

MARTIN KÁSSIO LEME DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS À BASE DE
BIOCHAR DE BAMBU PARA DETECÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE
AMBIENTAL E BIOLÓGICO**

Orientadora: Profa. Dra. Ivana Cesarino Leão

Coorientador: Prof. Dr. Rafael Plana Simões

Botucatu

2023

MARTIN KÁSSIO LEME DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS À BASE DE
BIOCHAR DE BAMBU PARA DETECÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE
AMBIENTAL E BIOLÓGICO**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do
título de Doutor no Programa de Pós-Graduação
em Biotecnologia. Área de concentração:
Biotecnologia Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Ivana Cesarino Leão

Coorientador: Prof. Dr. Rafael Plana Simões

Botucatu

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Silva, Martin Kássio Leme da.

Desenvolvimento de sensores eletroquímicos à base de biochar de bambu para detecção de espécies de interesse ambiental e biológico / Martin Kássio Leme da Silva. - Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Ivana Cesarino Leão

Coorientador: Rafael Plana Simões

Capes: 90400003

1. Biochar. 2. Biossensores. 3. Nanocompósitos (Materiais). 4. Detectores eletroquímicos.

Palavras-chave: Biochar; Biossensor Eletroquímico; Nanocompósitos; Sensores Eletroquímicos; Aplicações ambientais e biológicas.

Agradecimentos

Aos meus pais, Cláudia e Augusto, e ao meu irmão Matheus, pelo amor incondicional. À minha família, pelo carinho e apoio constante;

Ao meu namorado e companheiro de vida, Leandro, pelo amor, companheirismo, por sempre ter uma palavra carinhosa e nunca duvidar do meu potencial, mesmo quando eu mesmo duvidava. Por sempre “aguentar” meus surtos e momentos em que achava que não iria conseguir, você sempre estava lá para me dar aquele “puxão de orelha” e me lembrar de quem eu sou, o que eu represento e meu potencial;

Obrigado Vó Nair (*in memoriam*), nunca esquecerei de você;

Obrigado à minha sogra Toninha (*in memoriam*), pelos ensinamentos, almoços e sempre cuidar de mim;

A Profa. Dra. Ivana Cesarino pela oportunidade, confiança, ensinamentos, cumplicidade, amizade e por toda contribuição no meu crescimento profissional durante meu mestrado e doutorado;

Aos Prof. Dr. Rafael Plana Simões, meu prezado coorientador, por todos os ensinamentos e parcerias.

Ao Prof. Ashok Mulchandani da *University of California Riverside (UCR)*, por me receber em seu grupo de pesquisa durante meu trabalho de doutorado sanduíche, pelos ensinamentos e principalmente pela ética com a pesquisa. Agradeço aos meus colegas de laboratório, Ying Chen, Samriddha Dutta e Gaurav Ahuja pela companhia e amizade.

Aos meus amigos de Riverside-CA, Jorge, Isis, Pablo, Mariana, Claudinéia, Ina, Paula, Candace, Gabriel, Clarissa, Sandeep e Navleen pela amizade, ajudas em momentos difíceis e compartilharem suas vidas comigo.

Aos companheiros, passados e atuais, do Laboratório de Eletroanalítica e Nanotecnologia (LEN) Lucas, Helo, Natália, Vicky, Erik, Mariah, Francisco, Sarah, Wanderson, Gabriela, Clara, Gabriel, Giovanna, Aline, Jhennifer, Erika, Naëlle e Letícia.

A todos os meus amigos, pela amizade incondicional e por fazerem minha vida mais divertida sempre me apoiando e me dando forças. À Marina, Mônica, Bárbara, Paulinha e Ana Paula.

Ao departamento de Bioprocessos e Biotecnologia por sempre me apoiar durante meu mestrado e doutorado. E ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do IBB/UNESP pela oportunidade e por fornecerem todo o suporte necessário;

Aos meus queridos companheiros de trabalho Raquel, Marcelo, Dú, Jack, Milena, Léo, Firmo, Vanessa e Fabiana por serem os melhores ASAs da UNESP, pelo apoio durante minha trajetória, pela amizade, pela cumplicidade. Agradeço a todos!

Aos órgãos de fomento CAPES, CNPq e FAPESP. Em especial CAPES por possibilitar o meu doutorado sanduíche através do programa PDSE.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

F.C. Barreto, **M.K.L. Silva** & I. Cesarino, *An Electrochemical Sensor Based on Reduced Graphene Oxide and Copper Nanoparticles for Monitoring Estriol Levels in Water Samples after Bioremediation*, **Chemosensors**, 10, (2022) 395. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10100395>

E.W. Nunes, **M.K.L. Silva**, J. Rascón, D. Leiva-Tafur, R.M.L. Lapa & I. Cesarino, *Acetylcholinesterase Biosensor Based on Functionalized Renewable Carbon Platform for Detection of Carbaryl in Food*, **Biosensors**, 12, (2022) 486. <https://doi.org/10.3390/bios12070486>

C.M.B. Trindade, **M.K.L. Silva** & I. Cesarino, *Copper nanostructures anchored on renewable carbon as electrochemical platform for the detection of dopamine, fluoxetine and escitalopram*, **Sens. and Act. Reports**, 4, (2022) 100107. <https://doi.org/10.1016/j.snr.2022.100107>

G.C. Gomes, **M.K.L. Silva**, F.C. Barreto & I. Cesarino, *Electrochemical Sensing Platform Based on Renewable Carbon Modified with Antimony Nanoparticles for Methylparaben Detection in Personal Care Products*, **Chemosensors**, 11, (2023) 141. <https://doi.org/10.3390/chemosensors11020141>

W.S.R. Teixeira, **MKL Silva**, D. Grasseschi, C.A. Senna, A.G. Oliveira, J. Gruber, I. Cesarino & M.O Salles, *Principal Component Analysis as a Tool for Electrochemical Characterization of Modified Electrodes: A Case Study*, **J. Electrochem. Society**, 169, (2022), 047526. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ac5e48>

M.K.L. Silva, G.S. Sousa, R.P. Simões & I. Cesarino, *Fabrication of paper-based analytical devices using a PLA 3D-printed stencil for electrochemical determination of chloroquine and escitalopram*, **J. of Solid State Electrochem.**, 26, (2022) 581-586. <https://doi.org/10.1007/s10008-021-05075-w>

M.K.L. Silva, R.P. Simões, A. Leão, R. Lapa, J. Rascon & I. Cesarino, *Competitive host-guest electrochemical detection of ivermectin drug using a β -cyclodextrin/graphene-based electrode*, **Electroanalysis**, (2022). <https://doi.org/10.1002/elan.202100649>

G.C. Zaccariotto, **M.K.L. Silva**, G.S. Rocha & I. Cesarino, *A Novel Method for the Detection of SARS-CoV-2 Based on Graphene-Impedimetric Immunosensor*, **Materials**, 14, (2021), 4230. <https://doi.org/10.3390/ma14154230>

M.K.L. Silva, A.L. Leão, M. Sain & I. Cesarino, *A functionalized renewable carbon-based surface for sensor development*, **J. of Solid State Electrochem.**, 25, (2021) 1093–1099. <https://doi.org/10.1007/s10008-020-04882-x>

BARRETO, F. C.; SILVA, MARTIN KÁSSIO LEME; Cesarino, Ivana. Monitoramento Dos Índices De Estriol Em Água Após Tratamento Por Biorremediação. In: **WorkBiotec 2021**.

ZACCARIOTTO, G. C.; ROCHA, G.; SILVA, MARTIN KÁSSIO LEME; Cesarino, Ivana. Um Novo Método Para A Detecção Do Sars-Cov-2 baseado em Imunossensor Impedimétrico de Grafeno. In: **WorkBiotec 2021**.

SILVA, MARTIN KÁSSIO LEME; SOUSA, G. S.; SIMOES, R. P.; Cesarino, Ivana. Fabricação De Sensores Eletroquímicos a base de Papel e Grafite para a Detecção de Cloroquina e Escitalopram. In: **WorkBiotec 2021**.

Donini, C. A.; SILVA, M. K. L.; BRONZATO, GIOVANA R.; LEAO, A. L.; Cesarino, Ivana. Evaluation of a biosensor based on reduced graphene oxide and glucose oxidase enzyme on the monitoring of second-generation ethanol production. In: BBEST 2020-21/BIOFUTURE SUMMIT II, 2020, São Paulo. **PROCEEDINGS OF THE BRAZILIAN BIOENERGY SCIENCE AND TECHNOLOGY CONFERENCE And BIOFUTURE SUMMIT II, 2020**.

BARRETO, F. C.; SILVA, M. K. L.; Cesarino, Ivana. Monitoramento dos Índices de Estriol em Água após Tratamento por Biorremediação. In: XXXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2020, Botucatu. **XXXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2020**.

GOMES, G. C.; SILVA, M. K. L.; Cesarino, Ivana. Sensor eletroquímico baseado em biocarbono e nanopartículas de antimônio para a determinação de metilparabeno em cosmético. In: **XXXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2020**.

TRINDADE, C. M. B.; SILVA, M. K. L.; Cesarino, Ivana. Sensor eletroquímico baseado em biocarbono e nanopartículas de cobre para a determinação de fluoxetina em águas naturais. In: **XXXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2020, Botucatu. XXXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2020**.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIACÕES	xvi
RESUMO	xviii
ABSTRACT	xix

CAPÍTULO 1

Introdução e Objetivos

1.1 Eletroanalítica	1
1.2 Sensores Eletroquímicos	3
1.2.2 Materiais Carbonáceos na construção de Sensores Eletroquímicos	4
1.3 Biochar: obtenção, estrutura, composição e aplicações eletroanalíticas	8
1.3.1 Funcionalização do Biochar para aplicações Eletroanalíticas	13
1.3.2 Modificação de Biochar com Nanomateriais	15
1.3.3 Aplicações de Biochar em Biossensores Eletroquímicos	22
1.4 Dispositivos Analíticos em Papel	26
1.5 Espécies de Interesse Ambiental	28
1.5.1 Contaminantes Ambientais: Ocorrência, legislação e métodos de detecção	28
1.5.2 Contaminantes Ambientais no Brasil	31
1.5.3 Escitalopram	33
1.5.4 Carbaril	34
1.5.5 Metilparabeno	35
1.5.6 Paracetamol	36
1.6 Espécies de Interesse Biológico	37
1.6.1 Dopamina	37

1.7 Objetivo Geral	39
1.7.1 Objetivos Específicos	39

CAPÍTULO 2

Funcionalização Ácida do Biochar e sua aplicação na resposta voltamétrica de espécies eletroativas

2.1 Objetivo específico	40
2.2 Procedimento Experimental	40
2.2.1 Materiais, reagentes e equipamentos	40
2.2.2 Processo de obtenção do Biochar	41
2.2.3 Funcionalização com solução sulfonítrica	41
2.2.4 Preparo dos Eletrodos de Trabalho	42
2.3 Resultados e Discussão	43
2.3.1 Caracterização Morfológica e Espectroscópica	43
2.3.2 Resposta voltamétrica para espécies químicas eletroativas	45
2.3.3 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica	46
2.4 Conclusão parcial	48

CAPÍTULO 3

Desenvolvimento de Biossensor Eletroquímico baseado em Biochar Funcionalizado para detecção de Carbaril em alimentos

3.1 Objetivo Específico	50
3.2 Procedimento Experimental	50
3.2.1 Reagentes	50
3.2.2 Fabricação Biossensor Enzimático	51
3.2.3 Preparação de amostras reais para análise de Carbaril	52
3.2.4 Detecção de carbaril através do processo de inibição da enzima AChE	52

3.3 Resultados e Discussão	53
3.3.1 Processo de Imobilização de AChE e Oxidação de Iodeto de Acetilcolina	53
3.3.2 Otimização da resposta voltamétrica do biossensor enzimático	54
3.3.3 Curva de calibração para Carbaril	56
3.3.4 Influência do interferente no desempenho do biossensor GC/BCF/AChE	59
3.3.5 Estabilidade, repetibilidade e reprodutibilidade	60
3.3.6 Análise de Amostras de Maçã para a Determinação de Carbaril	61
3.4 Conclusão parcial	63

CAPÍTULO 4

Sensores eletroquímicos baseados em Biochar e nanopartículas metálicas para a detecção de Dopamina, Escitalopram e Metilparabeno

4.1 Objetivo Específico	64
4.2 Procedimento Experimental	65
4.2.1 Materiais, reagentes e equipamentos	65
4.2.2 Síntese dos nanocompósitos BC-CuNPs e BC-SbNPs	65
4.2.3 Preparação dos eletrodos de trabalho	66
4.2.4 Preparo de amostras reais	67
4.3 Resultados e Discussão	68
4.3.1 Caracterização morfológica, espectroscópica e eletroquímica dos nanocompósitos	68
4.3.2 Detecção de Metilparabeno empregando do sensor GC/BC-SbNPs	70
4.3.2.1 Processo de oxidação do Metilparabeno	70
4.3.2.2 Otimização da composição do eletrodo na resposta voltamétrica do metilparabeno	73
4.3.2.3 Influência do pH no processo de oxidação do MePa	74
4.3.2.4 Curva de calibração, limites de detecção e quantificação	75
4.3.2.5 Determinação de MePa em PCPs	77
4.3.3 Detecção de Dopamina e Escitalopram com o sensor GC/BC-CuNPs	80
4.3.3.1 Comportamento eletroquímico de DOP e EST	80

4.3.3.2 Otimização da resposta DOP e EST no eletrodo GC/BC-CuNPs	82
4.3.3.3 Curvas de Calibração	83
4.3.3.4 Estudos de reprodutibilidade do sensor GC/BC-CuNPs	86
4.3.3.5 Determinação de DOP e EST em amostras complexas	86
4.4 Conclusão parcial	88

CAPÍTULO 5

Fabricação de Sensor Eletroquímico em Papel modificado com Biochar Funcionalizado para a detecção de Paracetamol.

5.1 Objetivo Específico	90
5.2 Procedimento Experimental	90
5.2.1 Materiais, reagentes e equipamentos	90
5.2.2 Fabricação dos sensores ePAD	91
5.3 Resultados e Discussão	93
5.3.1 Caracterização Morfológica	93
5.3.2 Caracterização eletroquímica dos sensores ePAD	94
5.3.4 Comportamento eletroquímico do Paracetamol	97
5.3.5 Curva Analítica	99
5.3.6 Aplicação do sensor ePAD/BCF na quantificação de paracetamol	101
5.4 Conclusão parcial	103

CAPÍTULO 6

Conclusão Geral

6.1 Conclusões Gerais	104
Referências	106

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Comparação entre as diferentes convenções para a representação de um voltamograma cíclico. Adaptado da referência da [5].	3
Figura 2 – Classificação dos alótropos do carbono segundo a sua dimensionalidade. Traduzido e reutilizado com permissão da Ref. [8]. Copyright © 2018 Elsevier B.V. Todos os direitos reservados.....	7
Figura 3 - Diagrama de Van Kravelen.....	11
Figura 4 – Fonte de matéria prima (biomassa) para a produção de Biochar e sua respectiva aplicação para o desenvolvimento em sensores eletroanalíticos. As nuvens de palavras foram produzidas através da ferramenta <i>FreeWordCloudGenerator</i> através dos resultados publicados na literatura [43, 62, 63].....	12
Figura 5 – Processo de obtenção de Biochar e sua posterior modificação com Nanopartículas metálicas, biomoléculas e tratamento Ácido ou Básico para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos (Fonte: Autor).....	13
Figura 6 – Principais mecanismos de interações físico-químicas observados no biochar para Compostos Inorgânicos e Orgânicos (Fonte: Autor).	14
Figura 7 – Representação esquemática do bottom-up (esquerda) e top-down (direita) para as técnicas de síntese de nanopartículas. Adaptado das referências [82, 93–96].....	18
Figura 8 - Biossensor Eletroquímico (Fonte: Imagem feita com o aplicativo biorender.)	22
Figura 9 – Representação esquemática ilustrando fontes, possíveis caminhos, destino e consequências para a saúde de contaminantes emergentes de águas subterrâneas. (Figura feita com a ferramenta online <i>biorender</i> , https://biorender.com). Traduzido e reutilizado com permissão da Ref. [160]. Copyright © 2018 Elsevier B.V. Todos os direitos reservados.	30

Figura 10 – Mapa geográfico brasileiro ilustrando a detecção de cada classe de contaminantes ambientais (número de notificações) em distintas regiões e Estados do Brasil no período de janeiro de 2011 a novembro de 2021. Reutilizado com permissão da Ref. [162]. Copyright © 2022 Elsevier B.V. Todos os direitos reservados.	32
Figura 11 – Estrutura molecular do Escitalopram (Fonte: Repositório ChemSpider)	33
Figura 12 - Estrutura molecular do Carbaril (Fonte: Repositório ChemSpider).	34
Figura 13 - Estrutura molecular do Metilparabeno (Fonte: Repositório ChemSpider).	36
Figura 14 - Estrutura molecular do Paracetamol (Fonte: Repositório ChemSpider).	36
Figura 15 - Estrutura molecular do Dopamina (Fonte: Repositório ChemSpider).	38
Figura 16 – Esquema de funcionalização ácida do Biochar através do processo de oxidação química com solução sulfonítrica (1:3 v/v), filtração com membrana de Nylon e secagem do material obtido.	42
Figura 17 – Imagens obtidas por MEV para A) BC não tratado e B) BC funcionalizado após tratamento ácido por 12 horas em uma solução sulfonítrica 1:3 (v/v).	43
Figura 18 – Espectro obtido por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para os materiais BC (curva a) e BCF (curva b).	44
Figura 19 – Voltamogramas Cíclicos dos eletrodos GC não modificado (linha tracejada), GC/BC (curva a) e GC/BCF (curva b) em: A) 5,0 mmol L ⁻¹ do par redox [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} . B) Solução PBS (0,2 mol L ⁻¹ , pH 7,0) com 100 µmol L ⁻¹ de EST. ($\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$).	45
Figura 20 – Reação de oxidação do Escitalopram.	46
Figura 21 - Diagramas de Nyquist obtidos para eletrodos GC não modificado (■), GC/BC não tratado (●) e GC/BCF (▲) em: A) presença de 5,0 mmol L ⁻¹ do par redox [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} e B) presença de 100 µmol L ⁻¹ de EST em PBS pH 7,0.	47

Figura 22 – Representação esquemática do processo de funcionalização ácida do biochar, a respectiva fabricação dos biossensores enzimáticos utilizando eletrodos GC e a metodologia de avaliação por Voltametria de Pulso Diferencial.	51
Figura 23 – Voltamograma de Pulso Diferencial do biossensor GC/BC/AChE em PBS 0,2 mol L ⁻¹ (pH 7,5) na ausência (curva a) e presença (curva b) de 50,0 μmol L ⁻¹ de AChI. (Condições da DPV: $a = 100$ mV, $tm = 50$ ms, $v = 10$ mV s ⁻¹).	54
Figura 24 – Voltamogramas de Pulso Diferencial obtidos para os biossensores GC/BC/AChE (curva a) e GC/BCF/AChE (curva b) em solução de PBS 0,2 mol L ⁻¹ pH 7,5 na presença de 50,0 μmol L ⁻¹ de AChI (Condições da DPV: $a = 100$ mV, $tm = 50$ ms, $v = 10$ mV s ⁻¹).	55
Figura 25 – A) Efeito da concentração de BCF (μg mL ⁻¹) e B) Efeito do pH na corrente de pico anódico de oxidação da tiocolina para o biossensor GC/BCF/AChE em uma solução de 0,2 mol L ⁻¹ PBS contendo 50,0 μmol L ⁻¹ de AChI.	56
Figura 26 – A) Voltamogramas para o biossensor GC/BCF/AChE na ausência (curva b - vermelha) e na presença de 5, 10, 15, 20, 25 e 30,0 nmol L ⁻¹ de Carbaril em 0,2 mol L ⁻¹ PBS (pH 7,5). B) Dependência linear da inibição da enzima com as concentrações de Carbaril. (Condições da DPV: $a = 100$ mV, $tm = 50$ ms, $v = 10$ mV s ⁻¹).	57
Figura 27 – A) Voltamogramas obtidos usando o biossensor GC/BCF/AChE na ausência de inibidores (curva a), na presença de 30 nmol L ⁻¹ de Carbaril (curva b), e adições sucessivas de 5 nmol L ⁻¹ (curva c), 10 nmol L ⁻¹ (curva d) e 15 nmol L ⁻¹ (curva e) do interferente AMPA. B) Gráfico de barras indicando a inibição do sinal analítico na presença de Carbaril e AMPA.	60
Figura 28 – A) Voltamogramas obtidos usando o biossensor GC/BCF/AChE na presença de 50 μmol L ⁻¹ de AChI após o processo de armazenamento à 4°C por 0, 2, 4, 8 e 10 dias. B) Gráfico de barras indicando a perda do sinal analítico evidenciando a perda da atividade enzimática da AChE.	61

Figura 29 – Adição de método padrão proposto para detectar carbaril em amostras de maçã. A) Voltamogramas de Pulso Diferencial na ausência da amostra (linha tracejada), amostra de maçã fortificada com 10,0 nmol L ⁻¹ de Carbaril (a) e concentrações de carbaril adicionado de 10,0 (c), 20,0 (d) e 30,0 (e) nmol L ⁻¹ . B) Curva de recuperação obtida com o biossensor proposto em amostra real.....	62
Figura 30 – Esquema representando o processo de modificação do Biochar com nanopartículas de Cobre (CuNPs) e de Antimônio (SbNPs) para a detecção de Dopamina, Escitalopram e Metilparabeno.	66
Figura 31 – Caracterização dos materiais: Imagens de FEG-SEM para o material BC (A), para o material BC-CuNPs (B1 e B2); histograma do tamanho das CuNPs (B3) e seu espectro EDS (B4); e caracterização eletroquímica por CV em 0,2 mol/L PBS (pH 7, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$). Similarmente, imagens de FEG-SEM para o material BC-SbNPs (C1 e C2); histograma do tamanho das SbNPs (C3) e seu espectro EDS (C4); e caracterização eletroquímica por CV em 0,5 mol/L HCl ($\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$)."	68
Figura 32 – A) Voltametria cíclica no eletrodo GC/BC-SbNPs em solução 0,1 mol L ⁻¹ PBS pH 7,0 na ausência (linha tracejada) e na presença (linha contínua) de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ MePa. (Condições da DPV: $a = 75 \text{ mV}$, $tm = 50 \text{ ms}$, $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$). B) Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (Inserção: relação linear $\log I_{pa}$ vs. $\log \nu$). C) Mecanismo de oxidação para o MePa.	71
Figura 33 – Voltamogramas de pulso diferencial de eletrodos em solução 0,1 mol L ⁻¹ PBS pH 7,0 adicionada de 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ MePa para eletrodo GC (linha tracejada), eletrodo GC/BC (a) e eletrodo GC/BC-SbNPs (b). (Condições da DPV: $a = 75 \text{ mV}$, $tm = 50 \text{ ms}$, $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$).	72
Figura 34 – Relação entre a concentração do filme de BC-SbNPs (mg mL^{-1}) e sua influência com I_{pa} E_{pa} no processo de oxidação de 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ MePa.	73

Figura 35 – A) Voltamogramas de Pulso Diferencial utilizando o eletrodo GC/BC-SbNPs na presença de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução de PBS $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes pHs, de 5,0 a 10. (Condições da DPV: $a = 75 \text{ mV}$, $tm = 50 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$). B) Relação de I_{pa} (■) e E_{pa} (●) em função do pH da solução tampão.....	74
Figura 36 – A) Voltamograma de pulso diferencial usando GC/BC-SbNPs em solução $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ PBS pH 7,0 com concentrações de MePa variando de $0,2$ a $9,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. (Condições da DPV: $a = 100 \text{ mV}$, $tm = 50 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$). B) Relação linear entre I_{pa} e C_{MePa}	76
Figura 37 – Espectros UV-Vis ($350 - 220 \text{ nm}$) para diferentes concentrações de MePa ($1,0$ a $60 \mu\text{mol L}^{-1}$). (<i>Inserção:</i> respectiva curva de calibração mostrando a relação linear de absorvância vs. $[\text{MePa}]/\mu\text{mol L}^{-1}$).	78
Figura 38 – Quantificação de MePa na amostra de enxaguante bucal pela técnica (A) DPV: amostra (s), e adição de $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (a), $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (b) e $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (c). (B) Metodologia UV-Vis: amostra (s), e adição de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (a), $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (b) e $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (c). (<i>Inserção:</i> Quantificação de MePa pelo método de adição padrão.).	79
Figura 39 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o sensor GC/BC-CuNPs na ausência (linha tracejada) e na presença de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DOP (A1) e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EST (B1). ($v = 10 \text{ mV s}^{-1}$). Voltamogramas de pulso diferencial comparando-se os eletrodos a) GC), b) GC/BC e GC/BC-CuNPs no processo de oxidação de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DOP (A2) e $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DOP (B2). (Condições da DPV: $a = 100 \text{ mV}$, $tm = 50 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$). Experimentos realizados em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7).	81
Figura 40 – Curvas analíticas usando a técnica de DPV com o eletrodo GC/BC-CuNPs em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ PBS pH 7,0 e a respectiva dependência linear das correntes de pico com A1-A2) DOP ($0,05$ a $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) e B1-B2) EST ($0,2$ a $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$).	84
Figura 41 – A) Voltamogramas de Pulso Diferencial obtidos com o sensor GC/BC-CuNPs em amostra sintética de urina humana fortificadas com DOP nas concentrações de $0,1$ (s), $0,2$ (a), $0,4$	

(b) e $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (c). B) Recuperação das concentrações adicionadas pelo método de adição de padrão.....	87
Figura 42 – A) Medições DPV corrigidas da linha de base de EST em amostra de água da torneira fortificada com $0,5$ (s), $1,0$ (a), $1,5$ (b) e $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (c) com o padrão analítico. B) Recuperação das concentrações adicionadas pelo método de adição de padrão.	87
Figura 43 - Fabricação passo a passo dos ePADs: A) Projeto 3D do estêncil fabricado em PLA para a confecção de sensores em papel. B) Impressão 3D com filamento de PLA. C) Confeção da tinta condutora. D) Delimitação do espaço para eletrólito com: (I) Projeto do software, (II) Impressão em cera (sólida), (III) Aquecimento para que a cera penetre nas fibras do papel e crie uma barreira hidrofóbica, (IV) Fabricação dos sensores usando o estêncil e a tinta condutora (grafite/verniz vitral) e (V) ePAD fabricado. E) Adaptação com garras tipo “jacaré” para medidas eletroquímicas.	92
Figura 44 - Microscopias MEV da tinta de carbono espalhada sobre substrato de papel com ampliação em A) x 5,000 e B) x 10,000, C) e D) ePAD modificado com BCF.....	94
Figura 45 - Voltamogramas Cíclicos em PBS $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$: A) Comparação da performance ePADs com diferentes formulações de tinta condutora GR-VV. B) Comparando a resposta voltamétrica do sensor ePAD sem modificação (linha vermelha) e do sensor ePAD/BCF (linha preta).	95
Figura 46 - A) Voltamogramas cíclicos obtidos com o sensor ePAD/BCF em uma solução $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,4) contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, para as velocidades de varredura de 10, 25, 50, 75 e 100 mV s^{-1} . B) Gráfico I vs. $v^{1/2}$	97
Figura 47 - A) Voltamogramas cíclicos do sensor ePAD/BCF na ausência (linha tracejada) e presença de $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PARA em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PBS (pH 7,0), $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. B) Mecanismo de oxidação do Paracetamol em N-acetil-p-benzoquinonaimina no sensor ePAD/BCF.	98

Figura 48 – Voltamogramas de varredura linear obtidos com o sensor ePAD na ausência (linha tracejada e na presença (curva b) de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ PARA, assim como o sensor ePAD/BCF na presença de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ PARA (curva c) ($v = 25 \text{ mV s}^{-1}$). 99

Figura 49 – **A)** Voltamogramas de Varredura Linear obtidos com $150 \mu\text{L}$ da solução $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ PBS, pH 7,0 com diferentes concentrações de PARA variando de $5,0$ a $60 \mu\text{mol L}^{-1}$ e **B)** Relação linear entre pico de corrente anódica e concentração de PARA. 100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados de pirólise de diferentes tipos de biomassa para a produção de biochar utilizado na confecção de sensores eletroquímicos, incluindo informações sobre a taxa de aquecimento, o tempo de residência, a temperatura de pirólise e as condições atmosféricas.....	9
Tabela 2 – Diferentes processos de inibição enzimática observando a interação entre Enzima (E), Substrato (S) e substância Inibidora (I). Adaptado da Ref. [116].	24
Tabela 3 – Parâmetros obtidos por EIS na caracterização dos eletrodos modificados para diferentes espécies eletroativas.....	48
Tabela 4 – Comparação de características analíticas com outros biossensores relatados para detecção de carbaril.....	58
Tabela 5 – Comparação da faixa linear de detecção, limite de detecção, limite de quantificação e amostras reais utilizadas em diferentes sensores eletroquímicos reportados na literatura para a detecção de MePa.....	77
Tabela 6 – Resultados obtidos na quantificação de MePa empregando-se o método voltamétrico com o sensor GC/BC-SbNPs e o método comparativo por UV-vis.	80
Tabela 7 – Plataformas de detecção analítica eletroquímica baseadas em fontes renováveis de carbono e outros materiais à base de carbono.....	85
Tabela 8 – Determinação de DOP e EST em amostras reais (n=4). Mostrando os valores adicionados ($\mu\text{mol L}^{-1}$), encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$), porcentagem de recuperação e Desvio Padrão Relativo (%).	88
Tabela 9 – Otimização do processo de fabricação do sensor ePAD com diferentes tintas condutoras e sua modificação com o material BCF. Comparação por correntes de pico anódico (I_{pa}), catódico (I_{pc}) e separação entre picos redox (ΔE_p).	96

Tabela 10 - Características de dispositivos analíticos eletroquímicos baseados em papel.	101
Tabela 11 – Efeito de possíveis interferentes na determinação por LSV de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PARA na proporção 1:1 [PARA]:[interferente].	102
Tabela 12 – Determinação de PARA em amostras reais de comprimido comercial de paracetamol e capsula de antigripal. Mostrando os valores rotulados em mg de cada fármaco, a concentração adicionada e o valor detectado pelo sensor ePAD/BCF e o erro relativo (%).	103

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

<i>A</i>	Área eletroativa (cm ²)
<i>a</i>	Amplitude de pulso (mV)
AChE	Enzima Acetilcolinesterase
AChI	Iodeto de Acetiltiocolina
BC	Biochar
BC-CuNPs	Biochar modificado com Nanopartículas de Cobre
BCF	Biochar Funcionalizado
BC-SbNPs	Biochar modificado com Nanopartículas de Antimônio
CBR	Carbaril
CPE	Elemento de Fase Constante (do inglês – “ <i>constant phase element</i> ”)
CuNPs	Nanopartículas de Cobre
CV	Voltametria Cíclica (do inglês - “ <i>cyclic voltammetry</i> ”)
DOP	Dopamina
DPV	Voltametria de Pulso Diferencial (do inglês – “ <i>Differential Pulse Voltammetry</i> ”)
<i>E</i>	Potencial
EDS	Espectroscopia de raios X por dispersão de energia (do inglês - “ <i>energy dispersive X-ray spectroscopy</i> ”)
EIS	Espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês - “ <i>electrochemical impedance spectroscopy</i> ”)
<i>E_p</i>	Potencial de pico
ePADs	Dispositivos Eletroanalíticos em Papel (do inglês, “ <i>Electrochemical paper-based analytical devices</i> ”)
EST	Escitalopram
FEG-SEM	Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (do inglês - “ <i>field emission gun scanning electron microscopy</i> ”)
GC	Carbono Vítreo (do inglês - “ <i>glassy carbon</i> ”)

GR	Grafite
GR-VV	Tinta condutora composta por grafite e verniz vitral
I	Corrente
I_{pa}	Corrente de pico anódico
I_{pc}	Corrente de pico catódica
LOD	Limite de detecção (do inglês - "limit of detection")
log	Logarítimo
LSV	Voltametria de varredura linear (do inglês - "linear sweep voltammetry")
MePa	Metilparabeno
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
OCP	Potencial de circuito aberto (do inglês - "open circuit potential")

RESUMO

Neste trabalho investigou-se o uso do biochar derivado de bambu como base para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos para detecção de espécies de interesse ambiental e biológico. A tese está dividida em seis capítulos que abordam diferentes aspectos dessa pesquisa. No **Capítulo 1**, apresentamos uma revisão da literatura e a motivação para nosso trabalho. O **Capítulo 2** descreve em detalhes o processo de funcionalização ácida do biochar (BC) usando uma solução sulfonítrica ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$), resultando no BC funcionalizado (BCF). Os resultados revelaram a adição significativa de grupos funcionais e mudanças estruturais no BCF, enquanto o sensor GC/BCF demonstrou uma melhoria notável na resposta voltamétrica para analitos como o Escitalopram (EST) e o Ferricianeto/Ferrocianeto de Potássio ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$). No **Capítulo 3**, desenvolvemos um biossensor enzimático, o GC/BCF/AChE, para a detecção indireta do pesticida Carbaril (CBR). O biossensor apresentou uma resposta linear para o CBR na faixa de 5,0 a 30,0 nmol L^{-1} , com um baixo limite de detecção (LOD) de 4,5 nmol L^{-1} . Além disso, conseguimos quantificar o CBR em amostras reais de maçã, obtendo recuperações entre 102,5% e 118,6% usando o método de adição de padrão. O **Capítulo 4** envolveu a síntese, caracterização e aplicação de nanocompósitos de BC modificados com nanopartículas de Cobre (CuNPs) e Antimônio (SbNPs). Os sensores GC/BC-CuNPs foram aplicados na detecção de Dopamina (DOP) (0,05 – 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LOD de 0,04 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e o Escitalopram (EST) (0,2 – 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LOD de 0,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$). O sensor também foi aplicado na determinação de DOP em amostras de urina sintética e EST em amostras de água. Já o sensor GC/BC-SbNPs foi aplicado na determinação de Metilparabeno (MePa), (0,2 a 9,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LOD de 0,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$). O sensor também foi aplicado na determinação de MePa em amostras produtos de higiene pessoal, e o método desenvolvido foi comparado com espectroscopia UV-Vis. No **Capítulo 5**, desenvolveu-se Dispositivos Eletroanalíticos em Papel (ePADs) usando um estêncil Ácido Polilático (PLA) impresso em 3D e uma tinta condutiva de grafite/verniz vitral. O sensor ePAD modificado com BCF demonstrou eficácia na detecção de Paracetamol (PARA), na faixa linear de detecção entre 5 e 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LOD de 3,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O sensor também se demonstrou a aplicabilidade prática desse sensor na detecção PARA em amostras de comprimido revestido e capsula de analgésico comerciais. Finalmente, o **Capítulo 6** apresenta uma conclusão para o uso promissor do biochar em sensores eletroanalíticos e discute perspectivas futuras. Este trabalho contribui para o avanço na área de sensoriamento eletroquímico, oferecendo métodos simples e de baixo custo para aplicações ambientais e biomédicas.

Palavras-chave: Biochar, Sensores Eletroquímicos, nanocompósitos, Biossensor Eletroquímico, aplicações ambientais e biológicas.

ABSTRACT

In this work, the use of bamboo-derived biochar as a foundation for the development of electrochemical sensors for the detection of environmentally and biologically relevant species was investigated. The thesis is divided into six chapters, each addressing various aspects of this research. **Chapter 1** provides a literature review and the motivation behind this work. In **Chapter 2**, we investigated the acid functionalization process of biochar (BC) using a sulfonitric solution ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$), resulting in functionalized biochar (BCF). The results revealed a significant addition of functional groups and structural changes in BCF. Moreover, the GC/BCF sensor exhibited a remarkable improvement in the voltammetric response for analytes such as Escitalopram (EST) and Potassium Ferricyanide/Ferrocyanide ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$). **Chapter 3** focuses on the development of an enzymatic biosensor, GC/BCF/AChE, for the indirect detection of the pesticide Carbaril (CBR). The biosensor exhibited a linear response to CBR in the range of 5.0 to 30.0 nmol L^{-1} , with a low limit of detection (LOD) of 4.5 nmol L^{-1} . Furthermore, we successfully quantified CBR in real apple samples, achieving recoveries between 102.5% and 118.6% using the standard addition method. **Chapter 4** involves the synthesis, characterization, and application of BC nanocomposites modified with Copper (CuNPs) and Antimony (SbNPs) nanoparticles. The GC/BC-CuNPs sensor was applied to the detection of Dopamine (DOP) (0.05 – 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, LOD: 0.04 $\mu\text{mol L}^{-1}$) and Escitalopram (EST) (0.2 – 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, LOD: 0.15 $\mu\text{mol L}^{-1}$). The sensor was also employed for the determination of DOP in synthetic urine samples and EST in water samples. The GC/BC-SbNPs sensor was applied to the determination of Methylparaben (MePa) (0.2 to 9.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, LOD: 0.05 $\mu\text{mol L}^{-1}$) in personal care products, and the developed method was compared with UV-Vis spectroscopy. **Chapter 5** discusses the development of Paper-Based Electroanalytical Devices (ePADs) using a 3D-printed Polylactic Acid (PLA) stencil and a custom-made graphite/glassy varnish conductive ink. The BCF-modified ePAD demonstrated efficiency in Paracetamol (PARA) detection, with a linear detection range of 5 to 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and an LOD of 3.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Additionally, the sensor exhibited practical applicability in detecting PARA in commercial coated tablet and capsule samples. Finally, **Chapter 6** provides a conclusion regarding the promising use of biochar in electroanalytical sensors and discusses future prospects. This work contributes to advancing the field of electrochemical sensing by offering simple and cost-effective methods for environmental and biomedical applications.

Key-words: Biochar, Electrochemical Sensors, Nanocomposites, Electrochemical biosensor, Environmental and Biological applications.

CAPÍTULO 1

Introdução e Objetivos

1.1 Eletroanalítica

A Eletroanalítica é uma área que compreende a interação entre eletroquímica e a química analítica, em outras palavras, medir grandezas elétricas como corrente, potencial, resistência, carga e avaliar sua correlação com espécies químicas [1]. Esta área da ciência tem ganhado grande popularidade devido à variedade de aplicações, a versatilidade na fabricação de novos sensores com diferentes formatos e aplicações, fizeram com que tais técnicas se difundissem em diferentes áreas de pesquisa.

Diversos trabalhos ao longo da história contribuíram para o desenvolvimento de técnicas eletroanalíticas, como o trabalho de Wolcott Gibbs “*On the electrolytic precipitation of copper and nickel as a method of analysis*”. Este trabalho é considerado como um dos primeiros a utilizar eletroanálise de forma quantitativa (Eletrogravimetria) [2]. Podemos mencionar o trabalho do químico e físico alemão Walther Nernst, que, em 1889, durante seu pós-doutoramento, realizou pesquisas no campo da potenciometria direta. Como resultado de suas investigações, Nernst desenvolveu a Equação de Nernst, uma ferramenta essencial para correlacionar o potencial de uma célula eletroquímica com as concentrações das espécies químicas envolvidas. Esse desenvolvimento significativo permitiu uma compreensão mais profunda e preditiva do comportamento de sistemas eletroquímicos, tornando-se uma contribuição fundamental para a eletroquímica [3].

Desta forma, para uma dada espécie podemos relacionar a sua forma oxidada (O) e reduzida (R) através da equação 1. Tal reação irá ocorrer em uma região de potencial (E) onde o processo de transferência de elétrons seja termodinamicamente ou cineticamente favorável.



A equação de Nernst (equação 2) correlaciona, para sistemas controlados pelas leis da termodinâmica, a concentração do analito com a diferença de potencial utilizando a equação:

$$E = E^{\circ} + \frac{2.3RT}{nF} \log \frac{C_O}{C_R} \quad (2)$$

Desta forma, dependendo da diferença de Potencial (E) em volts (V) aplicado, podemos forçar uma espécie eletroativa reduzir (ganhar elétrons) ou oxidar (perder elétrons). Através desta equação, diversos estudos foram realizados correlacionando o potencial do eletrodo com a atividade de íons em solução. Um exemplo clássico é a titulação potenciométrica para a determinação de íons cloreto, brometo e iodeto realizados por Robert Behrend em 1893. Atualmente, o uso da potenciometria continua a avançar as fronteiras da eletroanalítica com o desenvolvimento de biossensores potenciométricos, para a detecção de contaminantes ambientais, fármacos e biomarcadores de interesse biomédico [4].

Analogamente, em métodos eletroanalíticos dinâmicos (com passagem de corrente), a corrente resultante obtida do processo de mudança no estado de oxidação de espécies eletroativas é conhecida como **corrente faradaica**, em outras palavras, obedece a Lei de Faraday (i.e., a reação de 1 mol de uma substância equivale a 96485 Coulombs). O gráfico de corrente-potencial obtido destas reações é conhecido como voltamograma, onde observamos o sinal de corrente [eixo vertical (ordenada)] versus o potencial de excitação [eixo horizontal (abscissa)][5] (**Figura 1**). Normalmente podemos encontrar na literatura dois tipos de convenções para representação de um voltamograma, a dos Estados Unidos (US Convention) e a estabelecida pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC).

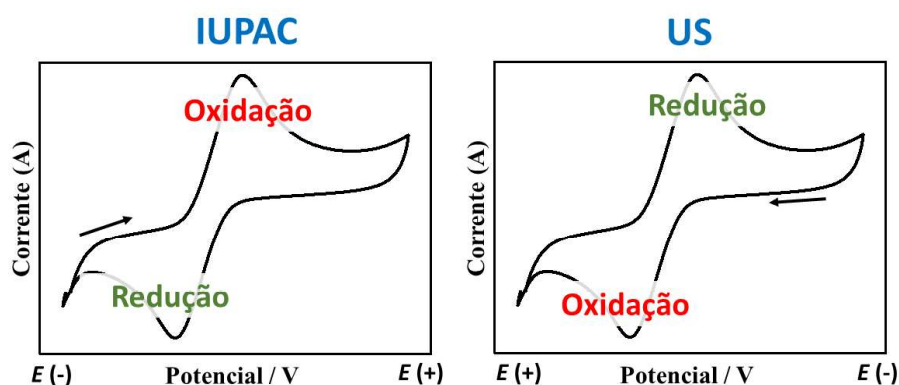


Figura 1 - Comparação entre as diferentes convenções para a representação de um voltamograma cíclico. Adaptado da referência da [5].

A forma e a intensidade da resposta voltamétrica estão diretamente relacionados aos processos envolvidos nas reações que ocorrem na interface eletrodo/solução. Dessa forma, o analito, o eletrólito de suporte, o eletrodo de trabalho e a técnica voltamétrica influenciam diretamente a performance do ensaio eletroanalítico.

1.2 Sensores Eletroquímicos

A IUPAC define um sensor químico como *"um dispositivo que converte dados químicos, desde a concentração de um único componente da amostra até a análise completa da composição, em um sinal analiticamente utilizável"* [6]. De forma geral, um sensor químico consiste em duas unidades funcionais essenciais: um receptor e um transdutor físico-químico. Os receptores são variáveis e podem incluir desde superfícies ativadas ou dopadas até moléculas complexas (macro) que estabelecem interações específicas com o analito. Nos sensores eletroquímicos, a informação analítica é derivada do sinal elétrico gerado pela interação do analito alvo com a camada de reconhecimento. Diversos dispositivos eletroquímicos podem ser utilizados para monitoramento ambiental, sendo a escolha dependente da natureza do analito, das características da matriz da amostra e dos requisitos de sensibilidade e seletividade [7].

O desenvolvimento de sensores eletroquímicos é essencial para a análise de várias substâncias, sendo a escolha do material de modificação dos eletrodos um fator-chave nesse contexto. A crescente adoção de nanomateriais tem sido notável nessa área, pois esses materiais apresentam propriedades únicas em nanoescala. Um dos principais benefícios dos nanomateriais reside em sua área superficial ampliada, que supera consideravelmente a dos materiais convencionais. Isso possibilita maior capacidade de adsorção e reatividade superficial, o que, combinado com a alta condutividade elétrica dos nanomateriais, resulta em uma detecção mais sensível e eficaz de analito. Portanto, o uso de nanomateriais na modificação de eletrodos é uma tendência crescente e promissora, que está contribuindo significativamente para avanços em análises químicas, bioquímicas e ambientais [8, 9].

Nos últimos anos podemos observar diversas publicações relatando o uso de diferentes nanomateriais a base de carbono como esferas ocas de carbono [10], *carbon black* [11], carbon printex [12], fulereno, nanotubos de carbono (CNTs), grafeno e suas variações, pontos quânticos de carbono, polímeros nanoestruturados e nanoestruturas metálicas/não-metálicas para a modificação de eletrodos de trabalho [13]. O uso de nanomateriais com propriedades mecânicas, químicas e eletrônicas particulares, é uma estratégia comum no desenvolvimento de sensores eletroquímicos com o intuito de melhorar a detectabilidade, sensibilidade, seletividade, taxa de transferência de elétrons e ampliação do intervalo de potencial [14].

1.2.2 Materiais Carbonáceos na construção de Sensores Eletroquímicos

O carbono é considerado um elemento químico muito versátil, podendo fornecer diversas combinações entre seus átomos com hibridização sp^2 e sp^3 . Esta característica intrínseca leva a formação de diversos alótropos com propriedades e características únicas para cada material [15]. Dentre os diversos nanomateriais utilizados para a modificação de sensores, os materiais a base de Carbono merecem um destaque devido às características como:

- i. Alta condutividade eletrônica, especialmente grafeno e seus alótropos [16];
- ii. Alta área superficial específica [17];
- iii. Alta atividade catalítica com uma cinética química superior a outros nanomateriais [18];
- iv. Aumento da adsorção de analitos na superfície do eletrodo [19];
- v. Alta estabilidade química [20];

Os nanoalótropos de carbono são amplamente empregados na fabricação e modificação de eletrodos. A combinação desses nanomateriais com óxidos metálicos oferece uma vantagem significativa no desenvolvimento de sensores eletroanalíticos devido ao efeito sinérgico entre os materiais, resultando em um aumento substancial na sensibilidade dos sensores com essas superfícies nanoestruturadas[21].

Os materiais à base de carbono podem ser categorizados de acordo com sua dimensionalidade, variadas formas e geometrias. Portanto, é fundamental realizar uma classificação precisa das nanoestruturas com base em sua dimensionalidade, uma vez que esse atributo é intrinsecamente relacionado ao tamanho, forma e configuração natural desses materiais. Essa estrutura classificatória de nanoestruturas teve sua origem nas propostas de Gleiter em 1995 [22], passou por ampliações sob a supervisão de Skorokhod em 2001 [23] e uma revisão subsequente por Pokropivny e Skorokhod em 2007 [24]. Em 2015 Georgakilas e colaboradores [15] apresentaram essa classificação de dimensionalidade em relação aos nanoalótropos de carbono. A **Figura 2** oferece uma classificação dos alótropos de carbono em relação a sua dimensionalidade, sendo:

- a) **Dimensão zero (0D)** são nanoestruturas que não possuem extensão em nenhuma direção, sendo "pontos" no espaço tridimensional. Exemplos incluem nanopartículas esféricas, nanoclusters e nanocristais. Eles têm um espaço interno vazio que pode acomodar moléculas, metais ou outras nanoestruturas, resultando em propriedades

únicas, como fotoluminescência. Isso os torna úteis em diversas aplicações, especialmente em biotecnologia e imunoenaios. [25].

- b) Estruturas unidimensionais (1D)** Estruturas unidimensionais (1D) são nanoestruturas longas que se estendem em uma única direção. Elas têm propriedades únicas devido a essa dimensionalidade restrita e são usadas em áreas como eletrônica, sensores e materiais avançados. Exemplos de estruturas 1D incluem nanotubos de carbono de parede simples (SWCNTs), nanotubos de múltiplas paredes (MWCNTs) e nanochifres de carbono. CNTs se destacam entre os nanoalótropos de carbono, principalmente na pesquisa em escala nanométrica, devido à sua alta relação entre comprimento e diâmetro dos tubos. Eles exibem propriedades eletrônicas, térmicas, mecânicas e químicas únicas, o que os torna promissores para uma ampla variedade de aplicações em setores como a nanoeletrônica, biotecnologia e gerenciamento térmico. [26].
- c) Estruturas bidimensionais (2D)** como Grafeno, nanofolhas gráficas multicamadas e nanofitas de grafeno, que se estendem em duas dimensões, como um plano ou uma folha fina. O Grafeno se apresenta como um material de grande destaque entre os alótropos 2D devido a sua grande área superficial de $2630 \text{ m}^2/\text{g}$, sendo duas vezes maior que a área superficial dos CNTs ($1315 \text{ m}^2/\text{g}$) e extremamente alta quando comparada ao grafite 3D ($10 \text{ m}^2/\text{g}$). Também apresenta uma alta condutividade elétrica sendo 6 vezes maior do que o cobre e 60 vezes maior que os CNTs. O Grafeno apresenta uma alta condutividade eletrônica de $200.000 \text{ cm}^2/\text{V s}$. Todas essas características fazem com que o grafeno e suas variedades (óxido de grafeno (GO) e óxido de grafeno reduzido (rGO)) possuam grande destaque no desenvolvimento de sensores eletroquímicos [27].
- d) Estruturas tridimensionais (3D)** como o grafite e diamante, que se estendem nas três dimensões do espaço, ou seja, têm extensão em comprimento, largura e altura. Diferentemente das estruturas 0D, 1D e 2D, as estruturas 3D ocupam um volume no

espaço tridimensional. Na área de eletroanalítica, podemos citar o eletrodo de diamante dopado com boro (DDB), que apresenta uma grande versatilidade na detecção de fármacos em geral devido a sua grande janela de potencial [28].

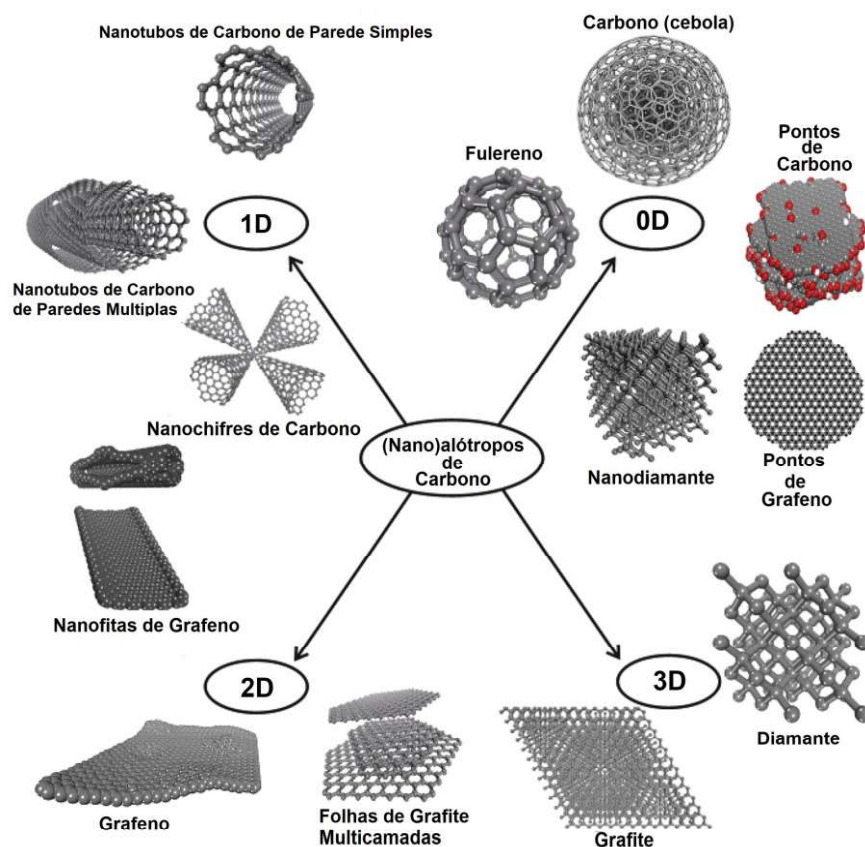


Figura 2 – Classificação dos alótropos do carbono segundo a sua dimensionalidade. Traduzido e reutilizado com permissão da Ref. [8]. Copyright © 2018 Elsevier B.V. Todos os direitos reservados.

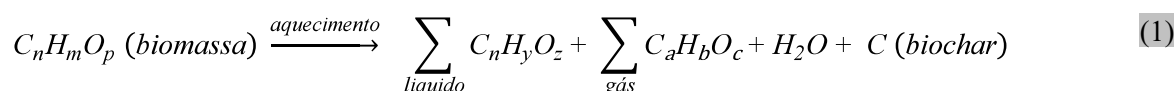
Existem diversos nanomateriais carbonáceos para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos reportados na literatura, principalmente aqueles provenientes do Grafeno. No entanto, o Biochar, outro material carbonáceo, tem ganhado destaque devido às suas intrínsecas características de adsorção de moléculas orgânicas e inorgânicas, sendo aplicado na mitigação de

poluentes ambientais. Desta forma, o próximo tópico discutirá as características e aplicações deste material na área Eletroanalítica.

1.3 Biochar: obtenção, estrutura, composição e aplicações eletroanalíticas

A primeira definição proposta por Lehmann e Joseph [29] descreve o biochar como um material carbonáceo renovável de baixa densidade, com sua principal aplicação na correção do solo, mas com potencial para mitigar o desperdício de resíduos agrícolas e impulsionar inovações benéficas ao desenvolvimento econômico e social. O termo biochar foi padronizado pela Iniciativa Internacional Biochar (IBI), que o define como: *"Biochar é produzido por pirólise ou gaseificação – processos que aquecem a biomassa na ausência ou em uma atmosfera limitada de oxigênio."* Essa padronização tem contribuído para a clareza na compreensão e na aplicação desse material [30]. Este material à base de carbono tem sido extensivamente aplicado na remediação de contaminantes inorgânicos/orgânicos [31, 32], no desenvolvimento de células a combustível [33, 34], como material de armazenamento [35, 36], na correção do solo [37], e como um catalisador [38, 39].

A **Pirólise** é o método mais difundido a aplicado para obtenção do biochar. Este processo de decomposição termoquímica aquece a biomassa, proveniente de origem vegetal ou animal, à elevadas temperaturas (300-900°C) levando a formação de três produtos: um produto sólido abundante em carbono (Biochar), uma fase líquida (bio-óleo) condensada a partir de matéria volátil do processo e o restante, gases sintéticos, principalmente óxidos de carbono (CO e CO₂), metano (CH₄) e hidrogênio (H₂) [40, 41]. O processo de pirólise de biomassas pode ser representado em uma reação geral [42] (Equação 1):



O processo de pirólise pode ser dividido amplamente em duas amplas categorias, rápida e lenta, que podem ser distinguidas de acordo com a taxa de aquecimento, a temperatura de pirólise e o

tempo de residência [43]. A pirólise lenta se distingue por um aquecimento gradual e um tempo de residência prolongado. A biomassa é submetida à pirólise a temperaturas em torno de 300–700 °C, com uma taxa de aquecimento de aproximadamente 0,01–2 °C/s, por um período que varia de horas a dias no reator. Já a pirólise rápida é caracterizada por taxas de aquecimento elevadas (> 2 °C/s), curtos tempos de residência (< 10 segundos) e temperaturas moderadas (300–1000 °C), resultando principalmente na produção de bio-óleo [44]. A **Tabela 1** apresenta dados sobre a pirólise de diferentes tipos de biomassa, para obtenção de biochars utilizados na confecção de sensores eletroquímicos, incluindo informações sobre a taxa de aquecimento, o tempo de residência, a temperatura de pirólise e as condições da atmosfera em que os experimentos foram conduzidos.

Tabela 1 - Dados de pirólise de diferentes tipos de biomassa para a produção de biochar utilizado na confecção de sensores eletroquímicos, incluindo informações sobre a taxa de aquecimento, o tempo de residência, a temperatura de pirólise e as condições atmosféricas.

<i>Biomassa</i>	<i>Taxa de Aquecimento</i>	<i>Tempo de Residência</i>	<i>Temperatura de Pirólise (°C)</i>	<i>Atmosfera</i>	<i>Ref.</i>
Farelo de mamona	0,08 °C s ⁻¹	60 min	400	-	[45]
Bagaço de Cana de Açúcar	0,12 °C s ⁻¹	60 min	800	Fluxo de N ₂	[46]
Gengibre branco	0,03 °C s ⁻¹	120 min	700, 800 ou 950	Purgado com N ₂	[47]
Pinheiro	-	120 min	600	condições limitadas de oxigênio	[48]
Groselha indiana (amla)	0,08 °C s ⁻¹	120 min	700, 800 ou 900	N ₂	[49]
Bambu	0,5 °C s ⁻¹	60	900	N ₂	Este trabalho

Na produção de sensores eletroquímicos, o biochar geralmente é obtido através da pirólise em uma atmosfera inerte de N₂, com preferência por temperaturas acima de 400°C (Tabela 1). Essas condições visam alcançar um biochar de alta cristalinidade, ampla área superficial e um rendimento de produtos aprimorado [50, 51]. Além disso, a temperatura e a taxa de aquecimento são fatores determinantes durante a pirólise. Temperaturas abaixo de 400°C resultam em uma estrutura

predominantemente de carbono alifático, enquanto temperaturas acima de 400°C aumentam a proporção de carbono aromático. Temperaturas superiores a 600°C promovem a remoção de hidrogênio e oxigênio, levando à formação de estruturas aromáticas em torno de 800°C. Acima de 1000°C, a estrutura consiste principalmente de carbono e hidrogênio, enquanto a obtenção de grafite ocorre em temperaturas acima de 2500°C, embora algumas matérias-primas tenham sido grafitizadas a temperaturas mais baixas [52–55].

Diferentes biomassas podem ser utilizadas como precursoras (matéria-prima) para a obtenção de biochar. O termo **biomassa** refere-se a materiais orgânicos derivados de plantas ou animais, assumindo várias formas, incluindo sólidos, líquidos e gases, como gorduras, óleos, produtos líquidos e resíduos sólidos. Essa biomassa é proveniente de diversas fontes, como a agricultura (exemplos incluem cana-de-açúcar, bambu, milho e arroz), silvicultura (envolvendo árvores, resíduos de madeira e serragem), áreas urbanas (como esgoto), culturas energéticas (como óleos vegetais) e materiais biológicos (incluindo restos de animais e resíduos biológicos) [56]. A composição polimérica das paredes celulares e outros constituintes da biomassa vegetal variam amplamente, mas são essencialmente feitas de três polímeros principais: celulose, hemicelulose e lignina. A presença desses componentes na matéria-prima da biomassa desempenha um papel crucial na determinação das propriedades físico-químicas do biochar [52]. Através de um diagrama de Van Krevelen podemos observar as transformações ocorridas na biomassa durante o processo de pirólise. Este diagrama é uma análise gráfica bidimensional na qual podemos correlacionar a relação atômica entre hidrogênio e carbono (H/C) contra a razão entre oxigênio e carbono (O/C), como mostrado na **Figura 3**.

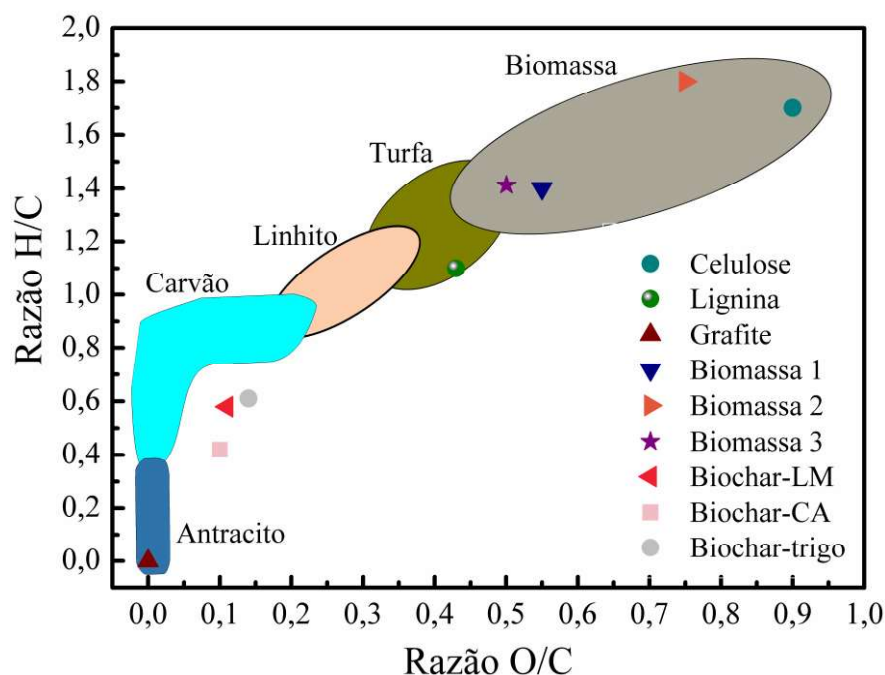


Figura 3 - Diagrama de Van Kravellen

O biochar produzido por pirólise lenta se enquadra na categoria de carvão e pode ser considerado um biocombustível sólido com qualidade comparável à do carvão convencional. Ao analisar as razões O/C e H/C, observou-se que o grau de carbonização do biochar é influenciado por processos como desmetilação, desidratação e descarboxilação [57].

A **Figura 4** mostra nuvem de palavras relacionada as diferentes biomassas utilizadas para a produção de Biochar. A segunda nuvem mostra as principais biomassas utilizadas para a produção de Biochar com o intuito de se aplicar ao desenvolvimento de sensores eletroanalíticos reportados na literatura. Vale destacar que as biomassas provenientes de biomassa de mamona [58, 59], bambu [60–62] e cascas de frutas apresentam grande destaque para a produção de eletrodos. Biochar produzido através de tais biomassas apresentam partículas e estruturas de forma heterogênea, tamanho aleatório, com poros ou estruturas de favo de mel (*honeycomb*) [58, 63].

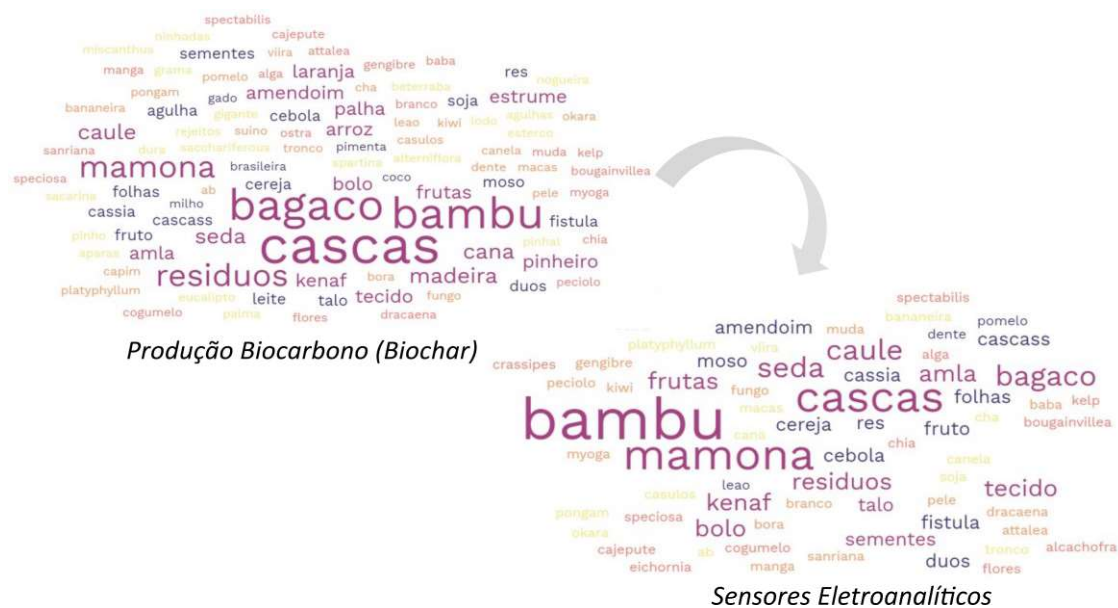


Figura 4 – Fonte de matéria prima (biomassa) para a produção de Biochar e sua respectiva aplicação para o desenvolvimento em sensores eletroanalíticos. As nuvens de palavras foram produzidas através da ferramenta *FreeWordCloudGenerator* através dos resultados publicados na literatura [44, 64, 65].

Nos últimos anos, houve um notável aumento da utilização do biochar no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. Isso se deve, em grande parte, à sua estrutura altamente porosa, que é rica em funcionalidades químicas e apresenta propriedades únicas. A crescente apreciação dessas características tem impulsionado a pesquisa e o desenvolvimento de biochar como material de escolha em uma variedade de dispositivos eletroquímicos [66, 67]. A **Figura 5** apresenta um esquema do processo de obtenção do biochar através do processo de pirólise. O Biochar é obtido através da pirólise controlada de biomassa derivada de madeira, resíduos agrícolas ou esterco [19, 68].

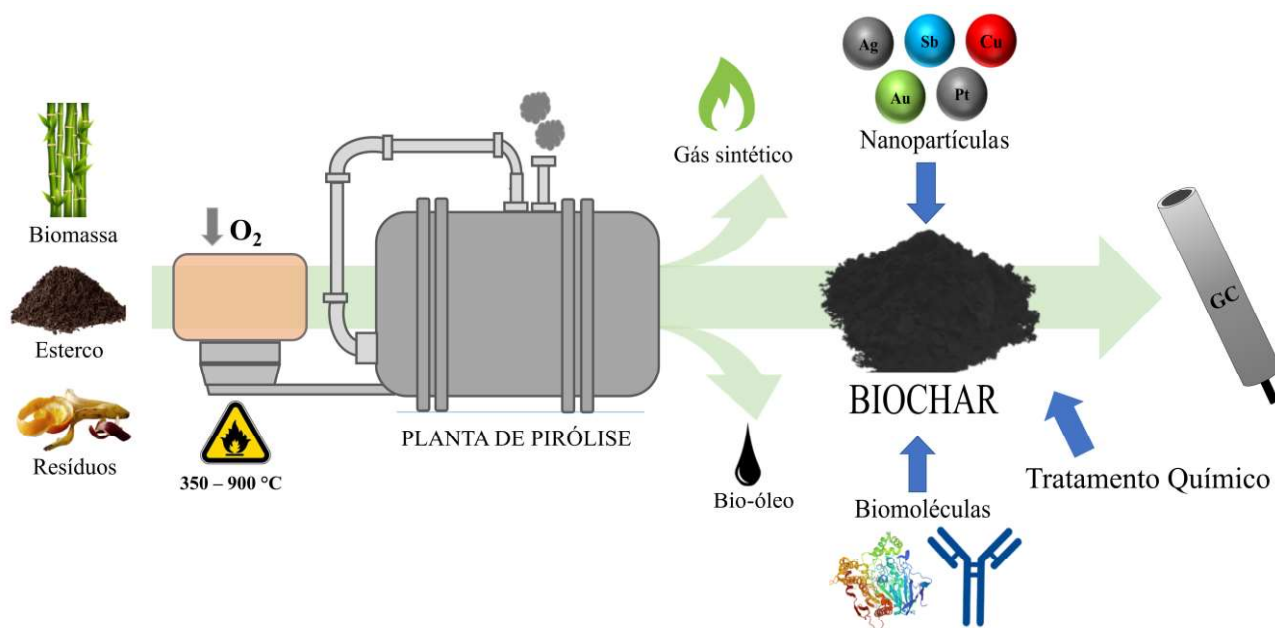


Figura 5 – Processo de obtenção de Biochar e sua posterior modificação com Nanopartículas metálicas, biomoléculas e tratamento Ácido ou Básico para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos (Fonte: Autor).

1.3.1 Funcionalização do Biochar para aplicações Eletroanalíticas

O biochar é conhecido por uma variedade de aplicações, principalmente na adsorção de poluentes como metais “pesados” e moléculas orgânicas. Esta característica inerente do Biochar permite a modificação de sensores eletroquímicos para melhorar a resposta voltamétrica de moléculas orgânicas através de ligações de hidrogênio, atração eletrostática, preenchimento de poros, interação entre elétrons (π - π) e efeitos hidrofóbicos [69]. A **Figura 6** apresenta os principais mecanismos envolvidos na interação do Biochar com moléculas orgânicas e inorgânicas [70, 71].

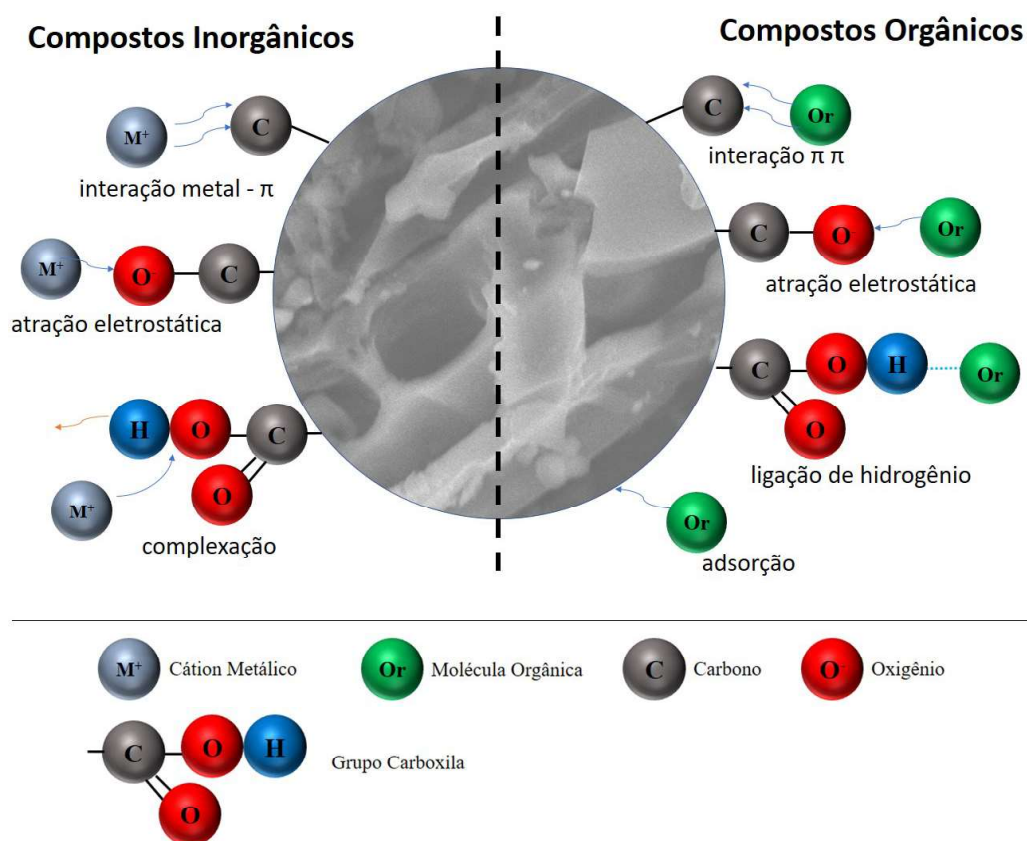


Figura 6 – Principais mecanismos de interações físico-químicas observados no biochar para Compostos Inorgânicos e Orgânicos (Fonte: Autor).

Com o intuito de aumentar o processo de adsorção e interação de moléculas inorgânicas e orgânicas na superfície do Biochar, este material normalmente passa por um processo de ativação ou funcionalização pós-pirólise [72]. Entre os principais processos podemos citar o **tratamento químico** com reagentes oxidantes (por exemplo, HNO_3 , $KMnO_4$) e bases (por exemplo, $NaOH$ e KOH) para melhorar a adsorção de moléculas orgânicas, metais e compostos inorgânicos [69, 73]

Historicamente, a funcionalização do biochar visava aprimorar suas propriedades de adsorção, uma vez que sua aplicação predominante estava voltada para a remediação de solos e a remoção de poluentes orgânicos e inorgânicos de águas naturais e superficiais [19]. Entretanto, nos últimos anos, a sua aplicação no desenvolvimento de sensores eletroquímicos trouxe novas abordagens e estratégias para a funcionalização deste material.

No contexto das aplicações eletroanalíticas do biochar, Oliveira et al. [45], descreveram a ativação bem-sucedida do biochar proveniente de resíduos de farelo de mamona. Esse processo envolveu um tratamento ácido com uma solução de HNO_3 50% (v/v) a 60°C por 3 horas, resultando em um aumento significativo na quantidade de grupamentos funcionais oxigenados incorporados à superfície do material. Utilizando um eletrodo compósito à base de pasta de carbono modificado com o biochar funcionalizado, os pesquisadores realizaram a determinação seletiva do pesticida metil paration (MP) em amostras de água potável. O eletrodo demonstrou boa sensibilidade, com limites de detecção para o MP de $760 \mu\text{A L mmol}^{-1}$ e $39,0 \text{ nmol L}^{-1}$, respectivamente. Biochar ativado com HNO_3 também foi utilizado na confecção de sensores eletroquímicos para a detecção de metais pesados [59, 74], ácido cafeico [75] e compostos fenólicos, como o catecol [76].

1.3.2 Modificação de Biochar com Nanomateriais

Nanotecnologia é o termo utilizado para áreas da ciência e engenharia onde os processos envolvidos para a caracterização, produção e aplicação de materiais, estruturas, dispositivos e sistemas ocorrem em escala nanométrica [77, 78]. Esta definição da Comissão Europeia (E.C.) resume de forma geral o significado da nanotecnologia no contexto mais amplo.

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) criou em 2007 a Comissão de Estudo Especial ABNT/CEE-089 para tratar de assuntos relacionados a Nanotecnologia no que se refere à “.... terminologia e nomenclatura; metrologia e instrumentação, incluindo especificações para materiais de referência; métodos de ensaio; modelagem e simulações; e práticas de saúde, segurança e meio-ambiente com embasamento científico.” [79]. A própria ABNT afirma que a comissão é “*espelho do ©/TC 229 – Nanotechnologies*” [80]. Desta forma, podemos fazer uso de conceitos e terminologias utilizados para o melhor entendimento desta grande área da ciência.

a) Nanoescala: faixa de comprimento aproximadamente de 1 nm a 100 nm;

- b) Nanociência:** estudo, descoberta e compreensão da matéria onde se manifestam propriedades e fenômenos dependentes do tamanho e da estrutura, predominantemente em nanoescala;
- c) Nanotecnologia:** aplicação do conhecimento científico para manipular e controlar a matéria predominantemente em nanoescala para fazer uso de propriedades e fenômenos dependentes de tamanho e estrutura distintos daqueles associados a átomos ou moléculas individuais, ou extrapolação de tamanhos maiores do mesmo material;
- d) Nanomaterial:** refere-se a partículas sólidas, naturais ou fabricadas, presentes isoladamente ou em aglomerados, que atendem a certos critérios de tamanho e forma. Esses critérios incluem dimensões externas na faixa de 1 nm a 100 nm, formato alongado (como bastão, fibra ou tubo) quando duas dimensões são menores que 1 nm e a outra é maior que 100 nm, ou formato de placa quando uma dimensão é menor que 1 nm e as outras são maiores que 100 nm. Partículas com pelo menos duas dimensões externas ortogonais maiores que 100 μm não são consideradas na distribuição de tamanho baseada em números. A área superficial específica em volume deve ser superior a 6 $\text{m}^2 \text{cm}^{-3}$ para que um material seja considerado um nanomaterial [81];
- e) Nanopartícula:** partícula com uma ou mais dimensões em nanoescala (considera-se que as nanopartículas têm duas ou mais dimensões em nanoescala).
- f) Nanocompósito:** composto no qual pelo menos uma das fases possui pelo menos uma dimensão em nanoescala.

Recentemente, o número de formas potenciais de nanomateriais disponíveis para uso em aplicações biotecnológicas inclui uma lista crescente de nanopartículas, nanofios, nanofibras, nanoestruturas e nanomáquinas (nano robôs). A avaliação do potencial de toxicidade dos nanomateriais sugere que existam alguns materiais que possuem características que requerem um

grau de modificação em sua estrutura com o intuito de eliminar a possibilidade de efeitos adversos e risco de exposição [82].

A) Nanopartículas Metálicas

O emprego da nanotecnologia no avanço de sensores eletroquímicos está diretamente associado à síntese ou integração de nanopartículas (NPs), como as metálicas, de carbono, entre outras, para a modificação de estruturas preexistentes. Isso visa alcançar melhorias no transporte de massa, aumento da área superficial e otimização da relação sinal-ruído, incluindo capacidade catalítica [83]. Exemplos clássicos incluem o uso de nanopartículas nobres (ouro, prata e platina) para o desenvolvimento de diagnósticos [84], e o emprego de nanopartículas metálicas ou óxidos metálicos de cobre (Cu), níquel (Ni) e cobalto (Co) no desenvolvimento de biossensores não-enzimáticos [85, 86].

Na literatura, encontramos diversas metodologias para a síntese de nanopartículas. A **Figura 7** resume os principais métodos de fabricação de nanopartículas por meio das abordagens *Top-down* e *Bottom-up*. Nossa capacidade de construir estruturas grandes e intrincadas com precisão nanométrica está evoluindo rapidamente e envolve abordagens redutivas de cima para baixo (top-down) e aditivas de baixo para cima (bottom-up).

As técnicas Top-down referem-se a métodos físicos e químicos destinados a fragmentar materiais de grande volume (granel) em partículas menores na escala nanométrica. Processos controlados externamente, como corte, fresagem e modelagem dos materiais, estão entre as principais abordagens utilizadas nas técnicas Top-down. Diversos métodos físicos, como pirólise [87], nanolitografia [88], termólise ou decomposição térmica [89] e métodos induzidos por radiação [90], pertencem a esta categoria.

Em contraste, na abordagem de baixo para cima (bottom-up), as nanopartículas são produzidas pela automontagem de átomos, moléculas ou clusters. A técnica Bottom-up apresenta uma grande

vantagem, pois proporciona um controle muito melhor sobre a formação do produto final, podendo fornecer uma grande variedade de tamanhos, formas e composições químicas. Normalmente, essa técnica é um procedimento de síntese química por via úmida, podendo ser químico [91], eletroquímico [92], sonoquímico [93] e síntese verde [94].

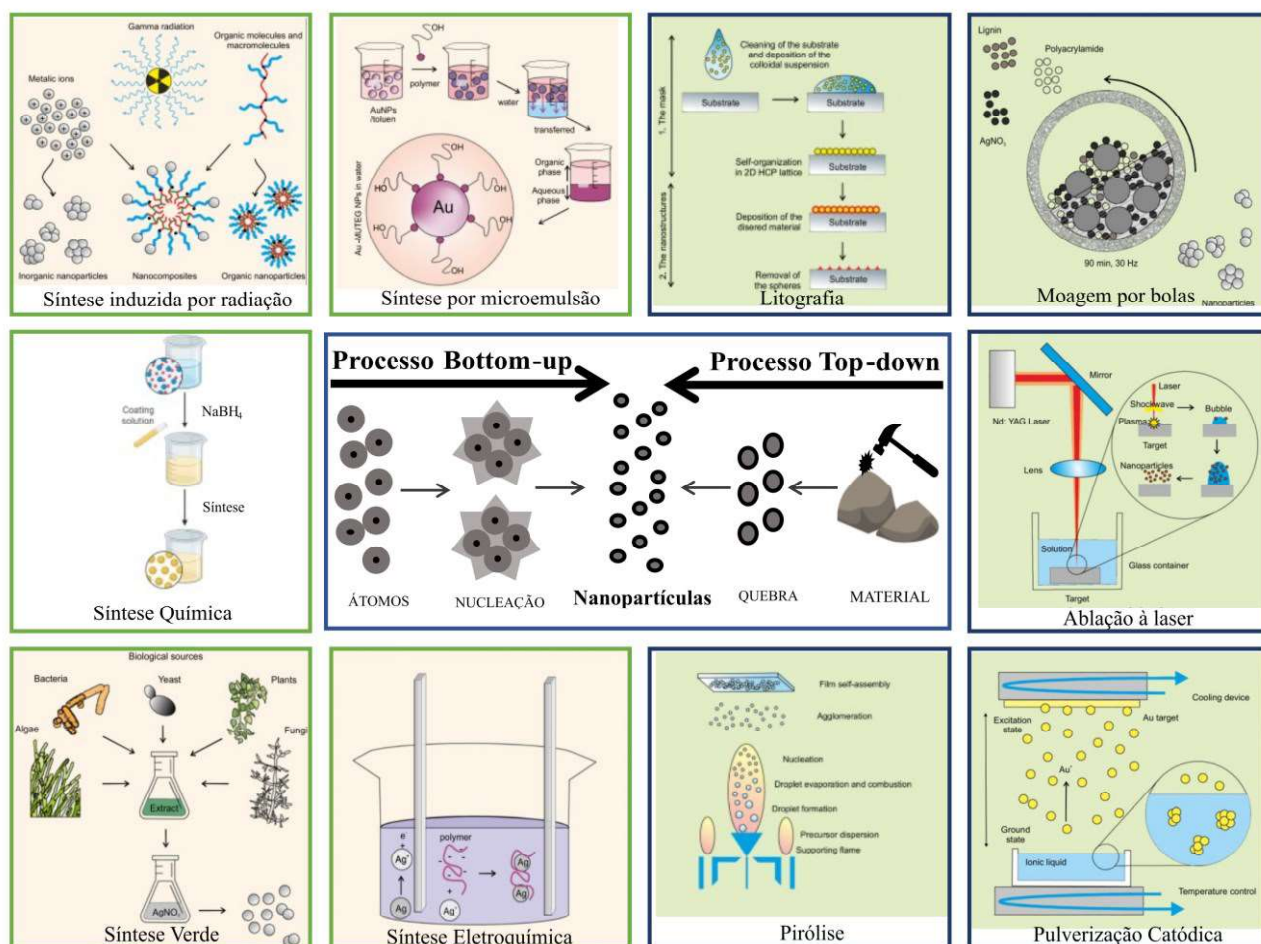


Figura 7 – Representação esquemática do bottom-up (esquerda) e top-down (direita) para as técnicas de síntese de nanopartículas. Adaptado das referências [84, 95–98].

Em relação à modificação do biochar com nanopartículas metálicas (NPMs) para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos destinados à detecção de moléculas de interesse ambiental e clínico, a seguir serão discutidos alguns estudos que abordam a incorporação de NPMs em um processo pós-pirólise para a construção de tais sensores.

Agustini et al. [99], investiram o uso de nanopartículas de bismuto (Bi) para a confecção de sensor voltado para a detecção de chumbo (Pb) liberado por pratos de cerâmica. Entretanto, a deposição das nanopartículas não forma bem elucidadas. O eletrodo de pasta de carbono modificado com nanoestruturas de biochar e bismuto (nBi-BchCPE) apresentou uma faixa de detecção linear de 5,0 a 1000 nmol L⁻¹ e limite de detecção de 1,41 nmol L⁻¹ para Pb(II).

Outros trabalhos na literatura reportam o uso de sais ou óxidos (ZnCl₂, MgO) com o intuito de incorporar nanopartículas à superfície do biochar no processo pré-pirólise. Entretanto, a discussão será restrita a incorporação pós-pirólise de nanopartículas metálicas.

Neste trabalho foi investigado o uso da redução química para a obtenção de biochar modificado com nanopartículas metálicas. A técnica de **síntese ou redução química**, envolve a redução de íons metálicos de seus sais iônicos utilizando um agente químico redutor na presença de um agente estabilizador sob condições experimentais controladas de pH, temperatura, agitação, etc. Entre os principais agentes redutores podemos citar o Borohidreto de Sódio (NaBH₄) [100, 101], Citrato de Sódio [102], Hidrazina, hidrogênio, hidreto de alumínio e lítio e álcoois [97].

Além dos agentes redutores, esta técnica faz uso de agentes estabilizantes. O **agente estabilizador** controla o tamanho nanopartículas. Podemos categorizar os agentes estabilizadores como os baixa massa molecular (e.g., Citrato, SDS) e os de alta massa molecular (e.g., amido, tween, PVP, PEG, DISPERBYK). Estabilizadores de **baixa massa molecular** (geralmente surfactantes carregados) têm a tendência de alterar a carga superficial das partículas sintetizadas e manter a força repulsiva entre elas, impedindo a agregação; esse tipo de estabilizador geralmente não garante estabilidade contra fatores externos (especialmente mudanças na temperatura de armazenamento e exposição à luz). Estabilizadores de **alta massa molecular** atuam para proteger as partículas sintetizadas de tensões ambientais, e apresentam uma maior eficiência do que os de baixa massa molecular [84, 103].

Dessa forma, os próximos tópicos abordarão algumas características sobre as nanopartículas de cobre (CuNPs) e antimônio (SbNPs) que serão utilizadas para a confecção de sensores eletroquímicos nesta tese.

B) Nanopartículas de Cobre

Nanomateriais derivados de metais terrestres abundantes têm despertado interesse significativo como alternativas aos caros catalisadores de metais nobres usados em processos químicos convencionais. Especificamente, as nanopartículas de cobre (CuNPs) são atraentes devido à abundância e baixo custo do cobre, embora a sua instabilidade sob condições atmosféricas tenha limitado sua aplicação. Para superar esse desafio, exploraram-se estratégias como o desenvolvimento de nanocatalisadores mais estáveis, incluindo estruturas complexas como núcleo/casca CuNPs ou sistemas à base de óxidos de cobre. O cobre, com sua ampla variedade de estados de oxidação (Cu^0 , Cu^{I} , Cu^{II} e Cu^{III}), permite reações versáteis, destacando as aplicações potenciais desses nanocatalisadores em transformações orgânicas, eletrocatalítica e fotocatalítica, apesar da necessidade contínua de aprimoramento na busca por materiais altamente ativos, seletivos e econômicos [104].

O uso de CuNPs para modificação de biochar ainda está muito limitado na literatura. Oliveira et al. [105] desenvolveram um sensor de pasta de carbono modificado com biochar, no qual realizaram a eletrodeposição de nanopartículas de hexacianoferrato de cobre (nCuHCF) por voltametria cíclica. As nanopartículas resultantes apresentaram tamanhos cristalinos de aproximadamente 305 ± 42 nm. Esse sensor foi empregado na detecção seletiva de isoniazida (INZ), demonstrando uma faixa linear de detecção de $1,0$ a $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção $0,063 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Até onde pode-se constatar, não foram relatados na literatura eletrodos modificados CuNPs tendo BC obtido por redução química. Devido às propriedades discutidas para estes dois nanomateriais este sensor é de grande interesse.

C) Nanopartículas de Antimônio

Eletrodos baseados em filmes de antimônio (SbFE) foram introduzidos em 2007 por Hocevar e colegas como uma alternativa aos eletrodos tradicionais de mercúrio e aos de bismuto (BiFE) apresentados em 2000 por Wang e colaboradores para a detecção de metais pesados. Os SbFEs destacam-se por características como uma ampla janela de potencial operacional, operação eficiente em soluções ácidas com pH 2 ou inferior (superior ao relatado para BiFEs) e um reduzido sinal de redissolução anódica do próprio antimônio, especialmente em condições otimizadas [106–108].

Além de serem empregados na detecção de metais pesados, materiais à base de antimônio (Sb) e/ou nanopartículas de antimônio (SbNPs) foram integrados a materiais à base de carbono, como rGO [109] e MWCNTs [110], para a detecção de moléculas orgânicas. Essa incorporação resultou em melhorias na sensibilidade e detectabilidade das técnicas desenvolvidas após a adição das nanopartículas metálicas.

Gevaerd et al. [111], desenvolveram um método semelhante, realizando a eletrodeposição de micropartículas de antimônio (Sb) sobre o sensor de biochar (BCPE) por meio da técnica de Voltametria de Onda-Quadrada (SWV). O sensor SbBCPE foi empregado na determinação de Paraquat, apresentando uma faixa linear de detecção de 0,2 a 2,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um limite de detecção de 34 nmol L^{-1} . Além disso, foi aplicado com sucesso na detecção de Paraquat em amostras fortificadas de água de torneira e suco de frutas cítricas, com obtenção de boas recuperações.

A junção de nanopartículas de antimônio (SbNPs) e biochar é uma abordagem promissora para aprimorar a eficiência na modificação de eletrodos, visando o desenvolvimento de sensores eletroanalíticos. Essa estratégia visa melhorar as características eletroquímicas do eletrodo, aumentando a sensibilidade e seletividade do sensor resultante, ampliando suas aplicações na detecção de compostos de interesse.

1.3.3 Aplicações de Biochar em Biossensores Eletroquímicos

O biochar também tem sido amplamente utilizado na construção de biossensores eletroquímicos. Recentes trabalhos na literatura utilizam o biochar como uma plataforma para a imobilização de anticorpos [112], sequências de DNA [113, 114] e enzimas [60, 115], devido a sua estrutura porosa e altamente funcionalizada, facilitando a imobilização de biomoléculas. Dessa forma, investigar as propriedades do biochar e sua aplicação na construção de novos biossensores eletroquímicos se faz necessário e promissor, abrindo portas para avanços significativos na área de análises químicas e ambientais.

Biossensores eletroquímicos possuem um papel importante no avanço da química analítica. A inserção de um componente biológico (e.g., enzimas, anticorpos, etc.) confere a tais sensores características únicas de especificidade a um determinado analito [116]. O **elemento de bioreconhecimento** (componente biológico) é imobilizado sobre a superfície de um **transdutor** (eletrodo de trabalho), que será responsável pela conversão do sinal enzimático em um sinal elétrico mensurável que será processado por **detector** (potenciostato), como mostrado na **Figura 8**.

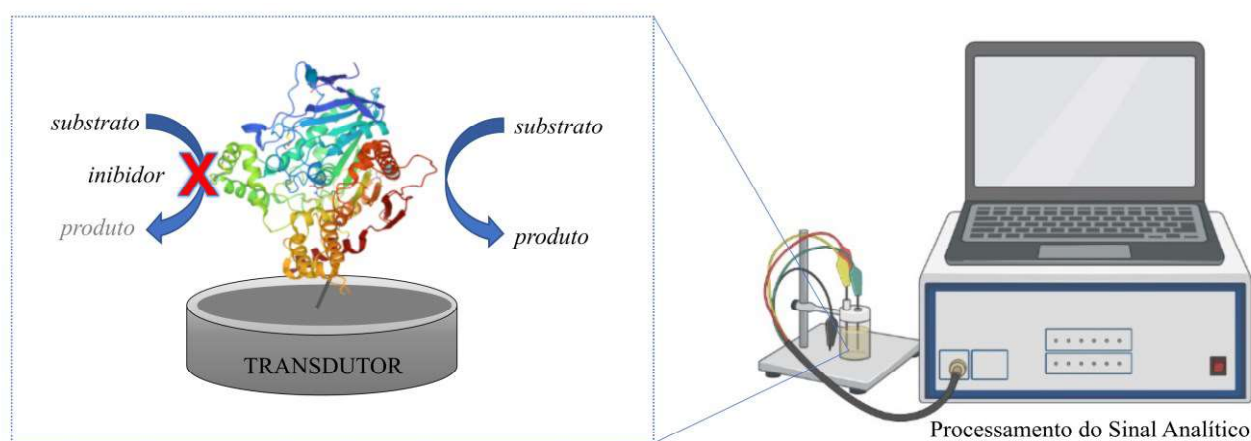


Figura 8 - Biossensor Eletroquímico (Fonte: Imagem feita com o aplicativo biorender.)

Biossensores enzimáticos têm ampla aplicação na eletroanalítica. O primeiro biossensor eletroquímico foi apresentado por Leland C. Clark Jr. em 1956, quando foi observado que a enzima

Glicose Oxidase (GOx), quando presente junto ao seu substrato, induzia um processo de desoxigenação no meio reacional, resultando na geração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) [117]. Assim, Clark construiu seu protótipo inicial utilizando um eletrodo de oxigênio, com a imobilização da enzima GOx.

No capítulo 3, discutiremos o desenvolvimento de um biossensor eletroquímico baseado no princípio da inibição enzimática. Para isso, é fundamental abordarmos inicialmente essa categoria de biossensores.

A) Biossensores baseados em inibição enzimática

Uma classe que merece destaque é a dos biossensores baseados no processo de inibição enzimática [118]. Um inibidor enzimático é uma substância capaz de alterar a eficiência de uma reação de catálise enzimática, tornando-a mais lenta ou reduzindo sua eficácia, assim como de alterar a especificidade do componente biológico. Podemos dividir os processos de inibição em reversíveis e irreversíveis [119]. Nos processos reversíveis há a formação de um complexo entre a enzima (E), o substrato (S) e o inibidor (I). Este complexo é apresentado na forma de um sistema em equilíbrio, ou seja, dependendo das concentrações de substrato e do inibidor, alterando dessa forma a formação e dissociação do complexo enzima substrato (E-S) [118–120]. A **Tabela 2** resume os principais mecanismos para o processo de inibição enzimática.

- **Reversível**
 - i. **Competitiva** – A substância inibidora (I) possui características semelhantes ao substrato (S) e pode formar um complexo estável com a enzima (E-I). Sendo um processo reversível, a adição de substrato (S) pode descolar o equilíbrio para a formação do complexo inicial (E-S) (reação 1);
 - ii. **Não Competitiva** – A substância inibidora (I) se liga a um sítio diferente do que o substrato (S). Desta forma ocorre a formação dos complexos E-S e E-I. Uma substância inibidora não competitiva pode diminuir a velocidade da reação catalítica para a formação do produto (P) (reação 2);

iii. Incompetitiva – A substância inibidora (I) se liga apenas ao complexo E-S, levando a formação do complexo E-S-I (reação 3);

- **Irreversível**

Neste caso a substância inibidora (I) se liga irreversivelmente ao sítio catalítico da enzima. Este processo é comumente utilizado para avaliar mecanismos de reação (reação 4).

Tabela 2 – Diferentes processos de inibição enzimática observando a interação entre Enzima (E), Substrato (S) e substância Inibidora (I). Adaptado da Ref. [118].

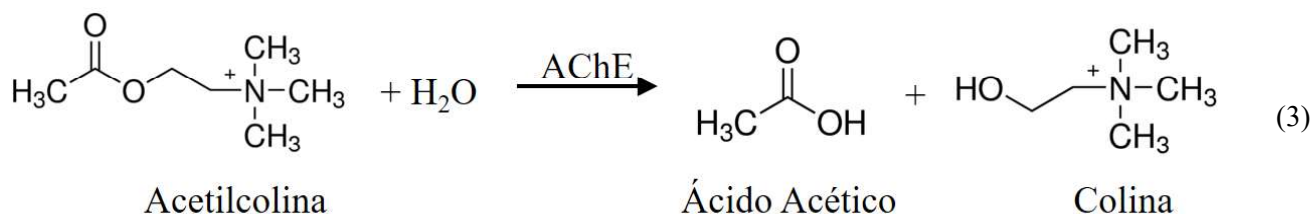
<i>Inibição Competitiva</i>	Inibição Reversível		Inibição Irreversível
	<i>Inibição Não Competitiva</i>	<i>Inibição Incompetitiva</i>	
$E + S \rightleftharpoons E-S \rightarrow E + P$ $E + I \rightleftharpoons E-I$ (reação 1)	$E + S \rightleftharpoons E-S \rightarrow E + P$ $+ \quad \quad +$ $I \quad \quad I$ $\updownarrow \quad \quad \updownarrow$ $E-I \rightleftharpoons E-S-I$ (reação 2)	$E + S \rightleftharpoons E-S \rightarrow E + P$ $E + I \rightleftharpoons E-I$ (reação 3)	$E + I \rightleftharpoons E-I$ (reação 4)

B) Enzimas Colinesterases em Biossensores Eletroquímicos

Atualmente podemos encontrar uma grande variedade de biossensores eletroquímicos que utilizam o processo de inibição enzimática como uma ferramenta analítica para o monitoramento contaminantes emergentes em amostras ambientais. As enzimas mais comuns utilizadas para este fim são as colinesterase, tirosinase, xantina oxidase, fosfatase alcalina e glicosidase [121]. A classe das enzimas colinesterases terão um enfoque maior neste capítulo devido a sua utilização para a construção do biossensor proposto.

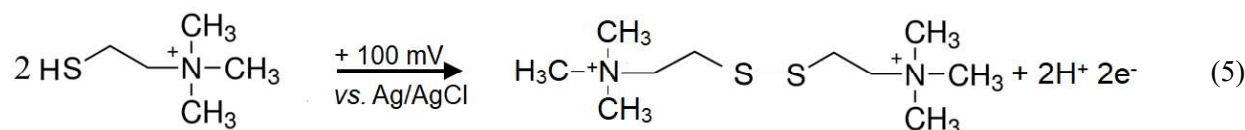
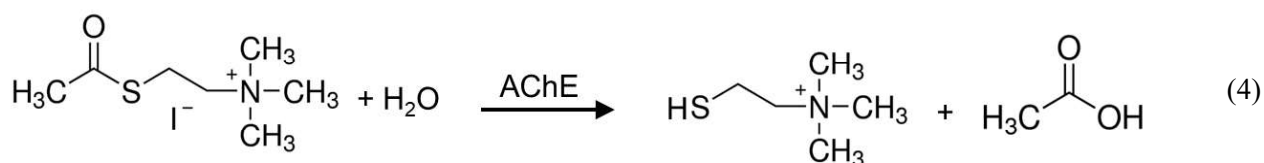
As enzimas Acetilcolinesterase (AChE) são glicoproteínas produzidas pelo fígado capazes de hidrolisar o neurotransmissor Acetilcolina (ACh) levando a formação colina e ácido acético (Equação 3). Devido a sua fácil obtenção comercial e sua versatilidade em produzir biossensores

rápidos, sensíveis e de fácil uso, tem tornado esta enzima um grande atrativo para o desenvolvimento de metodologias analíticas qualitativas e quantitativas [118].



Levando em consideração o processo de hidrólise enzimática da AChE (E) para o seu substrato ACh (S), é possível correlacionar a influência de uma substância inibidora (I) no equilíbrio de formação do complexo E-S.

Pesticidas da classe dos carbamatos (metomil, carbaril) e organofosforados (metil paration) atuam como os principais inibidores de enzimas AChE, dessa forma, sendo possível correlacionar sua concentração com o processo de inibição enzimática [122–124]. A detecção de tais pesticidas ocorre através do monitoração da inibição do processo de oxidação do Cloreto ou Iodeto de Acetiltiocolina (AChI) levando a formação seu respectivo dímero, ditio-bis-colina (um subproduto da hidrólise do neurotransmissor acetilcolina) (Equação 4 e 5) [125–127]. Este substrato não específico da AChE tem sido amplamente utilizado para o desenvolvimento de biossensores enzimáticos.



É necessário enfatizar que o processo de inibição por um pesticida carbamato é considerado reversível, desta forma, o complexo enzima-inibidor (E-I) pode ser desfeito alterando as condições do equilíbrio através das concentrações de enzima e substrato [128].

A contaminação acumulativa de substâncias inibidoras da AChE é amplamente descrita na literatura como intoxicação por anti-AChE, podendo causar inquietação, convulsões parciais ou generalizadas, cianose, coma, entre outros problemas relacionados à disfunção dos sistemas neurológico e motor [129–131]. Embora este biossensor tenha sido amplamente desenvolvido, investigado e aplicado com materiais como Grafeno [125], MWCNTS [132], CNTs, filmes poliméricos [133] e outros materiais, sua investigação utilizando o biochar como plataforma de imobilização será abordada pela primeira vez no Capítulo 3.

1.4 Dispositivos Analíticos em Papel

Ao explorarmos a pesquisa e desenvolvimento de novas plataformas e abordagens de sensoriamento eletroquímico, surge uma necessidade crescente por sensores miniaturizados, que oferecem uma série de vantagens significativas. Dentre a ampla variedade de sensores disponíveis, destacam-se os eletrodos descartáveis, geralmente confeccionados a partir de materiais como o polietileno tereftalato (PET) [134, 135], os eletrodos serigrafados, também conhecidos como SPE (do inglês, screen-printed electrode)[136, 137], e os eletrodos fabricados com a tecnologia de manufatura aditiva ou impressão 3D [138].

À medida que avançamos nas próximas seções, exploraremos em detalhes o papel e o potencial dessas plataformas eletroquímicas miniaturizadas em várias aplicações analíticas, destacando seus atributos individuais e contribuições para a pesquisa em sensoriamento eletroquímico.

Devido as suas características como acessibilidade, baixo custo e facilidade de descarte em comparação com os materiais tradicionais usados em microfluídica, o substrato papel se apresenta como um substrato adequado para o desenvolvimento de sensores. O papel pode ser extremamente processado através de diversas técnicas como impressão, revestimento, corte e laminação com o intuito de se fabricar dispositivos *Point of care testing* (PoCT) [139], resultando em produtos produzidos em massa à baixo custo. Outra vantagem importante do papel como substrato é sua

estrutura porosa e hidrofílica. O papel celulósico pode conduzir o fluxo de fluido sem uma bomba externa através da força capilar. Além disso, a estrutura celulósica permite alterar as propriedades do papel, como hidrofobicidade, condutividade e reatividade, modificando a estrutura química. No entanto, o desempenho básico do dispositivo a base de papel depende significativamente das propriedades do papel, incluindo porosidade, tamanho dos poros, espessura e tipo de material. Portanto, o papel adequado deve ser selecionado para atender à aplicação específica [140].

Ao alinhar as propriedades intrínsecas do substrato papel com técnicas eletroquímicas, um novo formato de dispositivo PoCT surgiu, ganhando grande destaque no desenvolvimento de plataformas analíticas para a detecção de diversos analitos de interesse ambiental e clínico [141, 142]. Dispositivos analíticos eletroquímicos (eletroanalíticos) em papel (ePADs, *do inglês electrochemical paper-based analytical devices*) surgiram como uma oportunidade para desenvolver sensores de baixo custo para monitorar contaminantes ambientais (CAs) [143], biomarcadores [144, 145], patógenos ambientais e alimentícios [146]. Esta tecnologia tem sido aplicada no campo da eletroanálise devido às características adequadas como fabricação de diferentes arranjos de eletrodos, adequados para monitoramento “in loco” e ampla variedade de aplicações [138, 147–151].

Tradicionalmente, uma célula eletroquímica consiste em um conjunto de três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar), que podem ser impressos com tinta de carbono ou pasta de carbono [152] para se obter um ePAD ou um eletrodo impresso serigrafado (SPE). A tinta consiste principalmente de um material condutor, como o Grafite, Carbon Black (CB), óxido de Grafeno (GO) ou Nanotubos de Carbono (CNTs), juntamente com um aglutinante, plastificante, polímero ou agente ligante para dar robustez à impressão e evitar deterioração do sensor impresso [148, 153]. As tintas à base de carbono podem ser fabricadas em escala de laboratório usando pó de grafite e agentes ligantes, como esmalte de unha [154], verniz vitral [134], quitosana [155], poliestireno [156], entre outros. Sensores em papel são amplamente reportados na literatura, abrangendo uma variedade de

aplicações, como a detecção de contaminantes emergentes [11], o desenvolvimento de imunoenaios [136] e a análise de moléculas relevantes para as indústrias cosmética e alimentícia [157].

A fabricação do eletrodo é uma etapa crucial na produção de um ePAD. Diversas técnicas de fabricação de eletrodos foram apresentadas na literatura, como impressão em estêncil [158], impressão a jato de tinta [159], gravação a laser [160], uso de fita de carbono, desenho a lápis, spray e revestimento por rotação e pulverização catódica [140]. No entanto, a fabricação tradicional desses sensores requer o uso de máquinas de serigrafia com telas especiais de nylon e tintas condutoras comerciais.

Portanto, a busca por novas abordagens de fabricação de sensores em papel se torna uma necessidade. Neste contexto, a técnica de manufatura aditiva (impressão 3D) tem ganhado um grande destaque, nos últimos anos, no desenvolvimento de novos materiais e dispositivos na áreas de Eletroquímica e Química Analítica [138]. Com este intuito e visando um acesso mais democrático para a fabricação de sensores em papel, o Capítulo 5 irá abordar fabricação de sensores ePADs por meio de um novo método que utiliza um estêncil de Ácido Polilático (PLA) impresso em 3D, combinado com uma tinta condutora à base de grafite.

1.5 Espécies de Interesse Ambiental

1.5.1 Contaminantes Ambientais: Ocorrência, legislação e métodos de detecção

Todas as substâncias são venenosas; não há nenhuma que não seja veneno. A famosa observação feita por Paracelso (1493-1541) de que a “*A dose certa diferencia um veneno de um remédio.*”, serve como fundamento para a discussão sobre contaminantes ambientais.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estipula que todos os anos mais de 100.000 produtos químicos são liberados no meio-ambiente como consequência do seu processo de produção industrial, sua utilização e posterior descarte. A estrutura química, as propriedades físico-químicas e

o ambiente onde uma determinada substância é liberada, fazem com que o destino final deste composto seja determinado.

Os poluentes encontrados no meio ambiente podem ser categorizados de origem natural ou sintética. Um poluente é considerado natural, quando sua presença no ambiente não está relacionada a ação antropogênica¹. A presença de metais no meio ambiente pode ser considerada natural, e geralmente são encontrados em quantidades moderadas que não representam riscos à saúde. Entretanto, atividades antropogênicas podem causar ou acelerar o processo de liberação de substâncias naturais no meio-ambiente (e.g. garimpo) [161].

Contaminantes Ambientais (CA), em sua definição, se refere à um grupo de substâncias (orgânicas, inorgânicas, microplásticos, nanopartículas) ou microrganismos que foram detectados em amostras de água, solo e ar em concentrações pequenas. Devido à falta de regulamentação e grande variedades de compostos, existe uma grande preocupação com o perigo que tais substâncias podem oferecer ao meio-ambiente, ecossistemas, animais e a saúde humana [162].

A **Figura 9** é um diagrama esquemático ilustrando diferentes fontes, possíveis caminhos, destino e consequências para a saúde humana relacionado a contaminantes emergentes. A presença de contaminantes provenientes de resíduos industriais está associada ao manuseio incorreto, derramamento acidental ou causal de tais substâncias que podem se infiltrar em corpos d'água subterrâneos e superficiais. Os contaminantes agrícolas, como agrotóxicos, fertilizantes e praguicidas, apresentam um elevado risco ao meio ambiente devido a fácil lixiviação e percolação, podendo atingir lençóis freáticos. Os resíduos domésticos podem transportar principalmente produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PPCPs) levando a contaminação de águas subterrâneas através de aterros sanitários, estações de tratamento de águas residuais (ETARs) ou de esgoto (ETE).

¹ Ações antropogênicas são aquelas causadas pelo ser humano.

Outra fonte preocupante de CAs são os resíduos biomédicos provenientes de laboratórios de diagnóstico e hospitais. Resíduos líquidos ou sólidos são comuns em tais estruturas, e seu manejo incorreto pode levar a contaminação do meio ambiente através de lixiviação em aterros sanitários. Este processo de lixiviação pode comprometer rios, lagos, lençóis freáticos e outros corpos de água superficiais próximos por meio do escoamento superficial. As Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) também podem representar um risco para os corpos de água superficiais devido à poluição das águas subterrâneas por meio da interação entre as águas subterrâneas e de superfície. Os processos físicos de tratamento de esgoto realizados em uma ETE (impactação, interceptação, difusão e processo de sedimentação) podem facilitar o processo de lixiviação de CAs para águas subterrâneas [162–164].

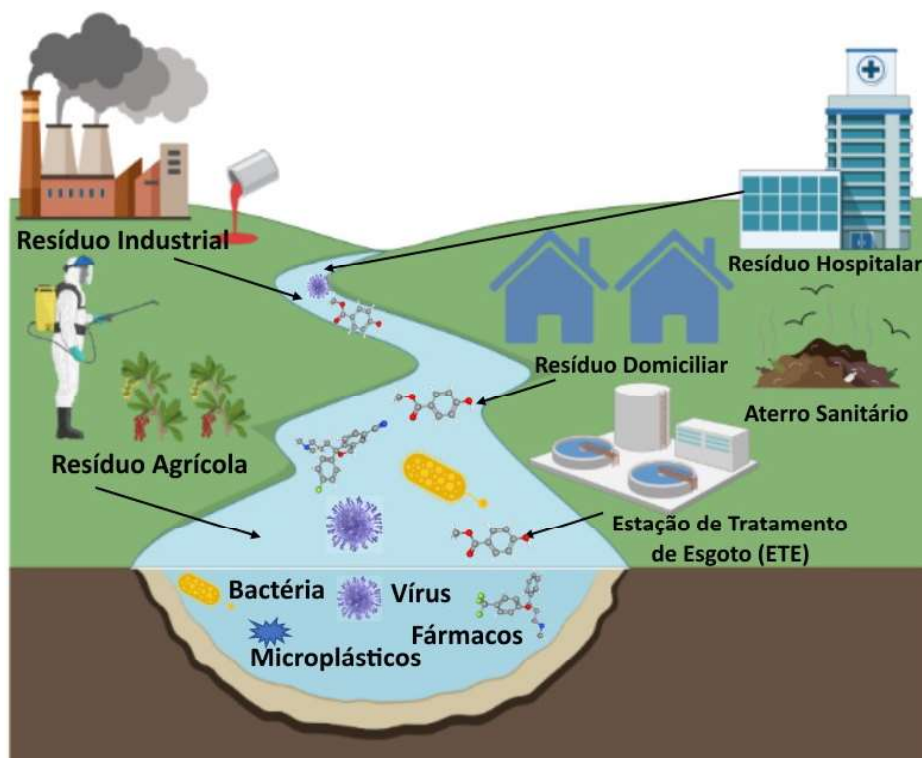


Figura 9 – Representação esquemática ilustrando fontes, possíveis caminhos, destino e consequências para a saúde de contaminantes emergentes de águas subterrâneas. (Figura feita com a

ferramenta online *biorender*, <https://biorender.com>). Traduzido e reutilizado com permissão da Ref. [162]. Copyright © 2018 Elsevier B.V. Todos os direitos reservados.

Além disso, a ineficiência das estações de tratamento de água (ETAs) na remoção eficaz de contaminantes e poluentes da água, pode resultar em água de qualidade inferior para o consumo humano. Isso pode ser causado por tecnologias inadequadas, falta de recursos financeiros, infraestrutura deteriorada e eventos climáticos extremos.

1.5.2 Contaminantes Ambientais no Brasil

A ocorrência de contaminantes em matrizes ambientais no Brasil é um tema de alta relevância que pode abordar diversos aspectos da pesquisa científica. O aumento no interesse em se investigar aspectos legais e econômicos, técnicas analíticas para a identificação e quantificação de tais contaminantes, assim como o desenvolvimento de novas metodologias para a sua remoção, degradação e mitigação, tem sido o objetivo de diversos grupos de pesquisa brasileiros voltados para a área ambiental [164].

No Brasil, o Ministério da Saúde regulamenta através das portarias 2914/2011, 5/2017 e 888/2021 o padrão de potabilidade de água para o consumo humano e consequentemente o Valor Máximo Permitido (VMP), expresso em mg/L ou µg/L, para substâncias que representam risco à saúde [165, 166]. Embora a legislação permanente estipule valores em concordância com agências internacionais como a *Food and Drug Administration (FDA)* e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), os níveis de tais compostos ainda causam grande preocupação entre pesquisadores e ambientalistas [167].

Em 2022, o trabalho realizado por Marson e colaboradores [164] revisou publicações relacionadas a ocorrência de CAs no Brasil. Ao longo de um recorte temporal de 10 anos (2011-2021), 375 publicações foram relacionadas a estudos para identificação, quantificação e monitoramento de CAs

em matrizes ambientais em diversos locais do território brasileiro. A **Figura 10** mostra um panorama da situação de contaminação por CAs nas regiões brasileiras, de acordo com os artigos utilizados na revisão. Os resultados obtidos revelam uma maior frequência na presença de CAs na região Sudeste, especialmente no estado de São Paulo (SP), onde há uma alta taxa de urbanização e industrialização. No estado de São Paulo foi possível detectar diferentes classes de CAs, uma alta incidência de produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PPCPs), drogas ilícitas e cafeína.

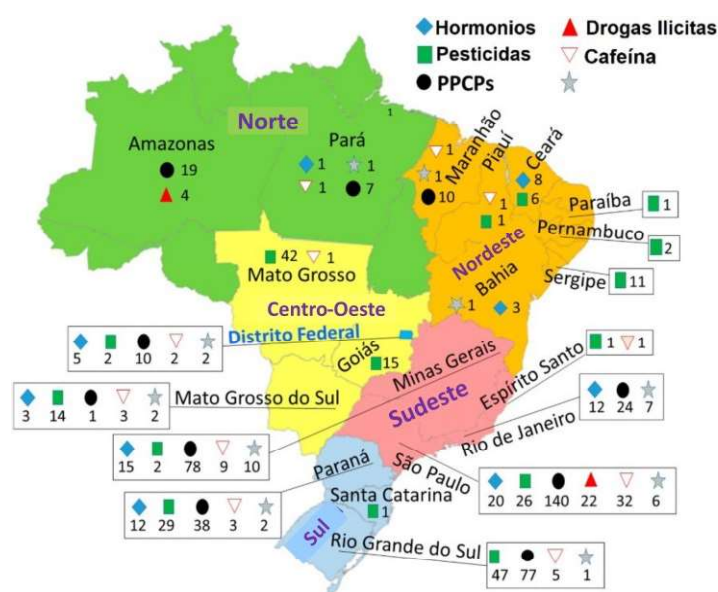


Figura 10 – Mapa geográfico brasileiro ilustrando a detecção de cada classe de contaminantes ambientais (número de notificações) em distintas regiões e Estados do Brasil no período de janeiro de 2011 a novembro de 2021. Reutilizado com permissão da Ref. [164]. Copyright © 2022 Elsevier B.V. Todos os direitos reservados.

Por outro lado, a classe de agrotóxicos foi detectada com maior frequência nos estados de Mato Grosso, Rio Grande do Sul e Paraná. Levando em consideração que estes estados se encontram nas regiões Centro-Oeste e Sul do Brasil, onde a produção de milho e soja é intensa (70% do total), podemos associar a incidência de tais poluentes com as atividades econômicas desta região. Desta forma, a identificação e monitoramento de CAs, principalmente em áreas altamente urbanizadas ou com atividades de produção agrícola/tecnológica se torna imprescindível.

1.5.3 Escitalopram

O Escitalopram (**Figura 11**) é um medicamento antidepressivo da classe dos inibidores seletivos de recaptação de serotonina (ISRSs) que atuam modulando a distribuição de serotonina no sistema nervoso central. Os principais usos dos ISRSs envolvem o tratamento da depressão (menor e maior), ansiedade, transtornos obsessivo-compulsivo, bem como episódios disfóricos pré-menstruais [168].

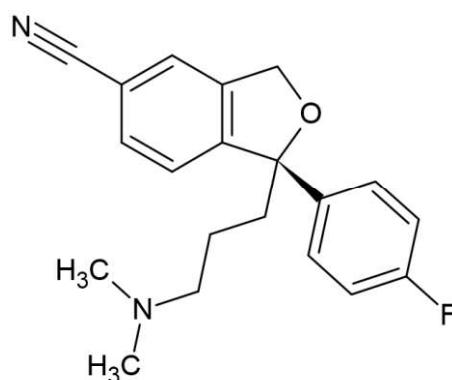


Figura 11 – Estrutura molecular do Escitalopram (Fonte: Repositório **ChemSpider**)

O escitalopram atua aumentando a disponibilidade de serotonina no cérebro, o que pode ajudar a melhorar o humor, reduzir a ansiedade e aliviar sintomas depressivos. É importante destacar que esse medicamento só deve ser usado sob prescrição médica e deve ser administrado conforme as orientações do profissional de saúde, uma vez que seu uso incorreto pode resultar em efeitos colaterais indesejados. Eletroquimicamente, o Escitalopram é detectado diretamente por meio de um processo de oxidação irreversível, apresentando um pico anódico em $E_{pa} \approx 800$ mV vs. SCE, utilizando um tampão de solução de Britton-Robinson $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0), conforme demonstrado por Baccarin et al. [169]. Nesse contexto, o contínuo desenvolvimento de novas plataformas de detecção é fundamental para avanços nessa área.

1.5.4 Carbaril

O Carbaril (**Figura 12**), um agrotóxico da classe carbamato, é amplamente empregado globalmente para controlar pragas agrícolas, estruturais e como moluscicida, destacando-se por sua eficácia multifacetada. Sua aplicação é notável devido à baixa persistência ambiental, embora a exposição humana ocorra por resíduos alimentares, contato cutâneo e dispersão aérea. Ao inibir a acetilcolinesterase nos tecidos nervosos, o Carbaril causa o acúmulo de acetilcolina, levando a hiperestimulação colinérgica, toxicidade reprodutiva, transtorno de neurodesenvolvimento e possível alteração do sistema imunológico, além de ser um possível carcinógeno. Na mesma linha, os agrotóxicos organofosforados e carbamatos atuais inibem essa enzima, gerando preocupações sobre contaminação cumulativa no corpo humano e sintomas que variam de inquietação a graves disfunções neurológicas e motoras. No contexto brasileiro, o Carbaril assume papel central como pesticida em plantações de macieira, evidenciado pelo limite máximo de resíduo (LMR) estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de 2,0 mg/kg [170, 171].

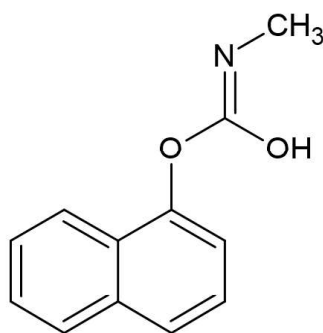


Figura 12 - Estrutura molecular do Carbaril (Fonte: Repositório **ChemSpider**).

A monitorização dos resíduos de agrotóxicos em alimentos e solos é crucial para a detecção precisa por meio de várias técnicas de análise, constituindo uma necessidade premente. Eletroquimicamente, o Carbaril pode ser diretamente identificado através de um processo de oxidação em $E_{pa} \approx +1,20$ V vs. Ag/AgCl [172, 173]. Usando enzimas colinesterases, a detecção seletiva do composto é alcançada, ampliando suas aplicações sensoriais. A criação de biossensores

eletroquímicos altamente sensíveis, rápidos, confiáveis e simples supera as limitações das abordagens convencionais. Assim, os biossensores eletroquímicos com enzimas colinesterases surgem como estratégia fundamental para detectar agrotóxicos, como o Carbaril, em baixas concentrações, rivalizando com os métodos convencionais, como cromatografia e espectrofotometria [174].

1.5.5 Metilparabeno

Os parabenos são compostos amplamente usados nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia, devido às suas propriedades conservantes e antimicrobianas. Sintetizados e empregados industrialmente desde 1920, eles são encontrados naturalmente em bactérias, plantas e frutas. Esses compostos são valorizados pela conservação eficaz, estabilidade química e baixo custo. No entanto, sua atividade estrogênica e antiandrogênica levanta preocupações, associando-os a problemas de saúde como tumores, incluindo câncer de mama, e infertilidade masculina. Fontes comuns de exposição são produtos farmacêuticos e de higiene pessoal. Os parabenos podem afetar o sistema reprodutivo e endócrino, interferindo com a atividade hormonal e desencadeando efeitos adversos no sistema nervoso, imunológico, metabolismo lipídico e níveis de glicose. Eles também têm a capacidade de serem transferidos de mãe para filho, destacando seu potencial impacto transgeracional. O Metilparabeno (MePa) (**Figura 13**), apresenta a menor cadeia carbônica alifática e, portanto, fácil solubilidade em água. Este parabeno específico tem sido amplamente investigado na literatura, e vários estudos relatam sua identificação em diversas matrizes ambientais, incluindo águas superficiais e de torneira, sedimentos, bem como amostras de leite, soro de leite e urina de mulheres grávidas [175].

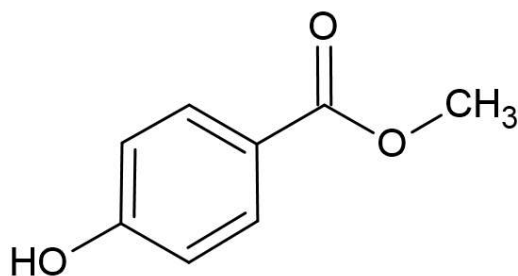


Figura 13 - Estrutura molecular do Metilparabeno (Fonte: Repositório **ChemSpider**).

Desta forma, devido à alta presença desse composto em diversas matrizes ambientais, a detecção do Metilparabeno tem se tornado relevante nos últimos anos. Eletroquimicamente, o Metilparabeno é diretamente detectado por meio de um processo de oxidação irreversível, apresentando um pico anódico em $E_{pa} \approx 800$ mV vs. Ag/AgCl [176]. Nesse contexto, o contínuo desenvolvimento de novas plataformas de detecção é fundamental para avanços nessa área.

1.5.6 Paracetamol

O Paracetamol (**Figura 14**), também conhecido como Acetaminofeno, é um fármaco analgésico e antipirético amplamente utilizado para o alívio de dores leves a moderadas e redução de febre. O Paracetamol é um sólido cristalino branco, praticamente insolúvel em água e ligeiramente solúvel em álcool. Como um analgésico, o Paracetamol atua inibindo a enzima Ciclo-oxigenase no cérebro, o que reduz a síntese de prostaglandinas, responsáveis pela geração de sinais de dor e febre no corpo. Sua ação analgésica e antipirética tornou-o um dos medicamentos mais utilizados no mundo para alívio temporário de sintomas leves a moderados [177, 178].

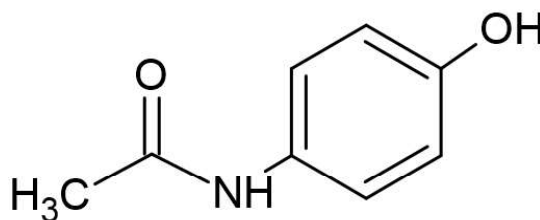


Figura 14 - Estrutura molecular do Paracetamol (Fonte: Repositório **ChemSpider**).

O uso indiscriminado do Paracetamol pode acarretar sérios riscos à saúde. Conforme alerta da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é crucial seguir as indicações contidas na bula do medicamento. O paracetamol, quando utilizado em doses inadequadas ou por períodos prolongados, pode causar danos graves ao fígado, resultando em hepatite medicamentosa e, em casos mais extremos, até mesmo a morte. Essa reação adversa está associada à sobrecarga do sistema hepático em metabolizar o fármaco e seus metabólitos, resultando em acúmulo de substâncias tóxicas no órgão [179]. Historicamente, esta molécula foi detectada por diversos sensores eletroquímicos através do monitoramento de um processo reversível, com um pico de oxidação em $E_{pa} \approx 560 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$ e um pico de redução em $E_{pc} = 450 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$ [180].

1.6 Espécies de Interesse Biológico

A detecção de espécies de interesse biológico, como biomarcadores, proteínas, antígenos, vírus e outras moléculas biológicas, desempenha um papel fundamental em diversas áreas da ciência e da saúde. Essa capacidade de monitorar e detectar essas moléculas nos permite investigar de forma abrangente fenômenos biológicos complexos e, ao mesmo tempo, simplifica o processo de tomada de decisões com base na medicina personalizada [181].

1.6.1 Dopamina

A dopamina (DOP), como ilustrado na **Figura 15**, é um neurotransmissor essencial que desempenha um papel crucial na regulação das emoções e processos cognitivos no corpo humano. Ela pertence ao grupo das catecolaminas e é particularmente relevante no sistema nervoso central. Os níveis médios de dopamina no sangue e no soro humano geralmente se encontram na faixa de 10^{-6} a $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. É importante destacar que quantidades anormais de dopamina estão associadas a várias condições médicas, incluindo doenças como Parkinson e Alzheimer. Portanto, a busca por métodos analíticos que possam oferecer uma detecção de dopamina seletiva, sensível, simples e acessível é de grande importância.

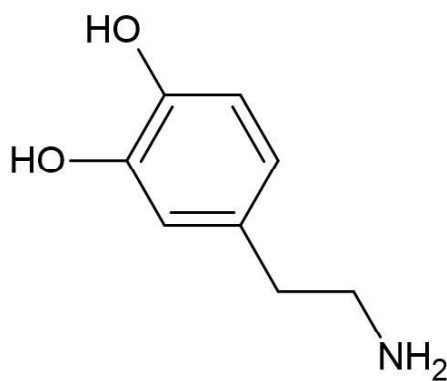


Figura 15 - Estrutura molecular do Dopamina (Fonte: Repositório **ChemSpider**).

Historicamente, a detecção eletroquímica da dopamina ocorre através de um processo quasi-reversível, caracterizado por um pico anódico em torno de $E_{pa} \approx +200$ mV *vs.* Ag/AgCl e um pico catódico em cerca de $E_{pc} \approx +150$ mV *vs.* Ag/AgCl. Essa reação redox é comumente catalisada pela construção de biossensores que fazem uso da enzima Lacase. Esses biossensores desempenham um papel significativo na detecção seletiva e sensível da dopamina, contribuindo para avanços na pesquisa neuroquímica e diagnóstico de distúrbios neurológicos [182, 183].

1.7 Objetivo Geral

O objetivo principal deste trabalho é modificar, caracterizar e avaliar a viabilidade de aplicação do biochar derivado de massa de bambu na fabricação de sensores eletroquímicos. Este estudo inclui a investigação das propriedades químicas e eletroquímicas do biochar, com especial atenção na detecção eletroanalítica de espécies químicas de relevância ambiental e biológica.

1.7.1 Objetivos Específicos

- Preparar o biochar por meio do processo de funcionalização ácida com solução sulfonítrica ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$), avaliar as alterações estruturais e na composição biochar funcionalizado (BCF). Além disso, busca-se avaliar a performance do sensor eletroquímico GC/BCF na resposta voltamétrica para os analitos Escitalopram (EST) e a sonda-redox Ferricianeto/Ferrocianeto de Potássio ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$);
- Desenvolver, caracterizar e aplicar um biossensor eletroquímico baseado em biochar funcionalizado (GC/BCF) e enzima Acetilcolinesterase (AChE) para a detecção indireta do pesticida Carbaril. Além disso, busca-se demonstrar a aplicação eficaz deste biossensor na detecção deste agrotóxico em amostras de maçã;
- Sintetizar, caracterizar e aplicar nanocompósitos de biochar (BC) modificados com nanopartículas de Cobre (CuNPs) e Antimônio (SbNPs) como modificadores de eletrodos GC. Avaliar o desempenho do sensor GC/BC-CuNPs na detecção de dopamina em amostras de urina sintética e escitalopram em amostras de água. Também avaliar a aplicação do sensor GC/BC-SbNPs na detecção de Metilparabeno em amostras de produtos de higiene pessoal (PCPs);
- Desenvolver um dispositivo analítico em papel (ePAD) utilizando um estêncil de Ácido Polilático (PLA) impresso em 3D, incluindo a criação de uma barreira hidrofóbica por meio de impressão com cera sólida. Modificar com biochar funcionalizado (BCF) e aplica-lo na detecção de Paracetamol em medicamentos de baixa qualidade ou falsificados.

CAPÍTULO 2

Funcionalização Ácida do Biochar e sua aplicação na resposta voltamétrica de espécies eletroativas

2.1 Objetivo específico

Preparar o biochar por meio do processo de funcionalização ácida com solução sulfonítrica ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$), avaliar as alterações estruturais e na composição biochar funcionalizado (BCF). Além disso, busca-se avaliar a performance do sensor eletroquímico GC/BCF na resposta voltamétrica para os analitos Escitalopram (EST) e a sonda-redox Ferricianeto/Ferrocianeto de Potássio ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$).

Os resultados discutidos encontram-se publicados na literatura, e foram reproduzidos com permissão da *Springer* (número da licença 5615910865932), a saber:

Martin K.L. Silva, Alcides L. Leão, Mohini Sain, Ivana Cesarino “*A functionalized renewable carbon-based surface for sensor development*”. *J Solid State Electrochem* 25, 1093–1099 (2021).

2.2 Procedimento Experimental

2.2.1 Materiais, reagentes e equipamentos

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em um potenciostato PGSTAT128N com módulo de impedância eletroquímica FRA32M (Metrohm) e a análise dos dados foi realizada usando a ferramenta *Electrochemical Circle Fit* disponível no software NOVA 2.1.

A caracterização morfológica dos materiais foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) usando um modelo QUANTA 200 Fei no Centro de Microscopia Eletrônica do IBB-UNESP Botucatu, Brasil. Os materiais também foram caracterizados por Espectroscopia no

Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) modelo Spectrum Two FTIR (Perkin Elmer) equipado com detector DTGS.

Ácido Nítrico P.A. ($\tau = 65\%$) (HNO_3) e o Ácido Sulfúrico P.A. ($\tau = 98\%$) (H_2SO_4) foram adquiridos da Anidrol Brasil. O padrão Escitalopram USP foi adquirido do Direção Europeia da Qualidade dos Medicamentos e Cuidados de Saúde (EDQM). O padrão de Dopamina (CAS: 62-31-7) foi obtido da Sigma-Aldrich. Fosfato monopotássico (KH_2PO_4), Hidrogenofosfato dissódico (Na_2HPO_4), Hexacianoferrato de Potássio (II) e (III) ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) eram de grau analítico. As etapas de solução e diluição foram realizadas usando água ultrapura (resistividade $\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) de um sistema PURELAB Opção-Q—ELGA—VEOLIA (São Paulo, Brasil). A solução tampão fosfato (do inglês *Phosphate Buffer Solution*, PBS) foi utilizado como eletrólito de suporte, e foi preparado a partir dos sais KH_2PO_4 e Na_2HPO_4 na concentração de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7).

2.2.2 Processo de obtenção do Biochar

A obtenção do biochar utilizado nos experimentos é descrito a seguir. Amostras de bambu (*Phyllostachys heterocycla*) originárias de espécies tropicais específicas de Fujian (China), foram cortadas em lascas de tamanho variando de 5 a 10 mm de comprimento e cerca de 1 a 2 mm de espessura e cerca de 5 mm de largura, pirolisadas sem qualquer pré-tratamento a 900°C em forno programável BST/MF/1800. A taxa de aquecimento foi de $30^\circ\text{C}/\text{min}$ e o tempo de espera foi de 60 min. O material carbonizado foi pulverizado em moinho Wiley e seco a 105°C durante a noite sem qualquer tratamento pós-pirólise [68]. Este material foi sintetizado e doado ao Laboratório de Nanotecnologia e Eletroanalítica (LEN) pelo Prof. Dr. Mohini Sain da Universidade de Toronto, Canada.

2.2.3 Funcionalização com solução sulfonítrica

A funcionalização do biochar (BC) foi realizada colocando 1,0 g do material em 500 mL de solução sulfonítrica HNO_3 (65% em peso) / H_2SO_4 (98% em peso) (1:3 v/v). A reação de ativação

foi mantida sob agitação vigorosa por 14 horas à temperatura ambiente. Em seguida, o material foi filtrado usando uma membrana de nylon ($0,45\ \mu\text{m}$) da GVS Filter Technology. O material obtido passou por várias lavagens com água ultrapura para remover o excesso de ácido, garantindo um pH neutro (pH 7,0). Posteriormente, o material funcionalizado foi seco a 60°C durante a noite.

A **Figura 16** resume o processo de funcionalização do material, incluindo a limpeza através de uma membrana porosa e a secagem. Após essa etapa, o material foi suspenso em água ultrapura na concentração de $1,0\ \text{mg mL}^{-1}$.



Figura 16 – Esquema de funcionalização ácida do Biochar através do processo de oxidação química com solução sulfonítrica (1:3 v/v), filtração com membrana de Nylon e secagem do material obtido.

2.2.4 Preparo dos Eletrodos de Trabalho

Os eletrodos de carbono vítreo (GC) foram polidos em uma lixa d'água acoplada a uma politriz modelo Fortel modelo PFLDV, utilizando uma suspensão de alumina (Al_2O_3) com partículas de $0,5\ \mu\text{m}$, com uma velocidade de 350 rpm. Após a etapa de polimento, os eletrodos foram sonicados por 5 minutos em etanol P.A. e por 5 minutos em água ultrapura em um banho ultrassônico da marca QSonica (amplitude de 75%). Na superfície dos eletrodos polidos e limpos foram gotejados $10\ \mu\text{L}$ da suspensão de BC ou BCF ($1,0\ \text{mg mL}^{-1}$). Os eletrodos foram secos em uma estufa à 40°C por 20 minutos.

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Caracterização Morfológica e Espectroscópica

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram utilizadas para caracterizar morfológicamente a superfície do material e avaliar as alterações após o processo de funcionalização ácida. A **Figura 17A** mostra uma estrutura típica para uma amostra de BC, a qual apresenta uma forma heterogênea, com partículas de dimensões aleatórias com poros e/ou estruturas em geometria de um favo de mel [63]. Após o tratamento ácido por 14 h (**Figura 17B**), o BC funcionalizado (BCF) apresentou uma diminuição das partículas. A diminuição do volume dos poros foi relatada em trabalhos anteriores após o tratamento ácido levando a mudanças significativas na estrutura dos materiais [73, 184–186].

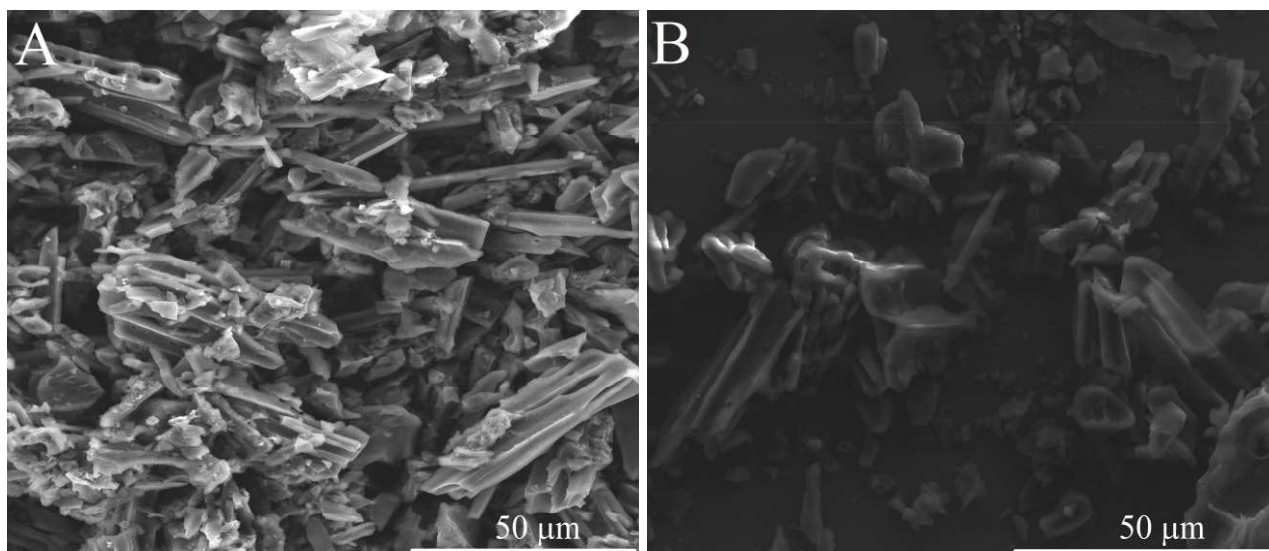


Figura 17 – Imagens obtidas por MEV para A) BC não tratado e B) BC funcionalizado após tratamento ácido por 12 horas em uma solução sulfonítrica 1:3 (v/v).

Além de alterações em sua morfologia, o material BC apresentou alteração na composição de grupos funcionais em sua superfície. Este efeito está relacionado ao processo de oxidação química por ácidos fortes como os Ácidos Nítrico e Sulfúrico tendem a aumentar a quantidade de grupos funcionais ácidos [185]. Desta forma, os espectros de FTIR na **Figura 18** indicam que BC não

tratado (curva a) tem grupos funcionais de oxigênio com uma banda em 1590 cm^{-1} correspondente a um grupo carbonila (C=O). Uma banda em 1210 cm^{-1} confirma a existência de ligações C–O. Além disso, uma pequena banda em 2780 cm^{-1} indica o alongamento das ligações C=C. Após a funcionalização ácida, o número e a intensidade das bandas na análise de FTIR aumentaram consideravelmente. Os espectros para BCF (B) mostram bandas em 1700 atribuídas ao alongamento C=O de um grupo carboxila, enquanto as bandas em 1615 e 1537 cm^{-1} são atribuídas ao alongamento C=O de grupos cetona ou carbonila. Apenas os espectros BCF apresentam uma banda em 1400 cm^{-1} atribuída a um grupo nitro ($-\text{NO}_2$). A banda em 1150 cm^{-1} pode ser atribuída a vibrações O=S=O do grupo SO_3H , mostrando a incorporação de grupos sulfurosos após modificação ácida [187, 188]. Seguido por uma banda em 1044 cm^{-1} para ligações carbono-nitrogênio [73, 189, 190]. O efeito geral na composição do material após a funcionalização ácida foi a incorporação de grupos funcionais na superfície do BC.

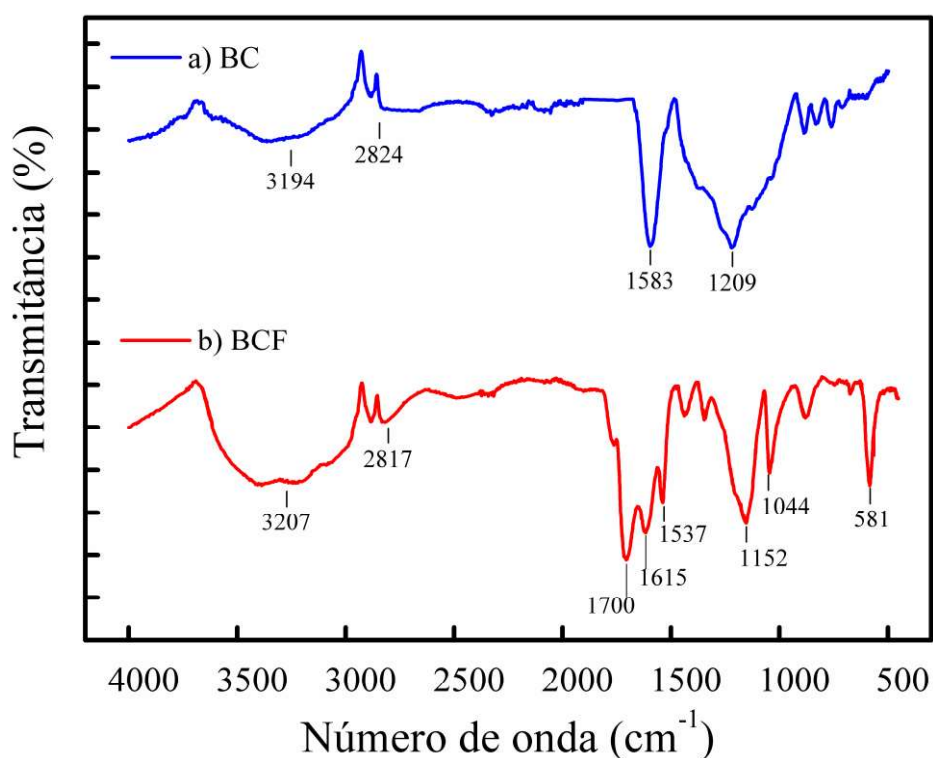


Figura 18 – Espectro obtido por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para os materiais BC (curva a) e BCF (curva b).

2.3.2 Resposta voltamétrica para espécies químicas eletroativas

A voltametria cíclica foi utilizada para avaliar os efeitos do tratamento ácido em carbono renovável. A **Figura 19A** mostra a resposta voltamétrica de três eletrodos diferentes em uma solução contendo $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do par redox. O eletrodo GC/BC (curva a) apresentou um processo eletroquímico reversível bem definido com pico de oxidação em $E_{pa} = 326 \text{ mV}$ e, o eletrodo modificado BCF apresentou um pico de oxidação em 305 mV . Comparado ao GC não modificado (linha tracejada), os eletrodos modificados com BC (curva a) e BCF (curva b) tiveram um aumento na resposta de pico anódico de 30% e 41%, respectivamente. Quando analisamos os potenciais de pico anódico (E_{pa}) e catódico (E_{pc}), podemos correlacionar a eficiência do eletrodo no processo redox do par redox ferri-ferro. Dessa forma, o eletrodo GC não modificado apresentou uma variação de potencial (ΔE_p) de 266 mV , enquanto que o sensor GC/BC teve um ΔE_p de 190 mV e o GC/BCF obteve um ΔE_p de 134 mV . A diminuição no valor de ΔE_p está associada a uma melhora na reversibilidade do processo de redox da sonda ferri-ferro.

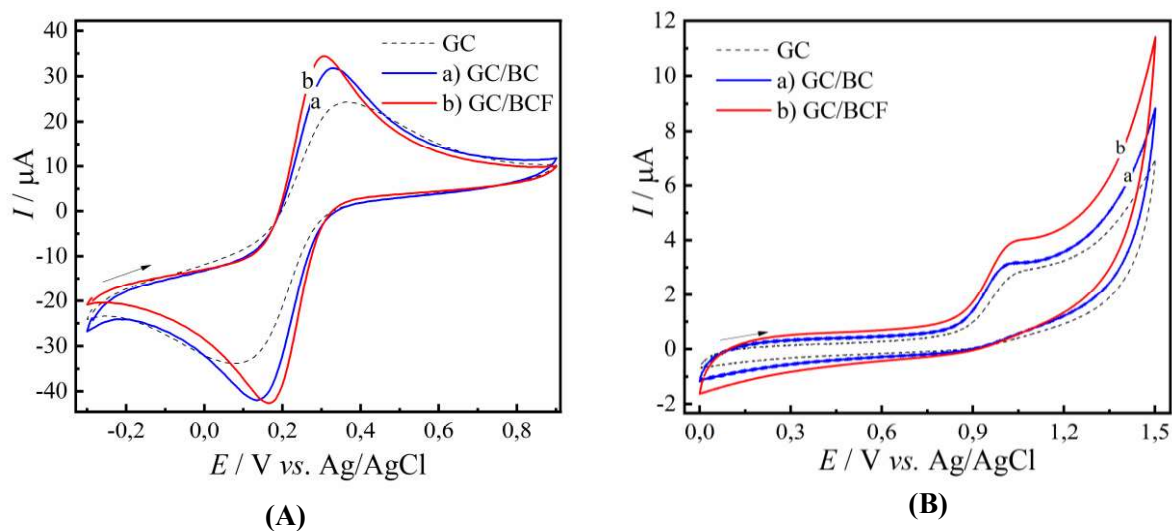


Figura 19 – Voltamogramas Cíclicos dos eletrodos GC não modificado (linha tracejada), GC/BC (curva a) e GC/BCF (curva b) em: **A)** $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. **B)** Solução PBS ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0) com $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EST. ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$).

A **Figura 19B** mostra os voltamogramas obtidos na presença de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EST, revelando um processo de oxidação irreversível em $+1,00 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl/KCl) para GC/BC (curva a) e GC/BCF (curva b). A varredura de potencial reverso não mostrou processos de redução, sugerindo irreversibilidade do processo. Gholivand et al. [191] e Nouws et al. [192] reportaram resultados similares, onde o pico de oxidação para EST é atribuído à transferência de dois elétrons no grupo amina terciária terminal (como demonstrado na **Figura 20**). O eletrodo modificado com BCF apresentou um aumento na I_{pa} de 25% em relação ao eletrodo GC/BC e de 40% sobre o eletrodo GC (linha tracejada).

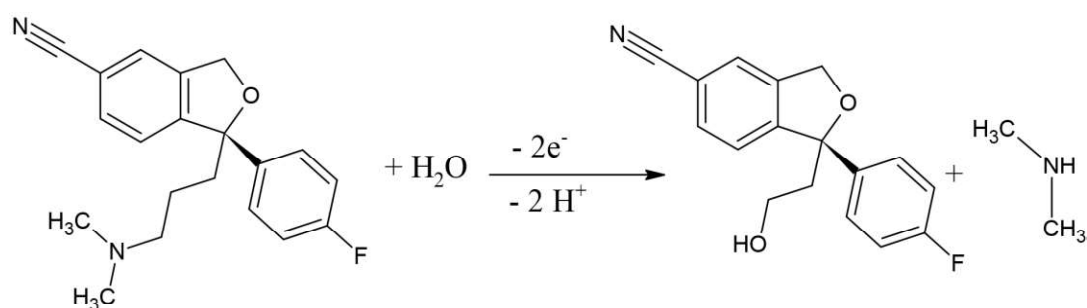


Figura 20 – Reação de oxidação do Escitalopram.

2.3.3 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

A **Figura 21** mostra os diagramas de Nyquist obtidos para eletrodos GC (■), GC/BC (●) e GC/BCF (▲) em experimentos EIS registrados em duas configurações diferentes: A **Figura 21A** mostra dados EIS registrados sob um potencial de circuito aberto (OCP) na presença de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. A **Figura 21B** mostra os dados EIS registrados no potencial de eletro-oxidação EST ($+1,0 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl) em PBS pH 7,0.

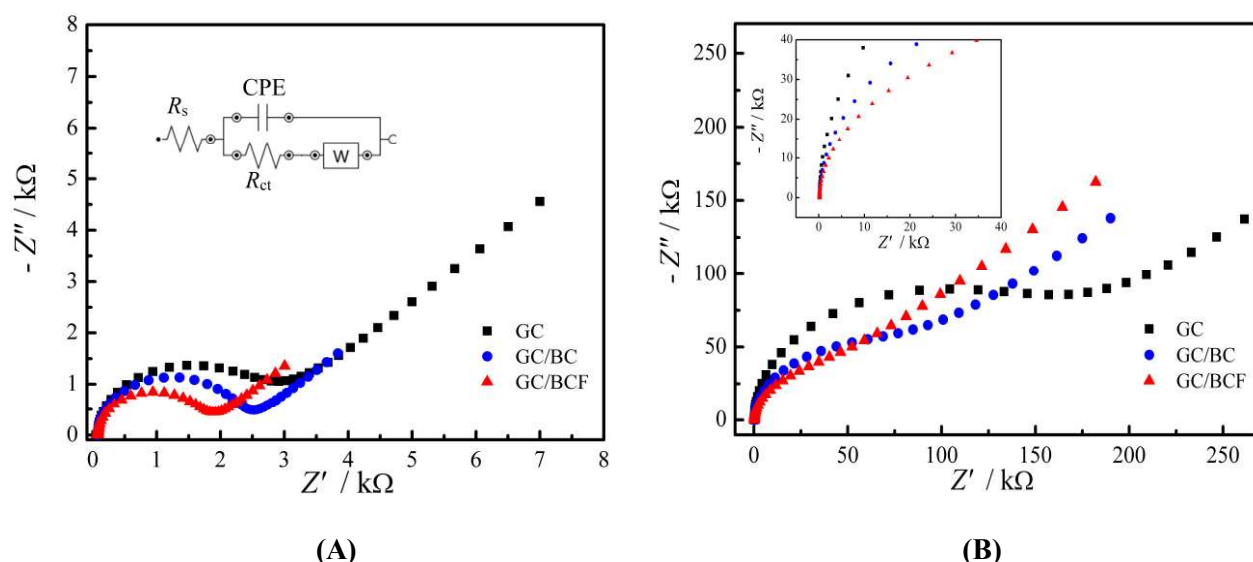


Figura 21 - Diagramas de Nyquist obtidos para eletrodos GC não modificado (■), GC/BC não tratado (●) e GC/BCF (▲) em: **A)** presença de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do par redox $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ e **B)** presença de $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de EST em PBS pH 7,0.

Esses resultados experimentais foram otimizados quantitativamente em um circuito equivalente de Randles (detalhe Figura 20A) para quantificar a Resistência de Transferência de Carga (R_{ct}), a Resistência Ôhmica da Solução (R_s) e a capacitância interfacial, aqui representada como o elemento de fase constante (CPE). Os valores de R_{ct} obtidos estão resumidos na **Tabela 3**. Em ambos os experimentos o valor de R_{ct} diminuiu da seguinte forma: $GC > GC/BC > GC/BCF$. A diminuição dos valores de R_{ct} está associada à deposição de BC e BCF na superfície do eletrodo. Diferentes trabalhos relatam o uso de eletrodos modificados com biochar, proveniente de diferentes biomassas, apresentaram uma resposta voltamétrica melhor para espécies eletroativas, esse comportamento pode ser atribuído ao processo de adsorção de moléculas na estrutura do biochar através de diferentes interações intermoleculares [59, 193, 194].

Tabela 3 – Parâmetros obtidos por EIS na caracterização dos eletrodos modificados para diferentes espécies eletroativas.

Analito	Eletrodo	R_{ct} (k Ω)	R_s (k Ω)	CPE ($\mu F s^{a-1}$)	α
[Fe(CN ₆)] ^{3-/4-}	GC	3,3	31,0	1,8	0,901
	GC/BC	2,4	55,7	1,9	0,960
	GC/BCF	1,9	58,9	3,6	0,941
PBS com EST	GC	164	133	0,35	0,995
	GC/BC	51	168	0,66	0,964
	GC/BCF	47	152	0,70	0,991

Os resultados deste estudo revelaram uma notável melhora nas respostas voltamétricas para as espécies eletroativas avaliadas, um comportamento diretamente atribuído ao aumento dos grupos funcionais na superfície do biochar, alcançado por meio do processo de funcionalização ácida. Isso está em consonância com descobertas anteriores, como as de Oliveira et al. [45], que observaram um aumento na área superficial, volume e diâmetro dos poros em um biochar de torta de mamona após ativação ácida com HNO₃. Da mesma forma, He et al. [195] reportaram o uso de uma solução sulfonítrica H₂SO₄ (75 mL, 18 mol L⁻¹) e HNO₃ (25 mL, 12 mol L⁻¹) para funcionalizar nanopartículas de biochar (BCNPs), o que resultou em uma notável diminuição no tamanho das nanopartículas (de 480 nm para aproximadamente 175 nm). Os resultados obtidos para os valores de R_{ct} demonstram paralelamente uma similaridade com os perfis de voltametria cíclica (CV), indicando um aumento na reversibilidade dos processos redox, bem como um incremento nas correntes de pico anódico (I_{pa}) para ambas as espécies eletroativas avaliadas.

2.4 Conclusão parcial

Com base nos resultados discutidos neste capítulo, pode-se concluir que a modificação dos eletrodos GC com os materiais BC e BCF demonstrou claramente um aprimoramento significativo na resposta voltamétrica em relação ao par redox [Fe(CN)₆]^{3-/4-} e ao EST, quando comparada aos

eletrodos não modificados. Além disso, foi evidenciado que a funcionalização do material BC resultou no enriquecimento da superfície do material carbonáceo com grupos funcionais oxigenados, incluindo carbonila, carboxila, nitro e enxofre, ampliando consideravelmente as oportunidades de interações intermoleculares entre os analitos e o sensor modificado. Essa característica desempenha um papel fundamental no aumento da detectabilidade (valores menores de LOD) dos sensores eletroquímicos desenvolvidos com o material BCF. Portanto, os resultados indicam que o BCF se mostra como uma escolha promissora para a construção de uma variedade de sensores eletroquímicos de alto desempenho, abrindo novas perspectivas para aplicações analíticas.

CAPÍTULO 3

Desenvolvimento de Biossensor Eletroquímico utilizando Biochar Funcionalizado e Acetilcolinesterase para Detecção de Carbaril em Alimentos

3.1 Objetivo Específico

Desenvolver, otimizar e aplicar um biossensor eletroquímico baseado em biochar funcionalizado (GC/BCF) e enzima Acetilcolinesterase (AChE) para a detecção indireta do pesticida Carbaril. Além disso, busca-se demonstrar a aplicação eficaz deste biossensor na detecção deste agrotóxico em amostras de maçã.

Os resultados discutidos estão publicados na literatura e foram reproduzidos com permissão da MDPI. Conforme a licença Creative Commons CC BY de acesso aberto, qualquer parte do artigo pode ser reutilizada sem necessidade de permissão, desde que o artigo original seja devidamente citado:

Erik W. Nunes, Martin K.L. Silva et al. “*Acetylcholinesterase Biosensor Based on Functionalized Renewable Carbon Platform for Detection of Carbaryl in Food*”. Biosensors, 12, 486 (2022).

3.2 Procedimento Experimental

3.2.1 Reagentes

A Enzima Acetilcolinesterase (EC:232-559-3) de *Electrophorus electricus* (enguia elétrica) Tipo VI-S (pó liofilizado, 200-1000 unidades/mg de proteína), o substrato Iodeto de Acetilcolina (AChI) e o padrão analítico de Carbaril PESTANAL® (CAS: 63-25-3) foram obtidos de Sigma-

Aldrich (Alemanha). Soluções do tampão PBS $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ foram preparadas conforme descrito na SEÇÃO 2.2.2. A instrumentação utilizada foi a mesma especificada na SEÇÃO 2.2.2.

3.2.2 Fabricação Biossensor Enzimático

A revisão da literatura destaca várias técnicas de imobilização, incluindo aprisionamento físico, adsorção, ligação covalente e reticulação covalente. No contexto deste trabalho, optou-se pela adsorção e interações intermoleculares entre os grupos funcionais do biochar (BC) e biochar funcionalizado (BCF) para a imobilização da enzima AChE. Para a fabricação do biossensor, 1 mL de BC ou BCF (1 mg mL^{-1}) foi misturado com 200 μL (contendo 80 U) da suspensão da enzima AChE em solução de PBS (pH 7,0). Uma alíquota de 10 μL da mistura foi gotejada sobre a superfície de um eletrodo GC limpo e polido previamente. Os eletrodos foram secos à temperatura ambiente. A **Figura 22** resume as etapas de funcionalização ácida do Biochar (capítulo 1) e a fabricação do biossensor eletroquímico.

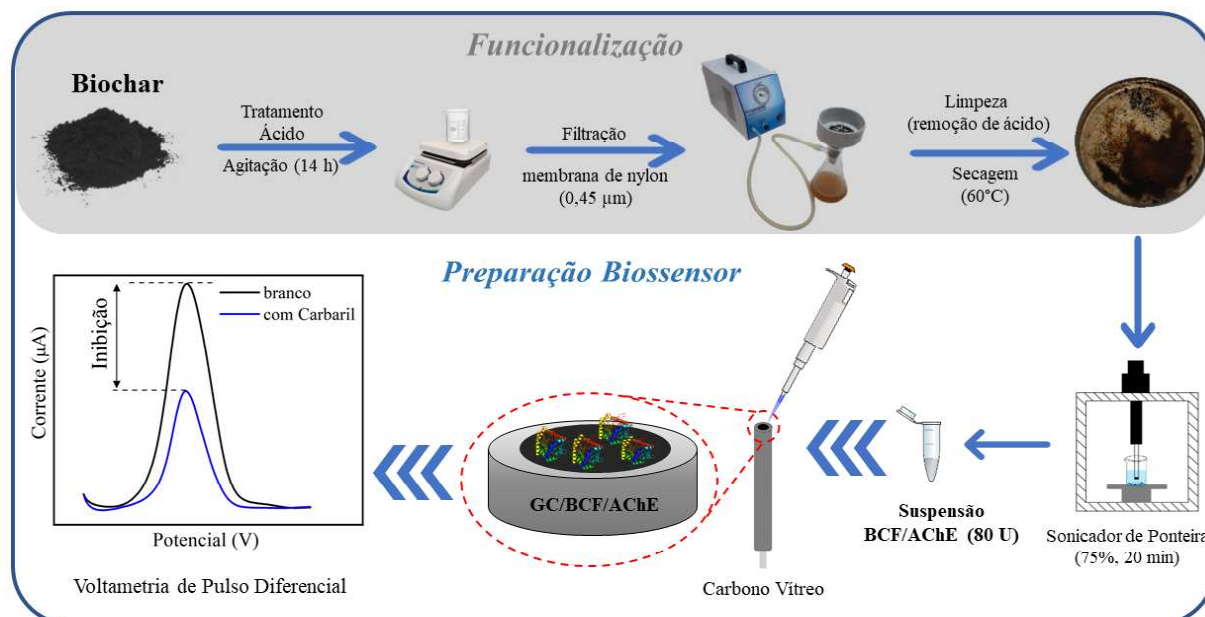


Figura 22 – Representação esquemática do processo de funcionalização ácida do biochar, a respectiva fabricação dos biossensores enzimáticos utilizando eletrodos GC e a metodologia de avaliação por Voltametria de Pulso Diferencial.

3.2.3 Preparação de amostras reais para análise de CBR

Para a determinação de carbaril em amostras reais, amostras de maçãs foram adquiridas em um supermercado local (na cidade de Botucatu-SP, Brasil) e selecionadas como amostra real. A maçã foi escolhida como amostra devido ao Limite Máximo de Resíduos (LMR) de 2,0 mg/kg ser o maior entre as culturas relacionadas a monografia deste agrotóxico, segundo a ANVISA [170]. Dessa forma, 100 g de maçã (incluindo casca e caroço) foram triturados em liquidificador em 100 mL de solução de PBS 0,2 mol L⁻¹ (pH 7,5). Após a trituração, a mistura foi centrifugada por 5 min a 3500 rpm e seu sobrenadante foi coletado e utilizado para os experimentos voltamétricos. A análise por DPV foi conduzida usando amostras de maçã fortificadas com 10 nmol L⁻¹ de CBR. Três adições consecutivas do padrão foram feitas para a quantificação do analito pelo método de adição de padrão. [196].

3.2.4 Detecção de carbaril através do processo de inibição da enzima AChE

Experimentos de voltametria de pulso diferencial (DPV) avaliaram as respostas eletroquímicas do biossensor GC/BCF/AChE de -0,3 a 0,5 V, a uma velocidade de varredura (v) de 50 mV s⁻¹ em solução de PBS 0,2 mol L⁻¹ (pH 7,0) contendo 50,0 μ mol L⁻¹ de AChI. O tempo de incubação para soluções padrão AChI e CBR foi de 5 min. A curva analítica foi construída sobre o efeito de inibição da corrente de pico anódica (I_{pa}) de AChI na presença de carbaril. A inibição (I (%)) da enzima AChE foi determinada medindo a corrente de pico anódica de ditio-bis-colina antes (I_0) e após (I_i) incubação com o inibidor catalítico [127] carbaril usando a seguinte Equação (6):

$$I(\%) = \frac{I_0 - I_i}{I_0} \times 100 \quad (6)$$

Para fins de comparação, a linha de base dos voltamogramas foi ajustada.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Processo de Imobilização de AChE e Oxidação de Iodeto de Acetilcolina

Conforme revisado na literatura, o biossensor de AChE atua explorando a inibição da atividade enzimática por agrotóxicos, predominantemente pelas classes de carbamatos e organofosforados [197]. As medidas de DPV foram realizadas para caracterizar o processo de oxidação da reação enzimática entre a enzima AChE e seu substrato, AChI, respostas do biossensor GC/BC/AChE mostrado na **Figura 23**. Na ausência de AChI (curva a), nenhum processo eletroquímico foi observado. Em contrapartida, confirma-se o processo de imobilização enzimática na superfície do eletrodo modificado (curva b), mesmo sem a necessidade de adição de um agente aglutinante como glutaraldeído ou di-imida. O processo de imobilização enzimática em biossensores é uma etapa essencial para garantir a estabilidade, seletividade e eficácia desses dispositivos. Sem a imobilização adequada, as enzimas podem ser lixiviadas ou inativadas, comprometendo a reutilização dos eletrodos e a eficácia do biossensor ao longo do tempo. Além disso, a imobilização ajuda na orientação correta das enzimas e na redução de interferências de outras moléculas na amostra, garantindo a precisão das medições [118].

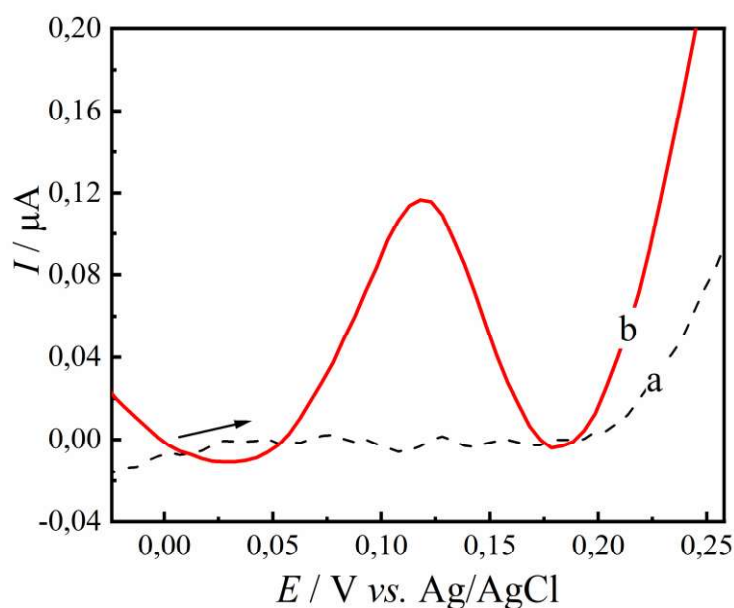


Figura 23 – Voltamograma de Pulso Diferencial do biossensor GC/BC/AChE em PBS 0,2 mol L⁻¹ (pH 7,5) na ausência (curva a) e presença (curva b) de 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AChI. (Condições da DPV: $a = 100 \text{ mV}$, $tm = 50 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$).

3.3.2 Otimização da resposta voltamétrica do biossensor enzimático

Foi realizado o efeito do processo de funcionalização ácida na capacidade do carbono renovável em detectar o pico de oxidação da tiocolina. A resposta da corrente de pico de anódica (I_{pa}) da tiocolina dos biossensores GC/BC/AChE e GC/BCF/AChE foi comparada, evidenciando um aumento de 28% na corrente de pico anódica da resposta do dímero do biossensor GC/BCF/AChE, conforme mostrado na **Figura 24**. Ambos os materiais foram avaliados usando 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ da enzima AChE.

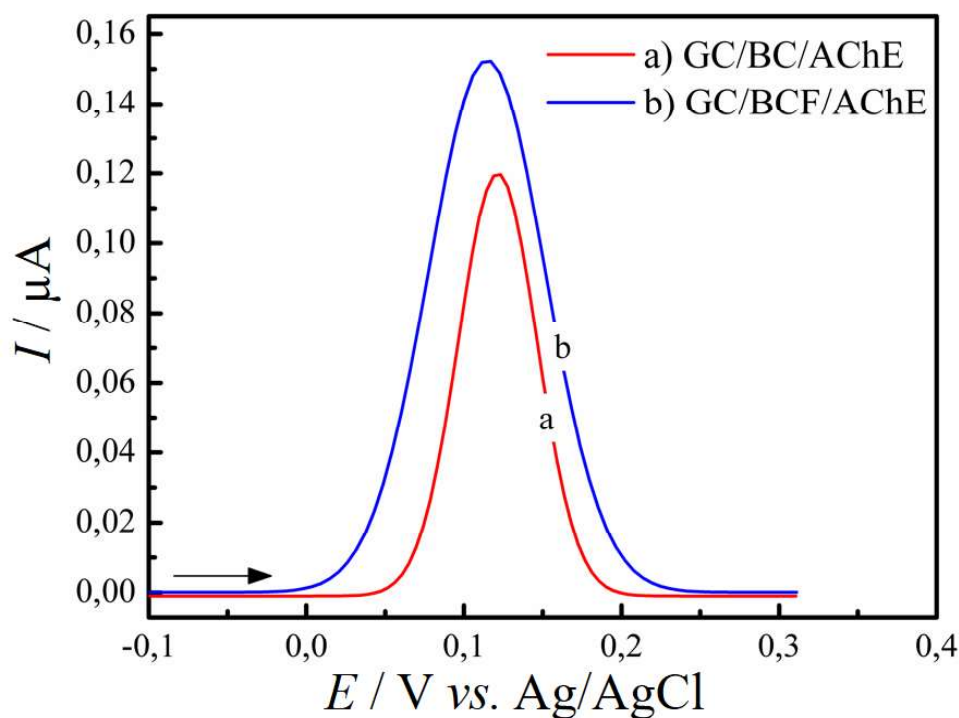


Figura 24 – Voltamogramas de Pulso Diferencial obtidos para os biossensores GC/BC/AChE (curva a) e GC/BCF/AChE (curva b) em solução de PBS 0,2 mol L⁻¹ pH 7,5 na presença de 50,0 μmol L⁻¹ de AChI (Condições da DPV: $a = 100$ mV, $tm = 50$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹).

A funcionalização/tratamento ácido do Biochar tem sido amplamente aplicada para aumentar a presença de grupos orgânicos oxigenados, bem como a razão oxigênio/carbono [62, 65], e em alguns casos reduzir a porosidade [198]. Modificações na composição e estrutura deste material à base de carbono podem favorecer o processo de imobilização enzimática de adsorção (força de Van der Waals ou interação iônica) e ligação covalente [65]. O Biochar de forma geral tem sido utilizado como uma plataforma de imobilização de enzimas para uma variedade de aplicações, como hidrólise [199], degradação enzimática [200], remoção de moléculas no tratamento de águas residuais [201] e biossensores eletroquímicos [112].

Para fins de otimização, a concentração da suspensão de BCF durante a construção do biossensor foi avaliada nas concentrações de 25 a 100 μg mL⁻¹. A **Figura 25A** mostra a resposta

dos biossensores na presença $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ do substrato enzimático. A corrente de pico anódico (I_{pa}) atinge seu valor máximo na concentração de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, que foi utilizada em todos os experimentos seguintes. Além disso, a concentração da enzima AChE utilizada foi de $40 \mu\text{g mL}^{-1}$, valor esse que foi otimizado em trabalho anterior do nosso grupo de pesquisa [125]. O efeito do pH do eletrólito suporte na corrente de pico anódico (I_{pa}) também foi estudado variando o pH de 5,5 a 8,0. A **Figura 25B** mostra que a oxidação da tiocolina atinge seu valor máximo em pH 7,5, o que já foi relatado na literatura como uma condição onde atividade enzimática da AChE apresenta uma melhor performance, sem desnaturação e consequentemente perda de sua atividade catalítica [202]. Portanto, o pH 7,5 foi escolhido em todos os experimentos subsequentes.

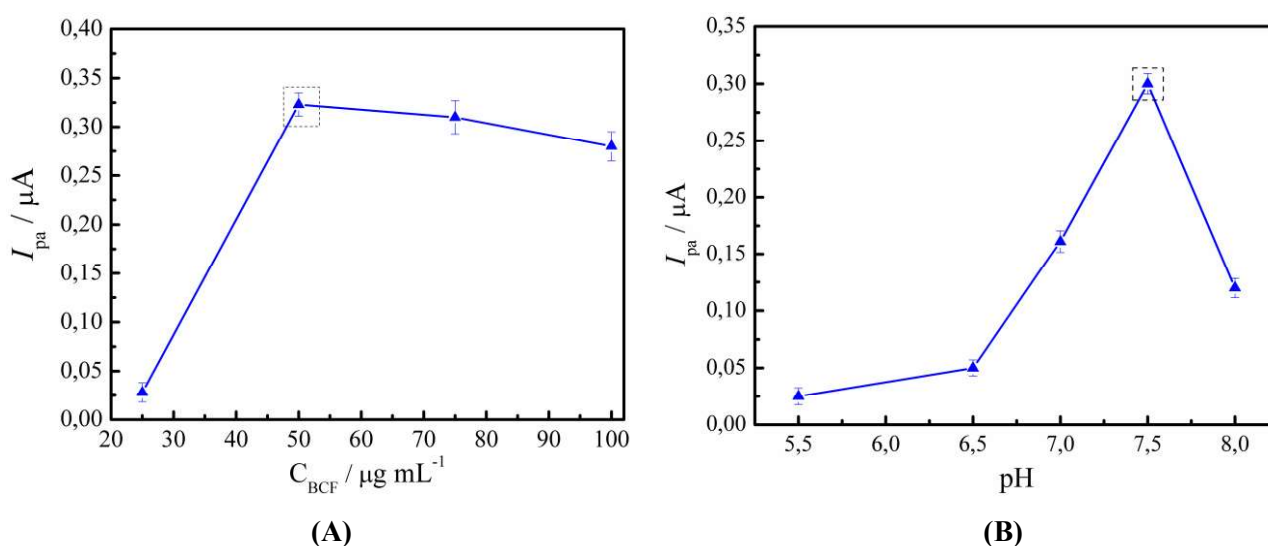


Figura 25 – A) Efeito da concentração de BCF ($\mu\text{g mL}^{-1}$) e **B)** Efeito do pH na corrente de pico anódico de oxidação da tiocolina para o biossensor GC/BCF/AChE em uma solução de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ PBS contendo $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AChI.

3.3.3 Curva de calibração para Carbaril

Após o processo de otimização, o biossensor GC/BCF/AChE foi aplicado na detecção de carbaril utilizando experimentos de DPV com o intuito de se avaliar uma faixa linear de detecção para o analito. A curva analítica foi baseada na diferença da corrente de oxidação da tiocolina

(seção 3.2.4) antes e após a adição de diferentes concentrações de carbaril. O biossensor apresentou uma resposta linear de 5,0 a 30,0 nmol L⁻¹ conforme mostrado na **Figura 26**.

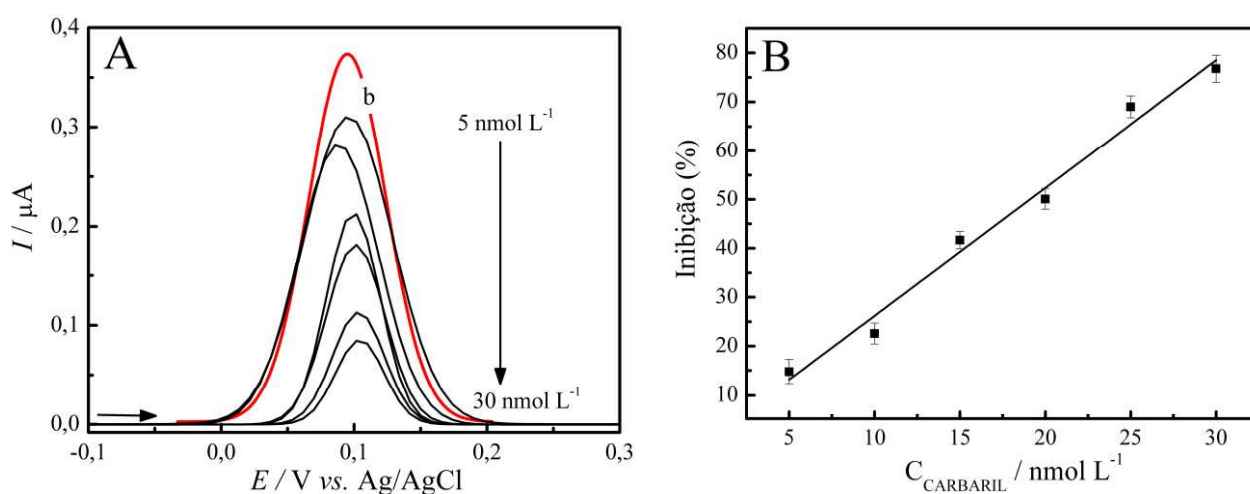


Figura 26 – A) Voltamogramas para o biossensor GC/BCF/AChE na ausência (curva b - vermelha) e na presença de 5, 10, 15, 20, 25 e 30,0 nmol L⁻¹ de Carbaril em 0,2 mol L⁻¹ PBS (pH 7,5). **B)** Dependência linear da inibição da enzima com as concentrações de Carbaril. (Condições da DPV: $\alpha = 100$ mV, $tm = 50$ ms, $\nu = 10$ mV s⁻¹).

A equação 7 correlaciona o processo de inibição em função da concentração de carbaril, com um coeficiente de correlação de 0,982 (n=6).

$$I (\%) = 1,5E-4 + 2,62 * C_{CARBARIL}(\text{nmol L}^{-1}) \quad (7)$$

Seguindo as recomendações da IUPAC, o biossensor proposto apresentou um limite de detecção (LOD) de 4,5 nmol L⁻¹ (0,91 ng mL⁻¹) e um LOQ de 15,0 nmol L⁻¹ (3,02 ng mL⁻¹). Estes valores foram calculados através das equações 8 e 9, respectivamente. Onde DP é o desvio padrão dos valores de corrente de pico para o 50 μmol L⁻¹ de AChI.

$$\text{LOD} = 3,3 * \frac{\text{DP}}{\text{slope}} \quad (8)$$

$$\text{LOQ} = 10 * \frac{\text{DP}}{\text{slope}} \quad (9)$$

O método desenvolvido demonstrou ser sensível a detecção de carbaril. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) afirma que o teor máximo de resíduos (LMR) na cultura da maçã é de 2,0 mg/kg, e a Ingestão Diária Aceitável (IDA) é de 0,003 mg por kg de peso corporal [170]. Considerando a alta toxicidade e os aspectos teratogênicos do carbaril, o desenvolvimento de biossensores capazes de detectar este pesticida carbamato em baixas concentrações é fundamental.

A **Tabela 4** compara o desempenho analítico do biossensor GC/BCF/AChE com outros biossensores eletroquímicos de carbaril relatados recentemente. Du et al. [203] sintetizaram um filme de quitosana depositado eletroquimicamente na superfície do eletrodo de ouro combinado com a enzima AChE. O biossensor baseado em filme de polianilina de eletropolimerização para imobilização da enzima AChE em nanotubos de carbono foi desenvolvido por Cesarino et al. [132]. Loguercio et al. [204] otimizaram as condições de superfície para imobilizar a enzima AChE usando filmes nanocompósitos de nanopartículas de ouro e polipirrol dopado com índigo carmim e dodecil sulfato. Além disso, os biossensores AChE-e-pGON/GCE e GC/rGO/AChE, desenvolvidos respectivamente por Li et al. [205] e Silva et al. [125], se destacaram entre os biossensores com menores LODs para detecção do pesticida carbaril.

Tabela 4 – Comparação de características analíticas com outros biossensores relatados para detecção de carbaril.

Método	Biossensor	Faixa de Detecção (nmol L ⁻¹)	LOD (nmol L ⁻¹)	Ref.
CV	AChE-CHIT/Au ¹	25 – 500	14,9	[203]
DPV	GC/rGO/AChE	10 – 50	1,9	[125]
DPV	AChE-e-pGON ² /GCE	1,5 – 30,3	0,74	[205]
SWV ³	GC/MWCNT ⁴ /PANI ⁵ /AChE	9,9 – 49,6	4,6	[132]
Crono ⁶	Ppy-IC-DS1- AuNP-AChE	0,25 -1,24	0,16	[204]
DPV	GC/BCF/AChE	5 – 30	4,5	Este trabalho

¹CHIT/Au: eletrodo de ouro modificado com quitosana; ²e-Pgon: rede de óxido de grafeno poroso induzida eletroquimicamente; ³SWV: Voltametria de onda quadrada; ⁴MWCNT: nanotubos de carbono de paredes múltiplas; ⁵PANI: polianilina; ⁶Cronoamperometria

Embora outros biossensores possam apresentar LODs mais baixos, materiais como o BCF validam o uso de fontes renováveis de carbono no desenvolvimento de biossensores eletroquímicos com resultados semelhantes para a detecção de pesticidas carbaril e levando a fabricação de dispositivos analíticos para segurança alimentar [150].

Conforme enfatizado nos experimentos anteriores, a funcionalização ácida de materiais carbonáceos, como o carbono renovável, tende a formar grupos funcionais no material (principalmente grupos carboxílicos, nitro e hidroxílicos), não apenas promovendo um efeito catalítico na oxidação dos dímeros, mas também aumentando as propriedades de interação entre o carbono renovável e biomoléculas como a enzima AChE [193]. Enzimas tendem a ser imobilizadas em superfícies de eletrodos funcionalizados, principalmente por meio de interações como adsorção, encapsulamento, ligação covalente e reticulação covalente [118]. O carbono renovável utilizado neste estudo possui fortes características de adsorção para moléculas orgânicas [19], com a presença de grupos funcionais em sua superfície [45]. O efeito sinérgico dessas duas características atuou de forma construtiva para melhorar o processo de oxidação da tiocolina, levando a uma maior detectabilidade.

3.3.4 Influência do interferente no desempenho do biossensor GC/BCF/AChE

Para avaliar a influência de possíveis interferentes e investigar a seletividade do biossensor proposto. A **Figura 27** mostra as respostas de corrente de pico anódico (I_{pa}) referentes ao processo de oxidação da tiocolina (a) e após a incubação com 30 nmol L⁻¹ de CBR (b). Após a leitura com o analito de interesse, o biossensor foi incubado uma solução de PBS contendo concentrações de 5 (c), 10 (d) e 15 nmol L⁻¹ (e) de ácido aminometilfosfônico (AMPA) por cinco minutos. O AMPA é o principal metabólito do herbicida glifosato, apresentando baixa inibição da enzima AChE [206].

Como esperado, o biossensor apresentou boa seletividade ao inseticida carbaril, já que o inseticida carbamato inibiu quase que exclusivamente o processo de oxidação do ditio-bis-colina. Por outro lado, ao analisar várias concentrações de AMPA, o biossensor não mostrou alteração significativa no processo de oxidação da tiocolina.

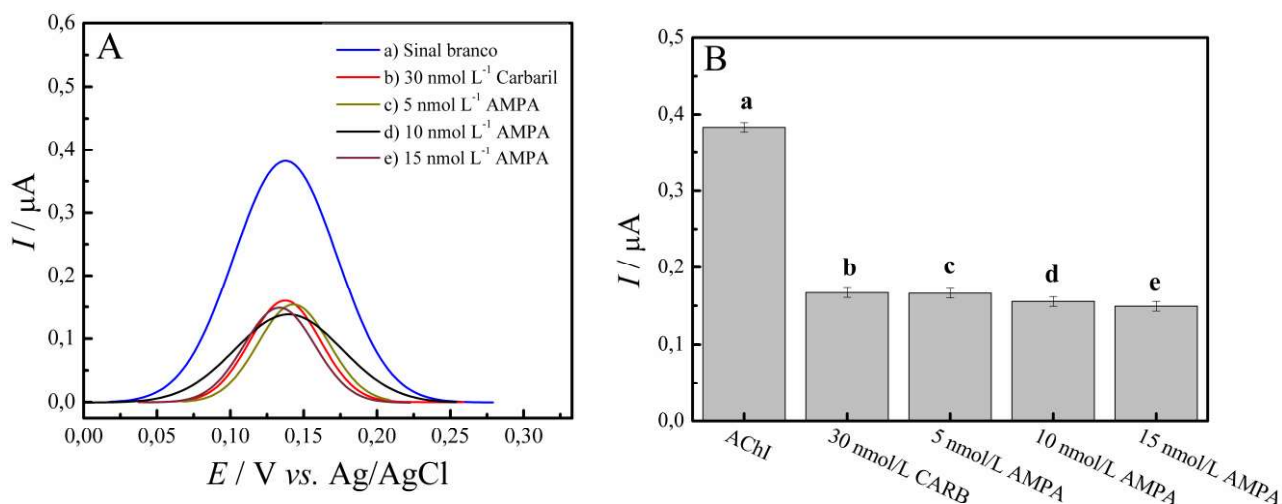


Figura 27 – A) Voltamogramas obtidos usando o biossensor GC/BCF/AChE na ausência de inibidores (curva a), na presença de 30 nmol L⁻¹ de Carbaril (curva b), e adições sucessivas de 5 nmol L⁻¹ (curva c), 10 nmol L⁻¹ (curva d) e 15 nmol L⁻¹ (curva e) do interferente AMPA. **B)** Gráfico de barras indicando a inibição do sinal analítico na presença de Carbaril e AMPA.

3.3.5 Estabilidade, repetibilidade e reprodutibilidade

A avaliação do tempo de vida do biossensor proposto foi realizada por experimentos de DPV na presença de 50,0 μmol L⁻¹ de AChI (**Figura 28A**). O biossensor GC/BCF/AChE apresentou respostas semelhantes à oxidação da tiocolina no período de 2, 3, 4 e 6 dias. Durante as medições, o biossensor foi armazenado em solução de PBS 0,2 mol L⁻¹ (pH 7,5) à 4°C. Após 8 dias de armazenamento, observou-se uma mudança significativa na resposta eletroquímica da oxidação da tiocolina (**Figura 28B**). Apesar de apresentar uma estabilidade enzimática aparentemente menor em comparação com os biossensores baseados em grafeno, o biochar é considerado uma opção de material de baixo custo e renovável, com um processo de síntese mais simples [125].

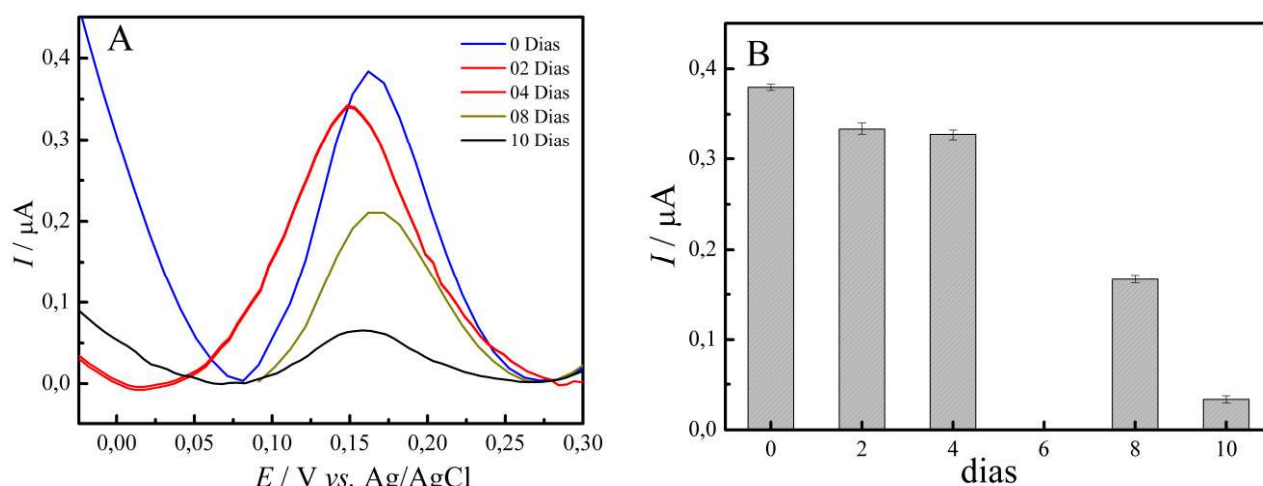


Figura 28 – A) Voltamogramas obtidos usando o biossensor GC/BCF/AChE na presença de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AChI após o processo de armazenamento à 4°C por 0, 2, 4, 8 e 10 dias. **B)** Gráfico de barras indicando a perda do sinal analítico evidenciando a perda da atividade enzimática da AChE.

A repetibilidade de 9,3% para o biossensor proposto foi obtida medindo a resposta de corrente de cinco voltamogramas DPV após cinco minutos de incubação em uma solução com $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AChI. A reprodutibilidade de 9,7% foi determinada pelo desvio padrão de 5 voltamogramas sequenciais de três experimentos [207]. A repetibilidade e reprodutibilidade do biossensor GC/BCF/AChE apresentaram valores superiores quando comparado a outros biossensores eletroquímicos [127]. Isso pode estar associado ao fato de que o biossensor proposto não utiliza agentes de reticulação (glutaraldeído) ou bioconjugação, nem polímeros semicondutores (polianilina ou polipirrol) que aumentam a estabilidade da enzima AChE, mas, por outro lado, adicionariam complexidade na fabricação do biossensor.

3.3.6 Análise de Amostras de Maçã para a Determinação de Carbaril

Este estudo avaliou a aplicabilidade do biossensor desenvolvido em uma matriz de amostra real, conforme descrito na seção 3.2.3. Mesmo em uma matriz complexa, o biossensor GC/BCF/AChE apresentou uma boa resposta e linearidade para determinação de carbaril. No entanto, vale a pena notar que a corrente de pico anódica da resposta da tiocolina mudou. Isso pode ser correlacionado

com o efeito matriz, observado após a adição da amostra fortificada com $10,0 \text{ nmol L}^{-1}$ de carbaril. A oxidação da tiocolina mudou de 120 para $\sim 170 \text{ mV}$, conforme mostrado na **Figura 29A**. Comportamento semelhante também foi observado na detecção de carbaril em amostras de tomate por Silva et al. (2018) [125].

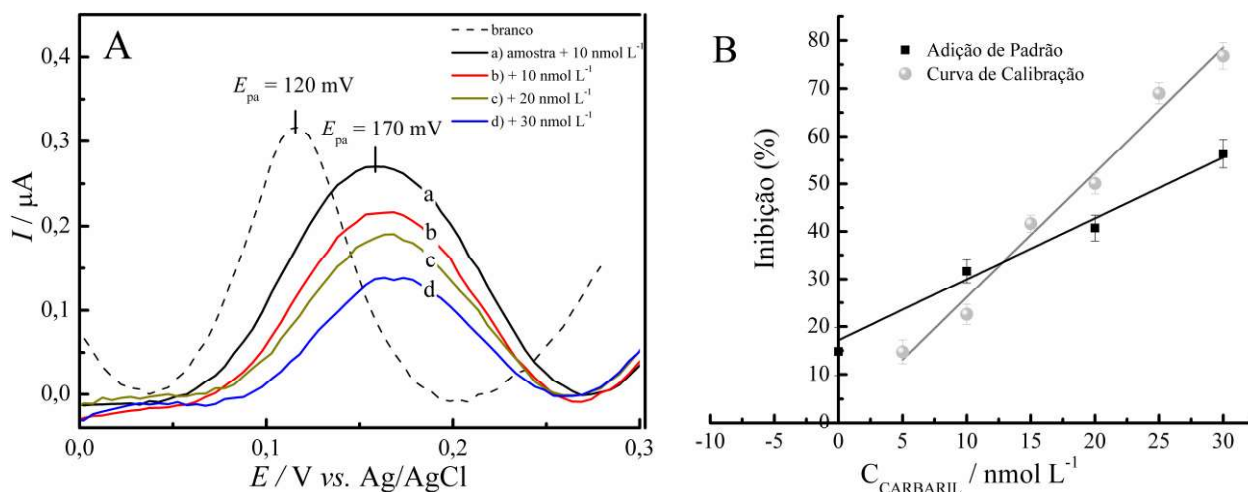


Figura 29 – Adição de método padrão proposto para detectar carbaril em amostras de maçã. **A)** Voltamogramas de Pulso Diferencial na ausência da amostra (linha tracejada), amostra de maçã fortificada com $10,0 \text{ nmol L}^{-1}$ de Carbaril (a) e concentrações de carbaril adicionado de 10,0 (c), 20,0 (d) e 30,0 (e) nmol L^{-1} . **B)** Curva de recuperação obtida com o biossensor proposto em amostra real.

Para a construção da curva resposta pelo método da adição padrão foram realizadas três adições sucessivas de carbaril nos sistemas $10,0$, $20,0$ e $30,0 \text{ nmol L}^{-1}$ para a construção da curva resposta pelo método da adição padrão. Ainda assim, nenhuma mudança significativa foi observada na determinação da concentração de pesticida (**Figura 2B**). A determinação de carbaril em amostras de maçã foi realizada em triplicata, obtendo-se valor médio de $10,90 \pm 0,90 \text{ nmol L}^{-1}$. A recuperação da concentração adicionada variou de 102,5 a 118,6%. A **Figura 29B** também apresenta a curva de calibração (■) comparada a curva da adição de padrão (●), e é notável a diferença do coeficiente angular (*slope*) entre as duas regressões. A curva da adição de padrão apresenta um coeficiente

angular menor, em relação a curva de calibração, levando a metodologia a ficar menos sensível. Entretanto, o método de adição de padrão corrige o efeito da matriz e as mudanças da resposta do instrumento [196], dessa forma, a alteração do coeficiente angular é justificada pela complexidade da amostra. A presença dos desvios positivos obtidos na recuperação da concentração adicionada pode estar associada à presença de algumas moléculas constituintes da maçã, como açúcares, fibras alimentares e minerais (principalmente sódio e ferro).

3.4 Conclusão parcial

O biossensor eletroquímico GC/BCF/AChE proposto foi aplicado com sucesso para a determinação do pesticida CBR em amostras de maçã nos níveis mais baixos estipulados pela ANVISA. O biossensor proposto apresentou uma resposta linear para a detecção de CBR no intervalo de 5 a 30 nmol L⁻¹, com um LOD de 4,5 nmol L⁻¹. Embora o biossensor tenha uma estabilidade relativamente curta, seu caráter de baixo custo e simplicidade de produção trazem grande apelo aos seus usuários. Além disso, o método proposto apresentou valores adequados de repetibilidade (9,3%) e reprodutibilidade (9,7%). Em amostras reais de maçã, a determinação de CRB, apesar da alta interferência da matriz, produziu resultados satisfatórios.

CAPÍTULO 4

Desenvolvimento de sensores eletroquímicos baseados em Biochar e nanopartículas metálicas para a detecção de Dopamina, Escitalopram e Metilparabeno.

4.1 Objetivo Específico

Sintetizar, caracterizar e aplicar nanocompósitos de biochar (BC) modificado com nanopartículas de Cobre (CuNPs) e Antimônio (SbNPs) como modificadores de eletrodos GC. Avaliar o desempenho do sensor GC/BC-CuNPs na detecção de dopamina em amostras de urina sintética e escitalopram em amostras de água. Também avaliar a aplicação do sensor GC/BC-SbNPs na detecção de Metilparabeno em amostras de produtos de higiene pessoal (PCPs);

Os resultados discutidos estão publicados na literatura e foram reproduzidos com permissão da MDPI. Conforme a licença Creative Commons CC BY de acesso aberto, qualquer parte do artigo pode ser reutilizada sem necessidade de permissão:

G.C. Gomes, **M.K.L. Silva**, F.C. Barreto & I. Cesarino, *Electrochemical Sensing Platform Based on Renewable Carbon Modified with Antimony Nanoparticles for Methylparaben Detection in Personal Care Products*, **Chemosensors**, 11, (2023) 141.

Também foi utilizado um artigo publicado pela Elsevier, onde mantém-se o direito de incluí-lo em uma tese ou dissertação, desde que não seja publicado comercialmente.

C.M.B. Trindade, **M.K.L. Silva** & I. Cesarino, *Copper nanostructures anchored on renewable carbon as electrochemical platform for the detection of dopamine, fluoxetine and escitalopram*, **Sens. and Act. Reports**, 4, (2022) 100107.

4.2 Procedimento Experimental

4.2.1 Materiais, reagentes e equipamentos

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico: Cloreto de Antimônio (SbCl_3), Cloreto de Cobre (CuCl_2), padrão de Metilparabeno (CAS: 99-76-3), o padrão de Dopamina (CAS: 62-31-7) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O padrão Escitalopram USP foi adquirido do Direção Europeia da Qualidade dos Medicamentos e Cuidados de Saúde (EDQM). Soluções do tampão PBS 0,2 mol L^{-1} foram preparadas conforme descrito na SEÇÃO 2.2.2. A instrumentação utilizada foi a mesma especificado na SEÇÃO 2.2.2.

4.2.2 Síntese dos nanocompósitos BC-CuNPs e BC-SbNPs

A síntese dos nanocompósitos foi realizada por um processo de redução química relatado em trabalhos anteriores [6,18]. Resumidamente, uma quantidade de 40 mg de BC foi adicionada a um béquer com 30 mL de etanol e a mistura foi homogeneizada usando um disruptor ultrassônico de células (QSonica), por 15 min. Em seguida, foram adicionados 16 mg do surfactante Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), e a solução foi sonicada 15 minutos. Para o processo de redução química, 26 mg de Borohidreto de sódio (NaBH_4) foram adicionados e a solução foi sonicada por mais uma hora.

A incorporação de nanopartículas foi realizada a partir de uma metodologia desenvolvida pelo grupo de pesquisa em trabalhos anteriores [91]. Para a incorporação das nanopartículas, foram preparadas soluções dos sais de Cloreto de Cobre (CuCl_2) (12 mg) e Cloreto de Antimônio (SbCl_3) (16 mg), em etanol suficiente (~ 5 mL) para a solubilização dos sais. Essas soluções foram adicionadas sob agitação magnética à solução preparada (separadamente) de BC/SDS/ NaBH_4 . Após o processo de redução química das nanopartículas, os materiais BC-CuNPs e BC-SbNPs foram centrifugados e limpos com etanol P.A. por 3 vezes.

Por fim, uma dispersão dos materiais BC, BC-SbNPs e BC-CuNPs à $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ de cada material foi preparada em água ultrapura para modificação do eletrodo. Os materiais foram sonicados em um disruptor celular ultrassônico (QSonica) por 1 ciclo de 10 minutos antes do uso.

Além disso a morfologia dos materiais BC-CuNPs e BC-SbNPs foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV, JEOL, modelo JSM-7500F) e por Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS Thermo Scientific) no Instituto de Química (IQ) da UNESP, Araraquara, Brasil.

4.2.3 Preparação dos eletrodos de trabalho

Previamente, o eletrodo GC foi submetido ao mesmo processo de limpeza descrito na SEÇÃO 2.2.4. Após o eletrodo de GC polido, já limpo e seco em temperatura ambiente, foi gotejado $10 \mu\text{L}$ da suspensão a ser estudada (BC, BC-SbNPs ou BC-CuNPs). O eletrodo foi seco em estufa a 40°C por 20 min. A **Figura 30** resume o processo de síntese dos nanocompósitos e aplicação dos sensores modificados para a detecção de moléculas de interesse biológico e ambiental.

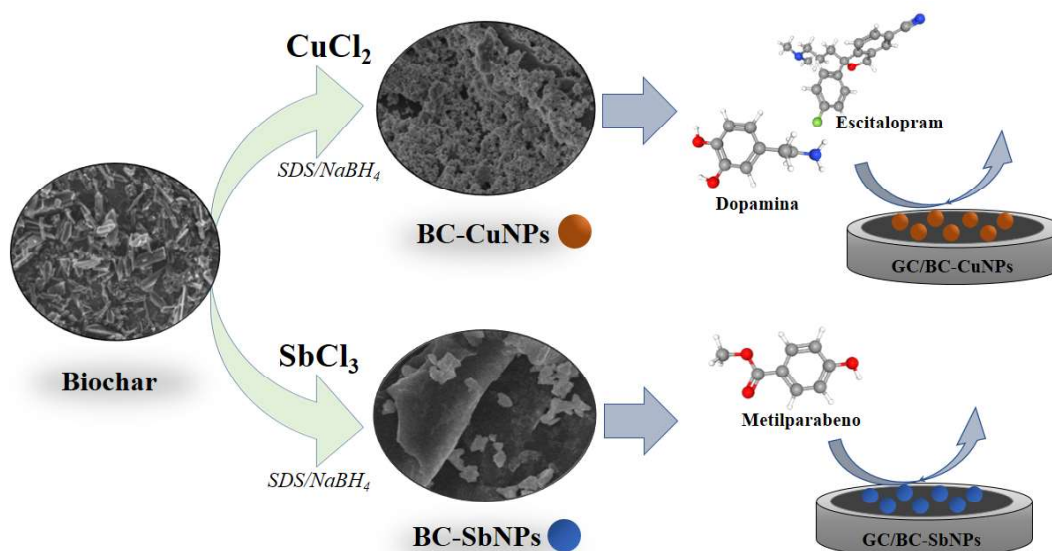


Figura 30 – Esquema representando o processo de modificação do Biochar com nanopartículas de Cobre (CuNPs) e de Antimônio (SbNPs) para a detecção de Dopamina, Escitalopram e Metilparabeno.

4.2.4 Preparo de amostras reais

Cinco amostras diferentes de PCPs foram adquiridas em um supermercado local em Botucatu, São Paulo, Brasil. Higienizante para as mãos (álcool etílico 70°), enxaguante bucal, desodorante, emoliente para cutículas e creme hidratante foram escolhidos para análise de acordo com a presença de metilparabeno como constituinte na formulação, conforme informado em seus rótulos. Todas as amostras foram diluídas em 1:10 em etanol. Após diluição adequada, uma alíquota de 250 μL foi adicionada a uma célula eletroquímica de 20 mL com PBS 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0). A análise quantitativa de MePa foi realizada pelo método de adição de padrão, no qual concentrações conhecidas do padrão foram adicionadas durante a análise.

Para validação da metodologia eletroanalítica, as amostras também foram analisadas em espectrofotômetro UV-Visível (monofeixe) MODELO UV-M51 da BEL Engineering®, Monza (Milano), Itália. Uma varredura de comprimento de onda foi realizada de 350 a 220 nm, com um passo de 1 nm por ponto de leitura. As amostras também foram enriquecidas com quantidades conhecidas de padrão MePa. Os resultados obtidos pelas técnicas UV-Vis e DPV foram utilizados para comparar as quantidades de MePa.

Urina humana sintética foi preparada conforme descrito em nosso trabalho anterior. Resumidamente, os componentes da solução são: 1,10 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2,92 g de NaCl, 2,25 g de Na_2SO_4 , 1,40 g de KH_2PO_4 , 1,60 g de KCl, 1,00 g de NH_4Cl , 25,00 g de uréia e 1,10 g de creatina em pH 7,0 [182].

Amostras de água encanada foram coletadas no Laboratório de Eletroanálise e Nanotecnologia (LEN) na cidade de Botucatu, Brasil. As amostras analíticas foram fortificadas com concentrações conhecidas dos padrões analíticos de DOP e EST.

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Caracterização morfológica, espectroscópica e eletroquímica dos nanocompósitos

A **Figura 31** apresenta as caracterizações realizadas para os materiais BC (A), BC-CuNPs (B1-B5) e BC-SbNPs (C1-C5). Por conveniência, as caracterizações neste subtópico serão discutidas utilizando-se a legenda das figuras, numeradas de acordo com os materiais.

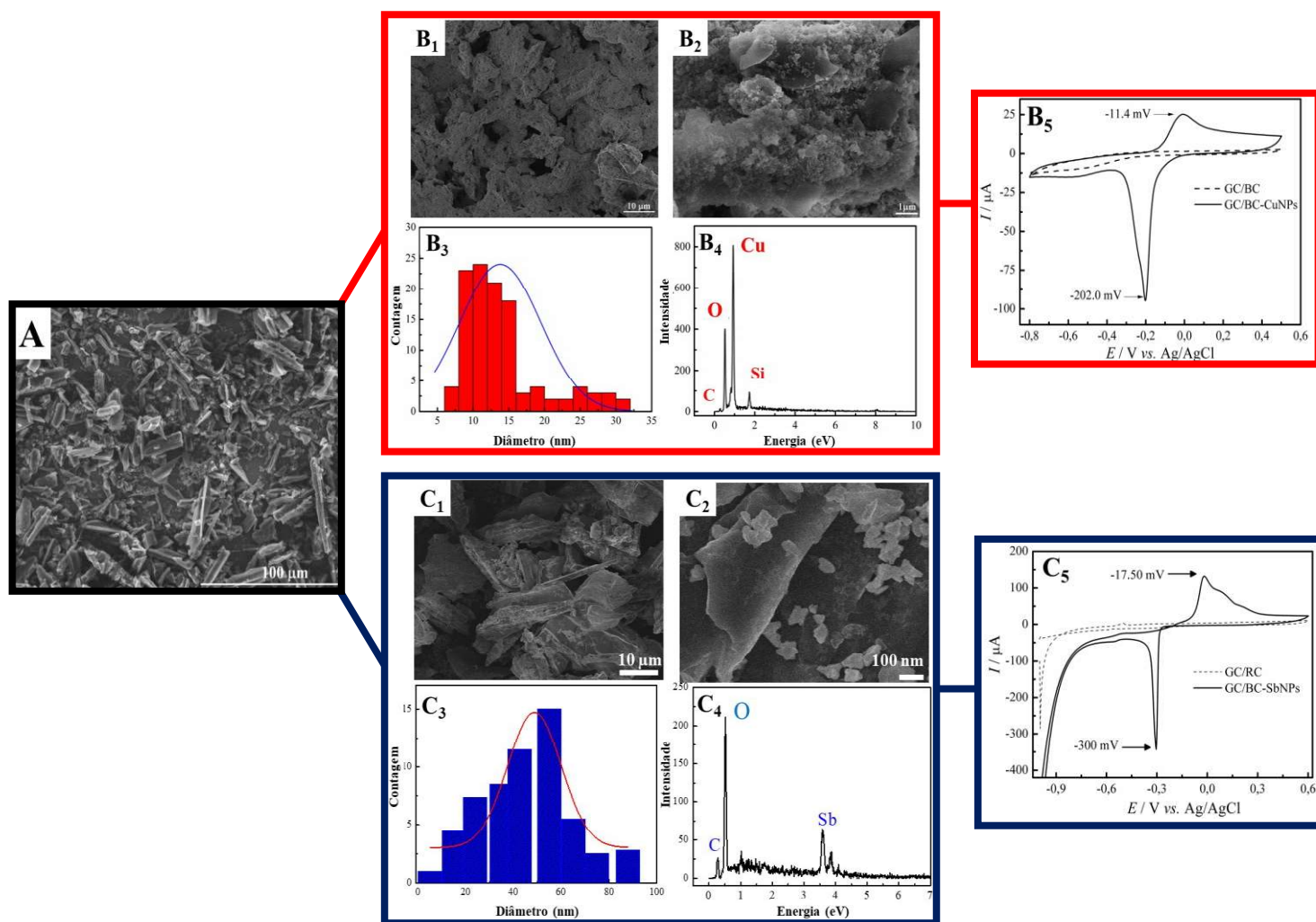


Figura 31 – Caracterização dos materiais: Imagens de FEG-SEM para o material BC (A), para o material BC-CuNPs (B1 e B2); histograma do tamanho das CuNPs (B3) e seu espectro EDS (B4); e caracterização eletroquímica por CV em 0,2 mol/L PBS (pH 7, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$). Similarmente, imagens de FEG-SEM para o material BC-SbNPs (C1 e C2); histograma do tamanho das SbNPs

(C3) e seu espectro EDS (C4); e caracterização eletroquímica por CV em 0,5 mol/L HCl ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$)."

A morfologia e o tamanho das nanopartículas na superfície do precursor BC e BC-CuNPs foram caracterizados por FEG-SEM. Conforme mostrado na **Figura A**, o BC proveniente da biomassa de bambu tende a formar estruturas de favo de mel pontiagudas com derrames e colmeias [62]. A **Figura B1 e B2** mostram o nanomaterial BC-CuNPs correspondente, com nanopartículas de cobre em formato irregular com aglomeração excessiva. Trabalhos anteriores na literatura relataram uma forma semelhante com nanopartículas de óxido de cobre [208–210]. A **Figura B3** mostra a contagem de diâmetro de nanopartículas entre 7-35 nm, com um diâmetro médio de 12 nm. O espectro EDS na **Figura B4** foi usado para confirmar a composição do compósito BC-CuNPs. Os resultados revelaram a presença de nanopartículas de CuO com bandas de Cu (0,93 eV) e O (0,52 eV).

A caracterização eletroquímica (**Figura B5**) do eletrodo GC/BC-CuNPs foi realizada em PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0), com velocidade de varredura de 50 mVs⁻¹, variando o potencial de -0,8 a +0,5 V. Nenhum processo eletroquímico foi observado para o eletrodo GC/BC. Por outro lado, no voltamograma cíclico para o eletrodo GC/BC-CuNPs, há um processo de oxidação-redução com picos bem definidos no eletrodo modificado com nanopartículas de cobre, que se refere à oxidação (Cu^0 para Cu^{2+}) e redução do mesmo, confirmando sua incorporação no eletrodo. Os picos observados estão de acordo com trabalhos publicados anteriormente [100, 206, 211].

As **Figuras C1 e C2** mostram o nanomaterial BC-SbNPs em diferentes magnitudes, e a inclusão de nanopartículas de Sb com tamanho médio de 50 nm (**Figura C3**). A **Figura C4** mostra o espectro de EDS obtido do nanocompósito BC-SbNPs, confirmando a composição do material com carbono (0,255 eV), oxigênio (0,522) e antimônio (3,60 eV).

A caracterização eletroquímica do compósito contendo antimônio foi realizada por experimentos de voltametria cíclica com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} em solução de HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. A comparação foi entre o eletrodo do GC modificado apenas com o BC sem modificação e o eletrodo do GC modificado com BC-SbNPs. Na **Figura C5** é possível observar que no eletrodo GC/BC (linha tracejada) não ocorreram processos eletroquímicos. Ao contrário, quando as GC/BC-SbNPs foram realizadas (linha contínua), foi possível observar um processo eletroquímico referente às nanopartículas de antimônio. O pico de oxidação mostrado na voltametria de eletrodo GC/BC-SbNPs em 19 mV (linha contínua) está associado à oxidação de Sb^0 para Sb^{+3} . Na varredura reversa, é possível observar um processo de redução de Sb em -305 mV . Portanto, podemos concluir que os processos eletroquímicos presentes no voltamograma correspondem à presença de Sb na superfície do eletrodo, o que prova que as nanopartículas foram bem incorporadas ao GC/BC [101, 109, 111, 212, 213].

4.3.2 Aplicação do sensor GC/BC-SbNPs na detecção de Metilparabeno

4.3.2.1 Comportamento Eletroquímico do Metilparabeno

O comportamento eletroquímico do metilparabeno (MePa) no eletrodo GC/BC-SbNPs foi realizado por voltametria cíclica (CV) com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} em solução tampão fosfato (PBS) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0, adicionado com $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de MePa. Os resultados, apresentados na **Figura 32A**, revelaram a ausência de qualquer processo eletroquímico na ausência do analito (linha tracejada). No entanto, na presença de $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de MePa (linha contínua), foi observado um pico de oxidação irreversível em $E_{\text{pa}} = + 0,878 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl/KCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$). Este processo de oxidação é consistente com descobertas anteriores, como as relatadas por Piovesan et al. [214], que identificaram um pico próximo a $0,86 \text{ V}$. A **Figura 32B** mostra o efeito da variação da velocidade de varredura (v) no processo de oxidação do MePa entre 10 mV s^{-1} e 75 mV s^{-1} . O gráfico $\log I_{\text{pa}}$ vs. $\log v$ (mV s^{-1}) revelou uma relação linear com um R^2 de 0,9974 com uma

inclinação (*slope*) de 0,5833. De acordo com a literatura [215], uma inclinação do gráfico log-log de aproximadamente 0,5 indica uma taxa de reação controlada por difusão [216]. A **Figura 32C** ilustra o mecanismo de oxidação da molécula de MePa. A oxidação de compostos fenólicos geralmente ocorre por meio da transferência de um único elétron e próton [176].

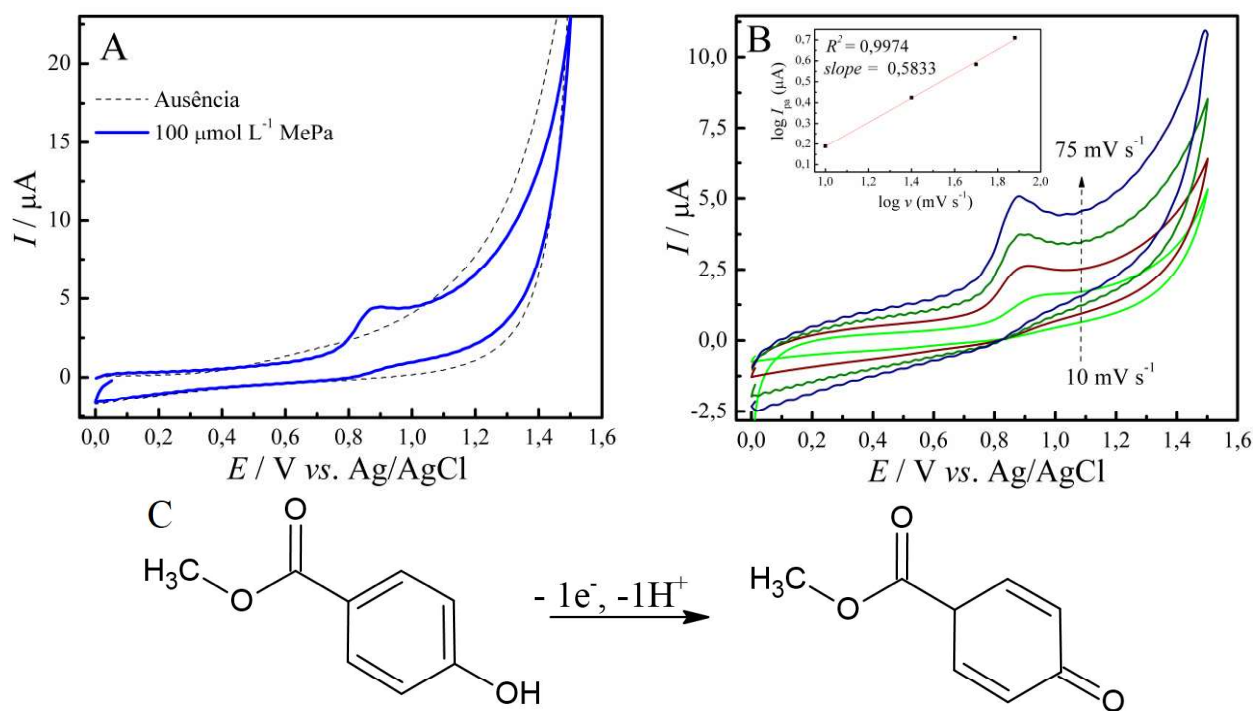


Figura 32 – A) Voltametria cíclica no eletrodo GC/BC-SbNPs em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS pH 7,0 na ausência (linha tracejada) e na presença (linha contínua) de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ MePa. (Condições da DPV: $a = 75 \text{ mV}$, $tm = 50 \text{ ms}$, $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$). B) Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (Inserção: relação linear $\log I_{pa}$ vs. $\log \nu$). C) Mecanismo de oxidação para o MePa.

A técnica de DPV foi empregada com o intuito de se comparar a resposta analítica nos diferentes eletrodos de trabalho no processo de oxidação de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MePa. A **Figura 33** mostra os resultados obtidos para o eletrodo GC (linha tracejada), GC/BC (curva a) e GC/BC-SbNPs (curva b). Dessa forma, podemos observar o impacto positivo da incorporação das SbNPs ao

BC na detecção do MePa, uma vez que o valor da corrente de pico anódico é significativamente maior em comparação ao BC não modificado, demonstrando eficácia em sua aplicação para a detecção. Aumentou-se a corrente por um fator de 4,4 e 6,8 para os eletrodos GC/BC e GC/BC-SbNPs, respectivamente, quando comparados ao GC não modificado. Portanto, compostos fenólicos, como o MePa, podem ser facilmente adsorvidos na superfície do carbono por ligação de hidrogênio, adsorção física ou empilhamento π - π de elétrons da cadeia de carbono [45].

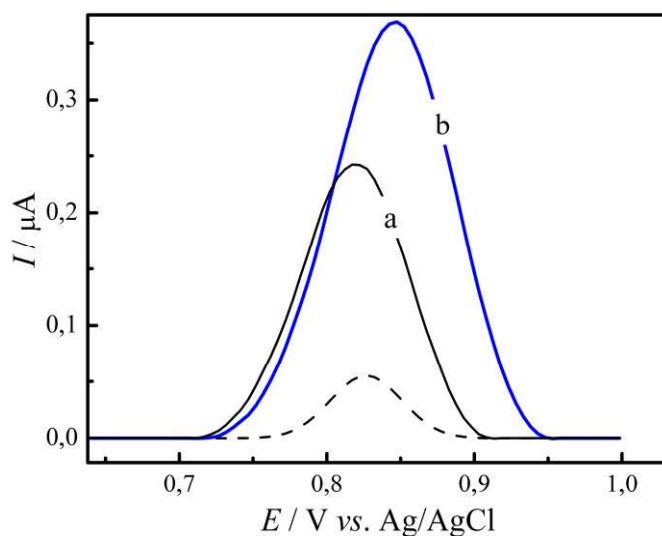


Figura 33 – Voltamogramas de pulso diferencial de eletrodos em solução 0,1 mol L⁻¹ PBS pH 7,0 adicionada de 10,0 μmol L⁻¹ MePa para eletrodo GC (linha tracejada), eletrodo GC/BC (a) e eletrodo GC/BC-SbNPs (b). (Condições da DPV: $a = 75$ mV, $tm = 50$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹).

O uso de SbNPs na confecção de sensores eletroquímicos tem sido ampliado nos últimos anos devido às suas propriedades eletrônicas, físicas, estruturais, ópticas, químicas e catalíticas [91, 110, 217]. Além disso, foi relatado que a adição de SbNPs cria um efeito sinérgico com nanomateriais de carbono (por exemplo, biochar, nanotubos de carbono, grafeno) devido ao aumento da área superficial da plataforma sensorial, assim como, em alguns casos, apresenta um processo eletrocatalítico. Essas nanopartículas também oferecem a vantagem de baixo custo em comparação com metais mais nobres, tornando-se uma escolha economicamente viável para aplicações

sensoriais. Além disso, elas demonstraram aumentar significativamente a resposta voltamétrica para os analitos inorgânicos (metais pesados) [101] e orgânicos (Paraquat, Orciprenalina, Tramadol, etc) [111, 218]. Também podemos levar em consideração que o antimônio possui capacidade de operar com sobrepotenciais maiores para a evolução do hidrogênio, ou seja, evita que a evolução de hidrogênio ocorra em potenciais mais baixos [111].

4.3.2.2 Otimização da composição do eletrodo na resposta voltamétrica do metilparabeno

Outro parâmetro importante otimizado foi a influência da concentração do filme de BC-SbNPs no eletrodo, que foi obtido realizando um DPV com 5 eletrodos diferentes variando a concentração do compósito de 0,5 a 2,0 mg mL⁻¹, na amplitude de 75 mV e uma varredura taxa de 10 mV s⁻¹, em solução 0,2 mol L⁻¹ de PBS pH 7,0 acrescida de 10 μmol L⁻¹ de MePa. Conforme mostrado na **Figura 34**, podemos observar que o filme de concentração que apresentou maior corrente de pico anódica (I_{pa}) foi de 1,0 mg mL⁻¹, quando utilizado para a modificação do eletrodo. Também podemos observar que não houve uma variação significativa do potencial de oxidação (E_{pa}). Portanto, para todos os próximos experimentos e análises de MePa, essa concentração foi aplicada.

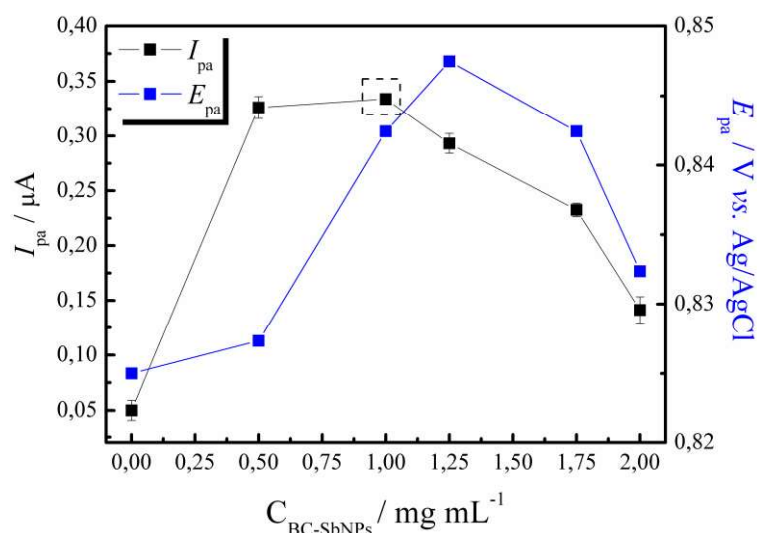


Figura 34 – Relação entre a concentração do filme de BC-SbNPs (mg mL⁻¹) e sua influência com I_{pa} E_{pa} no processo de oxidação de 10,0 μmol L⁻¹ MePa.

4.3.2.3 Influência do pH no processo de oxidação do MePa

O estudo de otimização do pH do eletrólito de suporte foi conduzido por meio de experimentos de Voltametria de Pulso Diferencial (DPV) no eletrodo GC/BC-SbNPs, na presença de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MePa. Durante esses experimentos, foram avaliados os efeitos sobre a corrente de pico anódico (I_{pa}) e o potencial de pico anódico (E_{pa}). Variou-se o pH do eletrólito PBS de 5,0 a 10,0 para determinar a faixa de pH que proporcionaria a melhor resposta do analito. A **Figura 35A** mostra os experimentos comparativos de DPV em diferentes pH para $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MePa, mostrando a mudança nos processos de oxidação deste composto fenólico.

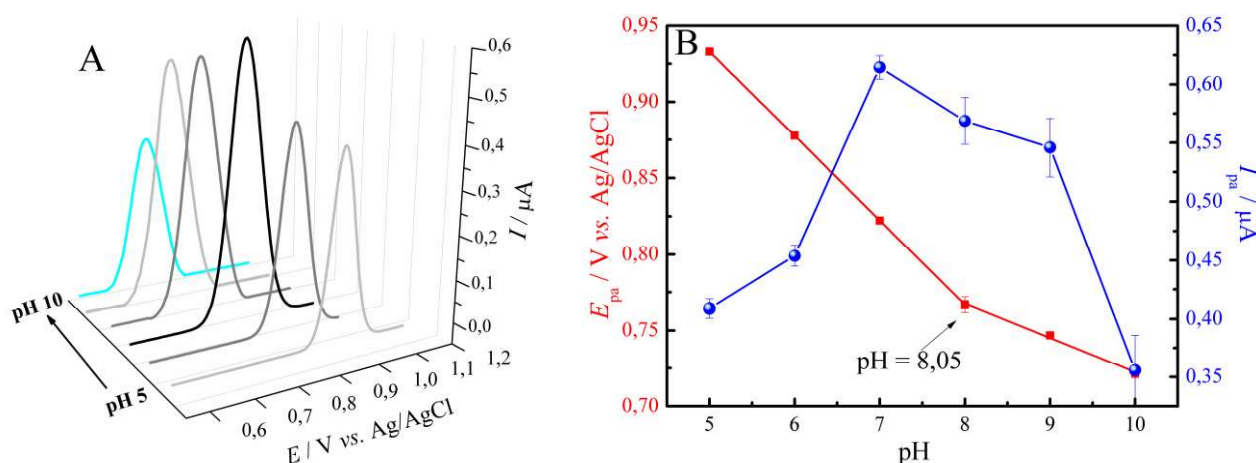


Figura 35 – **A)** Voltamogramas de Pulso Diferencial utilizando o eletrodo GC/BC-SbNPs na presença de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução de PBS $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes pHs, de 5,0 a 10. (Condições da DPV: $a = 75 \text{ mV}$, $tm = 50 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$). **B)** Relação de I_{pa} (■) e E_{pa} (●) em função do pH da solução tampão.

Na **Figura 35B**, observando melhor este estudo, é possível observar uma relação de dependência entre a corrente de pico anódica (I_{pa}) e a variação do pH. O gráfico também mostra que a corrente anódica de pico tem um valor máximo exatamente em pH 7,0, então esse valor foi escolhido e utilizado na análise a seguir. Para o valor do potencial de oxidação (E_{pa}), podemos notar

a mudança do potencial onde MePa para valores mais negativos conforme o pH aumenta, o que está relacionado com a redução da concentração iônica de hidrogênio, portanto, diz respeito ao processo de desprotonação que ocorre durante a oxidação. O gráfico E_{pa} vs. pH apresenta uma regressão linear (**Figura 35B**), com um coeficiente angular de -55,40 mV, o que indica que a oxidação do metilparabeno envolve a participação do mesmo número de prótons e elétrons. Este é um processo com um mecanismo previamente relatado para a oxidação do metilparabeno que envolve dois prótons e dois elétrons [219, 220]. O ponto de inflexão entre os pHs 8,0 e 9,0 corresponde ao pKa do analito, semelhante ao valor de 8,17 relatado na literatura [221]. Além disso, os resultados indicaram que MePa tem uma resposta de corrente anódica mais alta quando a solução de PBS em pH 7,0 é usada como eletrólito suporte. Portanto, esta solução foi utilizada para as análises subsequentes.

4.3.2.4 Curva de calibração, limites de detecção e quantificação

A **Figura 36A** apresenta os experimentos de DPV, utilizando o eletrodo GC/BC-SbNPs proposto, seguindo todas as condições otimizadas descritas durante o trabalho. Os voltamogramas apresentaram uma região linear de 0,2 a 9,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com adições de MePa, conforme equação apresentada (**Figura 36B**), com coeficiente de correlação de 0,990 ($n=9$). De acordo com as recomendações da IUPAC, o limite de detecção (LOD) encontrado foi de 0,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$, que foi determinado usando o $3\sigma/\text{slope}$, onde σ é o desvio padrão de 10 voltamogramas do branco. O limite de quantificação (LOQ) obtido foi de 0,16 $\mu\text{mol L}^{-1}$ determinado por $10\sigma/\text{slope}$, também conforme recomendado pela IUPAC

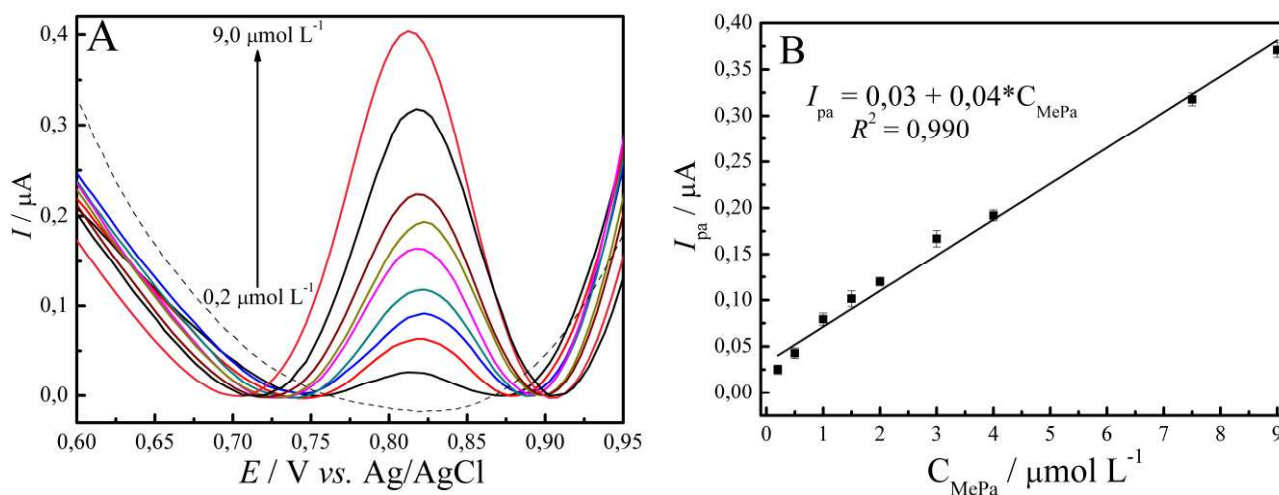


Figura 36 – A) Voltamograma de pulso diferencial usando GC/BC-SbNPs em solução 0,2 mol L⁻¹ PBS pH 7,0 com concentrações de MePa variando de 0,2 a 9,0 μmol L⁻¹. (Condições da DPV: $a = 100$ mV, $tm = 50$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹). B) Relação linear entre I_{pa} e C_{MePa} .

A **Tabela 5** apresenta outros estudos na literatura sobre detecção eletroquímica de metilparabeno e outros parabenos. Piovesan et al. [214] relataram um eletrodo modificado com base em óxido de grafeno reduzido (rGO) e nanopartículas de ouro (AuNPs) dispersas em quitosana (CS) para a determinação voltamétrica de metilparabeno (MePa). Os autores descreveram uma faixa linear de detecção voltamétrica de 0,03 a 1,30 μmol L⁻¹ ($R^2 = 0,990$), com um LOD de 13,77 μmol L⁻¹ e um LOQ de 41,73 μmol L⁻¹. O AuNP-RGO-CS/GCE também foi aplicado na detecção de MePa em PCPs com recuperações variando de 84,3 a 133,5%. Outros materiais à base de carbono para modificação de eletrodos, como rGO [56] e Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) [222] apresentaram resultados eficientes para a detecção de MePa. Em particular, o trabalho relatado por Baytak et al. [223], um eletrodo de GCE modificado com nanofibras de carbono (CNFs) e nanopartículas de níquel-cobalto-paládio, , apresentou o menor LOD relatado até o momento, 0,0012 μmol L⁻¹. Embora alguns artigos discutidos neste manuscrito tenham mostrado LODs mais baixos, o sensor GC/BC-SbNPs exibiu uma faixa linear em concentrações adequadas

para detectar MePa em amostras de PCPs. Portanto, a próxima seção abordará a aplicação do sensor proposto em amostras reais.

Tabela 5 – Comparação da faixa linear de detecção, limite de detecção, limite de quantificação e amostras reais utilizadas em diferentes sensores eletroquímicos reportados na literatura para a detecção de MePa.

Eletrodo	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
Eletrodo de Ouro	40 – 1000	1,71	5,70	[220]
GCE/MWCNTs-LB	1,0 – 80	0,40	-	[222]
Au/(MNP/Ppy) ₃ electrode	0,0 – 131,40	0,0995	-	[224]
(Co-Ni-Pd)NPs-CNFs/GCE	0,003 – 0,3	0,0012	-	[223]
GCE/rGO/RuNPs	0,5 – 3,00	0,24	-	[225]
AuNP-rGO-CS/GCE	0,03 – 1,30	0,0138	0,04173	[214]
GC/BC-SbNPs	0,2 – 9,0	0,05	0,16	Este trabalho

* Au: eletrodo de ouro, AuNP: nanopartículas de ouro, CS: quitosana, MNP: nanopartículas magnéticas, Ppy: polipirrol, GCE e GC: eletrodo de carbono vítreo, RuNPs: nanopartículas de rutênio, MWCNTs-LB: filme Langmuir-Blodgett (LB) de Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas, (Co-Ni-Pd)NPs: nanopartículas de cobalto, níquel e paládio, CNFs: nanofibras de carbono

4.3.2.5 Determinação de MePa em PCPs

O eletrodo GC/BC-SbNPs foi aplicado na quantificação de MePa em amostras reais de PCPs usando a metodologia DPV desenvolvida descrita na seção anterior. A extração de MePa e a preparação da amostra são discutidas na SEÇÃO 4.2.4.

Para comparar a confiabilidade do sensor eletroquímico, uma metodologia comparativa de espectrofotometria UV-Vis foi empregada nas amostras PCPs e os resultados foram comparados. A **Figura 37** mostra a curva de calibração obtida para a metodologia comparativa. O espectro de absorvância exibiu um pico máximo de absorvância em $\lambda_{\text{max}} = 262 \text{ nm}$. A técnica apresentou uma faixa linear de 1,0 a $60 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,996$), com LOD de $0,625 \mu\text{mol L}^{-1}$ e LOQ de $2,10 \mu\text{mol L}^{-1}$. Embora os valores de LOD e LOQ para esta técnica tenham sido maiores em comparação com a eletroquímica, a comparação entre as duas técnicas foi possível.

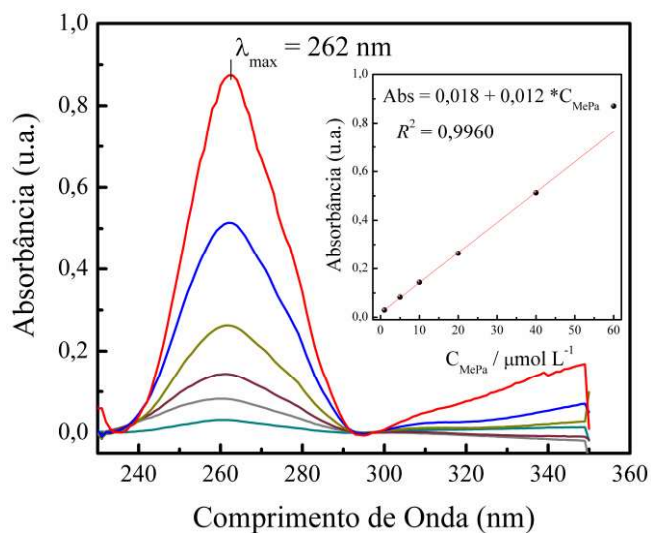


Figura 37 – Espectros UV-Vis (350 – 220 nm) para diferentes concentrações de MePa (1,0 a 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$). (*Inserção*: respectiva curva de calibração mostrando a relação linear de absorbância vs. $[\text{MePa}]/\mu\text{mol L}^{-1}$.)

A **Figura 38** ilustra a estratégia adotada neste estudo para a detecção precisa de MePa em produtos de cuidado pessoal (PCPs). Foram desenvolvidas duas metodologias: a voltametria de pulso diferencial (DPV) utilizando o sensor GC/BC-SbNPs e a espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV-Vis) para quantificação do analito. Para ilustrar, na **Figura 38A**, apresenta-se a quantificação por DPV, enquanto na **Figura 38B**, é apresentada a quantificação por UV-Vis de uma amostra de enxaguante bucal.

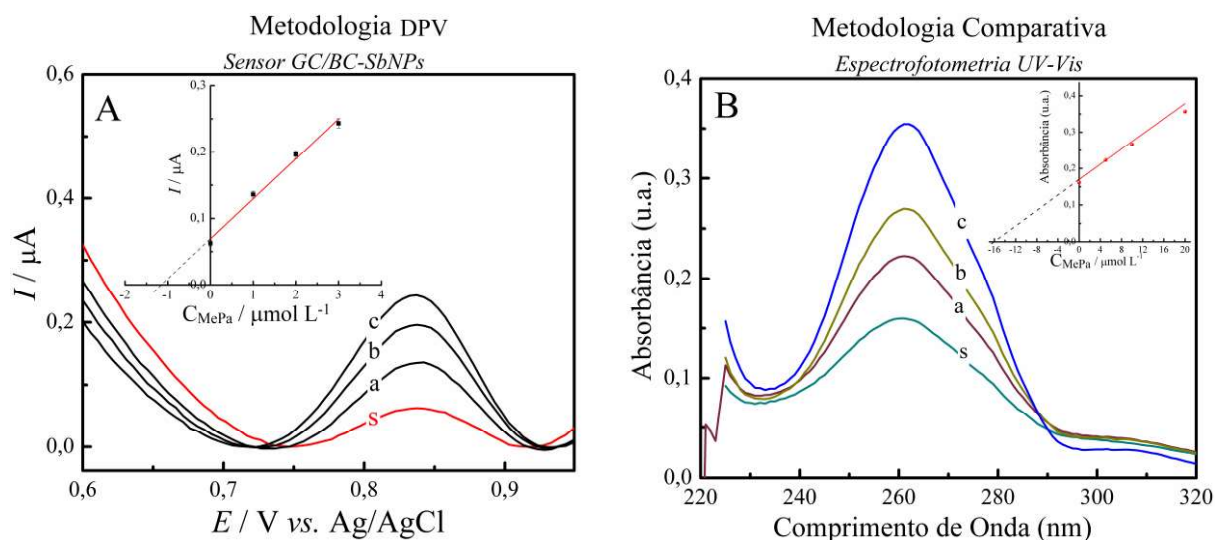


Figura 38 – Quantificação de MePa na amostra de enxaguante bucal pela técnica **(A) DPV**: amostra (s), e adição de $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (a), $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (b) e $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (c). **(B) Metodologia UV-Vis**: amostra (s), e adição de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (a), $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (b) e $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (c). (*Inserção: Quantificação de MePa pelo método de adição padrão.*).

A **Tabela 6** mostra a recuperação de MePa usando método de adição de padrão para as técnicas DPV e UV-Vis. O erro calculado compara a concentração de MePa obtida entre as duas técnicas (nota de rodapé). As amostras de desinfetante para as mãos e bochechos apresentaram menores erros devido à extração de MePa por extração líquido-líquido (LLE) sendo mais eficiente em amostras líquidas do que naquelas em consistência semi-sólida (creme) [60]. Além disso, os PCPs em forma de creme e gel podem conter mais fragrâncias, emulsificantes, filtros ultravioleta, acrilatos, conservantes e antioxidantes que podem interferir na análise UV-Vis devido a tais compostos terem mais grupos cromóforos (um grupo insaturado que absorve a luz) dentro sua estrutura química [61-63]. Dessa forma, o efeito matriz teria menos impacto na técnica eletroquímica DPV.

Tabela 6 – Resultados obtidos na quantificação de MePa empregando-se o método voltamétrico com o sensor GC/BC-SbNPs e o método comparativo por UV-vis.

Amostras (1:10 em etanol P.A.)	MePa (µg/mL)		Erro relativo (%) ¹
	DPV	UV-Vis	
Desinfetante para as mãos	50,30 ± 0,50	51,00 ± 0,50	-1,50
enxaguante bucal	49,22 ± 0,80	52,95 ± 0,92	-3,80
Desodorante	468,50 ± 2,60	513,51 ± 1,80	-8,80
Emoliente para cutículas	394,50 ± 5,60	456,45 ± 2,20	-13,33
Creme hidratante	221,40 ± 2,70	255,61 ± 1,50	-13,40

¹ Erro Relativo: DPV vs. UV-Vis ($C_{DPV} - C_{UV-Vis} / C_{UV-Vis}$) x 100%

4.3.3 Detecção de Dopamina e Escitalopram com o sensor GC/BC-CuNPs

4.3.3.1 Comportamento eletroquímico de DOP e EST

A fim de avaliar a viabilidade e o alcance da aplicação do nanomaterial BC-CuNPs no campo eletroanalítico, o sensor proposto foi usado para detectar as moléculas DOP e EST. Essas moléculas possuem um mecanismo de oxidação bem conhecido relatado na literatura [62, 169, 226]. Os experimentos CV mostrados nas **Figuras 39-A1** e **39-B1**, foram registrados na ausência de um analito (linha tracejada), e na presença de 100 µmol L⁻¹ da molécula alvo, usando o GC/BC-CuNPs como eletrodo de trabalho. Na **Figura 39-A1**, o processo de oxidação reversível do neurotransmissor DOP é observado no experimento CV, com potenciais redox em $E_{pa} = 240$ mV e $E_{pc} = 160$ mV vs. Ag/AgCl/KCl. Na **Figura 39-B1**, o processo de oxidação irreversível da droga EST é observado em $E_{pa} = 0,90$ V vs. Ag/AgCl/KCl.

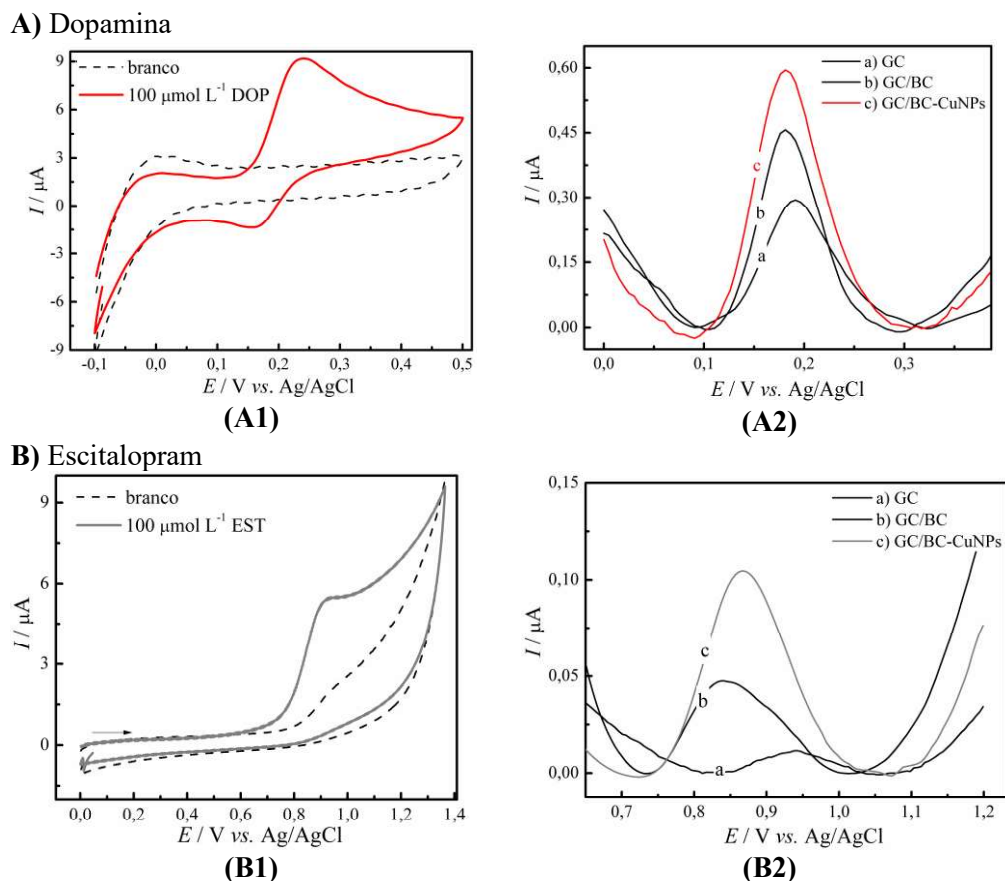


Figura 39 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o sensor GC/BC-CuNPs na ausência (linha tracejada) e na presença de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de DOP **(A1)** e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de EST **(B1)**. ($\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$). Voltamogramas de pulso diferencial comparando-se os eletrodos a) GC), b) GC/BC e GC/BC-CuNPs no processo de oxidação de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de DOP **(A2)** e 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de DOP **(B2)**. (Condições da DPV: $a = 100 \text{ mV}$, $tm = 50 \text{ ms}$, $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$). Experimentos realizados em 0,2 mol L^{-1} PBS (pH 7).

Os experimentos de DPV foram realizados em solução tampão PBS 0,2 mol L^{-1} (pH 7) contendo 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada analito comparando-se a resposta voltamétrica para os eletrodos GC (curva a), GC/BC (curva b) e GC/BC-CuNPs (curva c). Na **Figura 39–A2**, as respostas DPV dos GC/BC-CuNPs (curva c) para 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de DOP mostraram um aumento de 1,3 vezes na corrente de pico em comparação com o eletrodo GC/BC (curva b) e um aumento de 2,0 vezes em comparação com

GC simples. Todos os três eletrodos tiveram picos em potenciais quase idênticos de $E_{pa} = +180$ mV vs. Ag/AgCl.

O mesmo comportamento foi observado na **Figura 39-B2**, onde a resposta do eletrodo GC/BC-CuNPs para EST mostrou um aumento de 2,5 vezes em comparação com GC/BC e um aumento de 9,0 vezes em comparação com GC não modificado. O eletrodo GC/BC-CuNPs também apresentou um pico de oxidação em $E_{pa} = +870$ mV vs. Ag/AgCl, confirmando um efeito eletrocatalítico associado a incorporação das CuNPs.

4.3.3.2 Otimização da resposta DOP e EST no eletrodo GC/BC-CuNPs

Com o intuito de melhorar a resposta voltamétrica dos analitos DOP e EST, otimizou-se alguns parâmetros experimentais, incluindo a concentração do nanocompósito BC-CuNPs, o pH do eletrólito de suporte, bem como a aplicação de um potencial de pré-tratamento e o tempo de limpeza da superfície do eletrodo.

A influência da concentração do nanocompósito BC-CuNPs na resposta de corrente de pico dos analitos a $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ foi investigada em concentrações de 0,25, 0,50, 0,75, 1,0 e $1,25 \text{ mg mL}^{-1}$ (figura não mostrada). Os resultados indicaram que a concentração de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ proporcionou a maior resposta de pico anódico para todos os analitos. Portanto, essa concentração foi selecionada para os experimentos subsequentes.

Inicialmente, investigamos o efeito do potencial de pré-tratamento e do tempo de aplicação do potencial da superfície do eletrodo, uma vez que a detecção eletroquímica de drogas pode ser afetada por um processo de adsorção na superfície do eletrodo de trabalho [50]. Observou-se que a dopamina não apresentou alteração significativa na resposta da corrente de pico com a aplicação de potencial de pré-tratamento. No entanto, o escitalopram (EST) exibiu uma influência na resposta da corrente de pico quando o pré-tratamento foi implementado. O potencial aplicado foi variado entre -

1,2 a -0,8 V e tempos de aplicação entre de 15 a 45 s. A aplicação de um potencial de -1,0V por 30 segundos resultou em uma resposta mais consistente e com menor variação na corrente de pico anódica para o analito EST. Isso indicou uma redução na adsorção de EST na superfície do sensor GC/BC-CuNPs. Portanto, essa etapa de pré-tratamento do eletrodo de trabalho foi adotada nos experimentos subsequentes com essa molécula.

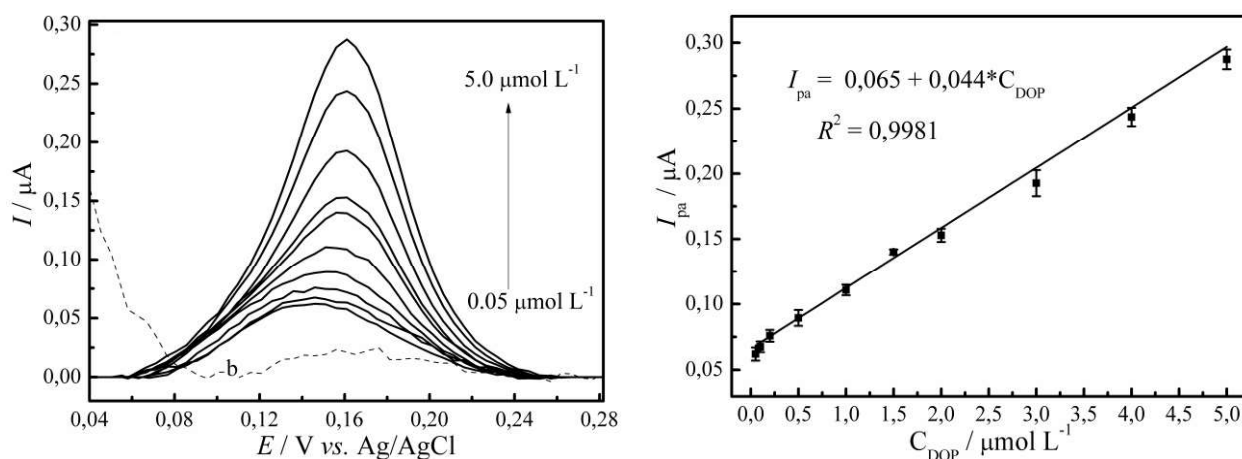
A influência do pH do eletrólito de suporte foi avaliada na faixa de pH 5,0 a 9,0. Os resultados da DPV indicaram que a maior resposta de corrente para DOP e EST foi obtida a pH 7,0. Portanto, os experimentos subsequentes foram conduzidos utilizando um tampão PBS a pH 7,0.

4.3.3.3 Curvas de Calibração

Os experimentos de DPV foram realizados em triplicata usando os parâmetros experimentais otimizados para obter uma curva analítica para a determinação de DOP e EST com o eletrodo composto GC/BC-CuNPs.

A **Figura 40 (A1-A2)** mostra que os experimentos de DPV tiveram uma resposta linear para o pico anódico de DOP na faixa de 0,05 a 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n=11$), com um LOD de 0,04 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Na **Figura 40 (B1-B2)**, os experimentos de DPV tiveram uma resposta linear para o pico anódico de EST na faixa de 0,2 a 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n=7$), com um LOD de 0,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

A) Dopamina



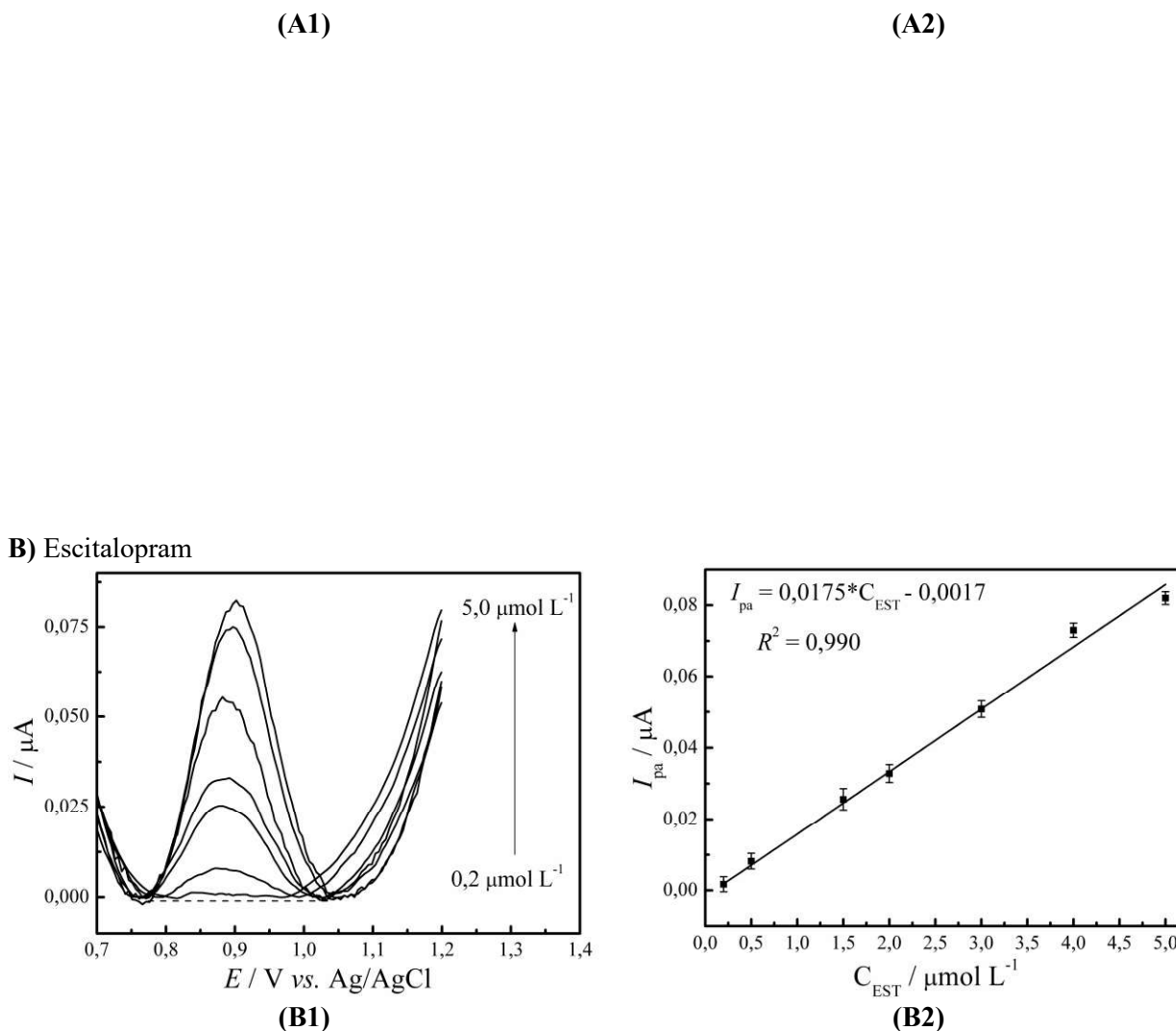


Figura 40 – Curvas analíticas usando a técnica de DPV com o eletrodo GC/BC-CuNPs em 0,2 mol L^{-1} PBS pH 7,0 e a respectiva dependência linear das correntes de pico com **A1-A2)** DOP (0,05 a 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e **B1-B2)** EST (0,2 a 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

A **Tabela 7** resume a ampla variedade de fontes renováveis de carbono e diferentes estratégias de modificação para aplicações eletroanalíticas. A detecção de drogas antidepressivas usando uma plataforma de detecção baseada em carbono renovável nunca foi relatada. Biochar tem sido usado para a adsorção e remoção de fluoxetina de estações de tratamento de águas residuais e ambientes aquáticos [227, 228]. Relatamos um trabalho anterior utilizando um carvão renovável ativado por tratamento ácido ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$) para detecção eletroanalítica de EST [62], no entanto, o objetivo

principal deste último artigo foi investigar a melhoria do transporte eletrônico e da resposta eletroquímica para um inorgânico (sonda redox) e um alvo analítico orgânico.

Tabela 7 – Plataformas de detecção analítica eletroquímica baseadas em fontes renováveis de carbono e outros materiais à base de carbono.

Eletrodo modificado	Analito	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
Biochar Ativado	Dopamina	1,6 – 72	3,2	[49]
^a OMC/CSF eletrodo	Dopamina	0,2 – 80	0,11	[229]
^b ZnCl ₂ -CF/GCE	Dopamina	2 – 2000	0,16	[230]
AuNPs@PANI/GSPEs	Dopamina	1 – 100	0,86	[226]
BC-CuNPs	Dopamina	0,05 – 5,0	0,04	*
	Escitalopram	0,2 – 5,0	0,15	*
^c CuNi NPs-BCPE	Glicose	7 – 23,67	2,3	[231]
^d nCuHCF-BCPE	Isoniazida	1 – 10	0,063	[105]

^aTecidos de seda carbonizados cobertos com carbono mesoporosos encomendados. ^bEletrodo de carbono microporoso derivado da casca kiwi ativado por cloreto de zinco. ^cEletrodo de pasta de carbono à base de biochar decorado com CuNi NPs bimetálicos. ^dEletrodo de Biochar modificado com Hexacianoferrato de cobre nanoestruturados (nCuHCF). *este trabalho.

Zhang et al. [230] reportou uma faixa linear de detecção variou de 2 a 2000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a dopamina, com um LOD de 0,16 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Além da detecção eletroquímica de dopamina, Selvolini et al. [226] investigaram o desempenho analítico de um eletrodo impresso em tela de grafite (GSPE) modificado com polianilina eletrodepositada (PANI) e nanopartículas de ouro (AuNPs). O sensor mostrou uma boa resposta para a detecção de DOP na faixa de 1-100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LOD de 0,86 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O desempenho analítico dos BC-CuNPs propostos apresentou uma faixa inferior de concentrações de 0,05 a 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LOD de 0,04 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (40 nmol L⁻¹). Além disso, esta é a primeira vez que uma plataforma de detecção de carbono renovável é usada para a detecção

eletroanalítica de drogas antidepressivas e neurotransmissores dopaminérgicos. O desempenho aprimorado do eletrodo GC/BC-CuNPs pode ser atribuído à superfície altamente porosa do BC e ao efeito sinérgico acoplado às nanopartículas de cobre.

4.3.3.4 Estudos de reprodutibilidade do sensor GC/BC-CuNPs

A reprodutibilidade da resposta voltamétrica DOP e EST usando o sensor GC/BC-CuNPs foi testada usando um conjunto de três eletrodos, em que cada experimento consistia em cinco voltamogramas de pulso diferencial. Em seguida, o coeficiente de variação (CV) foi calculado usando $\sigma/X * 100\%$, onde σ é o desvio padrão e X é a média das medidas. Os resultados mostraram um CV de 3,70% e 5,80% para DOP e EST, respectivamente.

4.3.3.5 Determinação de DOP e EST em amostras complexas

Para avaliar plenamente a aplicabilidade e eficácia do sensor GC/BC-CuNPs em cenários do mundo real, realizou-se uma série de experimentos em amostras complexas. Primeiramente, investigou-se a detecção de DOP em amostras de urina humana sintética, uma matriz complexa que pode apresentar diversos componentes interferentes. A **Figura 41 A-B** ilustra a análise de DOP em concentrações de 0,1, 0,2, 0,4 e 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ usando o método de adição de padrão. Os resultados revelaram que a presença dos componentes da urina humana sintética não teve uma influência significativa no processo de oxidação do neurotransmissor, demonstrando a robustez do sensor GC/BC-CuNPs.

Além disso, expandimos nossas investigações para amostras de água da torneira, onde detectamos o EST em concentrações de 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, conforme demonstrado na **Figura 42 A-B**. Notavelmente, os resultados obtidos revelaram uma resposta voltamétrica consistente e confiável para o EST, mesmo em uma matriz complexa como a água da torneira.

Essas análises foram corroboradas pelos resultados da **Tabela 8**, que mostram recuperações dentro de uma faixa de $\pm 10\%$ de erro.

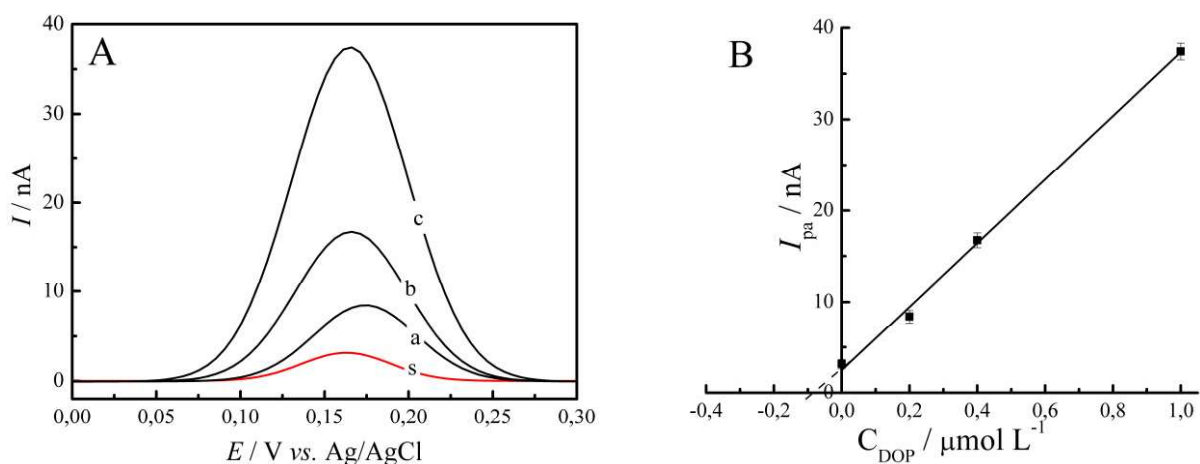


Figura 41 – **A)** Voltamogramas de Pulso Diferencial obtidos com o sensor GC/BC-CuNPs em amostra sintética de urina humana fortificadas com DOP nas concentrações de 0,1 (s), 0,2 (a), 0,4 (b) e 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (c). **B)** Recuperação das concentrações adicionadas pelo método de adição de padrão.

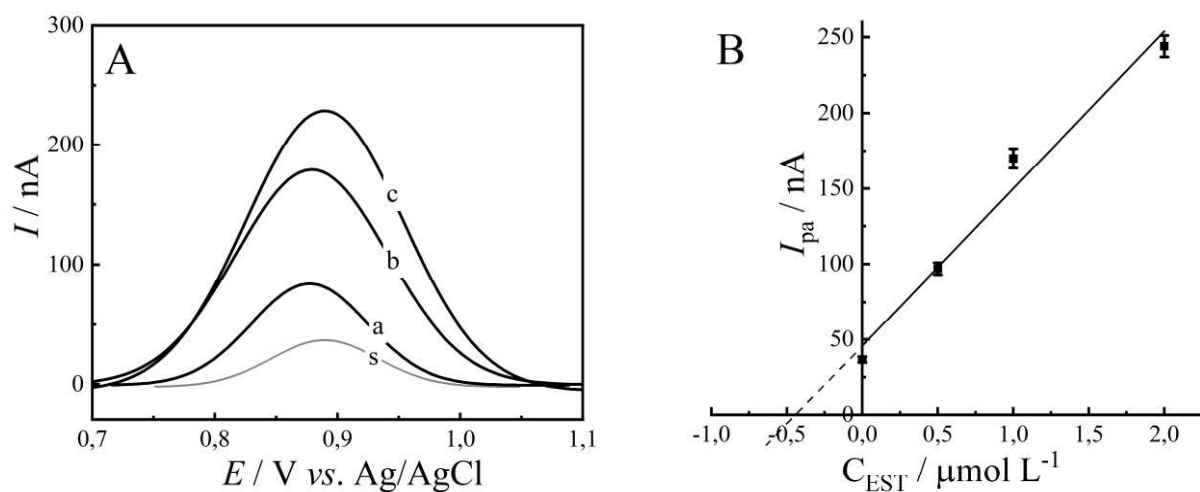


Figura 42 – **A)** Medições DPV corrigidas da linha de base de EST em amostra de água da torneira fortificada com 0,5 (s), 1,0 (a), 1,5 (b) e 2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (c) com o padrão analítico. **B)** Recuperação das concentrações adicionadas pelo método de adição de padrão.

Tabela 8 – Determinação de DOP e EST em amostras reais (n=4). Mostrando os valores adicionados ($\mu\text{mol L}^{-1}$), encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$), porcentagem de recuperação e Desvio Padrão Relativo (%).

Amostras	Analito	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperado (%)	DPR (%)
Urina Sintética Humana diluída em PBS (1:5)	DOP	0,100	$0,099 \pm 0,005$	99,7	8,02
		0,200	$0,193 \pm 0,012$	100,0	7,90
		0,400	$0,408 \pm 0,016$	102,1	2,55
		1,000	$0,993 \pm 0,030$	99,3	3,81
Água da torneira diluída em PBS (1:10)	EST	0,500	$0,509 \pm 0,013$	101,9	9,21
		1,000	$0,980 \pm 0,004$	98,0	3,06
		1,500	$1,490 \pm 0,012$	99,3	1,34
		2,000	$2,043 \pm 0,077$	102,2	1,50

4.4 Conclusão parcial

O Capítulo 4 abordou a síntese, caracterização e aplicação dos nanocompósitos BC-CuNPs e BC-SbNPs nas construções de sensores eletroquímicos. O sensor GC/BC-SbNPs apresentou um aumento para a resposta voltamétrica de MePa, sendo possível obter uma faixa linear de detecção entre de 0,2 a 9,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LOD de 0,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Adicionalmente, o sensor proposto apresentou precisão e seletividade na detecção de MePA em amostras de produtos de higiene pessoal, que foi comprovado através da comparação entre o método voltamétrico e o método espectrofotométrico. Já o sensor GC/BC-CuNPs foi aplicado na detecção de DOP, obtendo-se uma faixa linear entre 0,05 e 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LOD de 0,04 $\mu\text{mol L}^{-1}$. E para EST na faixa de 0,2 a 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LOD de 0,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Quando aplicado em amostras complexas, o sensor

apresentou um desempenho satisfatório, tanto para a detecção de DOP em amostras de urina sintética, quanto para EST em amostras de água de torneira.

CAPÍTULO 5

Fabricação de Sensor Eletroquímico em Papel modificado com Biochar Funcionalizado para a detecção de Paracetamol.

5.1 Objetivo Específico

Desenvolver um dispositivo analítico em papel (ePAD) utilizando um estêncil de Ácido Polilático (PLA) impresso em 3D, incluindo a criação de uma barreira hidrofóbica por meio de impressão com cera sólida. Modificar com biochar funcionalizado (BCF) e aplica-lo na detecção de Paracetamol em medicamentos de baixa qualidade ou falsificados.

5.2 Procedimento Experimental

5.2.1 Materiais, reagentes e equipamentos

Grafite em pó ($< 20\mu\text{m}$, sintético) foi obtido da Sigma-Aldrich. Verniz Vitral da marca Acrilex® foi obtido em papelaria local. Soluções do tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7) foram preparadas conforme descrito na SEÇÃO 2.2.2. Amido, Polietilenoglicol (PEG), Álcool Polivinílico (PVA) e Cloreto de Sódio eram de grau analítico.

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em um potenciostato modelo 600E Potenciostato/Galvanostato da CH Instruments (Estados Unidos), equipado com software chi6005e. A caracterização morfológica dos materiais foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) usando um modelo QUANTA 200 Fei no Centro de Microscopia Eletrônica do IBB-UNESP Botucatu, Brasil.

Para a quantificação do PARACETAMOL, foram adquiridas amostras comerciais do fármaco na forma de comprimidos (contendo 500 mg de Paracetamol) e cápsulas de antigripal (contendo 400

mg de Paracetamol, 4 mg de Maleato de Clorfeniramina e 4 mg de Cloridrato de Fenilefrina) em uma farmácia local. Após a aquisição, as amostras foram submetidas a etapas de maceração e pesagem. Em seguida, foram preparadas duas soluções-padrão teóricas com uma concentração de $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PARA, utilizando uma solução tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 7. A quantificação do PARA nas amostras foi determinada por meio de ensaios de adição e recuperação.

5.2.2 Fabricação dos sensores ePAD

O estêncil foi projetado para imprimir 6 sensores em cada lote, compreendendo duas partes: uma placa 3D com duas fileiras de três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar) e uma segunda placa que dá suporte à impressão, unidas com parafusos borboleta (**Figura 43A e 43B**). O estêncil 3D foi impresso utilizando a técnica de modelagem por deposição fundida com filamento termoplástico de Ácido Polilático (PLA) Cherry EasyFill 1,75mm (Fila 3D, Brasil). A impressão do estêncil foi realizada com uma impressora ANET ET4-PRO (Anet Technology, China) com os seguintes parâmetros: Temperatura de impressão (bico) à 200°C ; temperatura da mesa de impressão à 65°C ; espessura da camada de 0,1 mm. O processo de fatiamento para gerar o G-CODE foi feito usando o software aberto Ultimaker Cura versão 4.8.0 (Ultimaker B.V., Holanda).

A tinta condutora foi adaptada do trabalho realizado por Pradela-Filho et al. [134]. A tinta à base de carbono foi elaborada misturando manualmente pó de grafite (GR) e verniz vitral (VV) como agente ligante, na proporção de 60%/40% (m/m). A mistura foi homogeneizada manualmente com 400 μL de etanol/acetona (1:1) para garantir a viscosidade da tinta, como mostrado na Figura 41C.

A **Figura 43D** resume as etapas de fabricação dos sensores ePAD. Primeiramente, o padrão hidrofóbico foi projetado para criar um reservatório para o eletrólito suporte (I) durante os experimentos voltamétricos. Os pontos pretos em um fundo branco foram desenhados usando software de desenho (Inkscape). Um padrão projetado foi impresso no papel com uma impressora

hidrofóbica, (IV) Fabricação dos sensores usando o estêncil e a tinta condutora (grafite/verniz vitral) e (V) ePAD fabricado. **E)** Adaptação com garras tipo “jacaré” para medidas eletroquímicas.

Finalmente, o ePAD foi obtido para os experimentos voltamétricos (V). Os ePADs foram secos à temperatura ambiente por 12 horas antes do uso. Os sensores obtidos tinham aproximadamente 2,5 cm de altura/largura, com o eletrodo de trabalho (WE) medindo 5 mm de diâmetro. Aproximadamente de 150 mg de tinta condutora foram usados para cada lote de fabricação. Antes dos experimentos voltamétricos o eletrodo de trabalho do ePAD foi modificado com 10 μL da suspensão de BCF na concentração de 1,0 mg mL⁻¹. A Figura 41E apresenta as adaptações utilizadas para leitura com garras metálicas “jacaré”.

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Caracterização Morfológica

Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos ePADs fabricados são mostradas na **Figura 44**. Na **Figura 44A** é possível observar algumas fibras de celulose misturadas com estruturas de grafite. Na **Figura 44B**, as estruturas de grafite são aglomeradas dispostos aleatoriamente com dimensionamento variando de 0,5 a 50 μm . Essa superfície característica pode estar relacionada ao uso de pincel para a abordagem de impressão manual desenvolvida para este trabalho. Nas **Figuras 44C e 44D**, as imagens apresentam a morfologia do ePAD modificado com o material BCF, onde podemos observar a presença de estruturas de biochar aderidas a superfície do sensor.

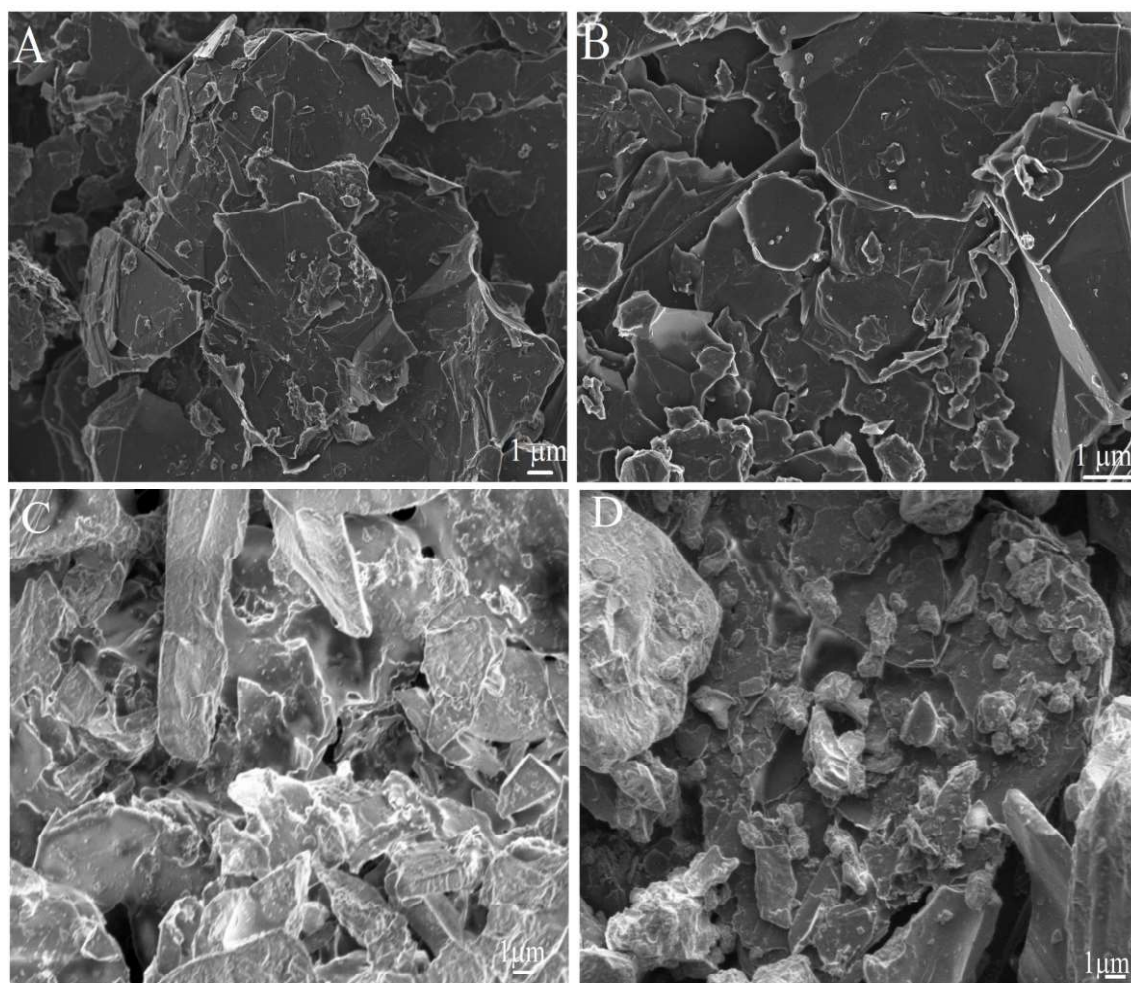


Figura 44 - Microscopias MEV da tinta de carbono espalhada sobre substrato de papel com ampliação em **A)** x 5,000 e **B)** x 10,000, **C)** e **D)** ePAD modificado com BCF.

5.3.2 Caracterização eletroquímica dos sensores ePAD

Com o intuito de se obter a melhor composição da tinta condutora para fabricação dos sensores ePADs, otimizou-se a proporção entre grafite (GR) e o verniz vitral (VV). Dessa forma, a **Figura 45A** apresenta voltamogramas cíclicos obtidos com ePADs fabricados com diferentes composições de tinta condutora (GR-VV) utilizando uma alíquota de 150 μL de uma solução 0,2 mol L^{-1} PBS (pH 7,4) contendo 0,1 mol L^{-1} de KCl e 5,0 mmol L^{-1} do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. As proporções de G:V (m/m), foram de 80:20 (Tinta 1), 70:30 (Tinta 02), 60:40 (Tinta 03) e 50:50 (tinta 04), considerando uma massa total de 150 mg. A tinta condutora 03 apresentou a melhor

resposta voltamétrica, assim como um melhor manuseio na fabricação dos sensores ePAD, sem ocasionar craquelamento ou vazamento da tinta através do estêncil de PLA. A **Tabela 09** apresenta os valores de corrente I_{pa} e I_p e a separação de potências de pico anódico e catódico (ΔE_p) para os potenciais redox da sonda, para todos os sensores avaliados. Dessa forma, podemos observar que o sensor ePAD fabricado com a Tinta GR-VV 03, apresenta uma corrente de oxidação em $I_{pa} = 213 \mu A$, uma corrente de redução em $I_{pc} = -208 \mu A$ e uma separação dos potenciais de pico anódico e catódico de $\Delta E_p = 772 \text{ mV vs. Grafite}$ (pseudo-referência).

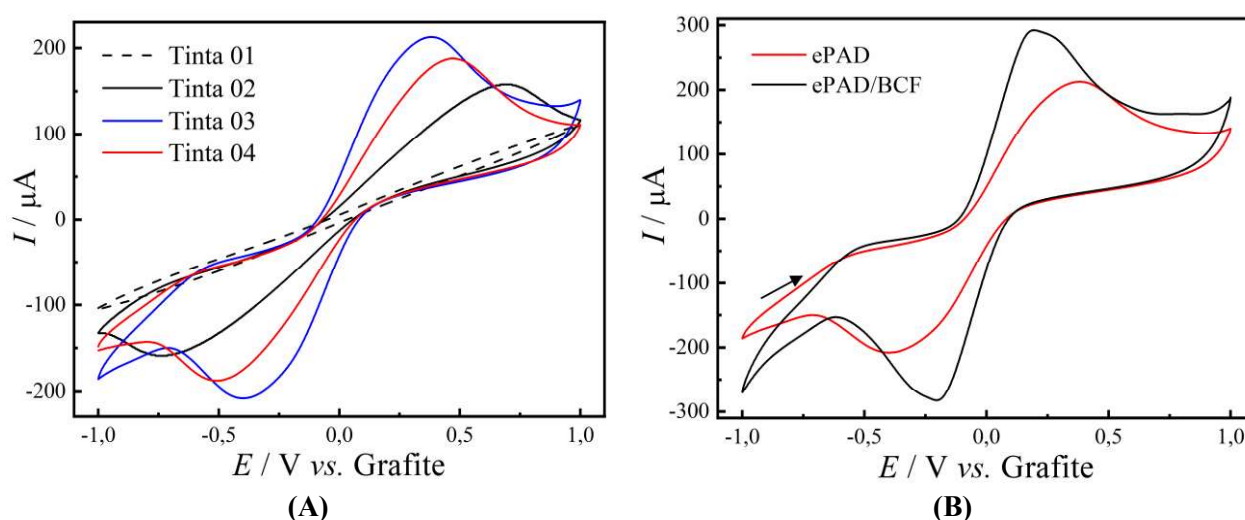


Figura 45 - Voltamogramas Cíclicos em PBS $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$: **A)** Comparação da performance ePADs com diferentes formulações de tinta condutora GR-VV. **B)** Comparando a resposta voltamétrica do sensor ePAD sem modificação (linha vermelha) e do sensor ePAD/BCF (linha preta).

Após o processo de modificação com $10 \mu L$ de BCF ($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$) sobre o eletrodo de trabalho, podemos observar que o voltamograma apresentou uma melhor reversibilidade do processo redox, com um $\Delta E_p = 387 \text{ mV vs. Grafite}$, como mostrado na **Figura 45B**. Assim como um aumento significativo nas respostas de corrente anódica e catódica da sonda redox (**Tabela 9**).

Tabela 9 – Otimização do processo de fabricação do sensor ePAD com diferentes tintas condutoras e sua modificação com o material BCF. Comparação por correntes de pico anódico (I_{pa}), catódico (I_{pc}) e separação entre picos redox (ΔE_p).

Sensor	Proporção GR-VV	I_{pa} (μA)	I_{pc} (μA)	ΔE_p (mV)
ePAD	Tinta 01 - 80:20 (m/m)	N/A	N/A	N/A
	Tinta 02 - 70:30 (m/m)	158	-159	1420
	Tinta 03 – 60:40 (m/m)	213	-208	772
	Tinta 04 - 50:50 (m/m)	187	-190	980
ePAD/BCF	-	294	-284	387

Apesar do desempenho voltamétrico do sensor ePAD/BCF ser menor quando comparado a outros sensores descartáveis reportados na literatura [134, 135, 154], este sensor apresentou uma resposta linear quando a velocidade de varredura da CV foi variada entre 10 e 100 $mV s^{-1}$ (**Figura 46A**). É possível observar um aumento progressivo e linear nas correntes para o processo redox em função da velocidade de varredura, como mostrado no gráfico I_{pa} / I_{pc} vs $v^{1/2}$ (**Figura 46B**).

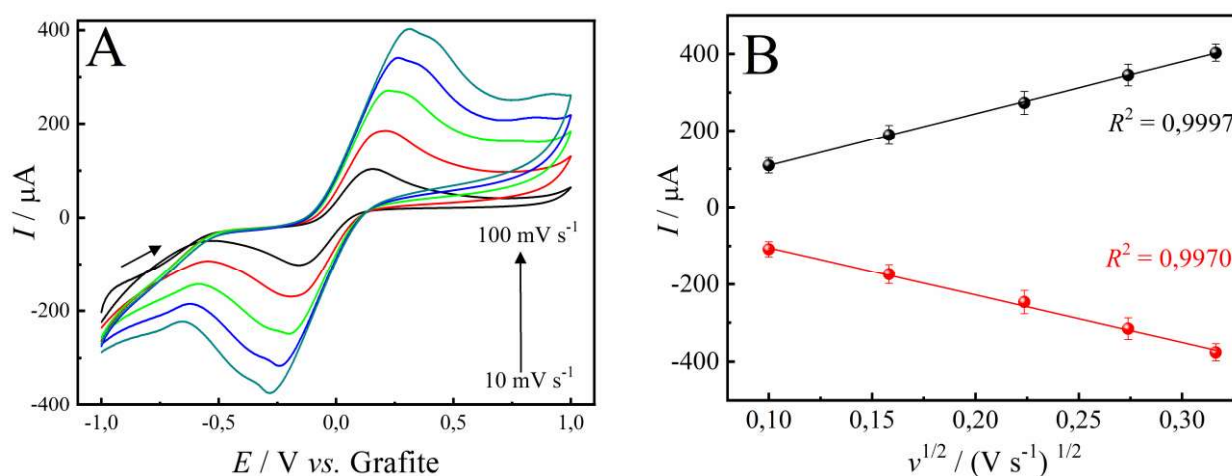


Figura 46 - A) Voltamogramas cíclicos obtidos com o sensor ePAD/BCF em uma solução 0,2 mol L⁻¹ PBS (pH 7,4) contendo 0,1 mol L⁻¹ de KCl e 5,0 mmol L⁻¹ do par redox [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, para as velocidades de varredura de 10, 25, 50, 75 e 100 mV s⁻¹. **B)** Gráfico I vs. $v^{1/2}$.

Utilizando a equação de Randles-Sevcik (Equação 10) e os valores encontrados no experimento demonstrado na Figura 45B, no intervalo de potenciais de -1,0 a 1,0 V vs. Grafite, solução 0,2 mol L⁻¹ PBS (pH 7,4) contendo 0,1 mol L⁻¹ de KCl e 5,0 mmol L⁻¹ do par redox [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, temos:

$$I_p = 2,69 \times 10^5 n^{\frac{3}{2}} A D^{\frac{1}{2}} C v^{\frac{1}{2}} \quad (10)$$

Onde I_p refere-se à corrente de pico (anódica ou catódica), A corresponde a área eletroativa (cm²), C é a concentração da sonda utilizada (mol cm⁻³), D é o coeficiente de difusão das espécies em solução [Fe(CN)₆]^{3-/4-} ($7,6 \times 10^{-6}$ cm² s⁻¹), n refere-se ao número de elétrons transferidos na reação redox e v é a velocidade de varredura [232]. Rearranjando a equação 10 em termos da área eletroativa do eletrodo, podemos compará-la com a equação da curva no gráfico da Figura 45B (I_{pa} vs. $v^{1/2}$). Dessa forma, o primeiro termo da equação 11 corresponde ao coeficiente angular do gráfico (I_{pa} vs. $v^{1/2}$) [233].

$$A = \frac{I_p}{\frac{1}{v^{\frac{1}{2}}}} \times \frac{1}{2,69 \times 10^5 n^{\frac{3}{2}} D^{\frac{1}{2}} C} \quad (11)$$

Considerando o coeficiente angular como $1,36 \times 10^{-3}$ (após a conversão de μA para A), chegamos ao resultado de que a área eletroativa do sensor ePAD/BCF é de 0,37 cm². Embora esse valor seja considerado baixo em comparação com outros eletrodos relatados na literatura, é importante notar que o sensor demonstrou uma resposta linear à variação da velocidade de varredura.

5.3.4 Comportamento eletroquímico do Paracetamol

O comportamento eletroquímico do paracetamol (PARA) no sensor ePAD/BCF foi avaliado por voltametria cíclica ($v = 50$ mV s⁻¹) com um volume de 150 μL de PBS 0,2 mol L⁻¹ pH 7,0, contendo

200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PARA. Os resultados apresentados na **Figura 47A** mostram que nenhum processo eletroquímico foi observado para a resposta voltamétrica na ausência de PARA (linha tracejada). No entanto, na presença de PARA (linha contínua), observa-se um processo reversível com um processo de oxidação em $E_{\text{pa}} = 500 \text{ mV vs. Grafite}$, e um processo de redução em $E_{\text{pc}} = 300 \text{ mV vs. Grafite}$. A **Figura 47B** apresenta o mecanismo de redox envolvido neste processo, onde o PARA é oxidado à N-acetil-p-benzoquinonaimina, e consequentemente reduzido novamente para a molécula original [234].

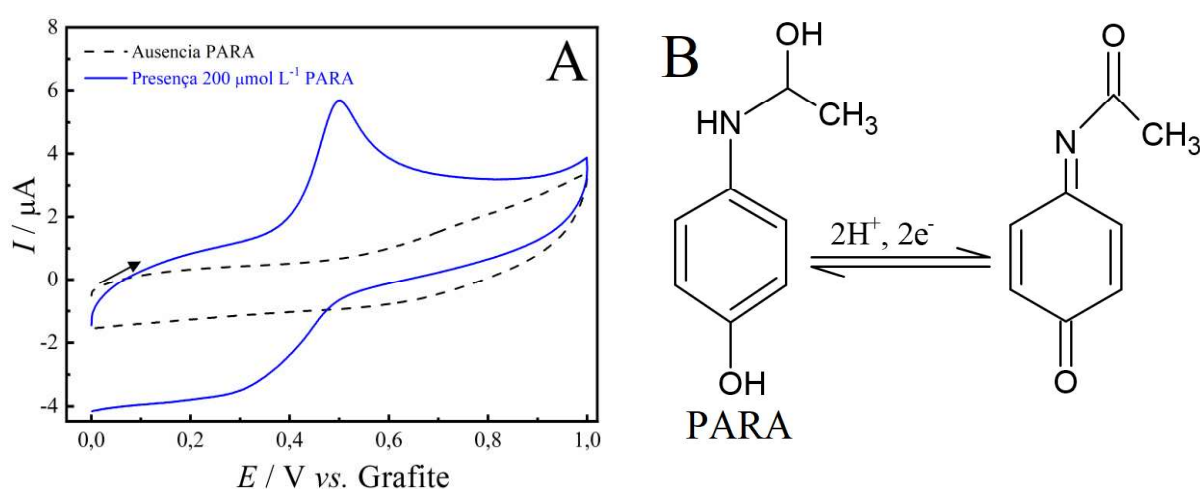


Figura 47 - A) Voltamogramas cíclicos do sensor ePAD/BCF na ausência (linha tracejada) e presença de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PARA em 0,1 mol L^{-1} de PBS (pH 7,0), $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. **B)** Mecanismo de oxidação do Paracetamol em N-acetil-p-benzoquinonaimina no sensor ePAD/BCF.

A **Figura 48** apresenta voltamogramas de varredura linear obtidos para diferentes sensores. As medidas foram realizadas no intervalo de potencial entre 0 e 1,1 V, em solução de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0) na ausência (linha tracejada) e presença de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, para o sensor ePAD (curva a) e para o sensor ePAD/BCF (curva b). Dessa forma, podemos observar um aumento na corrente de pico anódico para o sensor modificado com o material BCF, sendo utilizado para a construção da curva de calibração na próxima seção.

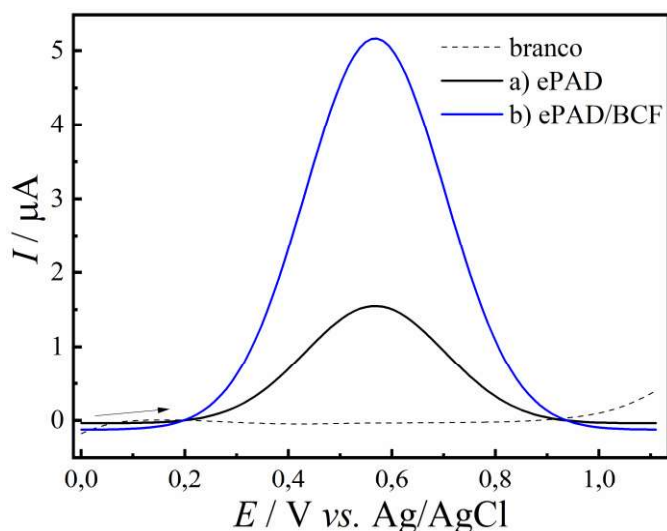


Figura 48 – Voltamogramas de varredura linear obtidos com o sensor ePAD na ausência (linha tracejada) e na presença (curva b) de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ PARA, assim como o sensor ePAD/BCF na presença de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ PARA (curva c) ($v = 25 \text{ mV s}^{-1}$).

5.3.5 Curva Analítica

Após a caracterização eletroquímica por voltametria cíclica, o sensor ePAD/BCF foi utilizado para a detecção de PARA por meio da técnica de voltametria de varredura linear (LSV). Esses experimentos foram conduzidos dentro da faixa de potencial de 0 a 1,1 V, com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} . Foram utilizadas alíquotas do eletrólito de suporte contendo concentrações de PARA de 5, 20, 30, 50 e $60 \mu\text{mol L}^{-1}$, como mostrado nos voltamogramas da **Figura 49A**. Podemos observar um aumento linear na corrente I_{pa} com o aumento da concentração de PARA, entre 5,0 e $60 \mu\text{mol L}^{-1}$ (**Figura 49B**), com um LOD de $3,50 \mu\text{mol L}^{-1}$, seguindo a equação:

$$I_{\text{pa}} (\mu\text{A}) = 3,70 + 0,07 \cdot C_{\text{PARA}} (\mu\text{mol L}^{-1}) \quad (R^2 = 0,9834, n=5)$$

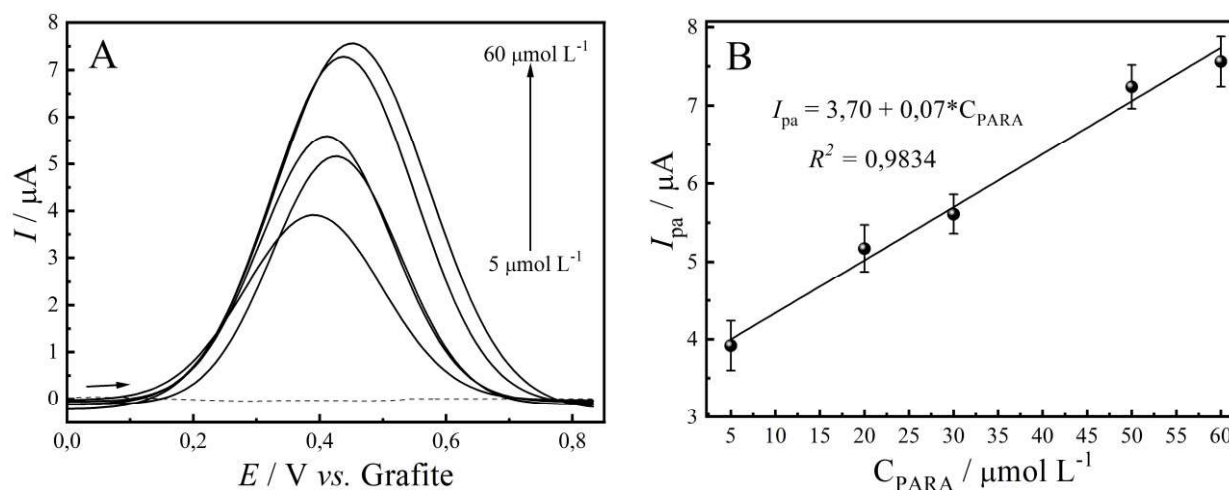


Figura 49 – A) Voltamogramas de Varredura Linear obtidos com 150 μL da solução 0,2 mol L^{-1} PBS, pH 7,0 com diferentes concentrações de PARA variando de 5,0 a 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e **B)** Relação linear entre pico de corrente anódica e concentração de PARA.

O sensor ePAD/BCF demonstrou limites de detecção semelhantes aos encontrados em sensores que empregam tintas à base de grafite ou ligantes de custo mais baixo [134, 154]. Além disso, a incorporação de outros materiais de carbono na formulação da tinta, como nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) [135], nanofitas de grafeno reduzidas (rGNRs) [235], e tintas de carbono disponíveis comercialmente [157], tem o potencial de reduzir ainda mais os limites de detecção (LODs). Os ePADs também demonstraram um desempenho analítico comparável ao que foi relatado na literatura para a determinação de diversas moléculas, incluindo fármacos, desreguladores endócrinos e neurotransmissores, conforme evidenciado na **Tabela 10**.

Tabela 10 - Características de dispositivos analíticos eletroquímicos baseados em papel.

Método de Fabricação	Tinta condutora	Analito	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
Espalhado com pincel	Grafite/esmalte 80:20% (m:m)	Dopamina	5,2	[154]
Máscara adesiva	Grafite/verniz vitral 80:20% (m:m)	Dopamina	4,1	[134]
		Catecol	9,0	
		Hidroquinona	5,3	
		Estriol	0,080	
	Grafite/esmalte 52:48% (m/m) + 20 μL de suspensão de MWCNT ^a	Ácido Cafeico	0,2	[135]
Serigrafia	Tinta à base de grafite e tinta Ag/AgCl	Bisfenol A	0,03	[11]
	Pó de carbono (10% m/m) com 9,0 g de tinta grafite	Capsaicina	0,085	[157]
	Tinta de carbono e rGNRs ^b	Sulfametoxazol	0,09	[235]
		Trimetoprim	0,04	
Estêncil impresso 3D	GR-VV 60:40% (m:m) + 400 μL acetona/etanol (1:1)	PARA	3,50	*

^aMultiwalled Carbon Nanotubes, ^bReduced Graphene Nanoribbons,

5.3.6 Aplicação do sensor ePAD/BCF na quantificação de paracetamol

A seletividade do sensor ePAD/BCF para a quantificação do paracetamol (PARA) foi avaliada por meio de medidas voltamétricas em uma solução contendo $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PARA. Além disso, foram incluídas diversas espécies químicas frequentemente encontradas em formulações deste fármaco, as quais, em alguns casos, são utilizadas com o intuito de falsificar ou subdosar o medicamento. Essas substâncias foram consideradas como possíveis interferentes e incluíram amido, PEG, álcool polivinílico e cloreto de sódio [236]. A **Tabela 11** apresenta os valores obtidos para os diferentes interferentes. Não foram observadas respostas significativas de alteração da corrente de pico, com uma recuperação do sinal de $\pm 10\%$, ou variação do potencial de oxidação.

Tabela 11 – Efeito de possíveis interferentes na determinação por LSV de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PARA na proporção 1:1 [PARA]:[interferente].

Interferente	Interferente (%)
Amido	- 3,20
PEG	-5,00
Álcool Polivinílico	-9,20
MMC	- 8,50

Para verificar a aplicabilidade do sensor ePAD/BCF, a quantificação de PARA foi realizada em amostras comerciais de analgésico e antigripal. O preparo das amostras foi descrito na SEÇÃO 5.2.3. A amostra de analgésico, de acordo com o fabricante, possui 500 mg de fármaco por comprimido revestido. E a capsula de antigripal, de acordo com o fabricante, possui 400mg paracetamol misturados com 4mg Maleato de Clorfeniramina e 4mg de Cloridrato de Fenilefrina. Dessa forma, após o respectivo processamento das amostras e sua diluição, a concentração de paracetamol foi quantificada por ensaios de adição e recuperação. A **Tabela 12** apresenta os valores “Rotulados” na bula, o valor adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$), o valor recuperado ($\mu\text{mol L}^{-1}$) e o erro relativo. Para cada amostra, a determinação foi realizada em triplicata. Dessa forma, podemos observar que o sensor ePAD/BCF apresentou uma resposta satisfatória na quantificação do fármaco em formulações comerciais.

Tabela 12 – Determinação de PARA em amostras reais de comprimido comercial de paracetamol e capsula de antigripal. Mostrando os valores rotulados em mg de cada fármaco, a concentração adicionada e o valor detectado pelo sensor ePAD/BCF e o erro relativo (%).

Amostras	Rotulado (mg)	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Detectado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Erro (%)
Comprimido Paracetamol	500 mg/comprimido	20,00	$18,70 \pm 0,03$	- 6,67
Capsula antigripal	Paracetamol 400mg Maleato de Clorfeniramina 4mg Cloridrato de Fenilefrina 4mg	20,00	$18,50 \pm 0,05$	-7,50

$$\text{Erro (\%)} = (V_{\text{ADICIONADO}} - V_{\text{DETECTADO}}) / V_{\text{ADICIONADO}} * 100$$

5.4 Conclusão parcial

Neste capítulo, apresentou-se uma abordagem inovadora para a fabricação de sensores ePAD, com foco na utilização da tinta GR:VV (60:40, m/m) sobre o substrato de papel, resultando na criação de dispositivos analíticos eficazes para aplicações eletroanalíticas. A incorporação do material BCF mostrou-se fundamental para a melhoria da resposta voltamétrica, especialmente na presença da sonda redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Os resultados revelaram uma área eletroativa de $0,20 \text{ cm}^2$ para o sensor proposto calculados através da Equação de Randles-Sevcik. O sensor ePAD/BCF apresentou uma detecção linear para PARA no intervalo de 5 a $60 \mu\text{mol L}^{-1}$, com um LOD de $3,50 \mu\text{mol L}^{-1}$. Também se demonstrou a aplicabilidade prática desse sensor na detecção PARA em amostras de comprimido revestido e capsula de analgésico comerciais, onde o sensor apresentou recuperações satisfatória para o fármaco de -6,67% e -7,50%, respectivamente.

O sensor demonstrou seletividade em relação a interferentes comuns encontrados em amostras falsificadas ou subdosadas, mantendo um desempenho satisfatório na detecção de PARA. Esses resultados destacam sua promissora utilidade em cenários de análise eletroquímica, oferecendo uma ferramenta valiosa para a detecção confiável de substâncias de interesse clínico e farmacêutico.

CAPÍTULO 6

Conclusão Geral

6.1 Conclusões Gerais

Este estudo de doutorado abordou a aplicação do biochar no desenvolvimento de várias plataformas de sensoriamento eletroquímico. A versatilidade desse material permitiu investigar seu processo de funcionalização ácida, avaliar as alterações resultantes por meio de técnicas de microscopia e espectroscopia, e examinar sua eficácia na modificação de eletrodos, resultando em melhorias na resposta voltamétrica para moléculas eletroativas. Essas avaliações foram conduzidas utilizando técnicas voltamétricas e de impedância, como demonstrado no Capítulo 2.

Devido à sua notável funcionalização, o material BCF foi empregado na imobilização da enzima AChE, resultando na criação do sensor GC/BCF/AChE. Este sensor foi aplicado com êxito na determinação de CARB em amostras de maçã, representando um avanço significativo no desenvolvimento de biossensores para garantir a segurança alimentar, como demonstrado no Capítulo 3.

Neste trabalho, também se explorou a modificação do BC com nanopartículas metálicas. No Capítulo 4, foi estabelecida uma abordagem para detectar MePa utilizando o sensor GC/BC-SbNPs, onde o sensor demonstrou precisão e seletividade na detecção de MePA em produtos de higiene pessoal, confirmado comparativamente com um método espectrofotométrico. Da mesma forma, o sensor GC/BC-CuNPs foi empregado na detecção de DOP e EST. Em amostras complexas, o sensor apresentou desempenho satisfatório tanto para DOP em urina sintética quanto para EST em água de torneira.

Finalmente, o material BCF, previamente explorado nos Capítulos 2 e 3, foi empregado na modificação de um dispositivo analítico em papel, buscando aprimorar a detecção voltamétrica de PARA. Esse esforço visa desenvolver uma plataforma miniaturizada para assegurar a qualidade em amostras falsificadas ou subdosadas deste fármaco.

Referências

1. Wang J (2006) Analytical Electrochemistry, Third Edition. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA
2. Lubert KH, Kalcher K (2010) History of Electroanalytical Methods. *Electroanalysis* 22:1937–1946. <https://doi.org/10.1002/ELAN.201000087>
3. Fatibello-Filho O, Silva TA, Moraes FC, Sitta E (2022) Eletroanálises: aspectos teóricos e práticos
4. Karimi-Maleh H, Orooji Y, Karimi F, et al (2021) A critical review on the use of potentiometric based biosensors for biomarkers detection. *Biosens Bioelectron* 184:113252. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2021.113252>
5. Elgrishi N, Rountree KJ, McCarthy BD, et al (2018) A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *J Chem Educ* 95:197–206. https://doi.org/10.1021/ACS.JCHEMED.7B00361/SUPPL_FILE/ED7B00361_SI_002.DOCX
6. Hulanicki A, Glab S, Ingman F (1991) Chemical sensors definitions and classification. *Pure Appl Chem* 63:1247–1250. <https://doi.org/10.1351/PAC199163091247/MACHINEREADABLECITATION/RIS>
7. Baranwal J, Barse B, Gatto G, et al (2022) Electrochemical Sensors and Their Applications: A Review. *Chemosensors* 10:363. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10090363>
8. Baig N, Sajid M, Saleh TA (2019) Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications. *TrAC Trends Anal Chem* 111:47–61. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2018.11.044>
9. Diamond D (2003) Analytical electrochemistry. Wiley-VCH
10. Martoni LVL, Gomes NO, Prado TM, et al (2022) Carbon spherical shells in a flexible photoelectrochemical sensor to determine hydroquinone in tap water. *J Environ Chem Eng* 10:107556. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2022.107556>
11. Jemmeli D, Marcoccio E, Moscone D, et al (2020) Highly sensitive paper-based electrochemical sensor for reagent free detection of bisphenol A. *Talanta* 216:120924. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2020.120924>
12. Raymundo-Pereira PA, Gomes NO, Shimizu FM, et al (2021) Selective and sensitive multiplexed detection of pesticides in food samples using wearable, flexible glove-embedded non-enzymatic sensors. *Chem Eng J* 408:127279. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2020.127279>
13. Oliveira TMBF, Ribeiro FWP, Sousa CP, et al (2020) Current overview and perspectives on carbon-based (bio)sensors for carbamate pesticides electroanalysis. *TrAC Trends Anal Chem* 124:115779. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2019.115779>
14. Wang J (2000) ANALYTICAL ELECTROCHEMISTRY, Second Ed.
15. Georgakilas V, Perman JA, Tucek J, Zboril R (2015) Broad Family of Carbon Nanoallotropes: Classification, Chemistry, and Applications of Fullerenes, Carbon Dots,

Nanotubes, Graphene, Nanodiamonds, and Combined Superstructures. *Chem Rev* 115:4744–4822. <https://doi.org/10.1021/cr500304f>

16. Du X, Skachko I, Barker A, Andrei EY (2008) Approaching ballistic transport in suspended graphene. *Nat Nanotechnol* 2008 38 3:491–495. <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.199>
17. Stoller MD, Park S, Zhu Y, et al (2008) Graphene-Based ultracapacitors. *Nano Lett* 8:3498–3502. <https://doi.org/10.1021/nl802558y>
18. Akaishi A, Ushirozako M, Matsuyama H, Nakamura J (2018) Structural stability and aromaticity of pristine and doped graphene nanoflakes. *Jpn J Appl Phys* 57:0102BA. <https://doi.org/10.7567/JJAP.57.0102BA/XML>
19. Tong Y, McNamara PJ, Mayer BK (2019) Adsorption of organic micropollutants onto biochar: A review of relevant kinetics, mechanisms and equilibrium. *Environ. Sci. Water Res. Technol.* 5:821–838
20. Zhuo HY, Zhang X, Liang JX, et al (2020) Theoretical Understandings of Graphene-based Metal Single-Atom Catalysts: Stability and Catalytic Performance. *Chem Rev* 120:12315–12341. https://doi.org/10.1021/ACS.CHEMREV.0C00818/ASSET/IMAGES/LARGE/CR0C00818_0015.JPEG
21. Park S, Ruoff RS (2009) Chemical methods for the production of graphenes. *Nat Nanotechnol* 4:217–224. <https://doi.org/10.1038/nnano.2009.58>
22. Gleiter H (1995) Nanostructured materials: state of the art and perspectives. *Nanostructured Mater* 6:3–14. [https://doi.org/10.1016/0965-9773\(95\)00025-9](https://doi.org/10.1016/0965-9773(95)00025-9)
23. Skorokhod V V, Uvarova I V., Ragulya A V. (2001) Physico-chemical kinetics in nanostructured systems. *Kyiv Acad* 1:180–192
24. Pokropivny V V., Skorokhod V V. (2007) Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science. *Mater Sci Eng C* 27:990–993. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2006.09.023>
25. Luo PG, Yang F, Yang ST, et al (2014) Carbon-based quantum dots for fluorescence imaging of cells and tissues. *RSC Adv* 4:10791–10807. <https://doi.org/10.1039/C3RA47683A>
26. Sengupta J (2018) Carbon nanotube fabrication at industrial scale: Opportunities and challenges. Elsevier Inc.
27. Baig N, Saleh TA (2018) Electrodes modified with 3D graphene composites: a review on methods for preparation, properties and sensing applications. *Microchim Acta* 185:1–21. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2809-3>
28. Kondo T (2022) Recent electroanalytical applications of boron-doped diamond electrodes. *Curr Opin Electrochem* 32:100891. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2021.100891>
29. Lehmann J, Stephen J (2015) Biochar for Environmental Management: Science, Technology and Implementation
30. International Biochar Initiative (IBI) Biochar - biochar-international. <https://biochar->

international.org/biochar/. Accessed 25 Jan 2023

31. Houben D, Evrard L, Sonnet P (2013) Mobility, bioavailability and pH-dependent leaching of cadmium, zinc and lead in a contaminated soil amended with biochar. *Chemosphere* 92:1450–1457. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.03.055>
32. Oleszczuk P, Hale SE, Lehmann J, Cornelissen G (2012) Activated carbon and biochar amendments decrease pore-water concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sewage sludge. *Bioresour Technol* 111:84–91. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.030>
33. Huggins T, Wang H, Kearns J, et al (2014) Biochar as a sustainable electrode material for electricity production in microbial fuel cells. *Bioresour Technol* 157:114–119. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.058>
34. Ahn SY, Eom SY, Rhie YH, et al (2013) Utilization of wood biomass char in a direct carbon fuel cell (DCFC) system. *Appl Energy* 105:207–216. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.01.023>
35. Gil M V., Martínez M, García S, et al (2013) Response surface methodology as an efficient tool for optimizing carbon adsorbents for CO₂ capture. *Fuel Process Technol* 106:55–61. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2012.06.018>
36. Zhang C, Geng Z, Cai M, et al (2013) Microstructure regulation of super activated carbon from biomass source corncob with enhanced hydrogen uptake. *Int J Hydrogen Energy* 38:9243–9250. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.04.163>
37. Lehmann J, Rillig MC, Thies J, et al (2011) Biochar effects on soil biota - A review. *Soil Biol. Biochem.* 43:1812–1836
38. Mani S, Kastner JR, Juneja A (2013) Catalytic decomposition of toluene using a biomass derived catalyst. *Fuel Process Technol* 114:118–125. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2013.03.015>
39. Kastner JR, Miller J, Geller DP, et al (2012) Catalytic esterification of fatty acids using solid acid catalysts generated from biochar and activated carbon. *Catal Today* 190:122–132. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2012.02.006>
40. Kambo HS, Dutta A (2015) A comparative review of biochar and hydrochar in terms of production, physico-chemical properties and applications. *Renew Sustain Energy Rev* 45:359–378. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2015.01.050>
41. Quosai P, Anstey A, Mohanty AK, Misra M (2018) Characterization of biocarbon generated by high- and low-temperature pyrolysis of soy hulls and coffee chaff: For polymer composite applications. *R Soc Open Sci* 5:171970. <https://doi.org/10.1098/rsos.171970>
42. Basu P (2018) Pyrolysis. *Biomass Gasification, Pyrolysis Torrefaction Pract Des Theory* 155–187. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812992-0.00005-4>
43. Champion L, Bekchanova M, Malina R, Kuppens T (2023) The costs and benefits of biochar production and use: A systematic review. *J Clean Prod* 408:137138. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.137138>
44. Spanu D, Binda G, Dossi C, Monticelli D (2020) Biochar as an alternative sustainable

- platform for sensing applications: A review. *Microchem J* 159:105506. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2020.105506>
45. de Oliveira PR, Kalinke C, Gogola JL, et al (2017) The use of activated biochar for development of a sensitive electrochemical sensor for determination of methyl parathion. *J Electroanal Chem* 799:602–608. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.06.020>
 46. Dong X, He L, Liu Y, Piao Y (2018) Preparation of highly conductive biochar nanoparticles for rapid and sensitive detection of 17 β -estradiol in water. *Electrochim Acta* 292:55–62. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.09.129>
 47. Wang J, Yang J, Xu P, et al (2020) Gold nanoparticles decorated biochar modified electrode for the high-performance simultaneous determination of hydroquinone and catechol. *Sensors Actuators, B Chem* 306:127590. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127590>
 48. Li L, Zhang K, Chen L, et al (2017) Mass preparation of micro/nano-powders of biochar with water-dispersibility and their potential application. *New J Chem* 41:9649–9657. <https://doi.org/10.1039/C7NJ00742F>
 49. Sudha V, Senthil Kumar SM, Thangamuthu R (2019) Hierarchical porous carbon derived from waste amla for the simultaneous electrochemical sensing of multiple biomolecules. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 177:529–540. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.01.029>
 50. García R, Pizarro C, Lavín AG, Bueno JL (2013) Biomass proximate analysis using thermogravimetry. *Bioresour Technol* 139:1–4. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2013.03.197>
 51. Mendonça FG de, Cunha IT da, Soares RR, et al (2017) Tuning the surface properties of biochar by thermal treatment. *Bioresour Technol* 246:28–33. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2017.07.099>
 52. Cha JS, Park SH, Jung SC, et al (2016) Production and utilization of biochar: A review. *J Ind Eng Chem* 40:1–15. <https://doi.org/10.1016/J.JIEC.2016.06.002>
 53. Xiang W, Zhang X, Chen J, et al (2020) Biochar technology in wastewater treatment: A critical review. *Chemosphere* 252:126539. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.126539>
 54. Fuertes AB, Arbestain MC, Sevilla M, et al (2010) Chemical and structural properties of carbonaceous products obtained by pyrolysis and hydrothermal carbonisation of corn stover. *Soil Res* 48:618–626. <https://doi.org/10.1071/SR10010>
 55. Qian K, Kumar A, Zhang H, et al (2015) Recent advances in utilization of biochar. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 42:1055–1064
 56. Basu P (2018) Biomass Characteristics. *Biomass Gasification, Pyrolysis Torrefaction Pract Des Theory* 49–91. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812992-0.00003-0>
 57. Yang J, Zhao Z, Hu Y, et al (2023) Exploring the Properties and Potential Uses of Biocarbon from Spent Coffee Grounds: A Comparative Look at Dry and Wet Processing Methods. *Processes* 11:2099. <https://doi.org/10.3390/PR11072099/S1>
 58. Kalinke C, Oliveira PR, Oliveira GA, et al (2017) Activated biochar: Preparation,

characterization and electroanalytical application in an alternative strategy of nickel determination. *Anal Chim Acta* 983:103–111. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2017.06.025>

59. Kalinke C, de Oliveira P, Mangrich A, et al (2020) Chemically-Activated Biochar from *Ricinus communis* L. Cake and Their Potential Applications for the Voltammetric Assessment of Some Relevant Environmental Pollutants. *J Braz Chem Soc* 31:941–952. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190259>
60. Nunes EW, Silva MKL, Rascón J, et al (2022) Acetylcholinesterase Biosensor Based on Functionalized Renewable Carbon Platform for Detection of Carbaryl in Food. *Biosensors* 12:486. <https://doi.org/10.3390/bios12070486>
61. Trindade CMB, Silva MKL, Cesarino I (2022) Copper nanostructures anchored on renewable carbon as electrochemical platform for the detection of dopamine, fluoxetine and escitalopram. *Sensors and Actuators Reports* 4:100107. <https://doi.org/10.1016/J.SNR.2022.100107>
62. Silva MKL, Leão AL, Sain M, Cesarino I (2021) A functionalized renewable carbon-based surface for sensor development. *J Solid State Electrochem* 2021 253 25:1093–1099. <https://doi.org/10.1007/S10008-020-04882-X>
63. Keiluweit M, Nico PS, Johnson M, Kleber M (2010) Dynamic molecular structure of plant biomass-derived black carbon (biochar). *Environ Sci Technol* 44:1247–1253. <https://doi.org/10.1021/es9031419>
64. Li Y, Gupta R, Zhang Q, You S (2023) Review of biochar production via crop residue pyrolysis: Development and perspectives. *Bioresour Technol* 369:128423. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2022.128423>
65. Pandey D, Daverey A, Arunachalam K (2020) Biochar: Production, properties and emerging role as a support for enzyme immobilization. *J Clean Prod* 255:120267. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120267>
66. de Almeida LS, Oreste EQ, Maciel J V., et al (2020) Electrochemical devices obtained from biochar: Advances in renewable and environmentally-friendly technologies applied to analytical chemistry. *Trends Environ Anal Chem* 26:e00089. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2020.e00089>
67. Rahman MZ, Edvinsson T, Kwong P (2020) Biochar for electrochemical applications. *Curr Opin Green Sustain Chem* 23:25–30. <https://doi.org/10.1016/J.COGSC.2020.04.007>
68. Gezahegn S, Lai R, Huang L, et al (2019) Porous graphitic biocarbon and reclaimed carbon fiber derived environmentally benign lightweight composites. *Sci Total Environ* 664:363–373. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.408>
69. Tan X, Liu Y, Zeng G, et al (2015) Application of biochar for the removal of pollutants from aqueous solutions. *Chemosphere* 125:70–85
70. Fdez-Sanromán A, Pazos M, Rosales E, Sanromán MA (2020) Unravelling the environmental application of biochar as low-cost biosorbent: A review. *Appl Sci* 10:1–22. <https://doi.org/10.3390/app10217810>
71. Sizmur T, Fresno T, Akgül G, et al (2017) Biochar modification to enhance sorption of inorganics from water. *Bioresour Technol* 246:34–47.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.082>

72. Zeghioud H, Fryda L, Djelal H, et al (2022) A comprehensive review of biochar in removal of organic pollutants from wastewater: Characterization, toxicity, activation/functionalization and influencing treatment factors. *J Water Process Eng* 47:102801. <https://doi.org/10.1016/J.JWPE.2022.102801>
73. Li Y, Shao J, Wang X, et al (2014) Characterization of modified biochars derived from bamboo pyrolysis and their utilization for target component (furfural) adsorption. *Energy and Fuels* 28:5119–5127. <https://doi.org/10.1021/ef500725c>
74. Oliveira GA, Gevaerd A, Mangrich AS, et al (2021) Biochar obtained from spent coffee grounds: Evaluation of adsorption properties and its application in a voltammetric sensor for lead (II) ions. *Microchem J* 165:106114. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2021.106114>
75. Kalinke C, Zanicoski-Moscardi AP, de Oliveira PR, et al (2020) Simple and low-cost sensor based on activated biochar for the stripping voltammetric detection of caffeic acid. *Microchem J* 159:105380. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2020.105380>
76. Kalinke C, de Oliveira PR, Bonet San Emeterio M, et al (2019) Voltammetric Electronic Tongue Based on Carbon Paste Electrodes Modified with Biochar for Phenolic Compounds Stripping Detection. *Electroanalysis* 31:2238–2245. <https://doi.org/10.1002/ELAN.201900072>
77. Commission E (2006) SCIENTIFIC COMMITTEE ON EMERGING AND NEWLY IDENTIFIED HEALTH RISKS (SCENIHR) modified Opinion (after public consultation) on The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious
78. Williams D (Scenihhr), Ahlbom A, Bridges J, et al (2006) The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies. In: *Toxicology*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18453044>. Accessed 23 Jan 2023
79. ABNT - Associação Brasileira de Normas e Técnicas ABNT/CEE-089 – NANOTECNOLOGIA. In: ABNT/CEE-089 –NANOTECNOLOGIA. <http://www.abnt.com.br/temas-estrategicos/nanotecnologia>. Accessed 23 Jan 2023
80. ISO/DIS 80004-1(en), Nanotechnologies – Vocabulary — Part 1: Core terms and definitions. <https://www.iso.org/obp/ui/en/#iso:std:iso:80004:-1:dis:ed-1:v1:en>. Accessed 23 Jan 2023
81. COMMISSION E (2022) Commission Recommendation of 10 June 2022 on the definition of nanomaterial. *Off J Eur Union* 36237:1–5. <https://doi.org/10.2788/36237>
82. Hobson DW (2011) Nanotechnology. *Compr Biotechnol* Second Ed 3:683–697. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00228-2>
83. Campbell FW, Compton RG (2010) The use of nanoparticles in electroanalysis: An updated review. *Anal Bioanal Chem* 396:241–259. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3063-7>
84. Habibullah G, Viktorova J, Ruml T (2021) Current Strategies for Noble Metal Nanoparticle Synthesis. *Nanoscale Res Lett* 2021 161 16:1–12. <https://doi.org/10.1186/S11671-021-03480-8>

85. Md Shakhiah MF, Rosslan AS, Noor AM, et al (2021) Review-Enzymatic and Non-Enzymatic Electrochemical Sensor for Lactate Detection in Human Biofluids. *J Electrochem Soc* 168:067502. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ac0360>
86. Dong Q, Ryu H, Lei Y (2021) Metal oxide based non-enzymatic electrochemical sensors for glucose detection. *Electrochim Acta* 370:137744. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2021.137744>
87. Košević MG, Zarić MM, Stopić SR, et al (2020) Structural and electrochemical properties of nesting and core/shell pt/tio2 spherical particles synthesized by ultrasonic spray pyrolysis. *Metals (Basel)* 10:11. <https://doi.org/10.3390/met10010011>
88. Lusker KL, Li JR, Garno JC (2011) Nanostructures of functionalized gold nanoparticles prepared by particle lithography with organosilanes. *Langmuir* 27:13269–13275. https://doi.org/10.1021/LA202816K/ASSET/IMAGES/LARGE/LA-2011-02816K_0006.JPEG
89. Davies GL, O'Brien J, Gun'ko YK (2017) Rare Earth Doped Silica Nanoparticles via Thermolysis of a Single Source Metallasilsesquioxane Precursor. *Sci Rep* 7:1–8. <https://doi.org/10.1038/srep45862>
90. Mirzaei A, Neri G (2016) Microwave-assisted synthesis of metal oxide nanostructures for gas sensing application: A review. *Sensors Actuators B Chem* 237:749–775. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2016.06.114>
91. Da Silva MKL, Plana Simões R, Cesarino I (2018) Evaluation of Reduced Graphene Oxide Modified with Antimony and Copper Nanoparticles for Levofloxacin Oxidation. *Electroanalysis* 30:2066–2076. <https://doi.org/10.1002/elan.201800265>
92. Golinelli DLC, Machado SAS, Cesarino I (2017) Synthesis of Silver Nanoparticle-Graphene Composites for Electroanalysis Applications using Chemical and Electrochemical Methods. *Electroanalysis* 29:1014–1021. <https://doi.org/10.1002/elan.201600669>
93. Zolfaghari A, Naderi HR, Mortaheb HR (2013) Carbon black/manganese dioxide composites synthesized by sonochemistry method for electrochemical supercapacitors. *J Electroanal Chem* 697:60–67. <https://doi.org/10.1016/J.JELECHEM.2013.03.012>
94. Mendes Hacke AC, Lima D, Kuss S (2022) Green synthesis of electroactive nanomaterials by using plant-derived natural products. *J Electroanal Chem* 922:116786. <https://doi.org/10.1016/J.JELECHEM.2022.116786>
95. Roy A, Bulut O, Some S, et al (2019) Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. *RSC Adv* 9:2673–2702. <https://doi.org/10.1039/C8RA08982E>
96. Nunes D, Pimentel A, Santos L, et al (2019) Synthesis, design, and morphology of metal oxide nanostructures. *Met Oxide Nanostructures* 21–57. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811512-1.00002-3>
97. Jeyaraj M, Gurunathan S, Qasim M, et al (2019) A comprehensive review on the synthesis, characterization, and biomedical application of platinum nanoparticles. *Nanomaterials* 9:1719. <https://doi.org/10.3390/nano9121719>
98. Salabat A, Mirhoseini F (2018) A novel and simple microemulsion method for synthesis of

biocompatible functionalized gold nanoparticles. *J Mol Liq* 268:849–853. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2018.07.112>

99. Agustini D, Mangrich AS, Bergamini MF, Marcolino-Junior LH (2015) Sensitive voltammetric determination of lead released from ceramic dishes by using of bismuth nanostructures anchored on biochar. *Talanta* 142:221–227. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.04.052>
100. Fernandes VQ, Silva MKL, Cesarino I (2020) Determination of isotretinoin (13-cis-retinoic acid) using a sensor based on reduced graphene oxide modified with copper nanoparticles. *J Electroanal Chem* 856:113692. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113692>
101. Nunes EW, Silva MKL, Cesarino I (2020) Evaluation of a reduced graphene oxide-Sb nanoparticles electrochemical sensor for the detection of cadmium and lead in chamomile tea. *Chemosensors* 8:53. <https://doi.org/10.3390/CHEMOSENSORS8030053>
102. Mohaghegh S, Osouli-Bostanabad K, Nazemiyeh H, et al (2020) A comparative study of eco-friendly silver nanoparticles synthesis using *Prunus domestica* plum extract and sodium citrate as reducing agents. *Adv Powder Technol* 31:1169–1180. <https://doi.org/10.1016/J.APT.2019.12.039>
103. Khandelwal G, Sharma K, Kumar V (2019) Graphene–Metal Modified Electrochemical Sensors. *Graphene-Based Electrochem Sensors Biomol* 89–111. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815394-9.00004-2>
104. Gawande MB, Goswami A, Felpin FX, et al (2016) Cu and Cu-Based Nanoparticles: Synthesis and Applications in Catalysis. *Chem Rev* 116:3722–3811. <https://doi.org/10.1021/ACS.CHEMREV.5B00482>
105. Oliveira PR, Kalinke C, Mangrich AS, et al (2018) Copper hexacyanoferrate nanoparticles supported on biochar for amperometric determination of isoniazid. *Electrochim Acta* 285:373–380. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.08.004>
106. Hocevar SB, Švancara I, Ogorevc B, Vytrás K (2007) Antimony film electrode for electrochemical stripping analysis. *Anal Chem* 79:8639–8643. <https://doi.org/10.1021/ac070478m>
107. Wang J, Lu J, Hocevar SB, et al (2000) Bismuth-coated carbon electrodes for anodic stripping voltammetry. *Anal Chem* 72:3218–22
108. Jovanovski V, Hočevár SB, Ogorevc B (2009) Ex situ prepared antimony film electrode for electrochemical stripping measurement of heavy metal ions. *Electroanalysis* 21:2321–2324. <https://doi.org/10.1002/elan.200904692>
109. Cesarino I, Cincotto FH, Machado SAS (2015) A synergistic combination of reduced graphene oxide and antimony nanoparticles for estriol hormone detection. *Sensors Actuators, B Chem* 210:453–459. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.01.013>
110. Cesarino I, Cesarino V, Lanza MRV (2013) Carbon nanotubes modified with antimony nanoparticles in a paraffin composite electrode: Simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim. *Sensors Actuators B Chem* 188:1293–1299
111. Gevaerd A, De Oliveira PR, Mangrich AS, et al (2016) Evaluation of antimony microparticles supported on biochar for application in the voltammetric determination of

paraquat. *Mater Sci Eng C* 62:123–129. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.01.020>

112. Martins G, Gogola JL, Caetano FR, et al (2019) Quick electrochemical immunoassay for hantavirus detection based on biochar platform. *Talanta* 204:163–171. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.101>
113. Sohrabi H, Majidi MR, Asadpour-Zeynali K, et al (2023) Self-assembled monolayer-assisted label-free electrochemical genosensor for specific point-of-care determination of *Haemophilus influenzae*. *Microchim Acta* 190:1–18. <https://doi.org/10.1007/S00604-023-05687-1/TABLES/3>
114. Sohrabi H, Majidi MR, Asadpour-Zeynali K, et al (2022) A PCR-free genosensing platform for detection of *Shigella dysenteriae* in human plasma samples by porous and honeycomb-like biochar decorated with ultrathin flower-like MoS₂ nanosheets incorporated with Au nanoparticles. *Chemosphere* 288:132531. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.132531>
115. Liu Y, Yao L, He L, et al (2019) Electrochemical enzyme biosensor bearing biochar nanoparticle as signal enhancer for bisphenol a detection in water. *Sensors (Switzerland)* 19:1619. <https://doi.org/10.3390/s19071619>
116. Ensafi AA (2019) An introduction to sensors and biosensors. In: *Electrochemical Biosensors*. Elsevier, pp 1–10
117. Heineman WR, Jensen WB (2006) Leland C. Clark Jr. (1918–2005). *Biosens Bioelectron* 21:1403–1404. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2005.12.005>
118. Marques PRBDO, Yamanaka H (2008) Biossensores baseados no processo de inibição enzimática. *Sociedade Brasileira de Química*
119. Cox M, Nelson DL (2008) *Lehninger Principles of Biochemistry*
120. Sultatos LG (2006) Interactions of Organophosphorus and Carbamate Compounds with Cholinesterases. *Toxicol Organophosphate Carbamate Compd* 209–218. <https://doi.org/10.1016/B978-012088523-7/50016-8>
121. Li J, Chang H, Zhang N, et al (2023) Recent advances in enzyme inhibition based-electrochemical biosensors for pharmaceutical and environmental analysis. *Talanta* 253:124092. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2022.124092>
122. Songa EA, Okonkwo JO (2016) Recent approaches to improving selectivity and sensitivity of enzyme-based biosensors for organophosphorus pesticides: A review. *Talanta* 155:289–304. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2016.04.046>
123. Colovic MB, Krstic DZ, Lazarevic-Pasti TD, et al (2013) Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Curr Neuropharmacol* 11:315–335
124. Ni Y, Cao D, Kokot S (2007) Simultaneous enzymatic kinetic determination of pesticides, carbaryl and phoxim, with the aid of chemometrics. *Anal Chim Acta* 588:131–139. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.01.073>
125. da Silva MKL, Vanzela HC, Defavari LM, Cesarino I (2018) Determination of carbamate pesticide in food using a biosensor based on reduced graphene oxide and acetylcholinesterase enzyme. *Sensors Actuators, B Chem* 277:555–561. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.09.051>

126. Silva MKL, Cesarino I (2016) Desenvolvimento de Biossensores para Controle de Pesticidas em Alimentos. In: JC NA ESCOLA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E SOCIEDADE: MOBILIZAR O CONHECIMENTO PARA ALIMENTAR O BRASIL, Second Ed. Bauru, pp 212–224
127. Cesarino I, Moraes FC, Lanza MRV, MacHado SAS (2012) Electrochemical detection of carbamate pesticides in fruit and vegetables with a biosensor based on acetylcholinesterase immobilised on a composite of polyaniline-carbon nanotubes. *Food Chem* 135:873–879. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.147>
128. Kok FN, Hasirci V (2004) Determination of binary pesticide mixtures by an acetylcholinesterase–choline oxidase biosensor. *Biosens Bioelectron* 19:661–665. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2003.07.002>
129. Hashemi SM, Damalas CA (2011) Farmers’ perceptions of pesticide efficacy: Reflections on the importance of pest management practices adoption. *J Sustain Agric* 35:69–85. <https://doi.org/10.1080/10440046.2011.530511>
130. Searle SY, Malins CJ (2016) Waste and residue availability for advanced biofuel production in EU Member States. *Biomass and Bioenergy* 89:2–10. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.01.008>
131. Matsumura F (1985) *Toxicology of Insecticides*, 1st ed. Springer New York, NY, Nova York
132. Cesarino I, Moraes FC, Machado SASS (2011) A biosensor based on polyaniline-carbon nanotube core-shell for electrochemical detection of pesticides. *Electroanalysis* 23:2586–2593. <https://doi.org/10.1002/elan.201100161>
133. Cui H-F, Wu W-W, Li M-M, et al (2018) A highly stable acetylcholinesterase biosensor based on chitosan-TiO₂-graphene nanocomposites for detection of organophosphate pesticides. *Biosens Bioelectron* 99:223–229. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2017.07.068>
134. Pradela-Filho LA, Andreotti IAA, Carvalho JHS, et al (2020) Glass varnish-based carbon conductive ink: A new way to produce disposable electrochemical sensors. *Sensors Actuators, B Chem* 305:127433. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127433>
135. Araújo DAG, Camargo JR, Pradela-Filho LA, et al (2020) A lab-made screen-printed electrode as a platform to study the effect of the size and functionalization of carbon nanotubes on the voltammetric determination of caffeic acid. *Microchem J* 158:105297. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2020.105297>
136. Fabiani L, Saroglia M, Galatà G, et al (2021) Magnetic beads combined with carbon black-based screen-printed electrodes for COVID-19: A reliable and miniaturized electrochemical immunosensor for SARS-CoV-2 detection in saliva. *Biosens Bioelectron* 171:112686
137. Colozza N, Caratelli V, Moscone D, Arduini F (2021) Paper-based devices as new smart analytical tools for sustainable detection of environmental pollutants. *Case Stud Chem Environ Eng* 4:100167. <https://doi.org/10.1016/J.CSCEE.2021.100167>
138. Cardoso RM, Kalinke C, Rocha RG, et al (2020) Additive-manufactured (3D-printed) electrochemical sensors: A critical review. *Anal Chim Acta* 1118:73–91. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2020.03.028>
139. Abbott Laboratórios de Brasil Ltda (2015) Definição – Point of care testing – PoCT

140. Noviana E, McCord CP, Clark KM, et al (2019) Electrochemical paper-based devices: sensing approaches and progress toward practical applications. *Lab Chip* 20:9–34. <https://doi.org/10.1039/C9LC00903E>
141. Batista Deroco P, Giarola J de F, Wachholz Júnior D, et al (2020) Paper-based electrochemical sensing devices. *Compr Anal Chem* 89:91–137. <https://doi.org/10.1016/BS.COAC.2019.11.001>
142. Arduini F, Moscone D (2020) Multifarious aspects of electrochemical paper-based (bio)sensors. *Compr Anal Chem* 89:139–161. <https://doi.org/10.1016/BS.COAC.2020.01.001>
143. Silva MKL, Sousa GS, Simoes RP, Cesarino I (2022) Fabrication of paper-based analytical devices using a PLA 3D-printed stencil for electrochemical determination of chloroquine and escitalopram. *J Solid State Electrochem* 26:581–586. <https://doi.org/10.1007/S10008-021-05075-W/FIGURES/4>
144. Boonkaew S, Jang I, Noviana E, et al (2021) Electrochemical paper-based analytical device for multiplexed, point-of-care detection of cardiovascular disease biomarkers. *Sensors Actuators B Chem* 330:129336. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2020.129336>
145. Shen Y, Modha S, Tsutsui H, Mulchandani A (2021) An origami electrical biosensor for multiplexed analyte detection in body fluids. *Biosens Bioelectron* 171:112721. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112721>
146. Channon RB, Yang Y, Feibelman KM, et al (2018) Development of an Electrochemical Paper-Based Analytical Device for Trace Detection of Virus Particles. *Anal Chem* 90:7777–7783. https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.8B02042/ASSET/IMAGES/LARGE/AC-2018-02042N_0005.JPEG
147. Couto RAS, Lima JLFC, Quinaz MB (2016) Recent developments, characteristics and potential applications of screen-printed electrodes in pharmaceutical and biological analysis. *Talanta* 146:801–814
148. Squissato AL, Almeida ES, Silva SG, et al (2018) Screen-printed electrodes for quality control of liquid (Bio)fuels. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 108:210–220
149. Baharfar M, Rahbar M, Tajik M, Liu G (2020) Engineering strategies for enhancing the performance of electrochemical paper-based analytical devices. *Biosens Bioelectron* 167:112506. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2020.112506>
150. Arduini F, Micheli L, Scognamiglio V, et al (2020) Sustainable materials for the design of forefront printed (bio)sensors applied in agrifood sector. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 128:115909
151. Scordo G, Moscone D, Palleschi G, Arduini F (2018) A reagent-free paper-based sensor embedded in a 3D printing device for cholinesterase activity measurement in serum. *Sensors Actuators B Chem* 258:1015–1021. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2017.11.134>
152. Mustafa F, Finny AS, Kirk KA, Andreescu S (2020) Printed paper-based (bio)sensors: Design, fabrication and applications. *Compr Anal Chem* 89:63–89. <https://doi.org/10.1016/BS.COAC.2020.02.002>
153. Camargo JR, Orzari LO, Araújo DAG, et al (2021) Development of conductive inks for electrochemical sensors and biosensors. *Microchem J* 164:105998.

<https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2021.105998>

154. Pradela-Filho LA, Araújo DAG, Takeuchi RM, Santos AL (2017) Nail polish and carbon powder: An attractive mixture to prepare paper-based electrodes. *Electrochim Acta* 258:786–792. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.11.127>
155. Camargo JR, Silva TA, Rivas GA, Janegitz BC (2022) Novel eco-friendly water-based conductive ink for the preparation of disposable screen-printed electrodes for sensing and biosensing applications. *Electrochim Acta* 409:139968. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2022.139968>
156. Terzi F, Zanfognini B, Ruggeri S, et al (2017) Amperometric paper sensor based on Cu nanoparticles for the determination of carbohydrates. *Sensors Actuators B Chem* 245:352–358. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2017.01.064>
157. Deroco PB, Fatibello-Filho O, Arduini F, Moscone D (2020) Electrochemical determination of capsaicin in pepper samples using sustainable paper-based screen-printed bulk modified with carbon black. *Electrochim Acta* 354:136628. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2020.136628>
158. Cinti S, Basso M, Moscone D, Arduini F (2017) A paper-based nanommodified electrochemical biosensor for ethanol detection in beers. *Anal Chim Acta* 960:123–130. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.010>
159. Htwe YZN, Mariatti M (2021) Surfactant-assisted water-based graphene conductive inks for flexible electronic applications. *J Taiwan Inst Chem Eng* 125:402–412. <https://doi.org/10.1016/J.JTICE.2021.06.022>
160. de Araujo WR, Frasson CMR, Ameku WA, et al (2017) Single-Step Reagentless Laser Scribing Fabrication of Electrochemical Paper-Based Analytical Devices. *Angew Chemie Int Ed* 56:15113–15117. <https://doi.org/10.1002/ANIE.201708527>
161. Calvo-Flores FG, Isac-Garcia J, Dobado JA (2018) Emerging pollutants: structure, properties, analysis. WILEY-VCH
162. Pradhan B, Chand S, Chand S, et al (2023) Emerging groundwater contaminants: A comprehensive review on their health hazards and remediation technologies. *Groundw Sustain Dev* 20:100868. <https://doi.org/10.1016/J.GSD.2022.100868>
163. Gogoi A, Mazumder P, Tyagi VK, et al (2018) Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundw Sustain Dev* 6:169–180. <https://doi.org/10.1016/J.GSD.2017.12.009>
164. Marson EO, Paniagua CES, Gomes Júnior O, et al (2022) A review toward contaminants of emerging concern in Brazil: Occurrence, impact and their degradation by advanced oxidation process in aquatic matrices. *Sci Total Environ* 836:155605. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.155605>
165. Saúde BM da (2021) Portaria Gm/Ms Nº 888, De 4 De Maio De 2021. In: Diário Of. [da] União. <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562>. Accessed 16 Jan 2023
166. Saúde M (2017) PORTARIA DE CONSOLIDAÇÃO Nº 5. <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/MatrizesConsolidacao/Matriz-5->

Programas.html. Accessed 16 Jan 2023

167. Maria MC, Costa EP, Souza FA, et al (2021) Persulfate mediated solar photo-Fenton aiming at wastewater treatment plant effluent improvement at neutral PH: emerging contaminant removal, disinfection, and elimination of antibiotic-resistant bacteria. *Environ Sci Pollut Res* 28:17355–17368. <https://doi.org/10.1007/S11356-020-11802-Z/TABLES/2>
168. Castillo-Zacarias C, Barocio ME, Hidalgo-Vázquez E, et al (2021) Antidepressant drugs as emerging contaminants: Occurrence in urban and non-urban waters and analytical methods for their detection. *Sci Total Environ* 757:143722. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.143722>
169. Baccarin M, Cervini P, Cavaleiro ETG (2018) Comparative performances of a bare graphite-polyurethane composite electrode unmodified and modified with graphene and carbon nanotubes in the electrochemical determination of escitalopram. *Talanta* 178:1024–1032. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.08.094>
170. ANVISA (2020) C03 – Carbaril — Português (Brasil). <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/c/4219json-file-1/view>. Accessed 27 Oct 2021
171. Koshlukova SE, Reed NR (2014) Carbaryl. *Encycl Toxicol Third Ed* 668–672. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00107-X>
172. Moraes FC, Mascaro LH, Machado SAS, Brett CMA (2009) Direct electrochemical determination of carbaryl using a multi-walled carbon nanotube/cobalt phthalocyanine modified electrode. *Talanta* 79:1406–1411. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.06.013>
173. Rahmani T, Bagheri H, Behbahani M, et al (2018) Modified 3D Graphene-Au as a Novel Sensing Layer for Direct and Sensitive Electrochemical Determination of Carbaryl Pesticide in Fruit, Vegetable, and Water Samples. *Food Anal Methods* 11:3005–3014. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1280-4>
174. Jain U, Saxena K, Hooda V, et al (2022) Emerging vistas on pesticides detection based on electrochemical biosensors – An update. *Food Chem* 371:131126. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.131126>
175. Mendonça CD (2015) Determinação eletroanalítica e cromatográfica de Metilparabeno. Uma comparação estatística. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo
176. Gil E de S, Andrade CH, Barbosa NL, et al (2012) Cyclic voltammetry and computational chemistry studies on the evaluation of the redox behavior of parabens and other analogues. *J Braz Chem Soc* 23:565–572. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532012000300025>
177. Chiew AL, Buckley NA (2021) Acetaminophen Poisoning. *Crit Care Clin* 37:543–561. <https://doi.org/10.1016/J.CCC.2021.03.005>
178. Xu L, Wang H (2023) A dual role of inflammation in acetaminophen-induced liver injury. *Liver Res* 7:9–15. <https://doi.org/10.1016/J.LIVRES.2023.03.001>
179. ANVISA (2021) Anvisa alerta para riscos do uso indiscriminado de medicamento. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/anvisa-alerta-para-riscos-do-uso-indiscriminado-de-medicamentos>. Accessed 27 Jul 2023

180. Baccarin M, Santos FA, Vicentini FC, et al (2017) Electrochemical sensor based on reduced graphene oxide/carbon black/chitosan composite for the simultaneous determination of dopamine and paracetamol concentrations in urine samples. *J Electroanal Chem* 799:436–443. <https://doi.org/10.1016/J.JELECHEM.2017.06.052>
181. Silva-Neto HA, Arantes IVS, Ferreira AL, et al (2023) Recent advances on paper-based microfluidic devices for bioanalysis. *TrAC Trends Anal Chem* 158:116893. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2022.116893>
182. Kohori NA, da Silva MKL, Cesarino I (2018) Evaluation of graphene oxide and reduced graphene oxide in the immobilization of laccase enzyme and its application in the determination of dopamine. *J Solid State Electrochem* 22:141–148. <https://doi.org/10.1007/s10008-017-3738-5>
183. Sajid M, Baig N, Alhooshani K (2019) Chemically modified electrodes for electrochemical detection of dopamine: Challenges and opportunities. *TrAC Trends Anal Chem* 118:368–385. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2019.05.042>
184. Daud WMAW, Houshamnd AH (2010) Textural characteristics, surface chemistry and oxidation of activated carbon. *J. Nat. Gas Chem.* 19:267–279
185. Yin CY, Aroua MK, Daud WMAW (2007) Review of modifications of activated carbon for enhancing contaminant uptakes from aqueous solutions. Elsevier
186. Stavropoulos GG, Samaras P, Sakellariopoulos GP (2008) Effect of activated carbons modification on porosity, surface structure and phenol adsorption. *J Hazard Mater* 151:414–421. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.06.005>
187. Vaughn SF, Kenar JA, Tisserat B, et al (2017) Chemical and physical properties of Paulownia elongata biochar modified with oxidants for horticultural applications. *Ind Crops Prod* 97:260–267. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.12.017>
188. Boguta P, Sokołowska Z, Skic K, Tomczyk A (2019) Chemically engineered biochar – Effect of concentration and type of modifier on sorption and structural properties of biochar from wood waste. *Fuel* 256:. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.115893>
189. Sahin O, Taskin MB, Kaya EC, et al (2017) Effect of acid modification of biochar on nutrient availability and maize growth in a calcareous soil. *Soil Use Manag* 33:447–456. <https://doi.org/10.1111/sum.12360>
190. Zhou Q, Jiang X, Li X, et al (2018) Preparation of high-yield N-doped biochar from nitrogen-containing phosphate and its effective adsorption for toluene. *RSC Adv* 8:30171–30179. <https://doi.org/10.1039/c8ra05714a>
191. Gholivand MB, Akbari A (2016) A novel voltammetric sensor for citalopram based on multiwall carbon nanotube/(poly(p-aminobenzene sulfonic acid)/β-cyclodextrin). *Mater Sci Eng C* 62:480–488. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.01.066>
192. Nouws HPA, Delerue-Matos C, Barros AA, et al (2008) Static and Hydrodynamic Monitoring of Citalopram Based on its Electro-oxidation Behavior at a Glassy-Carbon Surface. *Anal Lett* 41:2171–2185. <https://doi.org/10.1080/00032710802238069>
193. Kalinke C, Wosgrau V, Oliveira PR, et al (2019) Green method for glucose determination using microfluidic device with a non-enzymatic sensor based on nickel oxyhydroxide

supported at activated biochar. *Talanta* 200:518–525.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.03.079>

194. Kalinke C, Mangrich AS, Marcolino-Junior LH, Bergamini MF (2016) Biochar prepared from castor oil cake at different temperatures: A voltammetric study applied for Pb²⁺, Cd²⁺ and Cu²⁺ ions preconcentration. *J Hazard Mater* 318:526–532. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.07.041>
195. He L, Yang Y, Kim J, et al (2020) Multi-layered enzyme coating on highly conductive magnetic biochar nanoparticles for bisphenol A sensing in water. *Chem Eng J* 384:123276. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123276>
196. Ribani M, Grespan Bottoli CB, Collins CH, et al (2004) Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quim Nova* 27:771–780. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017>
197. Pundir CS, Chauhan N (2012) Acetylcholinesterase inhibition-based biosensors for pesticide determination: A review. *Anal Biochem* 429:19–31. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2012.06.025>
198. Yakout SM (2016) Effect of porosity and surface chemistry on the adsorption-desorption of uranium(VI) from aqueous solution and groundwater. *J Radioanal Nucl Chem* 308:555–565. <https://doi.org/10.1007/s10967-015-4408-7>
199. Li N, Xia Q, Niu M, et al (2018) Immobilizing Laccase on Different Species Wood Biochar to Remove the Chlorinated Biphenyl in Wastewater. *Sci Rep* 8:1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32013-0>
200. Lonappan L, Liu Y, Rouissi T, et al (2018) Covalent immobilization of laccase on citric acid functionalized micro-biochars derived from different feedstock and removal of diclofenac. *Chem Eng J* 351:985–994. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.06.157>
201. Naghdi M, Taheran M, Brar SK, et al (2017) Immobilized laccase on oxygen functionalized nanobiochars through mineral acids treatment for removal of carbamazepine. *Sci Total Environ* 584–585:393–401. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.01.021>
202. Wu X, Zhong X, Chai Y, Yuan R (2014) Electrochemiluminescence acetylcholine biosensor based on biofunctional AMs-AChE-ChO biocomposite and electrodeposited graphene-Au-chitosan nanocomposite. *Electrochim Acta* 147:735–742. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2014.10.016>
203. Du D, Ding J, Cai J, Zhang A (2007) Determination of carbaryl pesticide using amperometric acetylcholinesterase sensor formed by electrochemically deposited chitosan. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 58:145–150. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.03.006>
204. Loguercio LF, Thesing A, Demingos P, et al (2021) Efficient acetylcholinesterase immobilization for improved electrochemical performance in polypyrrole nanocomposite-based biosensors for carbaryl pesticide. *Sensors Actuators B Chem* 339:129875. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2021.129875>
205. Li Y, Shi L, Han G, et al (2017) Electrochemical biosensing of carbaryl based on acetylcholinesterase immobilized onto electrochemically inducing porous graphene oxide network. *Sensors Actuators B Chem* 238:945–953. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2016.07.152>

206. Setznagl S, Cesarino I (2022) Copper nanoparticles and reduced graphene oxide modified a glassy carbon electrode for the determination of glyphosate in water samples. *Int J Environ Anal Chem* 102:293–305. <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1720667>
207. Donini CA, da Silva MKL, Simões RP, Cesarino I (2018) Reduced graphene oxide modified with silver nanoparticles for the electrochemical detection of estriol. *J Electroanal Chem* 809:67–73. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.12.054>
208. Balasubramanian P, Velmurugan M, Chen SM, Hwa KY (2017) Optimized electrochemical synthesis of copper nanoparticles decorated reduced graphene oxide: Application for enzymeless determination of glucose in human blood. *J Electroanal Chem* 807:128–136. <https://doi.org/10.1016/J.JELECHEM.2017.11.042>
209. Moradi P, Hajjami M, Tahmasbi B (2020) Fabricated copper catalyst on biochar nanoparticles for the synthesis of tetrazoles as antimicrobial agents. *Polyhedron* 175:114169. <https://doi.org/10.1016/J.POLY.2019.114169>
210. Karuppannan SK, Ramalingam R, Mohamed Khalith SB, et al (2021) Characterization, antibacterial and photocatalytic evaluation of green synthesized copper oxide nanoparticles. *Biocatal Agric Biotechnol* 31:101904. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2020.101904>
211. Barreto FC, Silva MKL, Cesarino I (2022) An Electrochemical Sensor Based on Reduced Graphene Oxide and Copper Nanoparticles for Monitoring Estriol Levels in Water Samples after Bioremediation. *Chemosensors* 10:395. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10100395>
212. Silva MKLL, Cesarino I (2020) Electrochemical sensor based on Sb nanoparticles/reduced graphene oxide for heavy metal determination. *Int J Environ Anal Chem* 1–15. <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1763973>
213. Sebez B, Ogorevc B, Hocevar SB, Veber M (2013) Functioning of antimony film electrode in acid media under cyclic and anodic stripping voltammetry conditions. *Anal Chim Acta* 785:43–49. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.04.051>
214. Piovesan J V., Santana ER, Spinelli A (2018) Reduced graphene oxide/gold nanoparticles nanocomposite-modified glassy carbon electrode for determination of endocrine disruptor methylparaben. *J Electroanal Chem* 813:163–170. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.02.025>
215. Chacón FJ, Sánchez-Monedero MA, Lezama L, Cayuela ML (2020) Enhancing biochar redox properties through feedstock selection, metal preloading and post-pyrolysis treatments. *Chem Eng J* 395:125100. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2020.125100>
216. Piovesan J V., Santana ER, Spinelli A (2018) Reduced graphene oxide/gold nanoparticles nanocomposite-modified glassy carbon electrode for determination of endocrine disruptor methylparaben. *J Electroanal Chem* 813:163–170. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.02.025>
217. Moraes FC, Cesarino I, Cesarino V, et al (2012) Carbon nanotubes modified with antimony nanoparticles: A novel material for electrochemical sensing. *Electrochim Acta* 85:560–565. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.08.123>
218. Düzmen Ş, Aslanoglu M (2021) An electrochemical platform of bimetallic oxide (Sb₂O₃@WO₃) nanoparticles and carbon nanotubes for the sensitive determination of metaproterenol in pharmaceuticals and biological samples. *Measurement* 173:108572.

<https://doi.org/10.1016/J.MEASUREMENT.2020.108572>

219. da Silveira JP, Piovesan JV, Spinelli A (2017) Carbon paste electrode modified with ferrimagnetic nanoparticles for voltammetric detection of the hormone estriol. *Microchem J* 133:22–30. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.010>
220. Naik KM, Nandibewoor ST (2014) Electroanalytical method for the determination of methylparaben. *Sensors Actuators, A Phys* 212:127–132. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2014.03.033>
221. Błedzka D, Gromadzińska J, Wasowicz W (2014) Parabens. From environmental studies to human health. *Environ Int* 67:27–42. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2014.02.007>
222. Wang L, Li Y, Li G, Ye B (2015) A new strategy for enhancing electrochemical sensing from MWCNTs modified electrode with Langmuir-Blodgett film and used in determination of methylparaben. *Sensors Actuators B Chem* 211:332–338. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2015.01.056>
223. Baytak AK, Duzmen S, Teker T, Aslanoglu M (2017) Voltammetric determination of methylparaben and its DNA interaction using a novel platform based on carbon nanofibers and cobalt-nickel-palladium nanoparticles. *Sensors Actuators, B Chem* 239:330–337. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.08.029>
224. de Lima LF, Daikuzono CM, Miyazaki CM, et al (2020) Layer-by-Layer nanostructured films of magnetite nanoparticles and polypyrrole towards synergistic effect on methylparaben electrochemical detection. *Appl Surf Sci* 505:144278. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.144278>
225. Mendonça CD, Prado TM, Cincotto FH, et al (2017) Methylparaben quantification via electrochemical sensor based on reduced graphene oxide decorated with ruthenium nanoparticles. *Sensors Actuators, B Chem* 251:739–745. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.05.083>
226. Selvolini G, Lazzarini C, Marrazza G (2019) Electrochemical nanocomposite single-use sensor for dopamine detection. *Sensors (Switzerland)* 19:3097. <https://doi.org/10.3390/s19143097>
227. Fernandes MJ, Moreira MM, Paíga P, et al (2019) Evaluation of the adsorption potential of biochars prepared from forest and agri-food wastes for the removal of fluoxetine. *Bioresour Technol* 292:121973. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.121973>
228. Escudero-Curiel S, Penelas U, Sanromán MÁ, Pazos M (2021) An approach towards Zero-Waste wastewater technology: Fluoxetine adsorption on biochar and removal by the sulfate radical. *Chemosphere* 268:129318. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.129318>
229. Liu X, Xi X, Chen C, et al (2019) Ordered mesoporous carbon-covered carbonized silk fabrics for flexible electrochemical dopamine detection. *J Mater Chem B* 7:2145–2150. <https://doi.org/10.1039/C8TB03242D>
230. Zhang W, Liu L, Li Y, et al (2018) Electrochemical sensing platform based on the biomass-derived microporous carbons for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid. *Biosens Bioelectron* 121:96–103. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2018.08.043>
231. Wang L, Zhang Q, Chen S, et al (2014) Electrochemical sensing and biosensing platform

based on biomass-derived macroporous carbon materials. *Anal Chem* 86:1414–1421. https://doi.org/10.1021/AC401563M/SUPPL_FILE/AC401563M_SI_001.PDF

232. Andreotti IA de A (2019) Desenvolvimento de sensores impressos e descartáveis para a detecção de compostos de importância ambiental e biológica. Universidade Federal de São Carlos
233. Química PDP, Dias AA (2020) Fabricação e caracterização de eletrodos flexíveis visando o desenvolvimento de sensores vestíveis e sistemas microfluídicos integrados Fabricação e caracterização de eletrodos flexíveis visando o desenvolvimento de sensores vestíveis e sistemas microfluí. Universidade Federal de Goiás
234. Camargo JR, Andreotti IAA, Kalinke C, et al (2020) Waterproof paper as a new substrate to construct a disposable sensor for the electrochemical determination of paracetamol and melatonin. *Talanta* 208:120458. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2019.120458>
235. Martins TS, Bott-Neto JL, Oliveira ON, Machado SAS (2021) Paper-based electrochemical sensors with reduced graphene nanoribbons for simultaneous detection of sulfamethoxazole and trimethoprim in water samples. *J Electroanal Chem* 882:114985. <https://doi.org/10.1016/J.JELECHEM.2021.114985>
236. Lawson G, Ogwu J, Tanna S (2018) Quantitative screening of the pharmaceutical ingredient for the rapid identification of substandard and falsified medicines using reflectance infrared spectroscopy. *PLoS One* 13:e0202059. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0202059>