda força e resiliência, aprendendo por erros e acertos tudo que desenvolvi nesse projeto de mestrado e conseguido desenvolver uma síntese verde a partir de um resíduo. Sei que ainda virá muito mais aprendizado pela vida e sou grata a isso.

*“A maior glória em viver não está em jamais cair,  
mas em nos levantar cada vez que caímos.”*

*Nelson Mandela*

## RESUMO

Neste trabalho, foi desenvolvido e avaliado um nanocompósito sustentável à base de nanotubos de carbono (MWCNTs), nanocelulose bacteriana (BNC) e nanopartículas de prata (AgNPs) (MWCNTs/BNC-AgNPs) para a determinação eletroquímica de furosemida (FUR). A nanocelulose bacteriana, obtida de resíduo cervejeiro, atuou como agente dispersante e suporte para a ancoragem das nanopartículas, reduzindo a aglomeração dos nanotubos de carbono e melhorando o desempenho eletroquímico. O nanocompósito foi sintetizado em água ultrapura, sem uso de surfactantes, e utilizado na modificação de eletrodos de carbono vítreo (GC). A caracterização morfológica e estrutural foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS), enquanto o comportamento eletroquímico foi investigado por impedância eletroquímica (EIS), voltametria cíclica (CV) e voltametria de pulso diferencial (DPV) em sistema de três eletrodos. A quantificação da furosemida foi avaliada em solução tampão fosfato (PBS) (pH 3,0) com otimização das condições analíticas. O sensor apresentou resposta linear na faixa de 5,0 a 65,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com limites de detecção e quantificação de 0,19  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,64  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Foi avaliada em urina sintética, em que se obteve a recuperação de 108 e 110% da FUR, e na presença de interferentes estriol e cobre, variou entre 85,71 a 96,96%. Os resultados demonstram que a nanocelulose bacteriana derivada de resíduos é uma alternativa promissora para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos sustentáveis, favorecendo a dispersão dos nanotubos de carbono e potencial para a detecção eficiente da furosemida em matrizes biológicas.

**Palavras-chave:** *eletroanalítica, nanomateriais, compósito, fármacos, nanopartículas metálicas*

## ABSTRACT

In this study, a sustainable nanocomposite based on multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs), bacterial nanocellulose (BNC), and silver nanoparticles (AgNPs) (MWCNTs/BNC-AgNPs) was developed and evaluated for the electrochemical determination of furosemide (FUR). Bacterial nanocellulose, obtained from brewery waste, acted as a dispersing agent and support for anchoring the silver nanoparticles, reducing the agglomeration of carbon nanotubes and improving the electrochemical performance. The nanocomposite was synthesized in ultrapure water without the use of surfactants and employed to modify glassy carbon (GC) electrodes. Morphological and structural characterization was performed by scanning electron microscopy (SEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS), while the electrochemical behavior was investigated by electrochemical impedance spectroscopy (EIS), cyclic voltammetry (CV), and differential pulse voltammetry (DPV) using a three-electrode system. The quantification of furosemide was carried out in phosphate-buffered saline (PBS, pH 3.0) after optimization of the analytical conditions. The sensor exhibited a linear response over the concentration range from 5.0 to 65.0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , with limits of detection and quantification of 0.19  $\mu\text{mol L}^{-1}$  and 0.64  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectively. The sensor performance was evaluated in synthetic urine, providing recovery values of 108% and 110% for furosemide. In the presence of the interferents estriol and copper, recoveries ranged from 85.71% to 96.96%. The results demonstrate that bacterial nanocellulose derived from brewery waste is a promising alternative for the development of sustainable electrochemical sensors, promoting the dispersion of carbon nanotubes and enabling the efficient detection of furosemide in biological matrices.

**Keywords:** *electroanalysis, nanomaterials, composite, pharmaceuticals, metallic nanoparticles.*

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Reagentes para preparo de 250 mL de solução fosfato PBS 0,2 mol L <sup>-1</sup> em função do pH. ....                                                                                                                                                   | 30 |
| Tabela 2. Quantidades do sal de prata e BNC adicionadas para síntese dos nanocompósitos contendo 20 mg de MWCNTs. ....                                                                                                                                            | 53 |
| Tabela 3. Limites de detecção obtidos para a furosemida em outros trabalhos. ....                                                                                                                                                                                 | 61 |
| Tabela 4. Estudo de recuperação de FUR em urina sintética utilizando o sensor eletroquímico proposto. São apresentadas as concentrações adicionadas, os valores experimentalmente determinados (média ± desvio padrão, n = 3) e as respectivas recuperações. .... | 62 |
| Tabela 5. Recuperação de furosemida (5,0 µmol L <sup>-1</sup> ) na presença de estriol e íons cobre em diferentes níveis de concentração (2,5; 5,0 e 10,0 µmol L <sup>-1</sup> ), correspondentes a razões molares de 1:2, 1:1 e 2:1 em relação à FUR. ....       | 63 |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Levedura residual da fermentação da cerveja.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 31 |
| Figura 2. BNC em: (A) em meio de cultivo bacteriano, (B) após as etapas de lavagem, (C) liofilizada, (D) BNC já moída em peneira granulométrica.....                                                                                                                                                                                                                       | 32 |
| Figura 3. MWCNTs funcionalizados e filtrados em membrana.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 33 |
| Figura 4. Compósito de MWCNTs/BNC-AgNPs.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 34 |
| Figura 5. Eletrodos GC modificados com os nanocompósitos: (A) ao ser gotejado 10 $\mu\text{L}$ da suspensão e (B) após secagem. ....                                                                                                                                                                                                                                       | 35 |
| Figura 6. Voltamogramas cíclicos obtidos com velocidade de $100 \text{ mV s}^{-1}$ para (a) GC, (b) GC/MWCNTs, (c) GC/MWCNTs/BNC com 2 mg de BNC e (d) 4 mg de BNC, sínteses feitas em etanol, em uma solução de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ..... | 38 |
| Figura 7. Resultados de EIS obtidos em solução de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ para os eletrodos GC modificados com os nanocompósitos sintetizados em etanol. ....                                                                                  | 40 |
| Figura 8. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos na presença de FUR $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução PBS $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) para as sínteses MWCNTs/BNC-AgNPs realizadas em água ultrapura em comparação com MWCNTs-AgNPs, com 8 mg $\text{AgNO}_3$ . ....                                                                                          | 42 |
| Figura 9. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos na presença de FUR $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução PBS $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) para a síntese do nanocompósito MWCNTs/BNC-AgNPs em etanol com surfactante SDS e sintetizado em água sem SDS. ....                                                                                                      | 43 |
| Figura 10. Imagens de MEV dos nanocompósitos (A, B, C) MWCNTs-AgNPs e (D, E) MWCNTs/BNC-AgNPs sintetizados.....                                                                                                                                                                                                                                                            | 45 |
| Figura 11. (A) Espectroscopia por dispersão de elétrons (EDS) e (B) histograma do tamanho das nanopartículas de prata no nanocompósito MWCNTs/BNC-AgNPs....                                                                                                                                                                                                                | 46 |
| Figura 12. Mapeamento elemental do nanocompósito de MWCNTs/BNC-AgNPs. ...                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 47 |
| Figura 13. Voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos GC, GC/MWCNTs/BNC e GC/MWCNTs/BNC-AgNPs, em solução KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .....                                                                                                                                                                                            | 48 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 14. Voltamogramas obtidos por CV para os eletrodos (a) GC, (b) GC/MWCNTs-AgNPs e (c) GC/MWCNTs/BNC-AgNPs em uma solução de 0,2 mol L <sup>-1</sup> PBS (pH 7,0) contendo 5,0 mmol L <sup>-1</sup> do par redox [Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>3-</sup> /[Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>4-</sup> . ....                                                                                | 49 |
| Figura 15. Diagramas de Nyquist para os eletrodos (■) GC, (●) GC/MWCNTs-AgNPs e (■) GC/MWCNTs/BNC-AgNPs em uma solução de PBS 0,2 mol L <sup>-1</sup> pH 7,0 contendo 5,0 mmol L <sup>-1</sup> do par redox [(Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>3-</sup> /[(Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>4-</sup> .....                                                                                         | 51 |
| Figura 16. Voltamograma cíclico da furosemida (50 μmol L <sup>-1</sup> ), evidenciando dois picos de oxidação irreversíveis em PBS 0,2 mol L <sup>-1</sup> (pH 7,0).....                                                                                                                                                                                                               | 52 |
| Figura 17. Voltamogramas de DPV em eletrólito de suporte PBS 0,2 mol L <sup>-1</sup> contendo furosemida 50 μmol L <sup>-1</sup> para os compósitos sintetizados com (A) 30 e 40% de AgNPs m/m de MWCNTs (respectivamente 6 e 8 mg AgNO <sub>3</sub> ) em PBS 0,2 mol L <sup>-1</sup> (pH 7,0) e (B) 10, 20 e 30% de BNC m/m de MWCNTs (respectivamente 2, 4 e 6 mg BNC) (pH 3,0)..... | 53 |
| Figura 18. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para a otimização do pH variando de 3,0 a 8,0 em soluções PBS 0,2 mol L <sup>-1</sup> contendo FUR 50 μmol L <sup>-1</sup> . ....                                                                                                                                                                                                | 55 |
| Figura 19. Linearidade obtida para a corrente do segundo pico de oxidação da FUR na influência do pH variando de 3,0 a 8,0, em solução PBS 0,2 mol L <sup>-1</sup> contendo FUR 50 μmol L <sup>-1</sup> . ....                                                                                                                                                                         | 56 |
| Figura 20. Provável mecanismo de reação da FUR de acordo com a literatura (57,69). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 56 |
| Figura 21. Voltamogramas obtidos por DPV da variação do parâmetro de amplitude de pulso na presença de FUR 50 μmol L <sup>-1</sup> em soluções PBS 0,2 mol L <sup>-1</sup> (pH = 3,0).58                                                                                                                                                                                               |    |
| Figura 22. Voltamogramas obtidos por DPV da variação do parâmetro de incremento de potencial na presença de FUR 50 μmol L <sup>-1</sup> .....                                                                                                                                                                                                                                          | 59 |
| Figura 23. (A) Voltamogramas de DPV da FUR em concentrações crescentes. (B) Curva de calibração correspondente com a equação da regressão linear.....                                                                                                                                                                                                                                  | 60 |

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

|                                       |                                                                     |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| $\mu\text{A}$                         | Unidade de medida em microampere                                    |
| $\mu\text{g}$                         | Unidade de medida em microgramas                                    |
| Ag                                    | Prata                                                               |
| AgCl                                  | Cloreto de Prata                                                    |
| AgNO <sub>3</sub>                     | Nitrato de Prata                                                    |
| AgNPs                                 | Nanopartículas de Prata                                             |
| BNC                                   | Nanocelulose Bacteriana                                             |
| °C                                    | Unidade de medida em Celsius                                        |
| CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O  | Cloreto de cálcio di-hidratado                                      |
| CNTs                                  | Nanotubos de Carbono                                                |
| Cu                                    | Cobre                                                               |
| CV                                    | Voltametria Cíclica                                                 |
| DPV                                   | Voltametria de Pulso Diferencial                                    |
| E°                                    | Potencial padrão de eletrodo                                        |
| EIS                                   | Espectroscopia de Impedância Eletroquímica                          |
| g                                     | Unidade de medida em grama                                          |
| GC                                    | <i>Glassy carbon</i> (carbono vítreo)                               |
| HPLC                                  | Cromatografia Líquida de alta pressão                               |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>        | Ácido sulfúrico                                                     |
| H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>        | Ácido fosfórico                                                     |
| HNO <sub>3</sub>                      | Ácido Nítrico                                                       |
| Hz                                    | Unidade de medida em Hertz                                          |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>       | Potássio monobásico                                                 |
| K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] | Ferricianeto de Potássio                                            |
| K <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] | Ferrocianeto de Potássio                                            |
| KCl                                   | Cloreto de Potássio                                                 |
| L                                     | Unidade de medida em litros                                         |
| MΩ                                    | Unidade de medida em mega-ohm                                       |
| mL                                    | Unidade de medida em mililitro                                      |
| mg                                    | Unidade de medida em miligrama                                      |
| mV                                    | Unidade de medida em milivolt                                       |
| MWCNTs                                | <i>Multi-walled carbon nanotubes</i> (nanotubos de parede múltipla) |

|                                  |                                       |
|----------------------------------|---------------------------------------|
| NaBH <sub>4</sub>                | Borohidreto de sódio                  |
| NaCl                             | Cloreto de sódio                      |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | Hidrogenofosfato dissódico            |
| Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>  | Sulfato de sódio                      |
| NH <sub>4</sub> Cl               | Cloreto de amônio                     |
| nm                               | Unidade de medida em nanômetros       |
| <i>R<sub>ct</sub></i>            | Resistência de Transferência de Carga |
| rpm                              | Rotações por minuto                   |
| s                                | Unidade de medida em segundo          |
| SWV                              | Voltametria de onda quadrada          |
| SDS                              | Dodecil sulfato de sódio              |
| V                                | Unidade de medida em volts            |

## SUMÁRIO

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| RESUMO.....                                                                                 | 8  |
| ABSTRACT .....                                                                              | 9  |
| LISTA DE TABELAS .....                                                                      | 10 |
| LISTA DE FIGURAS .....                                                                      | 11 |
| LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....                                               | 13 |
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                                         | 17 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....                                                              | 18 |
| 2.1 Nanotubos de Carbono .....                                                              | 18 |
| 2.2 Nanocelulose Bacteriana .....                                                           | 20 |
| 2.3 Nanopartículas de Prata .....                                                           | 23 |
| 2.4 Sensores Eletroquímicos para Determinação da Furosemida .....                           | 25 |
| 3. OBJETIVOS .....                                                                          | 28 |
| 3.1 Objetivos Específicos.....                                                              | 29 |
| 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....                                                           | 29 |
| 4.1 Materiais, reagentes e equipamentos .....                                               | 29 |
| 4.2 Resíduo Cervejeiro .....                                                                | 31 |
| 4.3 Síntese Nanocelulose Bacteriana .....                                                   | 31 |
| 4.4 Funcionalização dos Nanotubos de Carbono de Parede Múltipla .....                       | 32 |
| 4.5 Síntese dos nanocompósitos.....                                                         | 33 |
| 4.5.1 Síntese MWCNTs-AgNPs.....                                                             | 33 |
| 4.5.2 Síntese MWCNTs/BNC-AgNPs .....                                                        | 34 |
| 4.6 Preparo dos Eletrodos de Trabalho .....                                                 | 34 |
| 4.7 Caracterização dos nanocompósitos .....                                                 | 35 |
| 4.7.1 Microscopia Eletrônica de Varredura.....                                              | 35 |
| 4.7.2 Caracterização eletroquímica dos eletrodos GC modificados com os nanocompósitos ..... | 36 |

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 4.7.3 Voltametria de Pulso Diferencial.....                      | 36 |
| 4.8 Preparação e análise de FUR em urina sintética.....          | 36 |
| 5. RESULTADOS .....                                              | 37 |
| 5.1 Ensaaios preliminares.....                                   | 37 |
| 5.1.1 Síntese de MWCNTs/BNC em etanol.....                       | 37 |
| 5.1.2 Síntese de MWCNTs/BNC-AgNPs em etanol .....                | 39 |
| 5.1.3 Síntese de MWCNTs/BNC-AgNPs em água .....                  | 41 |
| 5.1.4 Síntese de MWCNTs/BNC-AgNPs sem surfactante.....           | 42 |
| 5.2 Caracterização Morfológica .....                             | 44 |
| 5.3 Caracterização Eletroquímica dos Nanocompósitos .....        | 48 |
| 5.4 Comportamento eletroquímico da furosemida .....              | 51 |
| 5.5 Otimização da síntese do nanocompósito MWCNTs/BNC-AgNPs..... | 52 |
| 5.6 Otimização dos parâmetros experimentais .....                | 54 |
| 5.6.1 pH do eletrólito de suporte.....                           | 54 |
| 5.6.2 Amplitude de pulso .....                                   | 57 |
| 5.6.3 Incremento de potencial .....                              | 58 |
| 5.7 Curva ANALÍTICA.....                                         | 59 |
| 5.8 Análise da recuperação da FUR em urina sintética .....       | 61 |
| 5.9 Adição de interferentes .....                                | 62 |
| 6. CONCLUSÕES .....                                              | 63 |
| 7. REFERÊNCIAS .....                                             | 65 |

## 1. INTRODUÇÃO

Os sensores eletroquímicos têm recebido crescente atenção devido ao seu baixo custo, elevada sensibilidade, rapidez de resposta e facilidade de operação, sendo amplamente empregados na determinação de espécies químicas de interesse ambiental, clínico e farmacêutico (1,2). O desempenho desses dispositivos depende, principalmente, das propriedades da superfície do eletrodo, de modo que sua modificação com materiais nanoestruturados tem sido uma estratégia amplamente utilizada para aumentar a área eletroativa, favorecer a transferência eletrônica e melhorar a sensibilidade e a seletividade das análises (3).

Entre os materiais empregados na modificação de eletrodos destacam-se os nanotubos de carbono (CNTs), em razão de sua elevada área superficial, excelente condutividade elétrica e estabilidade química (4,5). Além disso, nanopartículas metálicas, como as nanopartículas de prata (AgNPs), têm sido amplamente investigadas por sua capacidade de acelerar a transferência eletrônica e ampliar a resposta eletroquímica dos sensores (6). A combinação desses nanomateriais em compósitos poliméricos representa uma estratégia promissora para potencializar suas propriedades individuais e obter materiais com desempenho superior (7).

Nesse contexto, a nanocelulose bacteriana (BNC) destaca-se como um biopolímero renovável, biodegradável e biocompatível, apresentando elevada pureza, alta área superficial e uma rede tridimensional de nanofibras capaz de atuar como matriz para a incorporação de nanomateriais (8). Além de favorecer a dispersão de nanotubos de carbono, a nanocelulose possibilita o desenvolvimento de nanocompósitos por rotas mais sustentáveis, reduzindo ou eliminando a necessidade do emprego de surfactantes durante a síntese (9).

Entre as diversas aplicações dos sensores eletroquímicos, destaca-se a determinação de fármacos, como a furosemida. Esse diurético é amplamente utilizado no tratamento de hipertensão arterial, insuficiência cardíaca, doenças renais e cirrose hepática. Entretanto, também é empregado de forma indevida para mascarar a presença de substâncias proibidas em exames antidoping, tornando necessária a disponibilidade de métodos analíticos rápidos, sensíveis e seletivos para sua determinação (10). Embora diferentes sensores eletroquímicos para detecção de furosemida já tenham sido descritos na literatura, ainda há interesse no

desenvolvimento de materiais que aliem elevado desempenho analítico a processos de síntese ambientalmente mais sustentáveis (11).

Nesse cenário, o emprego de nanocompósitos contendo nanotubos de carbono, nanopartículas de prata e nanocelulose bacteriana obtida a partir de resíduos agroindustriais representa uma alternativa promissora para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos de alta eficiência. A utilização da BNC como matriz do compósito pode favorecer a dispersão dos nanotubos, melhorar a organização estrutural do material e agregar valor aos resíduos provenientes da indústria cervejeira, contribuindo para o desenvolvimento de materiais avançados obtidos por rotas alinhadas aos princípios da química verde.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um sensor eletroquímico para a determinação da furosemida por meio da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com um nanocompósito constituído por nanotubos de carbono de paredes múltiplas, nanopartículas de prata e nanocelulose bacteriana produzida a partir de resíduo cervejeiro. Buscou-se obter um material condutor por meio de uma síntese em meio aquoso, sem utilização de surfactantes, visando aumentar a dispersão dos nanotubos, melhorar a transferência eletrônica e ampliar o desempenho analítico do sensor.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 NANOTUBOS DE CARBONO**

Os nanotubos de carbono (CNTs) são folhas de grafite compostas de carbono  $sp^2$  organizadas no formato hexagonal enroladas em formato cilíndrico oco (12). Descobertos em 1991 por Iijima, os CNTs podem ser classificados de acordo com o número de paredes: quando constituídos por uma única folha de grafeno, são denominados nanotubos de parede única (*"Single-Walled Carbon Nanotubes"*, SWCNTs); quando formados por múltiplas folhas concêntricas, são chamados de nanotubos de múltiplas paredes (*"Multi-Walled Carbon Nanotubes"*, MWCNTs) (13).

Apresentando propriedades superiores a outros materiais carbonáceos, como elevada condutividade elétrica, biocompatibilidade, alta reatividade e possibilidade de modificação superficial, os CNTs têm ganhado destaque em pesquisas nas áreas biomédica, farmacêutica, energética, catalítica, optoeletrônica, analítica e de ciência

dos materiais. Em razão de sua estrutura tubular e elevada área de superfície, os CNTs exibem alta sensibilidade e estabilidade química (4).

Essas características favorecem seu uso como aditivos em polímeros e catalisadores, além de aplicações em dispositivos eletrônicos e optoeletrônicos, sistemas de conversão e armazenamento de energia, materiais compósitos e sensores. As propriedades adsorptivas permitem uma interação eficiente com uma ampla variedade de moléculas, viabilizando a modificação superficial com outros materiais condutores ou eletroativos, o que pode gerar efeitos sinérgicos, contribuindo, portanto, para uma transferência eletrônica mais eficiente e para a miniaturização dos dispositivos (5).

Não obstante as propriedades superiores dos CNTs, interações de van der Waals favorecem a formação de aglomerados de múltiplas unidades de nanotubos, dificultando sua dispersibilidade em meios aquosos ou não aquosos. A formação desses emaranhados também resulta na diminuição das propriedades elétricas e mecânicas do material, efeito que pode ser minimizado por meio do uso de técnicas físicas, químicas ou da combinação de ambas (14). A sonicação é uma técnica física amplamente empregada, na qual a introdução controlada de energia no sistema promove a separação inicial dos nanotubos ao superar interações não covalentes entre eles, preservando a integridade estrutural dos CNTs e favorecendo as etapas subsequentes de funcionalização química (15).

Os SWCNTs e os MWCNTs exibem propriedades mecânicas semelhantes em função da hibridização  $sp^2$  dos átomos de carbono e, por essa razão, estratégias de funcionalização semelhantes podem ser aplicadas a ambos os materiais. No entanto, os MWCNTs apresentam maior quantidade de defeitos estruturais nas paredes externas, associados a carbonos de hibridização  $sp$  ou  $sp^3$ , os quais atuam como sítios reativos preferenciais para posteriores transformações químicas, facilitando a funcionalização covalente dos MWCNTs (12).

A funcionalização covalente é geralmente irreversível e ocorre na superfície dos nanotubos, podendo ser realizada por oxidação ácida, com o uso de ácidos fortes como nítrico e sulfúrico, entre outras abordagens de funcionalização covalente. Já a funcionalização mecanoquímica envolve a mistura de modificadores em moinho vibratório de alta energia, e a funcionalização por preenchimento consiste na abertura dos CNTs, preenchendo-os através da força capilar com metais, nitratos e cloretos (12,16).

Na funcionalização não covalente, moléculas orgânicas de cadeia longa como DNA, proteínas, enzimas e polímeros são adsorvidas na superfície dos CNTs por interações físicas, sem alterar significativamente sua estrutura tubular (12,16,17). A dispersão não covalente dos CNTs pode ser feita com a contribuição de modificadores como o surfactante dodecil sulfato de sódio, entretanto, esses compostos são de difícil remoção durante as etapas de lavagem, o que pode reduzir as propriedades condutoras dos nanotubos e demandar procedimentos adicionais de purificação (18,19). Além disso, os surfactantes são considerados poluentes emergentes de elevada persistência ambiental, o que tem motivado a busca por alternativas mais sustentáveis para sua substituição como agentes dispersantes (18). A funcionalização dos CNTs com polímeros é amplamente empregada na modificação desses nanomateriais para melhorar sua dispersão e estabilidade (12). Nesse contexto, a nanocelulose se destaca como uma alternativa promissora por ser um polímero abundante que pode dispersar os CNTs em suspensões aquosas, além de aumentar significativamente a sua seletividade (19). O uso de materiais nanocelulósicos permite a modificação dos CNTs sem a necessidade de funcionalização com reagentes químicos agressivos, representando uma alternativa sustentável, de baixo custo e com elevado potencial para aplicações em sensores eletroquímicos (20).

Os CNTs são amplamente utilizados em conjunto com polímeros na síntese de compósitos poliméricos, nos quais desempenham o papel de “*fillers*”, ou seja, materiais de reforço que aumentam as propriedades mecânicas do sistema devido à elevada resistência dos nanotubos. Nesses compósitos, os CNTs podem ainda conferir flexibilidade, estabilidade térmica e propriedades elétricas à matriz polimérica, especialmente o aumento da condutividade elétrica. O desempenho final desses materiais está fortemente associado à dispersão homogênea dos nanotubos e à qualidade da interface entre os CNTs e o polímero. Esses compósitos apresentam potencial e propriedades de interesse para aplicações em sensores eletroquímicos (14).

## 2.2 NANOCELULOSE BACTERIANA

A nanocelulose bacteriana (BNC) é produzida por bactérias não patogênicas, aeróbias e gram-negativas do gênero *Gluconacetobacter*, *Rhizobium* e *Agrobacterium*. Produzem o exopolissacarídeo BNC na interface entre meio de cultura

e ar, por meio de uma série de etapas de polimerização e cristalização na presença de uma fonte de glicose (21–24). É um biopolímero cujas fibras celulósicas estão organizadas em rede 3D na escala nanométrica. Possui propriedades únicas como alta capacidade de reter água devido à sua alta porosidade, biocompatibilidade, não toxicidade, transparência, elevada cristalinidade, alta força mecânica, biodegradabilidade e hidrofiliabilidade (21).

A celulose é o biopolímero mais abundante da terra e pode ser aplicada em diversas áreas como engenharia tecidual, entrega de fármacos, imobilização enzimática, cosméticos, energia, monitoramento ambiental, bioimpressão, sensores e biossensores (21). A celulose obtida a partir de plantas, como eucalipto, bambu, bagaço de cana, arroz, algodão, milho, e outras biomassas contém lignina, pectina e hemicelulose, sendo necessário o uso de tratamentos físico-químicos para a separação e purificação da celulose (21–23).

O mesmo ocorre para a transformação de celulose para nanocelulose para obtenção de cristais de nanocelulose (CNC), nanofibrilas de nanocelulose (CNF) e celulose microfibrilada (MFC). O processo envolve várias etapas de tratamento biológico, mecânico, químico ou a combinação destes, diferentemente da BNC que é considerada a mais pura forma de celulose (21–23).

A produção de CNF a partir da celulose vegetal pode envolver processos como sonicação, reações oxidativas e degradação enzimática, com o objetivo de individualizar as fibrilas e reduzir suas dimensões. Processos semelhantes são empregados na obtenção de CNC, embora com condições específicas para promover a formação de estruturas altamente cristalinas. Apesar dessas etapas adicionais de processamento, tanto a CNF quanto a CNC têm sido amplamente utilizadas em compósitos poliméricos, contribuindo para o aumento das propriedades mecânicas e da estabilidade (9). Como alternativa, a BNC se destaca por apresentar elevada pureza e cristalinidade, envolvendo menos etapas de processamento e menor uso de solventes (25).

O custo da produção do meio de cultura da BNC representa quase um terço do custo total de produção (24). Dessa forma, diversas pesquisas buscam a redução desse custo por meio da utilização de resíduos industriais, agrícolas e da fermentação da cerveja como fontes alternativas de carbono, que não competem com a produção de alimentos (21–24). A composição desses resíduos varia de acordo com o tipo de matéria-prima utilizada, sendo que os resíduos agrícolas são gerados, principalmente,

a partir das etapas de crescimento e colheita de sementes, frutas, vegetais e produtos lácteos (26). O resíduo da fermentação da cerveja possui açúcares não fermentados que podem servir para a produção de BNC, como por exemplo a levedura residual (27).

A superfície da BNC é particularmente favorável à imobilização e adesão de células, devido à presença abundante de grupos hidroxila, que possibilitam sua funcionalização ou a incorporação de outros materiais, como nanopartículas na matriz celulósica. Esses processos, realizados por métodos físicos ou químicos, visam otimizar o desempenho do material para aplicações específicas (24). A modificação química da celulose permite a substituição parcial dos grupos hidroxila por outros grupos funcionais, preservando a estrutura celulósica e possibilitando a adsorção seletiva de analitos de interesse, aspectos essenciais para o desenvolvimento de sensores com maior seletividade (28).

O uso de compósitos à base de BNC para dispositivos eletrônicos tem sido amplamente reportado na literatura, como BNC com óxido de grafeno (29), nanofolhas de grafeno, quitosana e alginato (23), nanofibras de carbono (30) e nanotubos de carbono (31). Nanocompósitos de BNC/CNTs apresentam aplicações que vão desde dispositivos de armazenamento de energia, como supercapacitores e baterias recarregáveis, até sistemas para tratamento de águas por adsorção de poluentes (32). Além disso, estudos envolvendo compósitos de nanocelulose e MWCNTs têm demonstrado seu potencial em aplicações eletroquímicas, evidenciando melhorias no desempenho e na eficiência de sensores (20).

A nanocelulose, em suas diferentes formas, pode atuar não apenas como matriz polimérica, mas também como agente dispersante de CNTs, contribuindo para a formação de nanocompósitos mais homogêneos. A utilização de CNC como dispersante de SWCNTs em meio aquoso foi descrita pela primeira vez por Olivier *et al.* (33), por meio de sonicação, demonstrando o potencial da nanocelulose para o desenvolvimento de nanocompósitos estáveis. Desde então, materiais nanocelulósicos têm se destacado como alternativas sustentáveis ao uso de surfactantes convencionais (9).

Estudos posteriores demonstraram que tanto SWCNTs quanto MWCNTs podem ser eficientemente dispersos em água com boa estabilidade coloidal pela ação de CNC (34). Koga *et al.* (35) relataram o uso de nanocelulose como agente de reforço

mecânico e dispersante de CNTs no desenvolvimento de compósitos condutores e flexíveis voltados para aplicações em sensores.

Em suma, a combinação entre nanocelulose e nanotubos de carbono resulta em nanocompósitos com propriedades mecânicas e elétricas superiores às obtidas quando esses materiais são utilizados individualmente. O uso da nanocelulose como matriz e agente dispersante contribui para a redução dos custos de produção e favorece a dispersão dos CNTs, melhorando o desempenho do sensor. Adicionalmente, a hibridização da nanocelulose e dos CNTs com grupos químicos e nanopartículas metálicas tem potencial para aumentar a efetividade dos compósitos; entretanto, o desenvolvimento de rotas sintéticas mais simples, capazes de intensificar a interação entre esses nanomateriais, permanece como um dos principais desafios e perspectivas de pesquisa (32).

## 2.3 NANOPARTÍCULAS DE PRATA

As nanopartículas (NPs) são partículas microscópicas de diferentes tamanhos e composições, com pelo menos uma dimensão na faixa de 1 a 100 nanômetros, com características físicas, químicas e eletrônicas extraordinárias e de interesse para agricultura, indústria, medicina, meio ambiente e sensores (36,37). Suas propriedades atraem interesse em diferentes áreas uma vez que podem ser utilizadas para a imobilização de moléculas biológicas, reações químicas, aumento da transferência eletrônica e marcação de biomoléculas (37).

A elevada área de superfície das nanopartículas permite a adsorção de moléculas específicas, como enzimas, anticorpos e DNA, possibilitando o desenvolvimento de sensores para aplicações médicas, incluindo diagnóstico e tratamento do câncer (38), desinfecção de microrganismos causadores de doenças infecciosas (39), revestimento de cateteres para prevenir trombose (40), entre outras.

Além dessas características, as nanopartículas metálicas apresentam elevada atividade catalítica e capacidade de promover a transferência de elétrons, atributo essencial para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos com menores limites de detecção. Essa propriedade favorece a interação com analitos de interesse e aumenta a eficiência da transferência eletrônica na interface eletrodo–solução, resultando em sensores com maior sensibilidade e seletividade (6,37).

Nanopartículas metálicas podem ser obtidas por abordagens “*bottom-up*” ou “*top-down*”. A abordagem *bottom-up* baseia-se na auto-organização de unidades atômicas ou moleculares, geralmente resultando em nanopartículas com menor número de defeitos, enquanto a abordagem *top-down* envolve a redução de materiais macroscópicos, podendo gerar imperfeições superficiais que afetam suas propriedades. A síntese *bottom up* mais comum é com uso de agentes redutores e estabilizadores para prevenir a aglomeração (38,41). As nanopartículas de prata (AgNPs) são biocompatíveis e com elevado potencial de degradação e remoção de contaminantes orgânicos, sendo utilizadas no monitoramento ambiental, remoção de fármacos, pesticidas, corantes e micotoxinas (51).

Na síntese das AgNPs, convencionalmente, o cátion da prata ( $\text{Ag}^+$ ) é reduzido a prata metálica ( $\text{Ag}^0$ ) por meio do redutor borohidreto de sódio. Apesar das excelentes propriedades, as AgNPs necessitam de matrizes capazes de imobilizá-las e estabilizá-las, como polímeros, a fim de evitar a formação de aglomerados (42). Nesse contexto, a celulose bacteriana destaca-se por apresentar elevada área superficial e biocompatibilidade, atuando na estabilização das nanopartículas e prevenindo as aglomerações (43).

Du et al demonstram estudos em que a incorporação de AgNPs em estruturas de nanocelulose pode resultar em melhorias significativas na condutividade elétrica do material (30). Jenkhongkarn *et al.* (44) observaram aumento da condutividade elétrica após a incorporação de AgNPs em matrizes de celulose bacteriana. De forma semelhante, Hsieh *et al.* (45) relataram redução da resistência elétrica em nanopapéis de celulose modificados com AgNPs obtidos por impressão. Além disso, a modificação de eletrodos com nanocelulose associada a nanomateriais condutores tem apresentado maior eficiência catalítica em processos eletroquímicos, como na oxidação da metoclopramida (46).

As AgNPs também podem ser estabilizadas por meio da combinação com outros nanomateriais, como os MWCNTs, sendo essa associação amplamente explorada em aplicações catalíticas (42). As AgNPs apresentam efeito sinérgico em nanocompósitos formados por CNTs, promovendo o aumento da condutividade elétrica e demonstrando elevado potencial para o desenvolvimento de materiais avançados (47). Nesse contexto, Barreto *et al.* (48) modificaram a superfície de um eletrodo GC com MWCNTs–AgNPs para o desenvolvimento de um sensor voltado à

determinação e remediação da sulfametazina, um antibiótico frequentemente detectado em águas subterrâneas.

Existem diversos métodos para a deposição de AgNPs na superfície de CNTs. Métodos químicos geralmente envolvem a funcionalização prévia dos CNTs, seguida de sua dispersão em solventes como etanol, aplicação de sonicação e posterior adição de um precursor metálico, como um sal de prata, promovendo a formação das nanopartículas sobre a superfície dos nanotubos (42). Alternativamente, Yu e Wang *et al.* (7) utilizaram a técnica potenciostática de duplo pulso para eletrodepositar nanopartículas de prata a partir de uma solução de  $\text{AgNO}_3$  sobre um filme multicamadas de MWCNTs depositado em eletrodo de ITO. Essa abordagem permitiu maior controle sobre a nucleação, o tamanho e a distribuição das AgNPs.

Em resumo, o uso de nanopartículas é fundamental para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos mais sensíveis, seletivos e com uma resposta eletroquímica mais rápida. Esses nanomateriais potencializam a interação com analitos de interesse, melhorando a eficiência da transferência de elétrons e permitindo a detecção de poluentes emergentes, como fármacos em amostras reais. Além disso, a incorporação de nanopartículas em matrizes como polímeros ou nanocelulose contribui para a estabilização e dispersão dos nanomateriais, evitando aglomeração e ampliando a durabilidade dos sensores. Assim, as nanopartículas não apenas aprimoram a performance analítica, mas também abrem caminho para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos mais versáteis e aplicáveis em monitoramento ambiental (6).

## 2.4 SENSORES ELETROQUÍMICOS PARA DETERMINAÇÃO DA FUROSEMIDA

furosemida (FUR) é um fármaco pertencente à classe da sulfonamida, cujo nome químico é ácido 4-cloro-2-(2-furilmetilamino)-5-sulfamoil-benzóico, o qual atua como um potente diurético, promovendo a excreção de sódio, cloreto e água. É amplamente empregada no tratamento de edema, insuficiência cardíaca, renal e hepática, bem como no controle da hipertensão (49,50). Sua ação farmacológica decorre do bloqueio da reabsorção de eletrólitos nos túbulos renais, resultando em aumento significativo do volume urinário. O aumento da diurese pode levar à redução aguda do peso corporal e à diminuição da concentração urinária de outras

substâncias, e conseqüentemente é utilizada de forma indevida como agente mascarante para ocultar o uso de substâncias proibidas em exames *antidoping* (51).

A FUR integra a lista de substâncias proibidas da *World Anti-Doping Agency* (WADA), sendo vedada em qualquer período. Além de seu uso terapêutico como diurético, a substância pode ser empregada para mascarar a presença de outros agentes dopantes, motivo pelo qual sua detecção em amostras de atletas é considerada uma violação das normas antidoping (52). Dessa forma, a determinação rápida e confiável de suas concentrações é fundamental tanto no contexto do controle antidoping quanto no monitoramento terapêutico (10,53) e na segurança alimentar, uma vez que também é administrada na medicina veterinária para o tratamento de edema mamário em gado de leite, o que pode resultar na presença de resíduos do fármaco no leite destinado ao consumo humano (54).

Atualmente, a quantificação desse fármaco é realizada principalmente por cromatografia líquida, mas também eletroforese capilar e métodos espectrofotométricos, que, embora apresentem elevada sensibilidade, possuem elevados custos, mão de obra especializada e tempos de análise em laboratório prolongados. Os sensores eletroquímicos se destacam como alternativa de baixo custo, possibilidade de miniaturização e potencial para rápidas análises *in situ*, com fácil operação, elevada sensibilidade e seletividade para o monitoramento da FUR (1,11).

Alguns estudos investigaram a determinação da FUR por meio da combinação de técnicas analíticas, visando maior sensibilidade e confiabilidade em amostras reais. Entre elas, destacam-se a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada à espectrometria de massas, amplamente empregada em estudos farmacocinéticos, e a HPLC com detecção amperométrica utilizando eletrodo GC, aplicada à análise em urina e formulações farmacêuticas. Guzmán *et al.* (2003) descreveram a utilização de detecção amperométrica pulsada com microeletrodos cilíndricos de fibra de carbono, obtendo limite de detecção (LOD) de  $0,17 \mu\text{mol L}^{-1}$  (54).

Além das técnicas cromatográficas, abordagens baseadas em sensores ópticos também têm sido exploradas para a determinação da FUR. Saini *et al.* (2016) utilizaram um receptor orgânico que foi convertido em nanopartículas orgânicas fluorescentes (FONs), as quais não apresentaram atividade sensora satisfatória, sendo então incorporadas NPs de ouro para o reconhecimento da FUR de forma seletiva em meio aquoso, obtendo o LOD de  $0,55 \mu\text{mol L}^{-1}$  (55).

Particularmente, os sensores eletroquímicos se destacam pelas suas vantagens em comparação com outras técnicas analíticas. Com isso, diferentes abordagens eletroanalíticas têm sido propostas com base na modificação da superfície do eletrodo, com materiais poliméricos e condutores. Martins *et al.* (2018) empregaram um eletrodo de grafite de lápis modificado com filme polimérico Ni-Salen e nanopartículas de  $\text{Ni(OH)}_2/\text{C}$ , alcançando limite de detecção de  $0,00014 \mu\text{mol L}^{-1}$  para a FUR (11). Tescarollo Dias *et al.* (2004) propuseram um eletrodo seletivo ao incorporar o par iônico furosemida aliquat em uma membrana polimérica de poli(cloreto de vinila) (PVC) (50).

Sensores baseados em polímeros molecularmente impressos (MIPs) também têm sido relatados, uma vez que os MIPs são projetados para apresentar sítios de reconhecimento específicos para a molécula alvo, conferindo elevada seletividade ao sensor. Kor e Zarei (2016) desenvolveram um sensor utilizando polímero molecularmente impresso (MIP) de poli(o-fenilenodiamina) (PoPD) sobre eletrodo de ouro, obtendo limite de detecção de  $0,07 \mu\text{mol L}^{-1}$  (10). De forma semelhante, Wang *et al.* (2018) modificaram o GC com um MIP de nanofolhas  $\text{C}_3\text{N}_4$  e estrutura metalorgânica, obtendo o limite de detecção de  $0,008 \mu\text{mol L}^{-1}$  para o mesmo fármaco (1). Embora o desempenho analítico seja significativo, a síntese do material envolve múltiplas etapas e procedimentos de preparação relativamente complexos, o que pode aumentar o custo e o tempo de fabricação do sensor.

Além do uso de polímeros, a combinação destes com outros materiais tem sido explorada para aprimorar as propriedades dos sensores, dando origem a nanocompósitos com maior condutividade elétrica e área superficial. Wang *et al.* (2017) desenvolveram um nanocompósito condutor baseado em poli(3,4-etilenodioxítiofeno):poli(estireno sulfonato) (PEDOT:PSS), em que o primeiro polímero atua como condutor e o segundo, como estabilizante, promovendo melhor desempenho do sensor. A superfície do GC foi modificada com esse nanocompósito e, utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial, obtiveram o LOD de  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  (56).

Em outro estudo, Hasanzadeh (2014), modificou o GC com óxido de grafeno funcionalizado com nanopartículas de óxido de ferro e ácido clorossulfônico ( $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO-SO}_3\text{H-GCE}$ ), avaliando a oxidação eletrocatalítica da FUR em solução tampão fosfato de pH 6,8, obtendo um limite de  $0,11 \mu\text{mol L}^{-1}$  (57).

Heidarimoghadam e Farmany (2016) desenvolveram um novo sensor para a quantificação da FUR em fluidos biológicos, em amostras de plasma e de urina. Os autores analisaram o comportamento do fármaco por voltametria pela modificação da superfície do eletrodo de GC com MWCNTs, e obtiveram o LOD de  $0,007 \mu\text{g mL}^{-1}$ , em tampão Britton-Robinson (pH 5,7) (53). Malode *et al.* (2012) também utilizaram os MWCNTs, mas para modificar um eletrodo pasta de óleo de parafina, observando a oxidação irreversível da FUR com a transferência de dois elétrons, e obtendo o LOD de  $0,29 \mu\text{mol L}^{-1}$  (58).

Gupta *et al.* (2021) observaram dois picos de oxidação da FUR em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,2), pelo microeletrodo feito de fibra de nanotubo de carbono altamente densificada (HD-CNTf). O primeiro pico em 720 mV e o segundo em 940 mV. O segundo pico apresentou maior intensidade de corrente e melhor definição dos sinais. O método desenvolvido apresentou limite de detecção de  $0,002 \mu\text{mol L}^{-1}$ , podendo ser usado para testes de fluidos biológicos atendendo ao nível mínimo de desempenho exigido para diuréticos ( $\sim 0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$  ou  $0,60 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), conforme estabelecido pela WADA (59).

Embora a determinação eletroquímica da furosemida tenha sido investigada na literatura, os métodos descritos geralmente envolvem modificações estruturais complexas (59). Até o momento, não foram encontrados relatos na literatura que explorem o uso de materiais de origem renovável para a detecção eletroquímica desse fármaco. Nesse contexto, o desenvolvimento de sensores baseados em materiais sustentáveis, de síntese simplificada e menor custo, representa uma alternativa promissora para aplicações analíticas mais acessíveis e ambientalmente responsáveis.

### 3. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é desenvolver um nanocompósito à base de nanocelulose bacteriana obtida a partir de resíduo cervejeiro, nanotubos de carbono e nanopartículas de prata para a determinação de furosemida por meio de um novo eletrodo para sensor eletroquímico.

### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos são:

- Empregar a nanocelulose bacteriana produzida a partir de resíduo cervejeiro na confecção de sensores eletroquímicos visando agregar valor a esse resíduo;
- Avaliar a melhor síntese para a dispersão dos nanotubos de carbono pelo uso da nanocelulose bacteriana e nanopartículas de prata, sem uso de surfactantes;
- Modificar e caracterizar o eletrodo de carbono vítreo com o nanocompósito sintetizado a partir de solvente verde de acordo com os princípios da Química Verde;
- Avaliar o novo sensor eletroquímico proposto na determinação de furosemida.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1 MATERIAIS, REAGENTES E EQUIPAMENTOS

Os reagentes utilizados foram: nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) (O.D x L = 6-9 nm x 5 µm) (≥ 98%), dodecil sulfato de sódio (C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>NaO<sub>4</sub>S) (≥ 99%), borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) (≥ 98%), fosfato de potássio monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (≥ 99%), fosfato de sódio dibásico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) (≥ 99%) , nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) (≥ 99%), ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) (≥ 90%), ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (≥ 95%), cloreto de cálcio di-hidratado (CaCl<sub>2</sub>) (≥ 99,0%), cloreto de sódio (NaCl) (≥ 99,0%), sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (≥ 99,0%), cloreto de potássio (KCl) (≥ 99,0%), cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl) (≥ 99,99%), ureia (≥ 99,0%), furosemida (≥ 98,0%), estriol (P. A.), etanol (≥ 99,5%) e alumina (0,3 µm) (≥ 99%) foram adquiridos da Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil). Todas as soluções foram preparadas com água purificada em um sistema Millipore Milli-Q (resistividade ≥ 18 MΩ cm<sup>-1</sup>).

A nanocelulose bacteriana foi produzida no Laboratório Residual de Resíduos Sólidos e Compósitos (UNESP, Botucatu), utilizando ácido cítrico (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>7</sub>) da Êxodo

Científica (Brasil), fosfato dipotássico ( $K_2HPO_4$ ), sulfato de amônio ( $(NH_4)_2HSO_4$ ) e sulfato de magnésio ( $MgSO_4$ ) da Synth (Brasil). Uma solução de NaOH a 4% foi preparada com NaOH e água destilada. A sacarose ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) necessária para o meio de cultura foi substituída por açúcar cristal comercial. A levedura residual da fermentação da cerveja foi doada pela cervejaria Geezer (Botucatu), o qual foi utilizado para o meio de cultivo bacteriano.

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em um potenciostato PGSTAT-128N (Autolab Electrochemical System) com módulo de impedância eletroquímica FRA32M (Metrohm), software NOVA 2.1.8, e a análise dos resultados foi feita pelas ferramentas Origin versão 8.0 e *Learning Edition*. A célula eletroquímica utilizada foi a convencional de três eletrodos, com eletrodo Ag/AgCl ( $3,0 \text{ mol L}^{-1}$  KCl) de referência, e uma placa de platina como eletrodo auxiliar e o eletrodo de trabalho de GC sem modificação e modificado com MWCNTs, MWCNTs-AgNPs, MWCNTs/BNC-AgNPs.

A solução fosfato (PBS)  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em pH 3,0 foi preparada com 0,34 g de ácido fosfórico ( $H_3PO_4$  85%) e 6,80 g de potássio monobásico ( $KH_2PO_4$ ) e 250 mL de água ultrapura. Os reagentes foram pesados, solubilizados sob agitação mecânica, o valor do pH foi verificado e ajustado quando necessário. Para o PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em pH 5, 6 e 7, foram utilizados  $KH_2PO_4$  e sódio bibásico ( $Na_2HPO_4$ ) conforme mostrado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Reagentes para preparo de 250 mL de solução fosfato PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em função do pH.

| pH  | Ácido fosfórico<br>( $H_3PO_4$ ) 85% (mL) | Potássio<br>monobásico<br>( $KH_2PO_4$ ) (g) | Sódio bibásico<br>( $Na_2HPO_4$ ) (g) |
|-----|-------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------|
| 3,0 | 0,34                                      | 6,80                                         | -                                     |
| 4,0 | -                                         | 6,80                                         | -                                     |
| 5,0 | -                                         | 6,46                                         | 0,10725                               |
| 6,0 | -                                         | 4,60                                         | 1,00625                               |
| 7,0 | -                                         | 1,18                                         | 1,9625                                |

Fonte: própria autora.

## 4.2 RESÍDUO CERVEJEIRO

A levedura descartada após a fermentação da cerveja foi obtida pela doação da cervejaria Geezer (Botucatu), demonstrada na Figura 1. O resíduo cervejeiro foi seco em estufa 60 °C por 3 dias, moído e levado à peneira granulométrica em *mesh* 42. O material foi armazenado em ambiente seco e temperatura ambiente.

**Figura 1.** Levedura residual da fermentação da cerveja.



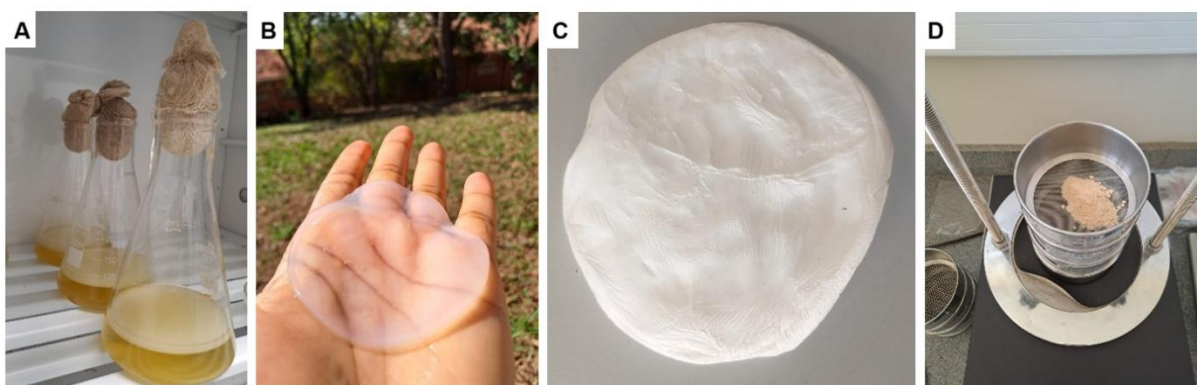
Fonte: própria autora.

## 4.3 SÍNTESE NANOCELULOSE BACTERIANA

A BNC foi produzida em meio de cultura contendo levedura residual da fermentação da cerveja. Foram utilizados 100 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 6 g L<sup>-1</sup> de ácido cítrico, 5 g L<sup>-1</sup> de levedura residual, fosfato de potássio (K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 5 g L<sup>-1</sup>, sulfato de amônio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0,60 g L<sup>-1</sup>, sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>) 0,20 g L<sup>-1</sup>. O pH de todos os meios foi ajustado para 4,8 com NaOH 4%.

O meio de cultura foi autoclavado a 121°C e 110 kPa por 15 min e, em seguida, deixado atingir a temperatura ambiente. A cepa *Gluconacetobacter xylinus* foi inoculada e as incubações foram realizadas à 28 °C por 7 dias em condições estáticas. Após a incubação, as BNC foram enxaguadas com água destilada para remover o excesso de meio de cultivo, e fervidas com solução de NaOH 4% por 30 min a 70 °C para inativar as células bacterianas. Então, as BNCs foram lavadas com água destilada em temperatura ambiente até ficarem purificadas (sem cor) e foram secas em liofilizador a -53 °C por 4 dias, moídas e armazenadas em local seco a temperatura ambiente. A Figura 2 apresenta, de forma esquemática, as principais etapas do processo de obtenção da BNC, incluindo o cultivo, a purificação do material e os tratamentos posteriores de liofilização e moagem.

**Figura 2.** BNC em: (A) em meio de cultivo bacteriano, (B) após as etapas de lavagem, (C) liofilizada, (D) BNC já moída em peneira granulométrica.



Fonte: própria autora.

#### 4.4 FUNCIONALIZAÇÃO DOS NANOTUBOS DE CARBONO DE PAREDE MÚLTIPLA

Os MWCNTs foram funcionalizados com a adição de 1 g destes em solução de ácido nítrico e ácido sulfúrico na proporção 3:1, sob agitação constante em capela por 14 h. A solução então foi filtrada pelo uso de membrana de nylon 45 µm (Figura 3) e feita a lavagem até o pH estar próximo do neutro. O material foi levado para secagem em estufa a 60 °C por 1 dia e armazenado para estudos futuros.

**Figura 3.** MWCNTs funcionalizados e filtrados em membrana.



Fonte: própria autora.

## 4.5 SÍNTESE DOS NANOCOMPÓSITOS

### 4.5.1 Síntese MWCNTs-AgNPs

A síntese de MWCNTs-AgNPs foi preparada de acordo com Barreto *et al.* (48), a partir da mistura de 20 mg de MWCNTs funcionalizados em 20 mL de etanol, seguido da adição de 8 mg de dodecil sulfato de sódio (SDS) para a incorporação das nanopartículas de prata, e a suspensão foi colocada no banho ultrassônico por 20 min. Adicionou-se à solução 13 mg de borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ), o agente redutor de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) e a suspensão foi levada ao homogeneizador ultrassônico por uma hora. Em seguida, foram diluídos 8 mg de  $\text{AgNO}_3$  em 2 mL de etanol, proporção correspondente à 40% (m/m) da massa de nanotubos de carbono, e a solução de  $\text{AgNO}_3$  foi adicionada à mistura previamente preparada de MWCNTs sob agitação constante a uma gota por segundo para incorporar as nanopartículas no material. Após finalizar esta etapa, a solução foi sonicada por 30 min em uma amplitude de 75%, e então o material obtido foi centrifugado e limpo com etanol e levado para secagem em estufa a 60 °C por 4 h em placa de Petri. Após a secagem, foi feita a raspagem da placa e o material foi diluído em etanol na concentração de 1 mg mL<sup>-1</sup>.

#### 4.5.2 Síntese MWCNTs/BNC-AgNPs

A síntese foi feita com a mistura de 2 mg de BNC em 20 mL de água ultrapura em um béquer levado ao sonicador QSonica por 20 min e amplitude de 75%. Em seguida, foram adicionados 20 mg dos MWCNTs e o béquer foi novamente levado ao sonicador por 10 min. Seguiu-se para as etapas de incorporação de AgNPs, sem uso de surfactantes, em que foram adicionados 13 mg de borohidreto de sódio para atuar como agente redutor do  $\text{AgNO}_3$ , e a solução foi levada ao sonicador por 30 min. Adicionaram-se, então, 8 mg de  $\text{AgNO}_3$  diluídas em etanol como já descrito, e sonicação por 1h. A suspensão foi levada para secagem em estufa, e o material seco na placa de petri representado na Figura 4 foi raspado para pesagem e diluição em água ultrapura na concentração de  $1 \text{ mg mL}^{-1}$ .

**Figura 4.** Compósito de MWCNTs/BNC-AgNPs.



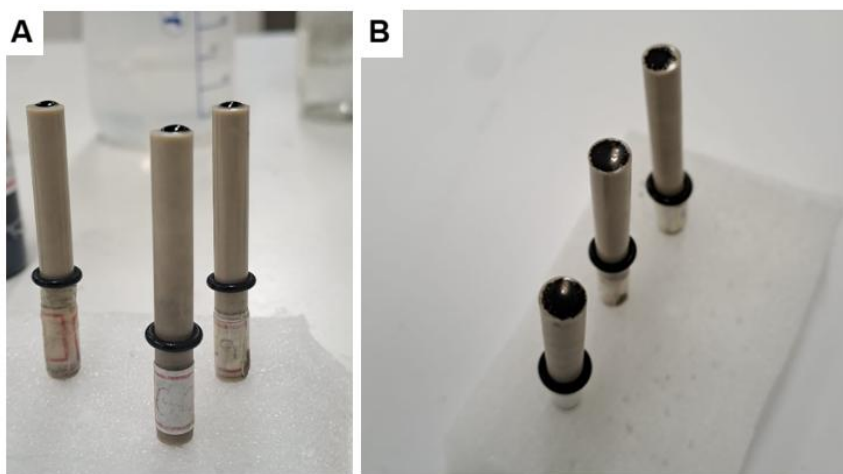
Fonte: própria autora.

#### 4.6 PREPARO DOS ELETRODOS DE TRABALHO

Os eletrodos GC foram polidos em uma politriz modelo Fortel-PFLDV, utilizando uma suspensão de alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) com partículas de  $0,5 \mu\text{m}$ , com uma velocidade de 350 rpm. Após o polimento, os eletrodos foram submetidos a um procedimento de limpeza por voltametria cíclica em PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0), consistindo em uma manutenção do potencial em  $+1,55 \text{ V}$  por 45 s, seguida de  $-1,55$

V por 45 s e, por fim, 10 varreduras de voltametria cíclica de  $-1,55$  V a  $+0,5$  V a uma taxa de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ . Na superfície dos eletrodos polidos e limpos, foram gotejados  $10 \text{ }\mu\text{L}$  da suspensão das diferentes sínteses realizadas dos nanocompósitos ( $1 \text{ mg mL}^{-1}$ ), cada uma previamente levada ao sonicador QSonica por 10 min em amplitude de 75% antes do seu uso para modificação dos eletrodos. Os eletrodos foram secos em uma estufa a  $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$  por 10 min. A Figura 5 ilustra esquematicamente as etapas de modificação dos eletrodos com os nanocompósitos sintetizados.

**Figura 5.** Eletrodos GC modificados com os nanocompósitos: (A) ao ser gotejado  $10 \text{ }\mu\text{L}$  da suspensão e (B) após secagem.



Fonte: própria autora.

## 4.7 CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS

### 4.7.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

A caracterização morfológica dos nanomateriais foi feita por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), utilizando a técnica de emissão de elétrons de alta resolução (MEV-FEG) no IQ-UNESP Araraquara. Foram feitas as medições de espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS) usando o detector Ultradry (Thermo Fisher Scientific). Através dos resultados da EDS e com uso do software *Image J*, o tamanho das nanopartículas pode ser calculado.

#### 4.7.2 Caracterização eletroquímica dos eletrodos GC modificados com os nanocompósitos

Os experimentos de voltametria cíclica foram realizados em uma solução contendo  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$  do par redox  $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{3-}/(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{4-}]$ , com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$  no intervalo de  $-0,2 \text{ V}$  a  $+0,8 \text{ V}$  vs.  $\text{Ag/AgCl/KCl}$  ( $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ ).

Os experimentos de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS) foram realizados em potencial de circuito aberto (OCP), variando a frequência entre  $100 \text{ kHz}$  e  $0,1 \text{ Hz}$ , com amplitude de  $10 \text{ mV}$  (RMS), utilizando 10 pontos por década e 60 s de estabilização do potencial antes do início das medidas. A resistência ao transporte de carga ( $R_{ct}$ ) foi obtida a partir da ferramenta “*Electrochemical Circle Fit*” disponível no software NOVA 2.1.8, em que um circuito equivalente é proposto pelo software e através de 6 pontos, calcula-se a resistência do eletrodo.

#### 4.7.3 Voltametria de Pulso Diferencial

A furosemida foi diluída em etanol na concentração de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$ , armazenada em frasco de vidro âmbar e mantida protegida da luz durante as análises. Os processos eletroquímicos para a análise da furosemida foram realizados por voltametria de pulso diferencial em  $20 \text{ mL}$  solução fosfato PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  pH 3,0, contendo  $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  da FUR, no intervalo de potencial de  $-0,5 \text{ V}$  a  $+1,4 \text{ V}$  vs.  $\text{Ag/AgCl/KCl}$  ( $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ ), com os parâmetros otimizados: incremento de potencial  $0,01 \text{ V}$ , amplitude de pulso  $0,1 \text{ V}$  e velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ .

### 4.8 PREPARAÇÃO E ANÁLISE DE FUR EM URINA SINTÉTICA

A urina sintética foi preparada seguindo o procedimento descrito por Barreto *et al.* (2024)(60), dissolvendo-se  $25 \text{ g}$  de ureia,  $1,10 \text{ g}$  de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $2,92 \text{ g}$  de  $\text{NaCl}$ ,  $2,25 \text{ g}$  de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $1,40 \text{ g}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $1,60 \text{ g}$  de  $\text{KCl}$  e  $1,00 \text{ g}$  de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  em um litro de água ultrapura. A solução resultante apresentou pH igual a 7,0.

Para a análise de FUR, a célula eletroquímica foi preenchida com  $1,0 \text{ mL}$  de urina sintética diluída em  $19,0 \text{ mL}$  de solução tampão PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,0). Inicialmente, realizou-se uma varredura por DPV sob as condições previamente otimizadas, a fim de verificar a ausência de picos de oxidação interferentes na amostra

sem adição do analito. Em seguida, foram adicionadas concentrações de 1,0 e 2,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de FUR à célula eletroquímica, seguidas de três adições sucessivas de concentrações conhecidas do analito para aplicação do método de adição padrão.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 ENSAIOS PRELIMINARES

Ensaio preliminares foram realizados com o objetivo de avaliar a viabilidade da síntese do nanocompósito MWCNTs-AgNPs com BNC e compreender a influência inicial dos parâmetros de processamento sobre suas propriedades. Nessa etapa exploratória, diferentes condições de síntese e proporções dos constituintes foram testadas visando identificar as melhores condições para a síntese do material. Os resultados iniciais obtidos indicaram baixa homogeneidade do material formado, bem como desempenho inferior ao esperado para a aplicação proposta. A observação dessas condições forneceram informações importantes para o direcionamento e definição dos parâmetros adotados nos experimentos subsequentes, descritos nas seções seguintes.

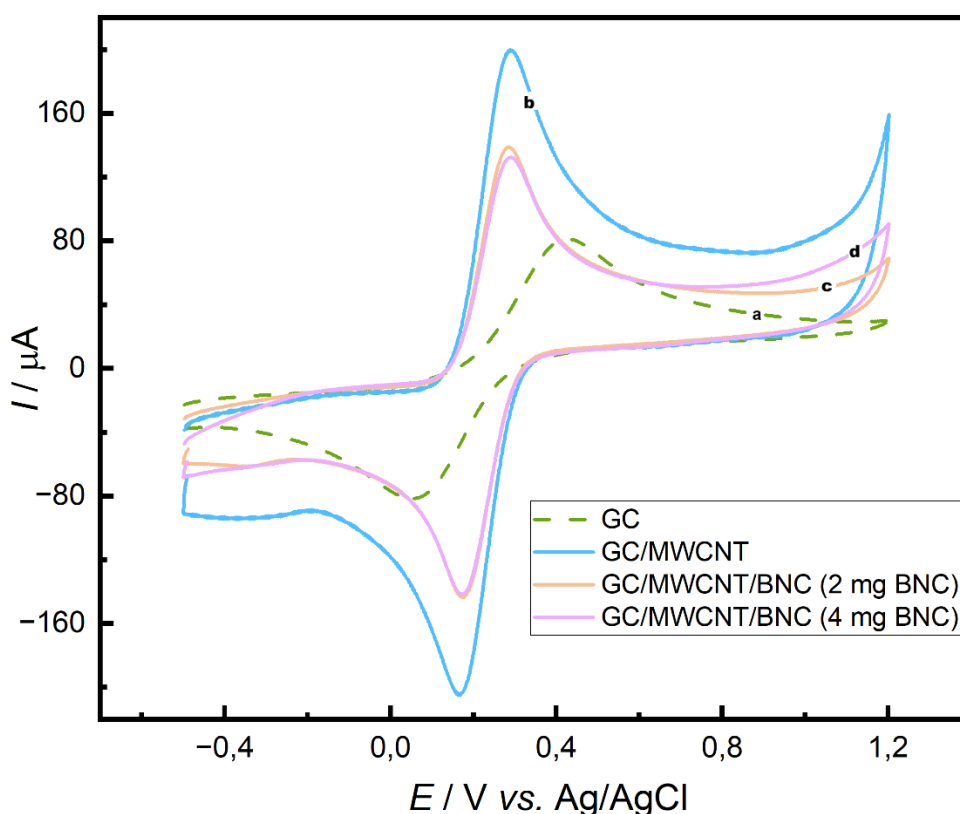
#### 5.1.1 Síntese de MWCNTs/BNC em etanol

Inicialmente, foi realizada a síntese do nanocompósito MWCNTs/BNC em solução de etanol, com base na metodologia descrita por Barreto *et al.* (48). Considerando a proporção de 80:20 a proporção entre material condutor e isolante (61), manteve-se fixo o valor de 20 mg de MWCNTs funcionalizados e foram adicionados 4 mg de BNC em 20 mL de etanol, seguido de sonicação. Em seguida, a quantidade de BNC foi reduzida para 2 mg, com o objetivo de avaliar se uma menor proporção do material isolante reduziria seu efeito sobre a condutividade elétrica do compósito.

A caracterização eletroquímica foi realizada em solução de PBS (pH 7,0) contendo 5,0  $\text{mmol L}^{-1}$  do par redox ferri/ferrocianeto. A Figura 6 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de GC sem modificação (a), modificado com MWCNTs (b), MWCNTs/BNC contendo 2 mg de BNC (c) e MWCNTs/BNC contendo 4 mg de BNC (d). Observa-se que a modificação do eletrodo

de GC com MWCNTs promoveu aumento das correntes de pico anódica e catódica do sistema ferri/ferrocianeto. Entretanto, a incorporação da BNC resultou em redução de aproximadamente 67% da corrente de pico anódica em relação ao eletrodo modificado apenas com MWCNTs, indicando que, nas condições avaliadas, a presença da BNC afetou a resposta eletroquímica do compósito.

**Figura 6.** Voltamogramas cíclicos obtidos com velocidade de  $100 \text{ mV s}^{-1}$  para (a) GC, (b) GC/MWCNTs, (c) GC/MWCNTs/BNC com 2 mg de BNC e (d) 4 mg de BNC, sínteses feitas em etanol, em uma solução de  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  PBS (pH 7,0) contendo  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$  do par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ .



Fonte: própria autora.

Assim, os resultados preliminares indicaram que a simples incorporação da BNC, nas condições de síntese empregadas, não promoveu melhorias eletroquímicas expressivas no sistema. Dessa forma, buscou-se a incorporação de um segundo material condutor, capaz de atuar simultaneamente como agente eletroativo e facilitador da transferência de carga entre os componentes do compósito.

### 5.1.2 Síntese de MWCNTs/BNC-AgNPs em etanol

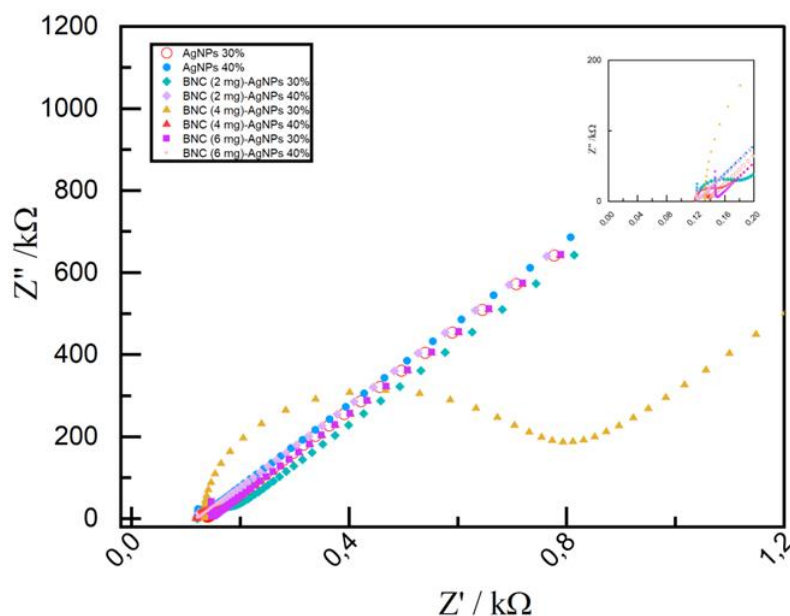
O material condutor a ser incorporado no compósito MWCNTs/BNC escolhido foi a nanopartícula de prata (AgNP), devido à sua elevada área superficial e alta condutividade elétrica, características que favorecem processos de transferência eletrônica e contribuem para a redução dos limites de detecção em sensores eletroquímicos (6). As AgNPs apresentam custo relativamente baixo em comparação a outras nanopartículas metálicas e já foram reportadas na literatura como responsáveis pelo aumento da sensibilidade em nanotubos de carbono e celulose bacteriana (7,44).

A síntese do nanocompósito MWCNTs/BNC-AgNPs foi feita em solução de etanol, com base na metodologia descrita no item 4.5.1 para o compósito MWCNTs-AgNPs. A síntese consistiu na preparação da suspensão contendo MWCNTs e BNC, seguida das etapas de incorporação das nanopartículas de prata por meio da adição de surfactante SDS e o agente redutor  $\text{NaBH}_4$ . Os materiais obtidos foram posteriormente caracterizados por espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) visando avaliar a resistência à transferência de carga e o comportamento eletroquímico dos compósitos.

A Figura 7 apresenta os diagramas de Nyquist obtidos para os eletrodos modificados com diferentes composições de MWCNTs-AgNPs e MWCNTs/BNC-AgNPs. Observa-se que os eletrodos contendo BNC exibem comportamento semelhante ao eletrodo modificado apenas com MWCNTs-AgNPs, apresentando perfis predominantemente lineares e ausência de semicírculos pronunciados na região de altas frequências, característica indicativa de baixa resistência à transferência de carga ( $R_{ct}$ ).

Esses resultados sugerem que a incorporação da BNC não compromete a condutividade elétrica do sistema, mantendo uma interface eletroquimicamente eficiente. Dessa forma, os resultados indicam que a associação entre BNC e AgNPs supera a limitação observada para a BNC isoladamente, evidenciando o potencial da nanocelulose bacteriana como matriz dispersante sem prejuízo significativo ao desempenho eletroquímico do sensor.

**Figura 7.** Resultados de EIS obtidos em solução de 0,2 mol L<sup>-1</sup> PBS (pH 7,0) contendo 5,0 mmol L<sup>-1</sup> do par redox [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>/[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> para os eletrodos GC modificados com os nanocompósitos sintetizados em etanol.



Fonte: própria autora.

A celulose bacteriana apresenta numerosos grupos hidroxila distribuídos ao longo de sua estrutura, os quais favorecem interações com diferentes moléculas por meio de ligações de hidrogênio e outras interações intermoleculares. Além disso, seu elevado grau de pureza contribui para a estabilidade dimensional do material. Essas características permitem a modificação da superfície da BNC pela adsorção ou incorporação de compostos, como nanopartículas de prata, ampliando suas propriedades físico-químicas e seu potencial de aplicação em sensores eletroquímicos (28)

Adicionalmente, os nanotubos de carbono foram funcionalizados em meio ácido, conforme descrito no item 4.4, com o objetivo de melhorar sua dispersão e aumentar a densidade de grupos funcionais em sua superfície. Embora alguns estudos demonstrem que modificações químicas na nanocelulose, como a introdução de grupos sulfato, possam melhorar o desempenho eletroquímico de compósitos e aumentar a seletividade de sistemas baseados em MWCNTs (19,28,62), a BNC empregada neste estudo não foi submetida a funcionalizações químicas adicionais. A nanocelulose foi obtida a partir de resíduo cervejeiro e submetida apenas às etapas

de purificação, secagem e moagem, preservando uma rota de síntese mais sustentável, com menor consumo de reagentes e menor geração de resíduos.

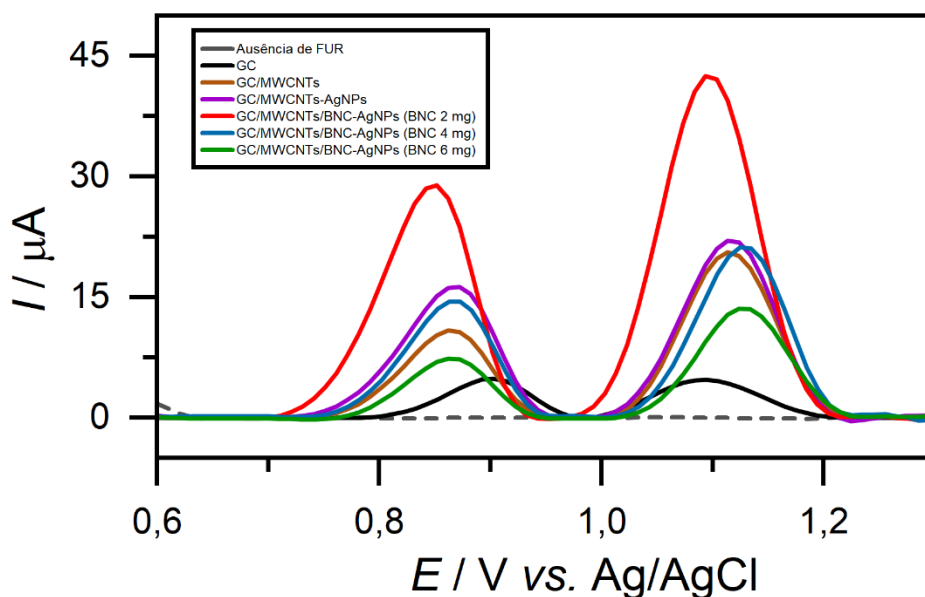
A estrutura nanofibrilar tridimensional da BNC, associada à sua elevada área superficial e resistência mecânica, favorece a incorporação e a distribuição homogênea de nanomateriais condutores, como os MWCNTs, contribuindo para a estabilidade e o desempenho dos compósitos. Entretanto, a eficiência desses materiais depende de diversos fatores, incluindo o tipo de celulose empregado, a metodologia de síntese e as interações estabelecidas entre seus componentes (63).

### 5.1.3 Síntese de MWCNTs/BNC-AgNPs em água

Os resultados obtidos para os primeiros compósitos sintetizados em etanol indicaram que a incorporação da BNC, isoladamente, não promoveu melhorias eletroquímicas expressivas. Considerando o caráter hidrofílico da nanocelulose bacteriana, levantou-se a hipótese de que a substituição do etanol por água ultrapura poderia favorecer sua dispersão e aumentar a interação entre a BNC e os MWCNTs funcionalizados. Além disso, a literatura demonstra que nanotubos de carbono funcionalizados podem ser dispersos tanto em etanol quanto em água por meio de ultrassonicação (32,64), tornando esse solvente uma alternativa viável para a preparação do compósito.

Dessa forma, foi realizada uma nova síntese utilizando água ultrapura como meio dispersante, mantendo-se a proporção de 20 mg de MWCNTs funcionalizados e 2 mg de BNC. Após a ultrassonicação, o material foi empregado na modificação do eletrodo de carbono vítreo e caracterizado por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial utilizando a furosemida como analito. Os resultados apresentados na Figura 8 evidenciam que a substituição do etanol por água proporcionou melhora no desempenho eletroquímico do compósito.

**Figura 8.** Voltamogramas de pulso diferencial obtidos na presença de FUR 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em solução PBS 0,2 mol  $\text{L}^{-1}$  (pH 3,0) para as sínteses MWCNTs/BNC-AgNPs realizadas em água ultrapura em comparação com MWCNTs-AgNPs, com 8 mg  $\text{AgNO}_3$ .



Fonte: própria autora.

Os resultados obtidos demonstraram que a substituição do etanol por água favoreceu o desempenho eletroquímico do nanocompósito, indicando que o meio dispersante exerce influência significativa na interação entre a BNC e os MWCNTs funcionalizados. Considerando esses resultados e buscando simplificar ainda mais o processo de síntese, reduzir o número de reagentes empregados e desenvolver uma rota mais sustentável, foram realizados novos experimentos visando avaliar a necessidade do uso de surfactante na preparação do nanocompósito.

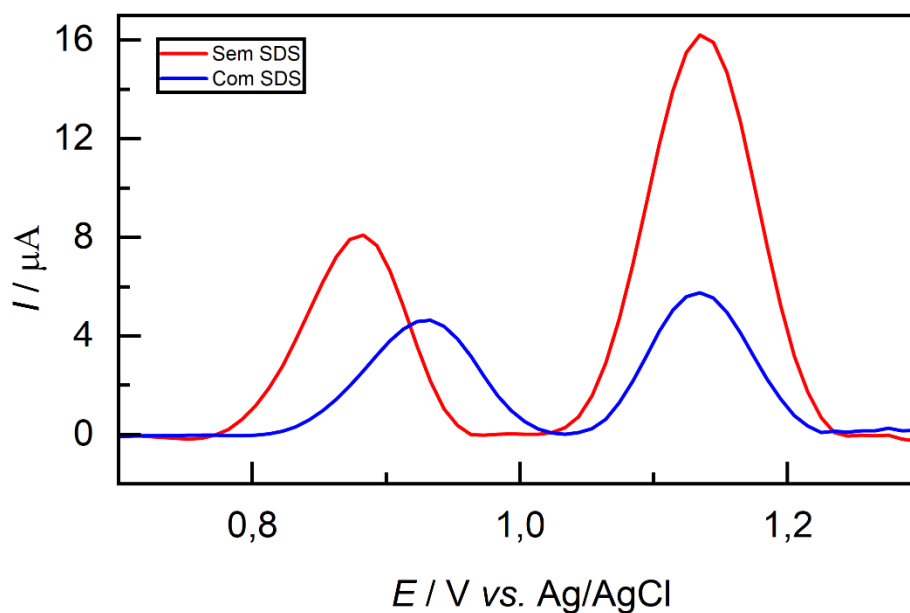
#### 5.1.4 Síntese de MWCNTs/BNC-AgNPs sem surfactante

A ultrassonicação é comumente utilizada para dispersar nanotubos e reduzir a necessidade de surfactantes (32). Considerando que a celulose bacteriana também pode favorecer a dispersão dos MWCNTs, foram realizados testes de síntese do nanocompósito em etanol na ausência de dodecil sulfato de sódio (SDS). Conforme mostrado na Figura 9, a remoção do surfactante resultou em aumento significativo das correntes dos dois picos de oxidação da furosemda, além de proporcionar melhor definição dos sinais voltamétricos quando comparado ao material sintetizado na

presença de SDS. Observou-se um aumento de 74% na corrente do primeiro pico de oxidação e de 181% no segundo pico. Além disso, o potencial de oxidação do primeiro pico apresentou deslocamento de 50,3 mV para valores menos positivos, indicando uma oxidação energeticamente mais favorável, enquanto o potencial do segundo pico permaneceu praticamente inalterado. Esses resultados demonstram que, na presença da BNC e sob ultrassonicação, o uso do surfactante não é necessário, permitindo simplificar a síntese, reduzir o número de reagentes empregados e, consequentemente, tornar o processo mais simples e econômico.

Apesar da melhora observada com a remoção do SDS, verificou-se que outras estratégias ainda seriam necessárias para intensificar a interação entre os MWCNTs e a BNC, de modo a explorar de forma mais eficiente o potencial da nanocelulose na formação do compósito. Considerando o caráter hidrofílico da BNC, optou-se por investigar a utilização de água ultrapura como solvente na etapa de síntese.

**Figura 9.** Voltamogramas de pulso diferencial obtidos na presença de FUR 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em solução PBS 0,2 mol  $\text{L}^{-1}$  (pH 3,0) para a síntese do nanocompósito MWCNTs/BNC-AgNPs em etanol com surfactante SDS e sintetizado em água sem SDS.



Fonte: própria autora.

Com base nos resultados obtidos nos ensaios preliminares, partiu-se de um sistema já descrito na literatura, baseado em MWCNTs-AgNPs, cuja eficiência na melhoria das propriedades eletroquímicas de sensores é bem estabelecida. A proposta deste trabalho consistiu na incorporação de nanocelulose bacteriana (BNC), produzida a partir de resíduo, visando não apenas aprimorar o desempenho do sensor, mas também agregar valor a esse material por meio de sua aplicação em dispositivos eletroquímicos.

Os resultados demonstraram que a síntese do compósito em água ultrapura, mesmo na ausência do surfactante SDS, apresentou desempenho satisfatório, evidenciando que a BNC pode atuar na dispersão e estabilização do sistema. Dessa forma, além de manter as propriedades desejadas do compósito, a estratégia adotada permite a obtenção de um material com potencial aplicação em sensores, por meio de uma rota mais simples e sustentável. Esses achados indicam que mais estudos poderiam ser feitos para otimização do nanocompósito para o desenvolvimento de um sensor mais sensível para determinação da furosemida.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

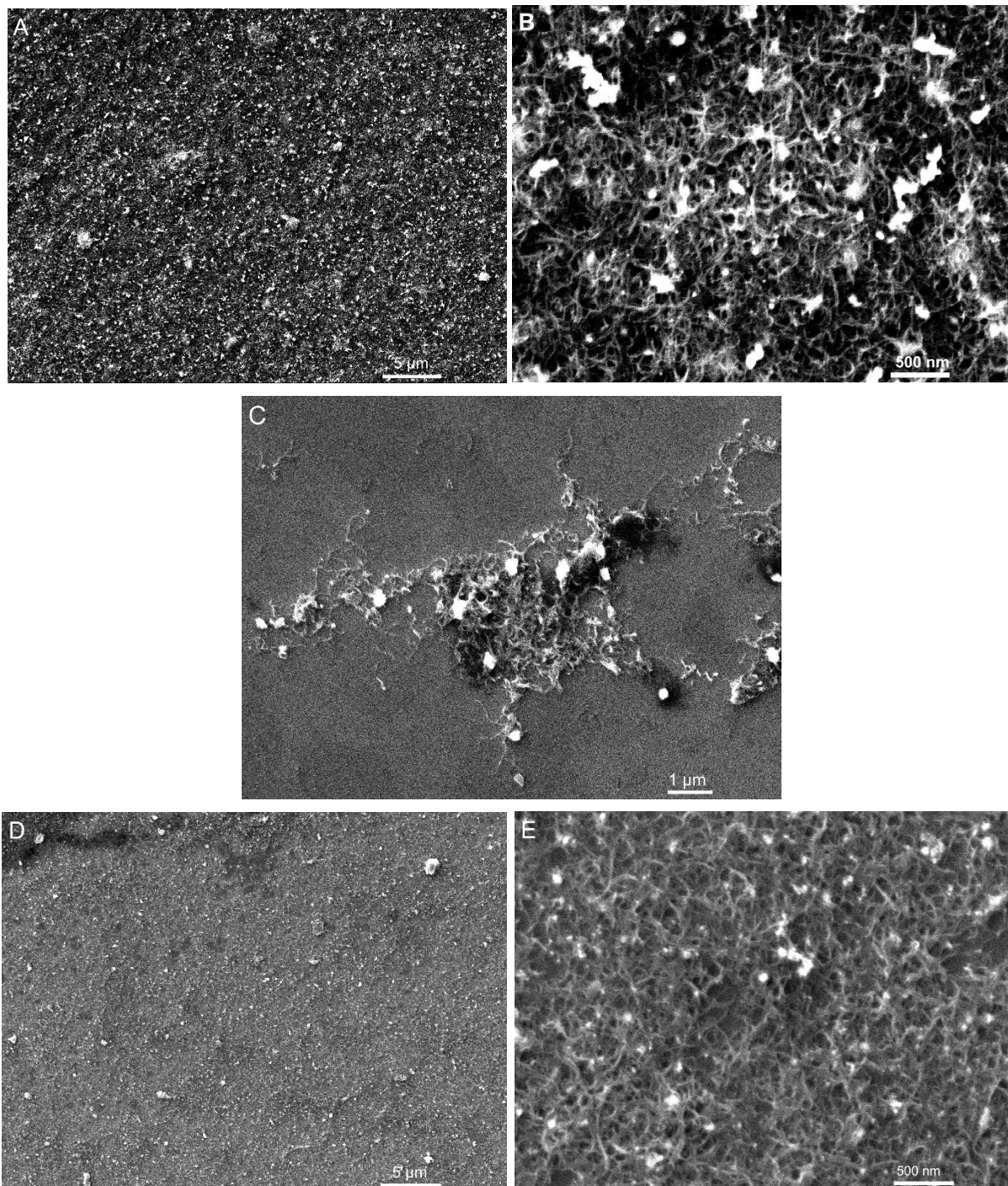
Os nanocompósitos foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A Figura 10 permite a observação das redes estruturadas dos MWCNTs funcionalizados, sua estrutura tubular e os aglomerados formados pelas forças de van der Waals (14).

A Figura 10A–E apresenta regiões de maior contraste, distribuídas de forma pontual ao longo da superfície, as quais são atribuídas às AgNPs, evidenciando sua incorporação homogênea nos compósitos (48). As Figuras 10A–C correspondem aos MWCNTs funcionalizados em meio ácido e modificados com AgNPs. Na Figura 10C, são observadas regiões de menor contraste ao redor dos nanotubos, associadas à formação de aglomerados de MWCNTs, mesmo após as etapas de sonicação e incorporação das nanopartículas. Esse comportamento sugere que a dispersão dos nanotubos ainda pode ser aprimorada.

Já nas Figuras 10D e 10E, observa-se o nanocompósito modificado com nanocelulose (MWCNTs/BNC-AgNPs). A funcionalização dos MWCNTs introduz grupos funcionais em sua superfície, favorecendo interações com a nanocelulose por meio de ligações de hidrogênio e forças de van der Waals. Além disso, a dispersão

dos MWCNTs na solução contendo BNC pode ser realizada de forma simples por ultrassonicação, sem a necessidade do uso de surfactantes (32).

**Figura 10.** Imagens de MEV dos nanocompósitos (A, B, C) MWCNTs-AgNPs e (D, E) MWCNTs/BNC-AgNPs sintetizados.

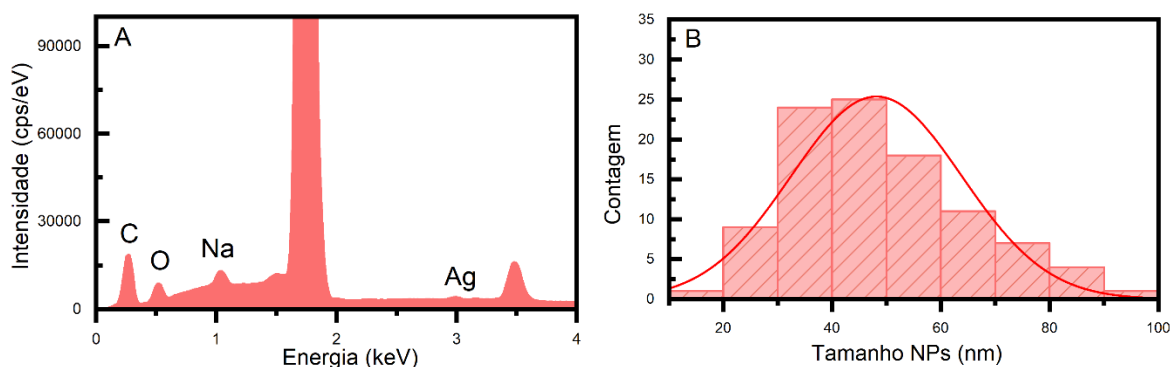


Fonte: própria autora.

A técnica de MEV permite a identificação das AgNPs e medição manual das contagens de partículas, além de evidenciar a formação ou não de aglomerados (65). A presença das AgNPs foi observada nas imagens de MEV e confirmada sua incorporação no compósito pela técnica de espectroscopia por dispersão de elétrons (EDS), a qual evidencia a presença de carbono e oxigênio também, materiais constituintes dos MWCNTs e na BNC, e a prata presente nas NPs, conforme mostrado na Figura 11A.

A contagem das nanopartículas foi realizada a partir das imagens de MEV. O software utilizado para a medição (Image J) foi calibrado com base na barra de escala da imagem, avaliando o número de pixels correspondente a esse comprimento e utilizando essa relação como referência para determinar o tamanho das nanopartículas. A partir do histograma apresentado na Figura 11B, observa-se que as AgNPs apresentam tamanhos variando entre 30 e 100 nm, com predominância em torno de 50 nm.

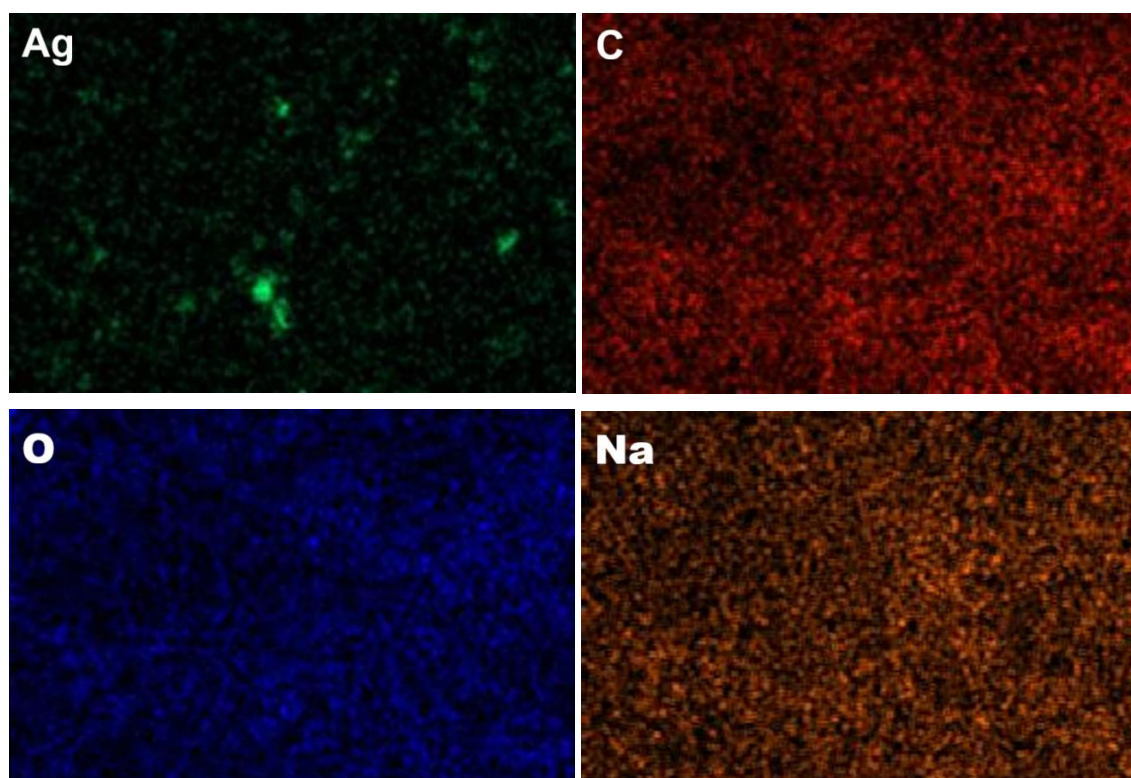
**Figura 11.** (A) Espectroscopia por dispersão de elétrons (EDS) e (B) histograma do tamanho das nanopartículas de prata no nanocompósito MWCNTs/BNC-AgNPs.



Fonte: própria autora.

Após as análises morfológicas e elementares por MEV e EDS, a Figura 12 apresenta as imagens do mapeamento elementar do nanocompósito MWCNTs/BNC-AgNPs, técnica que permite a visualização da distribuição espacial dos principais elementos presentes na superfície do material. Os mapas confirmam a dispersão homogênea de carbono (C), oxigênio (O) e prata (Ag) em toda a amostra. A distribuição uniforme desses elementos indica a formação bem-sucedida do nanocompósito e sugere uma boa integração entre os nanotubos de carbono, a nanocelulose bacteriana e as nanopartículas de prata.

**Figura 12.** Mapeamento elemental do nanocompósito de MWCNTs/BNC-AgNPs.



Fonte: própria autora.

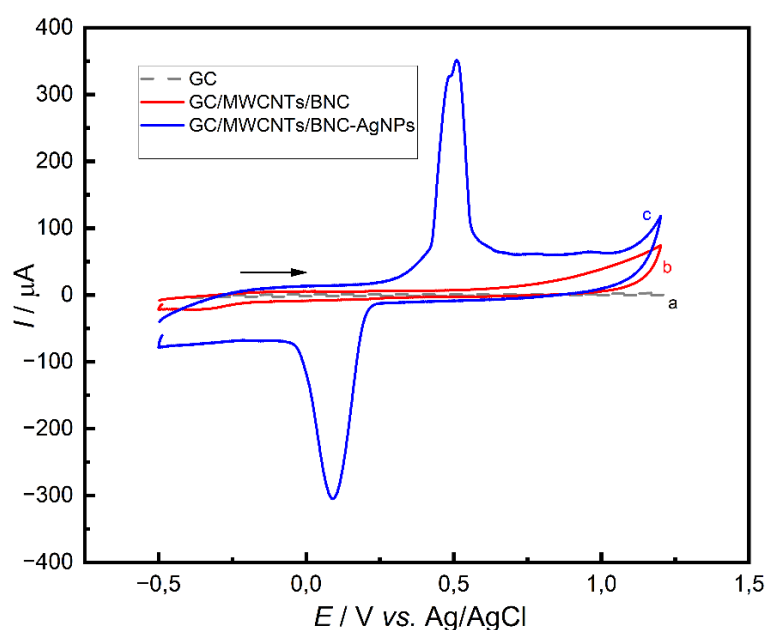
Através dessa técnica, também foi detectada a presença de sódio (Na). Esse resultado provavelmente está relacionado à ausência de uma etapa de lavagem no protocolo de síntese, uma vez que o uso de água ultrapura e a ausência de precipitado visível após centrifugação levaram inicialmente à suposição de que a remoção de resíduos não seria necessária.

Além de confirmar a presença dos elementos, a distribuição homogênea observada no mapeamento elemental sugere uma boa integração entre os constituintes do compósito, o que pode favorecer a formação de uma rede condutora eficiente do nanocompósito para sensores eletroquímicos e determinação da furosemida. A dispersão uniforme das AgNPs ao longo da matriz contribui para o aumento de sítios eletroativos (65) e para a melhoria da transferência de carga, o que está de acordo com o desempenho eletroquímico observado nas análises de EIS e voltametria que serão discutidos nos tópicos seguintes.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS NANOCOMPÓSITOS

Para avaliar a incorporação das nanopartículas de prata no compósito, a caracterização eletroquímica dos eletrodos GC e GC/MWCNTs/BNC-AgNPs por voltametria cíclica foi realizada. A solução utilizada foi KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, com velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup> e intervalo de potencial de -0,5 V a +1,2 V vs. Ag/AgCl. Pode-se observar na Figura 13, que não há processos eletroquímicos no eletrodo GC sem modificação (a) e no GC modificado com o nanocompósito sem as nanopartículas metálicas (GC/MWCNTs/BNC) (b). Porém, no eletrodo GC modificado com o nanocompósito MWCNTs/BNC-AgNPs (c), é possível observar picos redox característicos da prata. A prata possui um pico de oxidação em que ocorre a transformação de  $\text{Ag}^0 \rightarrow \text{Ag}^+$ , e o processo inverso de redução de  $\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}^0$ , (42) observados em +510 mV e em +88 mV, respectivamente neste estudo. O aumento da corrente capacitiva observado para o compósito sugere um aumento da área eletroquimicamente ativa do eletrodo modificado, decorrente da incorporação das nanopartículas, que ampliam a superfície disponível para o acúmulo de carga na dupla camada elétrica (3).

**Figura 13.** Voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos GC, GC/MWCNTs/BNC e GC/MWCNTs/BNC-AgNPs, em solução KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>,  $v = 50$  mV s<sup>-1</sup>.

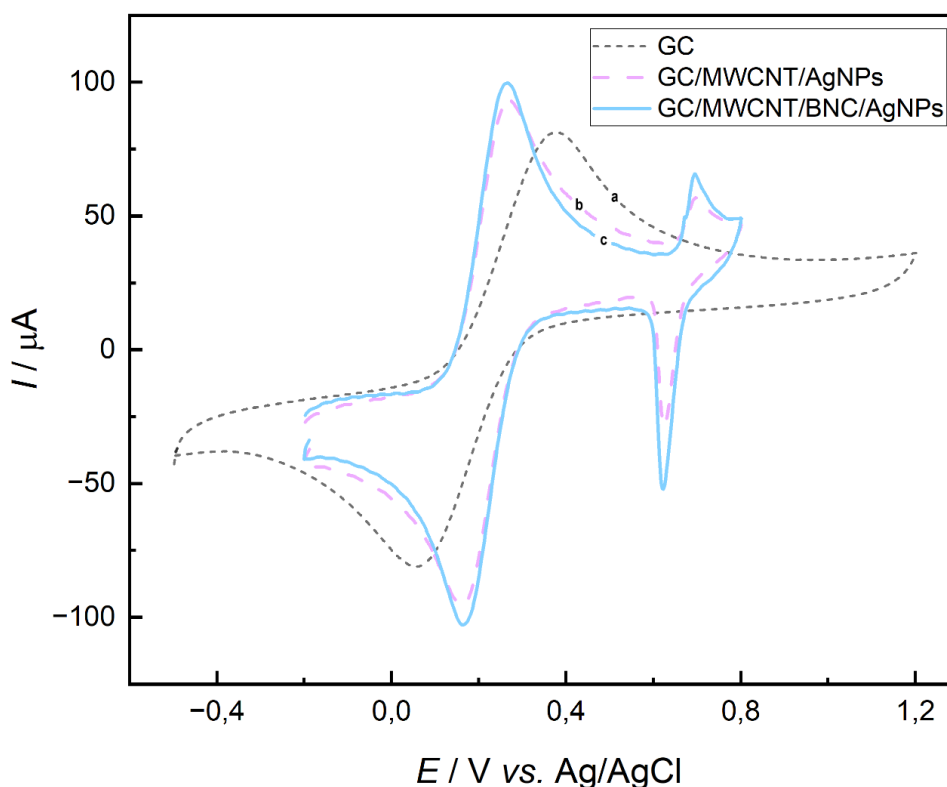


Fonte: própria autora.

A caracterização eletroquímica dos eletrodos GC, GC/MWCNTs-AgNPs, GC/MWCNTs/BNC-AgNPs foi realizada por CV em uma solução de 0,2 mol L<sup>-1</sup> PBS (pH 7,0) contendo 5,0 mmol L<sup>-1</sup> do par redox [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>/[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> no intervalo de potencial de -0,4 V a +1,2 V vs. Ag/AgCl e velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>. As respostas voltamétricas estão representadas na Figura 14.

Na Figura 14, é possível observar que a presença das AgNPs nos eletrodos modificados faz com que haja amplificação do pico de oxidação e redução dos íons ferro, e diminuição da separação entre as correntes de pico anódica e catódica, uma vez que as AgNPs aumentam a transferência eletrônica entre o eletrodo e a sonda redox (37,66).

**Figura 14.** Voltamogramas obtidos por CV para os eletrodos (a) GC, (b) GC/MWCNTs-AgNPs e (c) GC/MWCNTs/BNC-AgNPs em uma solução de 0,2 mol L<sup>-1</sup> PBS (pH 7,0) contendo 5,0 mmol L<sup>-1</sup> do par redox [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>/[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup>.



Fonte: própria autora.

Observa-se um aumento de nas correntes de pico após a modificação do eletrodo com o compósito MWCNTs/BNC-AgNPs e foi calculado aumento de 6,8 vezes para a corrente de pico anódica. Esse comportamento pode ser atribuído à ação

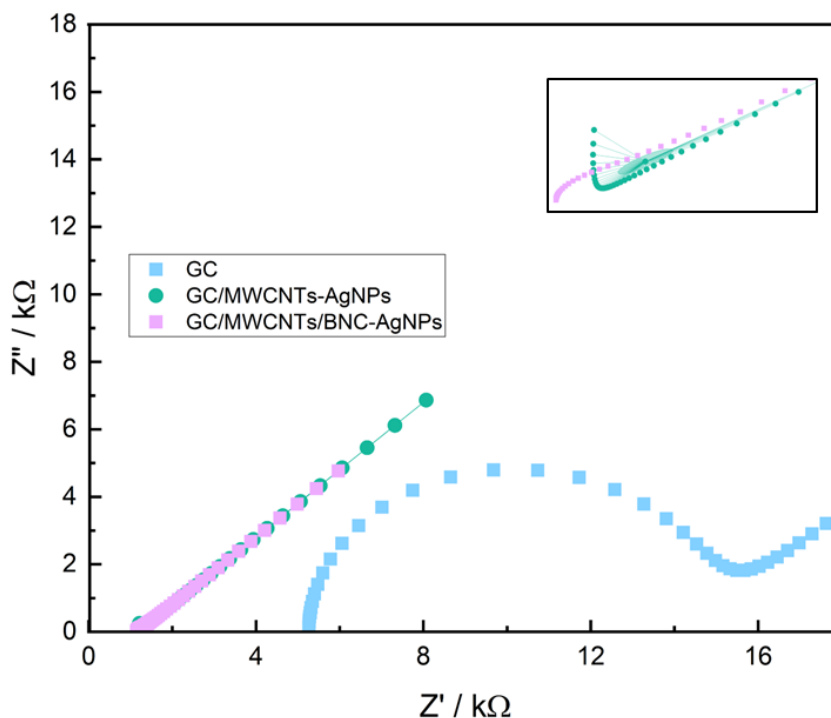
conjunta da BNC e das AgNPs, que favorecem a dispersão dos MWCNTs e melhoram a condutividade do material, promovendo maior área eletroativa e facilitando a transferência de carga. Como resultado, observa-se um efeito sinérgico entre os componentes do compósito (37,66).

A técnica de impedância eletroquímica (EIS) foi utilizada para avaliar os nanocompósitos em solução PBS 0,2 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0 contendo 5,0 mmol L<sup>-1</sup> do par redox [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>/[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup>. O diagrama de Nyquist é uma das representações mais utilizadas na análise de espectros de impedância, permitindo avaliar as características eletroquímicas da interface eletrodo/eletrólito e auxiliar na compreensão dos processos de transferência de carga envolvidos. A resistência à transferência de carga (R<sub>ct</sub>) é um parâmetro considerado importante para avaliar alterações nas propriedades interfaciais e na cinética dos sistemas eletroquímicos modificados (36).

A Figura 15 apresenta os diagramas de Nyquist obtidos para os eletrodos GC, GC/MWCNTs-AgNPs e GC/MWCNTs/BNC-AgNPs em suas diferentes condições de síntese. O eletrodo GC sem modificação apresentou uma resistência à transferência de carga de 1,01 kΩ, enquanto a modificação com MWCNTs-AgNPs promoveu uma redução significativa desse valor para 0,4 kΩ. Essa diminuição pode ser atribuída à maior condutividade elétrica do nanocompósito, associada à presença dos MWCNTs e das AgNPs, que favorecem o transporte de elétrons na interface eletrodo/solução. As AgNPs contribuem para a redução da resistência de transferência de carga devido à sua capacidade de aumentar a taxa de transferência eletrônica entre a sonda redox e a superfície do eletrodo (42).

Para o nanocompósito otimizado contendo 2 mg de BNC, foi observado um valor de R<sub>ct</sub> de 0,19 kΩ, indicando uma transferência eletrônica mais eficiente em comparação ao eletrodo contendo apenas MWCNTs-AgNPs. Embora os perfis dos eletrodos contendo e não contendo BNC apresentem comportamento visualmente semelhante, a análise ampliada dos diagramas de Nyquist evidencia uma discreta redução da resistência à transferência de carga para o nanocompósito MWCNTs/BNC-AgNPs. Além disso, a menor extensão dos espectros no eixo real (Z') indica uma redução da impedância total do sistema após a modificação da superfície do eletrodo (67).

**Figura 15.** Diagramas de Nyquist para os eletrodos (■) GC, (●) GC/MWCNTs-AgNPs e (■) GC/MWCNTs/BNC-AgNPs em uma solução de PBS 0,2 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0 contendo 5,0 mmol L<sup>-1</sup> do par redox  $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{3-}/(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{4-}]$ .



Fonte: própria autora.

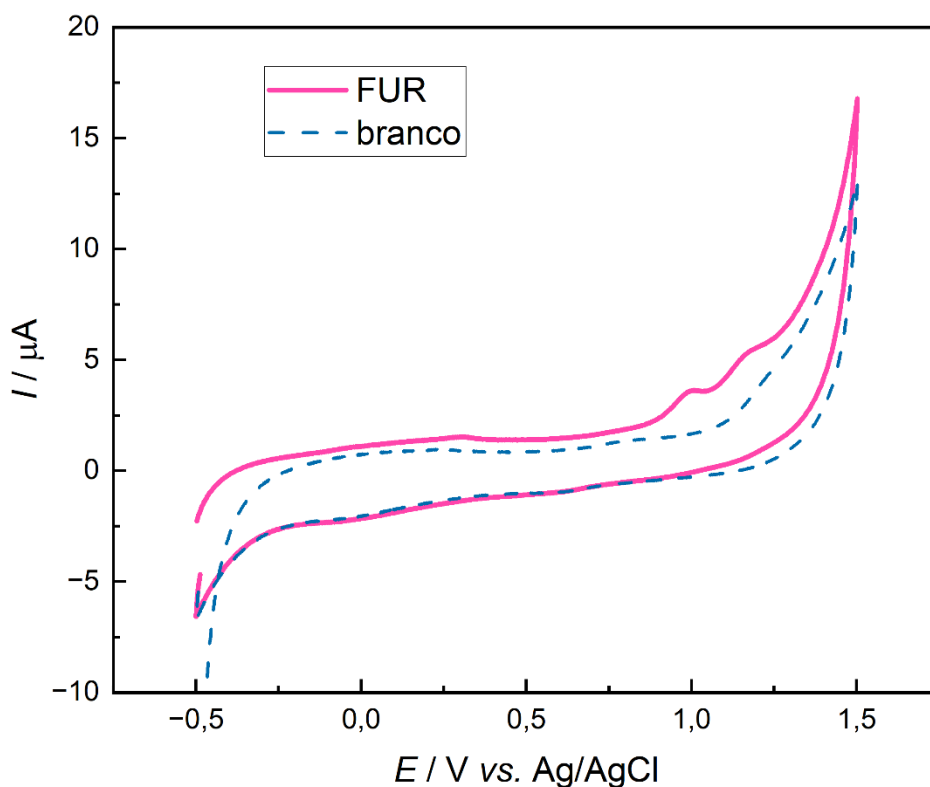
Esses resultados sugerem que a modificação da superfície do eletrodo favoreceu a transferência eletrônica na interface eletrodo/eletrólito, refletindo a atuação conjunta dos MWCNTs, AgNPs e BNC na formação de um nanocompósito com propriedades eletroquímicas aprimoradas. Embora as diferenças nos parâmetros de impedância entre os eletrodos modificados sejam relativamente pequenas, o eletrodo contendo BNC apresentou respostas voltamétricas mais intensas para a detecção da furosemida, indicando um desempenho eletroquímico superior.

#### 5.4 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA FUROSEMIDA

A partir da leitura voltamétrica do eletrodo na ausência do analito, o comportamento eletroquímico da furosemida foi avaliado por CV, visando a análise de suas reações redox. Observa-se na Figura 16 a presença de dois picos de oxidação irreversíveis, em concordância com o reportado por Hasanzadeh *et al.* (2014) (57). A irreversibilidade dos processos indica que a transferência de elétrons ocorre com cinética limitada, sem evidência de picos catódicos correspondentes. Esse

comportamento é característico de processos oxidativos de compostos orgânicos e reforça a utilização de técnicas mais sensíveis, como a voltametria de pulso diferencial, que permite melhor definição dos picos anódicos e maior sensibilidade analítica.

**Figura 16.** Voltamograma cíclico da furosemida ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), evidenciando dois picos de oxidação irreversíveis em PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0).



Fonte: própria autora.

## 5.5 OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DO NANOCOMPÓSITO MWCNTS/BNC-AGNPS

Considerando que a água ultrapura se mostrou um solvente mais adequado para a síntese do compósito, possivelmente devido à natureza hidrofílica da BNC, procedeu-se à otimização da sua composição. Uma vez que a melhor resposta voltamétrica foi obtida com a síntese em meio aquoso, avaliou-se a quantidade de  $\text{AgNO}_3$  usado na síntese e, então, a influência da porcentagem de BNC na composição do material, variando sua quantidade em 10, 20 e 30%, correspondentes a 2, 4 e 6 mg, respectivamente, conforme representado na Tabela 2.

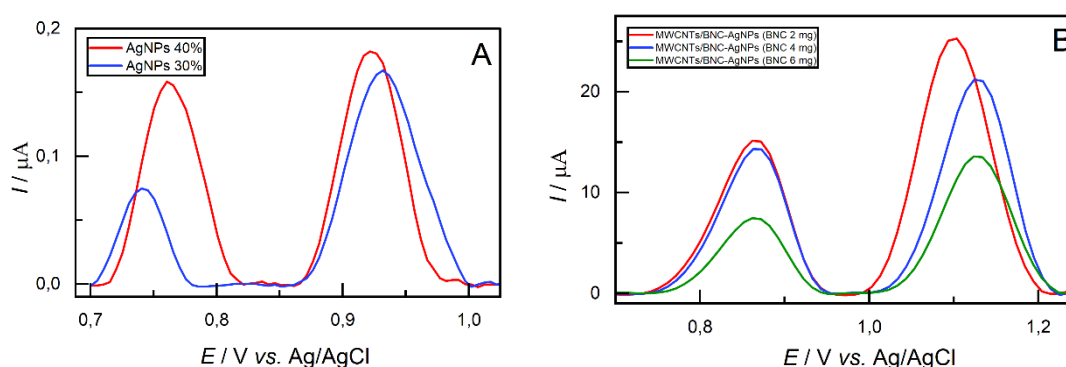
**Tabela 2.** Quantidades do sal de prata e BNC adicionadas para síntese dos nanocompósitos contendo 20 mg de MWCNTs.

| Proporção (%) | AgNO <sub>3</sub> (mg) | BNC (mg) |
|---------------|------------------------|----------|
| 10            | -                      | 2        |
| 20            | -                      | 4        |
| 30            | 6                      | 6        |
| 40            | 8                      | -        |

Fonte: própria autora.

A Figura 17A mostra que o eletrodo modificado com o nanocompósito contendo 8 mg de AgNO<sub>3</sub> apresentou um melhor desempenho. Já na Figura 17B, o nanocompósito MWCNTs/BNC-AgNPs preparado com 2 mg de BNC e 8 mg de AgNO<sub>3</sub> apresentou a melhor definição dos dois picos de oxidação da furosemida. Além disso, esse material exibiu menor resistência de transferência de carga e maior sensibilidade, indicando que essa proporção favorece a formação de uma estrutura mais eficiente para a transferência eletrônica e detecção do analito.

**Figura 17.** Voltamogramas de DPV em eletrólito de suporte PBS 0,2 mol L<sup>-1</sup> contendo furosemida 50 µmol L<sup>-1</sup> para os compósitos sintetizados com (A) 30 e 40% de AgNPs m/m de MWCNTs (respectivamente 6 e 8 mg AgNO<sub>3</sub>) em PBS 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0) e (B) 10, 20 e 30% de BNC m/m de MWCNTs (respectivamente 2, 4 e 6 mg BNC) (pH 3,0).



Fonte: própria autora.

Dessa forma, a composição do nanocompósito foi otimizada, sendo selecionadas as condições que proporcionaram melhor desempenho eletroquímico. A

partir desse material, procedeu-se à otimização dos parâmetros voltamétricos para a detecção da furosemida.

## 5.6 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS EXPERIMENTAIS

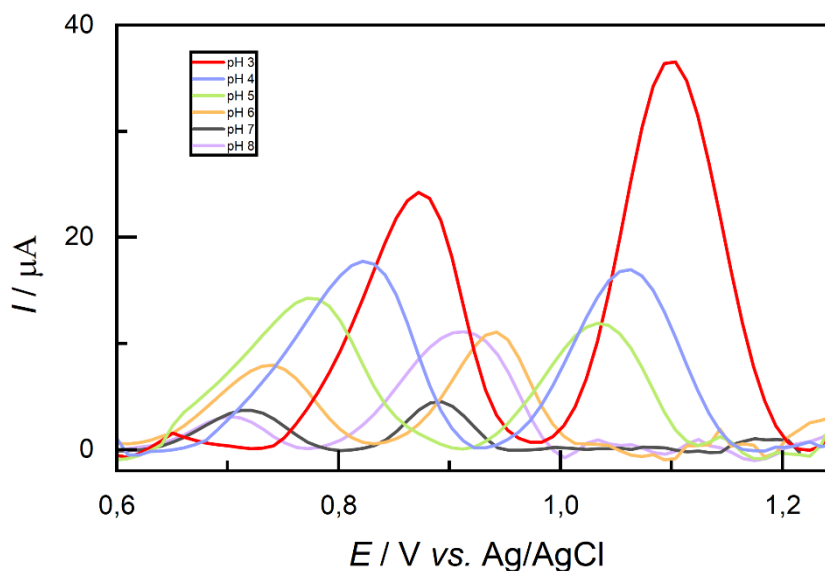
A otimização dos parâmetros é fundamental para melhorar a performance do sensor, buscando uma maior sensibilidade, resolução e separação dos picos e reprodutibilidade nas análises eletroquímicas, com a minimização de efeitos indesejados como ruído capacitivo. Os parâmetros avaliados e ajustados foram pH, de 3,0 a 7,0 (valor otimizado de 3,0), amplitude de 0,01 a 0,10 V (valor otimizado de 0,1 V) e incremento de potencial de 0,001 a 0,01 V (valor otimizado de 0,01 V).

### 5.6.1 pH do eletrólito de suporte

A otimização do eletrólito de suporte é essencial para favorecer a condutividade iônica da solução e influenciar a cinética das reações de transferência de carga (68). Para a determinação eletroquímica da furosemida, diferentes sistemas tamponantes têm sido empregados, como tampão fosfato e Britton–Robinson (53).

A Figura 18 apresenta os voltamogramas obtidos por DPV na presença de 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de furosemida em solução de PBS 0,2  $\text{mol L}^{-1}$ , com pH variando de 3,0 a 8,0. Observa-se que o pH 3,0 proporcionou melhor resposta eletroquímica, com maior intensidade de corrente e melhor definição dos picos de oxidação, sendo, portanto, selecionado para os experimentos subsequentes. Esse comportamento pode ser atribuído à maior disponibilidade de prótons em meio ácido, favorecendo os processos de transferência de carga e resultando em sinais mais intensos e bem definidos.

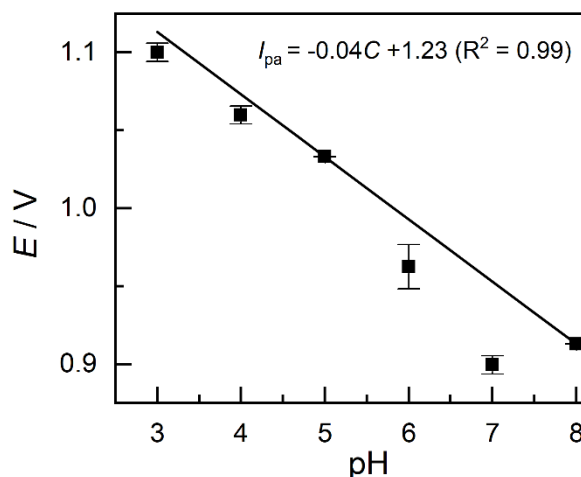
**Figura 18.** Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para a otimização do pH variando de 3,0 a 8,0 em soluções PBS 0,2 mol L<sup>-1</sup> contendo FUR 50 µmol L<sup>-1</sup>.



Fonte: própria autora.

Ao analisar a dependência do potencial de pico com o pH, foi observada uma relação linear entre os valores de pH e o potencial de oxidação, apresentados na Figura 19, com coeficiente de correlação ( $R^2$ ) de 0,99 e inclinação de aproximadamente 40 mV por unidade de pH para o segundo pico de oxidação. Esse deslocamento do potencial para valores menos positivos com o aumento do pH indica a participação de prótons no mecanismo eletroquímico da furosemida. No entanto, a inclinação inferior ao valor teórico de 59 mV sugere que o processo não envolve uma proporção equimolar entre prótons e elétrons, indicando um mecanismo mais complexo, possivelmente envolvendo múltiplas etapas de transferência de carga. O mecanismo de oxidação da FUR descrito na literatura é demonstrado na Figura 20.

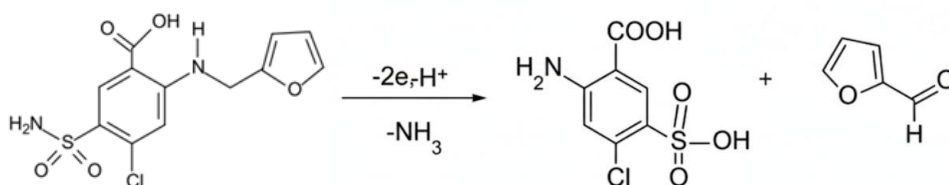
**Figura 19.** Linearidade obtida para a corrente do segundo pico de oxidação da FUR na influência do pH variando de 3,0 a 8,0, em solução PBS 0,2 mol L<sup>-1</sup> contendo FUR 50 µmol L<sup>-1</sup>.



Fonte: própria autora.

Comportamento semelhante foi reportado por Bukkitgar e Shetti (2009) (69), que observaram a presença de dois picos de oxidação para a furosemida em meio tamponado PBS na faixa de pH entre 3 e 6, sendo que o primeiro pico diminui progressivamente com o aumento do pH, desaparecendo em meios mais alcalinos. Além disso, os autores também relataram o deslocamento do potencial de oxidação para valores mais negativos com o aumento do pH, confirmando a participação de prótons no mecanismo eletroquímico.

**Figura 20.** Provável mecanismo de reação da FUR de acordo com a literatura (57,69).



Fonte: própria autora.

No presente estudo, comportamento análogo foi observado, reforçando que o processo de oxidação da furosemida é dependente do pH e envolve etapas acopladas de transferência de prótons e elétrons. Adicionalmente, pequenas variações

observadas nos pHs intermediários (pH 6 e 7) podem estar associadas a mudanças no estado de protonação da furosemida, o que pode influenciar tanto a cinética do processo quanto a interação do analito com a superfície do eletrodo.

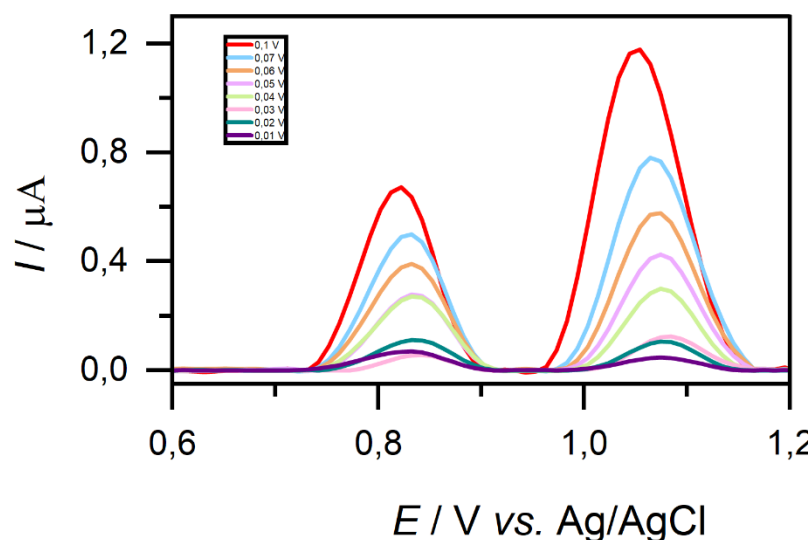
Observou-se que o primeiro pico de oxidação apresenta menor estabilidade, podendo diminuir ou até desaparecer tanto com o aumento do pH quanto em concentrações mais elevadas do analito. Esse comportamento pode estar associado a fenômenos de adsorção da furosemida no filme do nanocompósito ou de seus produtos de oxidação na superfície do eletrodo, o que pode levar à passivação parcial da superfície e afetar a reprodutibilidade do sinal. Essa instabilidade dificultou a comparação da detecção da furosemida nos processos de otimização da síntese do nanocompósito e dos parâmetros da DPV utilizando o primeiro pico, enquanto que o segundo pico de oxidação mostrou-se mais estável e reprodutível, sendo, portanto, mais adequado para construção da curva analítica.

#### 5.6.2 Amplitude de pulso

O parâmetro de amplitude de pulso na voltametria de pulso diferencial exerce influência direta na intensidade da corrente faradaica e na resolução dos picos voltamétricos. A otimização desse parâmetro é fundamental, uma vez que amplitudes muito baixas podem resultar em sinais de baixa intensidade, comprometendo a sensibilidade do método, enquanto valores elevados podem levar ao alargamento e distorção dos picos, além do aumento da corrente capacitiva (70).

No presente estudo, a amplitude de pulso foi avaliada na faixa de 0,01 a 0,1 V, conforme representado na Figura 21. Observou-se que o aumento da amplitude promoveu o incremento da corrente de pico anódico, sem prejuízo significativo na definição dos picos até o valor máximo investigado. A amplitude de 0,1 V proporcionou sinais mais intensos, com boa resolução e baixo nível de ruído, sendo, portanto, selecionada como condição ótima para as análises subsequentes.

**Figura 21.** Voltamogramas obtidos por DPV da variação do parâmetro de amplitude de pulso na presença de FUR  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  em soluções PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH = 3,0).



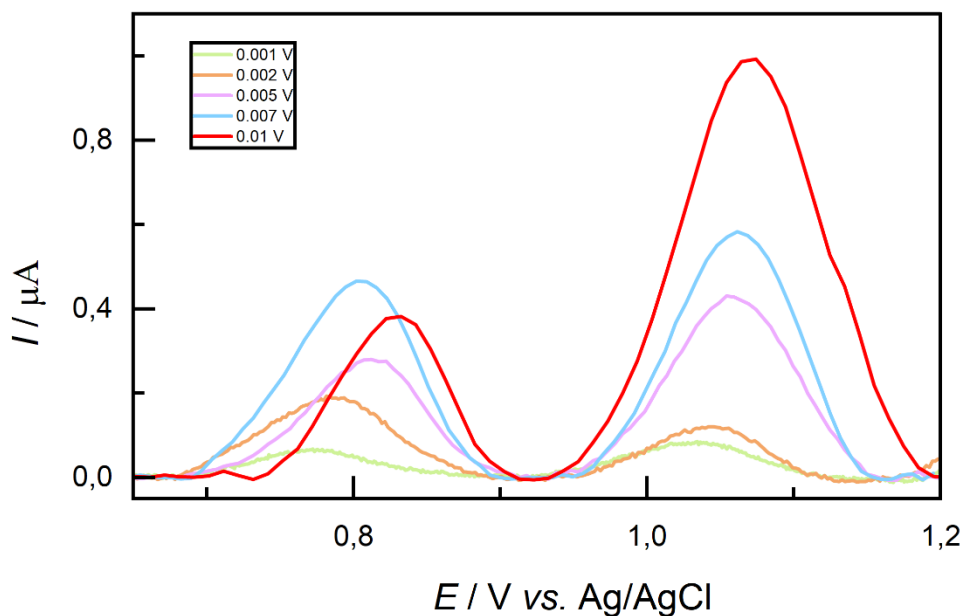
Fonte: própria autora.

Os resultados demonstram que, nas condições avaliadas, o aumento da amplitude de pulso favoreceu a resposta eletroquímica do sensor, proporcionando maior intensidade de corrente sem alterações significativas na resolução dos picos. Assim, a amplitude de 0,1 V foi adotada como condição ótima para as etapas subsequentes de otimização e construção da curva analítica.

### 5.6.3 Incremento de potencial

O incremento de pulso é um parâmetro da DPV que afeta diretamente a resolução da técnica e a sensibilidade do sensor, representando o incremento de potencial aplicado entre cada etapa da rampa de potencial em forma de escada que constitui a base da técnica de voltametria de pulso diferencial. Esse parâmetro determina o avanço do potencial ao longo da varredura e pode influenciar a resolução e a definição do sinal voltamétrico. Valores muito pequenos podem melhorar a resolução, mas gerar longo tempo de análise, ao contrário de valores altos que diminuem a precisão da medição. A escolha desse parâmetro deve considerar não somente a resolução dos picos, mas também o tempo de análise voltamétrica. O incremento de potencial foi variado neste estudo de 0,001 a 0,01 V, até obter-se o valor otimizado de 0,01 V, com maior pico faradaico para o segundo pico de oxidação da furosemida conforme apresentado na Figura 22.

**Figura 22.** Voltamogramas obtidos por DPV da variação do parâmetro de incremento de potencial na presença de FUR 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .



Fonte: própria autora.

Os resultados obtidos indicam que o aumento do incremento de potencial favoreceu a resposta eletroquímica do sensor, proporcionando maior intensidade de corrente para o segundo pico de oxidação da furosemida. Dessa forma, o incremento de potencial de 0,01 V foi selecionado como condição ótima para as análises subsequentes, por proporcionar maior sensibilidade sem comprometer a qualidade do sinal voltamétrico.

Dessa forma, os parâmetros voltamétricos foram otimizados visando maximizar a sensibilidade e a definição dos picos anódicos da furosemida. As condições selecionadas foram então empregadas na construção da curva analítica, a fim de avaliar o desempenho do sensor proposto.

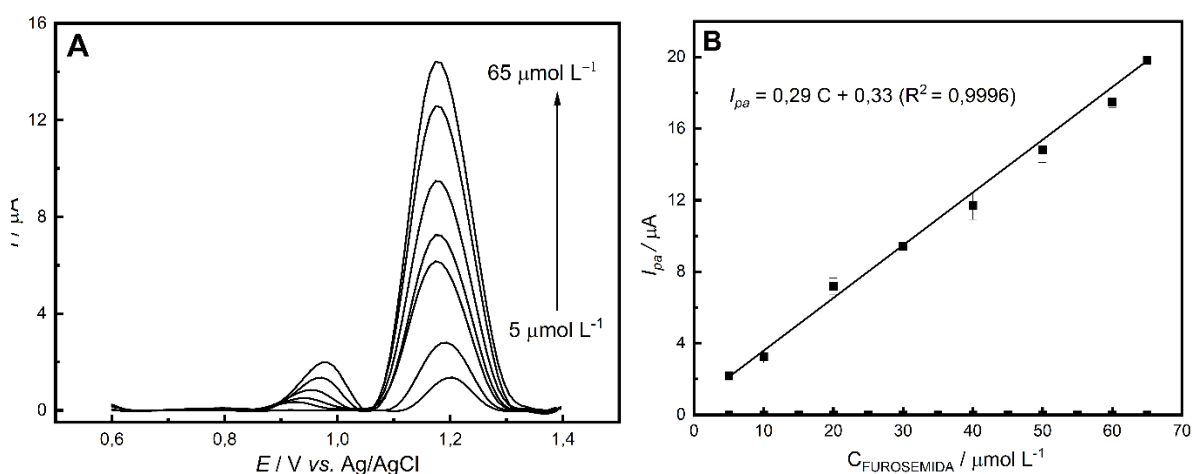
## 5.7 CURVA ANALÍTICA

A Figura 23 exibe as respostas voltamétricas obtidas por DPV para a detecção de furosemida utilizando o eletrodo GC/MWCNTs/BNC/AgNPs. As curvas analíticas foram construídas com base no primeiro pico de oxidação, em 0,85 V, no intervalo de concentração de 0,5 a 4,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , e no segundo pico de oxidação, em 1,16 V, no intervalo de 3,0 a 9,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

Observa-se que, para o primeiro pico anódico, não há aumento proporcional da corrente em concentrações mais elevadas, indicando uma possível limitação na resposta analítica nessa faixa. Por outro lado, o segundo pico anódico não é detectado em baixas concentrações, mas torna-se evidente com o aumento da concentração de furosemda, sugerindo maior sensibilidade em faixas mais elevadas.

Esse comportamento está de acordo com o observado por Hasanzadeh *et al.* (2014) (57), que reportaram a diminuição do primeiro pico com o aumento da velocidade de varredura, enquanto o segundo pico se torna predominante em condições mais energéticas e em concentrações mais elevadas. Esses resultados indicam que fatores cinéticos podem influenciar a resposta eletroquímica dos diferentes processos de oxidação da furosemda.

**Figura 23.** (A) Voltamogramas de DPV da FUR em concentrações crescentes. (B) Curva de calibração correspondente com a equação da regressão linear.



Fonte: própria autora.

A repetibilidade da resposta eletroquímica foi avaliada por meio da realização de 10 medições consecutivas utilizando o mesmo eletrodo, resultando em valores de desvio padrão relativo (RSD) de  $2,61\% \pm 0,59$ ;  $2,28\% \pm 0,31$  e  $3,79\% \pm 0,67$  para GC1, GC2 e GC3 modificados com o nanocompósito MWCNTs/BNC/AgNPs, respectivamente.

A reprodutibilidade foi avaliada utilizando três sensores preparados independentemente ( $n = 12$ ), obtendo-se um RSD de 4,43%. Esses baixos valores de RSD demonstram a boa precisão analítica e a consistência no processo de fabricação do sensor desenvolvido.

Dessa forma, o sensor proposto apresentou desempenho analítico satisfatório para a detecção de furosemida, com boa sensibilidade e resposta eletroquímica consistente. Diferentemente de muitos sistemas descritos na literatura apresentados na Tabela 3, que utilizam agentes dispersantes sintéticos ou etapas múltiplas de modificação, o presente trabalho propõe um nanocompósito sustentável que integra, em uma única matriz, funções de dispersão, suporte estrutural e amplificação de sinal. A utilização da nanocelulose bacteriana, obtida a partir de resíduos, contribui para a redução de custos de produção e agrega valor a um subproduto de baixo custo, além de atuar como agente dispersante eficiente. Assim, a estratégia adotada não se destaca apenas pelo desempenho eletroquímico, mas também por seu caráter ambientalmente sustentável e economicamente viável.

**Tabela 3.** Limites de detecção obtidos para a furosemida em outros trabalhos.

| Método analítico                                                     | Eletrólito de suporte     | Técnica                         | LOD ( $\mu\text{M}$ ) | Ref           |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|-----------------------|---------------|
| Membrana de PVC                                                      | PBS (pH 9,6)              | Potenciometria                  | 119                   | (50)          |
| GCE/PEDOT:PSS <sup>a</sup>                                           | PBS (pH 4,0)              | DPV                             | 2,0                   | (2)           |
| Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -GO-SO <sub>3</sub> H-GC <sup>b</sup> | PBS (pH 6,8)              | CV                              | 1,5                   | (57)          |
| Sensor óptico baseado em NPs híbridas                                | Aqueous medium            | Espectroscopia de fluorescência | 0,55                  | (55)          |
| Eletrodo de pasta de MWCNT                                           | BRB <sup>c</sup> (pH 5,0) | CV                              | 0,29                  | (58)          |
| HPLC/PAD CFMEs <sup>d</sup>                                          | PBS (pH 7,0)              | SWV <sup>e</sup>                | 0,17                  | (54)          |
| GC/carboxílico-MWCNT                                                 | BRB <sup>c</sup> (pH 5,7) | DPV                             | 0,0212                | (53)          |
| GC/MWCNT/BNC-AgNPs                                                   | PBS (pH 3,0)              | DPV                             | 0,19                  | Este trabalho |

Fonte: própria autora.

<sup>a</sup>Eletrodo modificado com poliestireno sulfonato, <sup>b</sup>Óxido de grafeno funcionalizado por ácido clorossulfônico-eletrodo de carbono vítreo modificado, <sup>c</sup>Tampão Britton-Robinson; <sup>d</sup>Cromatografia líquida de alta pressão detecção amperométrica pulsada em microeletrodos cilíndricos de fibra de carbono, <sup>e</sup>Voltametria de onda quadrada (“*Square wave voltammetry*”).

## 5.8 ANÁLISE DA RECUPERAÇÃO DA FUR EM URINA SINTÉTICA

Para avaliar o nanocompósito desenvolvido para a detecção de furosemida em amostras reais, o eletrodo GC modificado com o nanocompósito MWCNTs/BNC-

AgNPs foi aplicado em experimentos de adição padrão e recuperação realizados em urina sintética. A análise de FUR foi conduzida por DPV a partir das respostas obtidas para concentrações conhecidas do analito. As amostras de urina sintética foram fortificadas com 1,00 e 2,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de FUR, em dois experimentos distintos, seguidas por três adições sucessivas de 1,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para aplicação da metodologia de adição padrão. Os resultados são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Estudo de recuperação de FUR em urina sintética utilizando o sensor eletroquímico proposto. São apresentadas as concentrações adicionadas, os valores experimentalmente determinados (média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 3$ ) e as respectivas recuperações.

| FUR adicionada ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) | FUR encontrada ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) | Recuperação (%) |
|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------|
| 1,00                                      | 1,08 $\pm$ 0,01                           | 108,00          |
| 2,00                                      | 2,10 $\pm$ 0,03                           | 110,00          |

Fonte: própria autora.

Os experimentos resultaram em valores de recuperação de 108% e 110%, com desvios padrão relativos dentro de limites aceitáveis, demonstrando o potencial desse nanocompósito para a detecção confiável de FUR em aplicações antidopings.

## 5.9 ADIÇÃO DE INTERFERENTES

A seletividade do sensor para a detecção de furosemida foi avaliada em amostras de urina, investigando-se a influência de possíveis interferentes orgânicos e inorgânicos. A urina real apresenta uma ampla variedade de espécies químicas. O estriol (um hormônio esteroide) e os íons cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) foram selecionados como interferentes modelos devido à sua relevância biológica e ao potencial de afetar respostas analíticas.

As análises foram realizadas em PBS 0,2 mol  $\text{L}^{-1}$  (pH 3,0), no intervalo de potencial de +0,3 a +1,4 V vs. Ag/AgCl, utilizando uma concentração fixa de FUR (5,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Cada interferente foi adicionado individualmente em concentrações crescentes (2,5; 5,0 e 10,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), e os valores de recuperação de FUR foram calculados e exibidos na Tabela 5.

**Tabela 5.** Recuperação de furosemida ( $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) na presença de estriol e íons cobre em diferentes níveis de concentração (2,5; 5,0 e  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), correspondentes a razões molares de 1:2, 1:1 e 2:1 em relação à FUR.

| Interferente | Concentração ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) | FUR (%) |
|--------------|-----------------------------------------|---------|
| Estriol      | 2,5                                     | 91,87   |
|              | 5,0                                     | 96,96   |
|              | 10,0                                    | 85,71   |
| Cobre        | 2,5                                     | 91,01   |
|              | 5,0                                     | 91,81   |
|              | 10,0                                    | 92,23   |

Fonte: própria autora.

Como mostrado na Tabela 5, a presença de estriol e cobre não afetou significativamente o sinal eletroquímico da FUR. Esses resultados confirmam a boa seletividade do sensor proposto, especialmente considerando as concentrações tipicamente baixas desses interferentes em amostras de urina. Não foram observadas interferências significativas provenientes da matriz urinária ou dos interferentes avaliados, indicando boa seletividade do eletrodo modificado proposto para a detecção de FUR.

## 6. CONCLUSÕES

Um nanocompósito inovador foi desenvolvido com sucesso para a modificação de eletrodos de carbono vítreo voltados à análise de furosemida, baseado na modificação do eletrodo de carbono vítreo com os nanotubos de carbono de parede múltipla, nanopartículas de prata e nanocelulose bacteriana obtida a partir de resíduos cervejeiros, com síntese em água ultrapura sem uso surfactantes. Caracterizações morfológicas e eletroquímicas confirmaram a incorporação eficiente das AgNPs na rede de MWCNTs, promovendo maior condutividade, atividade catalítica e redução da aglomeração dos nanotubos. A nanocelulose bacteriana demonstrou excelente desempenho como agente dispersante e estabilizador, favorecendo a solubilização aquosa e homogeneidade da matriz. Após otimização dos parâmetros de voltametria de pulso diferencial, foi obtida uma faixa linear de  $5,0$  a  $65,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  para a determinação de furosemida, com limite de detecção (LOD) de  $0,19 \mu\text{mol L}^{-1}$  e limite

de quantificação (LOQ) de  $0,64 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Este trabalho evidencia o potencial da nanocelulose bacteriana produzida a partir de um resíduo para a produção de um nanocompósito com síntese simples e sem uso de surfactante, para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos sustentáveis e de alto desempenho para a detecção de fármacos.

## 7. REFERÊNCIAS

1. WANG, Y.; CHENG, J.; LIU, X.; DING, F.; ZOU, P.; WANG, X.; *et al.* C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> Nanosheets/Metal-Organic Framework Wrapped with Molecularly Imprinted Polymer Sensor: Fabrication, Characterization, and Electrochemical Detection of Furosemide. **ACS Sustain Chem Eng**, v. 6, n. 12, p. 16847–16858, 2018. doi:10.1021/acssuschemeng.8b04179.
2. HOSSAIN, M. S.; KHALEQUE, M. A.; ALI, M. R.; BACCHU, M. S.; HOSSAIN, M. I.; ALY SAAD ALY, M.; *et al.* Poly(3,4-ethylenedioxythiophene):Polystyrene Sulfonate-Modified Electrode for the Detection of Furosemide in Pharmaceutical Products. **ACS Omega**, v. 8, n. 19, p. 16851–8, 2023. doi:10.1021/acsomega.3c00463.
3. SIMÕES, F. R.; XAVIER, M. G. Nanoscience and its Applications. In: **Nanoscience and its Applications**. Amsterdam: Elsevier, 2017. cap. 6. doi:10.1016/B978-0-323-49780-0/00006-5.
4. HU C., HU S. Carbon Nanotube-Based Electrochemical Sensors: Principles and Applications in Biomedical Systems. **Journal of Sensors**, v. 2009, art. 187615, 2009. doi:10.1155/2009/187615.
5. ZAPOROTSKOVA, I.V.; BOROZNINA, N.P.; PARKHOMENKO, Y.N.; KOZHITOV, L.V. Carbon nanotubes: Sensor properties. A review. **Modern Electronic Materials**, v. 2, p. 95–105, 2016. doi:10.1016/j.moem.2017.02.002
6. RASSAEI, L.; MARKEN, F.; SILLANPÄÄ, M.; AMIRI, M.; CIRTIU, C. M. Nanoparticles in electrochemical sensors for environmental monitoring. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 11, p. 1704–1715, 2011. doi:10.1016/j.trac.2011.05.009.
7. YU, A.; WANG, Q.; YONG, J.; MAHON, P. J.; MALHERBE, F.; WANG, F.; *et al.* Silver nanoparticle-carbon nanotube hybrid films: Preparation and electrochemical sensing. **Electrochim Acta**, v. 74, p. 111–116, 2012. doi:10.1016/j.electacta.2012.04.024.
8. JASIM, A.; ULLAH, M. W.; SHI, Z.; LIN, X.; YANG, G. Fabrication of bacterial cellulose/polyaniline/single-walled carbon nanotubes membrane for potential application as biosensor. **Carbohydrate Polymers**, v. 163, p. 62–69, 2017. doi:10.1016/j.carbpol.2017.01.056.
9. CALVO, V.; MARTÍNEZ-BARÓN, C.; FUENTES, L.; MASER, W. K.; BENITO, A. M.; GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ, J. M. Nanocellulose: The Ultimate Green Aqueous Dispersant for Nanomaterials. **Polymers**, v. 16, n. 12, p. 1664-1679, 2024. doi:10.3390/polym16121664.
10. KOR, K.; ZAREI, K. Development and characterization of an electrochemical sensor for furosemide detection based on electropolymerized molecularly imprinted polymer. **Talanta**, v. 146, p. 181–187, 2016. doi:10.1016/j.talanta.2015.08.042.
11. MARTINS, T. S.; BOTT-NETO, J. L.; RAYMUNDO-PEREIRA, P. A.; TICIANELLI, E. A.; MACHADO, S. A. S. An electrochemical furosemide sensor

- based on pencil graphite surface modified with polymer film Ni-salen and Ni(OH)<sub>2</sub>/C nanoparticles. **Sens Actuators B Chem**, v. 276, p. 378–387, 2018. doi:10.1016/j.snb.2018.08.131.
12. KUKOVECZ, Á.; KOZMA, G.; KÓNYA, Z. Multi-walled carbon nanotubes. In: Vajtai, R. (ed.) *Springer Handbook of Nanomaterials*, pp. 147–188. Springer Handbooks. Springer, Berlin, Heidelberg (2013). [https://doi.org/10.1007/978-3-642-20595-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-642-20595-8_5).
  13. JACOBS, C. B.; PEAIRS, M. J.; VENTON, B. J. Review: Carbon nanotube based electrochemical sensors for biomolecules. **Analytica Chimica Acta**, v. 662, p. 105–127, 2010. doi:10.1016/j.aca.2010.01.009.
  14. NORIZAN, M.N.; MOKLIS, M.H.; NGAH DEMON, S.Z.; HALIM, N.A.; SAMSURI, A.; MOHAMAD, I.S.; *et al.* Carbon nanotubes: Functionalisation and their application in chemical sensors. **RSC Adv**, v. 10, p. 43704–43732, 2020. doi:10.1039/d0ra09438b.
  15. SKOGBERG, A.; SILJANDER, S.; MÄKI, A. J.; HONKANEN, M.; EFIMOV, A.; HANNULA, M.; *et al.* Self-assembled cellulose nanofiber-carbon nanotube nanocomposite films with anisotropic conductivity. **Nanoscale**, v. 14, n. 2, p. 448–463, 2022. doi:10.1039/d1nr06937c.
  16. SALEH, T. A.; GUPTA, V. K. Covalent and non-covalent functionalization of carbon nanotubes. **Advanced carbon materials and technology**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2014. cap. 8. doi: 10.1002/9781118895399.ch8.
  17. DI CRESCENZO, A.; ETTORRE, V.; FONTANA, A. Non-covalent and reversible functionalization of carbon nanotubes. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 5, p. 1675–1690, 2014. doi:10.3762/bjnano.5.178.
  18. BADMUS, S. O.; AMUSA, H. K.; OYEHAN, T. A.; SALEH, T. A. Environmental risks and toxicity of surfactants: overview of analysis, assessment, and remediation techniques. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 44, p. 62085–62104, 2021. doi: [doi.org/10.1007/s11356-021-16483-w](https://doi.org/10.1007/s11356-021-16483-w).
  19. DURAIRAJ V.; LI P.; LILJESTRÖM T.; WESTER N.; ETULA J.; LEPPÄNEN I.; *et al.* Functionalized Nanocellulose/Multiwalled Carbon Nanotube Composites for Electrochemical Applications. **ACS Appl Nano Mater**, v. 4, n. 6, p. 5842–53, 2021. doi:10.1021/acsanm.1c00774.
  20. LILJESTRÖM, T.; KONTTURI, K. S.; DURAIRAJ, V.; WESTER, N.; TAMMELIN, T.; LAURILA, T.; *et al.* Protein Adsorption and Its Effects on Electroanalytical Performance of Nanocellulose/Carbon Nanotube Composite Electrodes. **Biomacromolecules**, v. 24, n. 8, p. 3806–18, 2023. doi:10.1021/acs.biomac.3c00449.
  21. ULLAH, M. W.; MANAN, S.; UL-ISLAM, M.; VASILYEVICH, R.V.; THOMAS, S.; YANG, G. Introduction to Nanocellulose. World Scientific Publishing Co. Ltd. *Nanocellulose: Synthesis, Structure, Properties And Applications*. 2021. doi:10.1142/9781786349477\_0001.

22. Sharma C, Bhardwaj NK. Bacterial nanocellulose: Present status, biomedical applications and future perspectives. *Materials Science and Engineering C*. Elsevier Ltd; 2019. doi:10.1016/j.msec.2019.109963 PubMed PMID: 31499992.
23. DE AMORIM, J. D. P.; DE SOUZA, K. C.; DUARTE, C. R.; DA SILVA DUARTE, I.; DE ASSIS SALES RIBEIRO F. ; SILVA, G. S.; *et al*. Plant and bacterial nanocellulose: production, properties and applications in medicine, food, cosmetics, electronics and engineering. A review. **Environmental Chemistry Letters**, n. 18, p. 851–869, 2020. doi:10.1007/s10311-020-00989-9
24. ABOL-FOTOUH, D.; HASSAN, MA.; SHOKRY, H.; ROIG, A.; AZAB, M. S.; KASHYOUT, A. E. H. B. Bacterial nanocellulose from agro-industrial wastes: low-cost and enhanced production by *Komagataeibacter saccharivorans* MD1. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, art. 3491, 2020. doi:10.1038/s41598-020-60315-9.
25. MBISANA, M.; KEROLETSWE, N.; NAREETSILE, F.; MOGOPODI, D.; CHIBUA, I. Nanocellulose composites: synthesis, properties, and applications to wastewater treatment. **Cellulose**, v. 31, p. 10651–10678, 2024. doi:10.1007/s10570-024-06268-y
26. URBINA, L.; CORCUERA, M. Á.; GABILONDO, N.; ECEIZA, A.; RETEGI, A. A review of bacterial cellulose: sustainable production from agricultural waste and applications in various fields. **Cellulose**, v. 28, p. 8229–8253, 2021. doi:10.1007/s10570-021-04020-4
27. UL-ISLAM, M.; ULLAH, M. W.; KHAN, S.; PARK, J. K. Production of bacterial cellulose from alternative cheap and waste resources: A step for cost reduction with positive environmental aspects. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 37, n. 6, p. 925–937, 2020. doi:10.1007/s11814-020-0524-3
28. TEODORO, K. B. R.; SANFELICE, R. C.; MIGLIORINI, F. L.; PAVINATTO, A.; FACURE, M. H. M.; CORREA, D. S. A Review on the Role and Performance of Cellulose Nanomaterials in Sensors. **ACS Sensors**, v. 6, p. 2473–2496, 2021. doi:10.1021/acssensors.1c00473.
29. SANCHIS, M. J.; CARSI, M.; GÓMEZ, C. M.; CULEBRAS, M.; GONZALES, K. N.; TORRES, F. G. Monitoring molecular dynamics of bacterial cellulose composites reinforced with graphene oxide by carboxymethyl cellulose addition. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 353–360, 2017. doi:10.1016/j.carbpol.2016.10.001.
30. DU, X.; ZHANG, Z.; LIU, W.; DENG, Y. Nanocellulose-based conductive materials and their emerging applications in energy devices – A review. **Nano Energy**, v. 35, p. 299–320, 2017. doi:10.1016/j.nanoen.2017.04.00131.
31. YOON, S. H.; JIN, H. J.; KOOK, M. C.; PYUN, Y. R. Electrically conductive bacterial cellulose by incorporation of carbon nanotubes. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 4, p. 1280–1284, 2006. doi:10.1021/bm050597g
32. TAURBEKOV, A.; FIERRO, V.; KUSPANOV, Z.; ABDISATTAR, A.; ATAMANOVA, T.; KAIDAR, B.; *et al*. Nanocellulose and carbon nanotube composites: A universal solution for environmental and energy challenges.

- Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 12, art. 113262, 2024. doi:10.1016/j.jece.2024.113262.
33. OLIVIER, C.; MOREAU, C.; BIZOT, H.; CATHALA, B.; CHAUVET, O. Cellulose nanocrystals mediated dispersion of single walled carbon nanotubes (SWNTs) and elaboration of SWNTs/cellulose nanocrystals multilayered thin films. **Materials Research Society Symposium Proceedings**, v. 1362, p. 13–18, 2011. doi:10.1557/opl.2011.885.
  34. GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ, J. M.; ANSÓN-CASAOS, A.; GRASA, L.; ABENIA, L.; SALVADOR, A.; COLOM, E.; *et al.* Unique Properties and Behavior of Nonmercerized Type-II Cellulose Nanocrystals as Carbon Nanotube Biocompatible Dispersants. **Biomacromolecules**, v. 20, n. 8, p. 3147–3160, 2019. doi:10.1021/acs.biomac.9b00722.
  35. KOGA, H.; SAITO, T.; KITAOKA, T.; NOGI, M.; SUGANUMA, K.; ISOGAI, A. Transparent, conductive, and printable composites consisting of TEMPO-oxidized nanocellulose and carbon nanotube. **Biomacromolecules**, v. 14, n. 4, p. 1160–1165, 2013. doi:10.1021/bm400075f.
  36. SILWANA, B.; VAN DER HORST, C.; IWUOHA, E.; SOMERSET, V. Synthesis, characterisation and electrochemical evaluation of reduced graphene oxide modified antimony nanoparticles. **Thin Solid Films**, v. 592, p. 124–134, 2015. doi:10.1016/j.tsf.2015.09.010.
  37. LUO, X.; MORRIN, A.; KILLARD, A. J.; SMYTH, M.R. Application of nanoparticles in electrochemical sensors and biosensors. **Electroanalysis**, v. 18, n. 4, p. 319–326, 2006. doi:10.1002/elan.200503415.
  38. AHMED, S.; AHMAD, M.; SWAMI, B. L.; IKRAM, S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. **Journal of Advanced Research**, v. 7, p. 17–28, 2016. doi:10.1016/j.jare.2015.02.007.
  39. HAJIPOUR, M. J.; FROMM, K. M.; AKBAR ASHKARRAN, A.; JIMENEZ DE ABERASTURI, D.; LARRAMENDI, I. R.; DE ROJO, T.; *et al.* Antibacterial properties of nanoparticles. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 10, p. 499–511, 2012. doi:10.1016/j.tibtech.2012.06.004.
  40. DESHMUKH, S. P.; PATIL, S. M.; MULLANI, S.B.; DELEKAR, S. D. Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. **Materials Science and Engineering C**, v. 97, p. 954–965, 2019. doi:10.1016/j.msec.2018.12.102.
  41. THAKKAR, K. N.; MHATRE, S. S.; PARIKH, R.Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 6, p. 257–262, 2010. doi:10.1016/j.nano.2009.07.002.
  42. ZAHRAN, M.; KHALIFA, Z.; ZAHRAN, MAH.; ABDEL AZZEM, M. Recent advances in silver nanoparticle-based electrochemical sensors for determining organic pollutants in water: A review. **Materials Advances**, v. 2, p. 7350–7365, 2021. doi:10.1039/d1ma00769f
  43. SURESHKUMAR, M.; SISWANTO, D.Y.; LEE, C. K. Magnetic antimicrobial nanocomposite based on bacterial cellulose and silver nanoparticles. **J Mater Chem**, v. 20, n. 33, p. 6948–6955, 2010. doi:10.1039/c0jm00565g.

44. JENKHONGKARN, R.; PHISALAPHONG, M. Effect of Reduction Methods on the Properties of Composite Films of Bacterial Cellulose-Silver Nanoparticles. **Polymers**, v. 15, n. 14, art. 2996, 2023. doi:10.3390/polym15142996
45. HSIEH, M. C.; KIM, C.; NOGI, M.; SUGANUMA, K. Electrically conductive lines on cellulose nanopaper for flexible electrical devices. **Nanoscale**, v. 5, n. 19, p. 9289–9295, 2013. doi:10.1039/c3nr01951a.
46. SHAHROKHIAN, S.; NADERI, L.; GHALKHANI, M. Nanocellulose/Carbon Nanoparticles Nanocomposite Film Modified Electrode for Durable and Sensitive Electrochemical Determination of Metoclopramide. **Electroanalysis**, v. 27, n. 11, p. 2637–2644, 2015. doi:10.1002/elan.201500266.
47. MA, P.C.; TANG, B.Z.; KIM, J.K. Effect of CNT decoration with silver nanoparticles on electrical conductivity of CNT-polymer composites. **Carbon**, v. 46, p. 1497–1505, 2008. doi:10.1016/j.carbon.2008.06.048.
48. BARRETO, F. C.; DOS SANTOS, G. T. V.; LEAO, A. L.; GOONETILLEKE, A.; CESARINO, I. Determination and electro-remediation of sulfamethazine using carbon nanotubes and silver nanoparticles as electrode modifiers. *Journal of Solid State Electrochemistry*, v. 29, n. 3, p. 1187–1196, 2025. doi:10.1007/s10008-024-05931-5
49. QURESHI, A.; SHAH, A.; HALEEM, A.; SHAH, I. Electrochemical detection of furosemide and its removal from wastewater using adsorption method. **Discover Sustainability**, v. 6, n. 1, 2025. doi:10.1007/s43621-025-01663-2
50. TESCAROLLO DIAS, I. L.; DE OLIVEIRA NETO, G.; VENDRAMINI, D. C.; SOMMER, C.; MARTINS, J. L. S.; KUBOTA, L. T. A Poly(Vinyl Chloride) Membrane Electrode for the Determination of the Diuretic Furosemide. **Analytical Letters**, v. 37, n. 1, p. 35–46, 2004. doi:10.1081/AL-120027772
51. GHOLIVAND, M. B.; KHODADADIAN, M.; AHMADI, F. Computer aided-molecular design and synthesis of a high selective molecularly imprinted polymer for solid-phase extraction of furosemide from human plasma. **Anal Chim Acta**, v. 658, n. 2, p. 225–232, 2010. doi:10.1016/j.aca.2009.11.019.
52. WORLD ANTI-DOPING AGENCY. *The World Anti-Doping Code: International Standard Prohibited List 2026*. Montreal: WADA, 2026. Disponível em: <www.wada-ama.org>. Acesso em: 16 de fev. 2026.
53. HEIDARIMOGHADAM, R.; FARMANY, A. Rapid determination of furosemide in drug and blood plasma of wrestlers by a carboxyl-MWCNT sensor. **Materials Science and Engineering C**, v. 58, p. 1242–1245, 2016. doi:10.1016/j.msec.2015.09.062.
54. GUZMÁN, A.; AGÜÍ, L.; PEDRERO, M.; YÁÑEZ-SEDEÑO, P.; PINGARRÓN, J. M. Flow injection and HPLC determination of furosemide using pulsed amperometric detection at microelectrodes. **J Pharm Biomed Anal**, v. 33, n. 5, p. 923–933, 2003. doi:10.1016/S0731-7085(03)00422-9.
55. SAINI, A.; KAUR, N.; SINGH, N. A highly fluorescent sensor based on hybrid nanoparticles for selective determination of furosemide in aqueous medium. **Sens Actuators B Chem**, v. 228, p. 221–230, 2016. doi:10.1016/j.snb.2016.01.026.

56. WANG, Y.; ZHU C.; PFATTNER, R.; YAN, H.; JIN, L.; CHEN, S.; *et al.* A highly stretchable, transparent, and conductive polymer. **Science Advances**, v. 3, art. e1602076, 2017. doi:10.1126/sciadv.160207.
57. HASANZADEH, M.; POURNAGHI-AZAR, M. H.; SHADJOU, N.; JOUYBAN, A. A new mechanistic approach to elucidate furosemide electrooxidation on magnetic nanoparticles loaded on graphene oxide modified glassy carbon electrode. **RSC Adv**, v. 4, n. 13, p. 6580–6590, 2014. doi:10.1039/c3ra46973e.
58. MALODE, S. J.; ABBAR, J. C.; SHETTI, N. P.; NANDIBEWOOR ST. Voltammetric oxidation and determination of loop diuretic furosemide at a multi-walled carbon nanotubes paste electrode. **Electrochim Acta**, v. 60, p. 95–101, 2012. doi:10.1016/j.electacta.2011.11.011.
59. GUPTA P, RAHM CE, GRIESMER B, ALVAREZ NT. Carbon Nanotube Microelectrode Set: Detection of Biomolecules to Heavy Metals. **Anal Chem**, v. 93, n. 20, p. 7439–48, 2021. doi:10.1021/acs.analchem.1c00360.
60. BARRETO, F. C.; MOUNIENGUET, N. K.; ITO, E. Y.; HE, Q.; CESARINO, I. Coffee Biomass-Based Carbon Material for the Electrochemical Determination of Antidepressant in Synthetic Urine. **Chemosensors**, v. 12, n. 10, 2024. doi:10.3390/chemosensors12100205.
61. SILVA, A. L.; CORRÊA, M. M.; DE OLIVEIRA, G. C.; MICHEL, R. C.; SEMAAN, F. S.; PONZIO, E. A. Development and application of a routine robust graphite/poly(lactic acid) composite electrode for the fast simultaneous determination of Pb<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> in jewelry by square wave anodic stripping voltammetry. **New Journal of Chemistry**, v. 42, n. 24, p.19537–19547, 2018. doi:10.1039/c8nj03501f.
62. DURAIRAJ, V.; LILJESTRÖM, T.; WESTER, N.; ENGELHARDT, P.; SAINIO, S.; WILSON, B.P.; *et al.* Role of nanocellulose in tailoring electroanalytical performance of hybrid nanocellulose/multiwalled carbon nanotube electrodes. **Cellulose**, v. 29, n. 17, p. 9217–9233, 2022. doi:10.1007/s10570-022-04836-8.
63. ETMAN, A. S.; WANG, Z.; YUAN, Y.; NYHOLM, L.; ROSEN, J. On the Capacities of Freestanding Vanadium Pentoxide–Carbon Nanotube–Nanocellulose Paper Electrodes for Charge Storage Applications. **Energy Technology**, v. 8, n.12, 2020. doi:10.1002/ente.202000731
64. ZHANG, X. F.; LIU, Z. G.; SHEN, W.; GURUNATHAN, S. Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 9, 1534, 2016. doi:10.3390/ijms17091534.
65. BARRETO, F. C.; SILVA, M. K. L.; CESARINO, I. An Electrochemical Sensor Based on Reduced Graphene Oxide and Copper Nanoparticles for Monitoring Estril Levels in Water Samples after Bioremediation. **Chemosensors**, v. 10, n. 10, 2022. doi:10.3390/chemosensors10100395.
66. LASCHUK, N. O.; EASTON, E. B.; ZENKINA, O. V. Reducing the resistance for the use of electrochemical impedance spectroscopy analysis in materials chemistry. **RSC Advances**, v. 11, p. 27925–27936, 2021. doi:10.1039/d1ra03785d.

67. TSIRLINA, G. A. The role of supporting electrolyte in heterogeneous electron transfer. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 21, n. 7, p. 1833–1845, 2017. doi:10.1007/s10008-017-3669-1.
68. BUKKITGAR, S.D.; SHETTI, N. P. Electrochemical oxidation of loop diuretic furosemide in aqueous acid medium and its analytical application. **Cogent Chem**, v. 2, n. 1, art. 1152784, 2016. doi:10.1080/23312009.2016.1152784.
69. MORO, G.; SILVESTRI, A.; ULRICI, A.; CONZUELO, F.; ZANARDI, C. How to optimize the analytical performance of differential pulse voltammetry: one variable at time versus Design of Experiments. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 28, n 3, p. 1403–1415, 2024. doi:10.1007/s10008-023-05753-x.