

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Gustavo Chevitarese Azevedo

**Desenvolvimento de dispositivo analítico usando impressão 3D para análises
voltamétricas em microvolumes**

Juiz de Fora
2019

Gustavo Chevitarese Azevedo

**Desenvolvimento de um dispositivo analítico usando impressão 3D para análises
voltamétricas em microvolumes**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Dr. Renato Camargo Matos

Juiz de Fora

2019

Ficha catalográfica

Imprimir na parte inferior, no verso da folha de rosto a ficha disponível em:
<http://www.ufjf.br/biblioteca/servicos/usando-a-ficha-catalografica/>

Gustavo Chevitarese Azevedo

**Desenvolvimento de um dispositivo analítico usando impressão 3D para análises
voltamétricas em microvolumes**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Química. Área de concentração: Química Analítica

BANCA EXAMINADORA

Dr. Renato Camargo Matos - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz
Universidade Federal de Uberlândia

Dr. Rafael Machado Dornellas
Universidade Federal Fluminense

Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Gustavo Fernandes Souza Andrade
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dedicatória

Dedico esta tese aos meus pais Newton e Fátima, minha esposa Karolyne e minha filha Lara.

AGRADECIMENTOS

Acredito que esse seja o momento mais oportuno de expressar meus mais sinceros agradecimentos aos meus adorados familiares e amigos - tanto aos ‘velhos’ e queridos quanto aos novos que se revelaram ao longo deste tempo. O desafio era enorme e apesar das dificuldades, as motivações eram diversas, somadas às espontâneas risadas e brincadeiras que tornaram possível a transformação de momentos instantâneos de angústia e sofrimento em um caminho mais leve e prazeroso. Nunca desisti, entretanto confesso que pensei nisso algumas (inúmeras) vezes, mas com o grande apoio da minha esposa e com um pensamento fixo na minha filha, caminhei para a conclusão de mais uma etapa.

Primeiramente, agradeço a Deus, pela força interior para superar as dificuldades, mostrar o caminho correto nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades. Desafio tão grande quanto escrever esta Tese, é me ater à poucas palavras para agradecer a tantas pessoas, nessa trajetória de 10 anos de aprendizado no Curso de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Agradeço aos meus pais Newton e Fátima, motivo da minha existência, que sempre primaram pela minha educação. Eles, além de me oferecerem a oportunidade de estudar, sempre estão presentes em todos os passos da minha vida. Desculpe por muitas vezes tê-los feito sofrer. Sou muito feliz por ser filho de pais como vocês e saibam que sou um pai melhor porque sou filho de vocês.

Continuo os agradecimentos familiares falando da minha esposa Karol, que é minha força, minha parceira e as vezes (muitas) até meu para-raios. Obrigado por entender os vários momentos de ausência nesta caminhada. À você todo amor do mundo. À minha pequena Lara, Quando a hora chegar você vai entender que foi a peça fundamental para essa tese se concretizar. À minha segunda mãe, Tezinha, pelos anos de vida dedicados a cuidar de mim, e ao meu irmão adquirido Daniel, “Sangue Bom”, por toda a alegria. À minha irmã Hygia, por poder contar com ela sempre.

Continuo os agradecimentos familiares falando da minha segunda família: a família da minha esposa. Obrigado por todo o apoio e todos os bons momentos. Ao meu cunhado “Baby”, pela companhia ao longo desse tempo.

Acredito que a vida é feita de momentos, histórias e detalhes, por isso agradeço aos momentos vividos no laboratório, às muitas histórias que compartilhamos e aos detalhes, esses jamais se perderão no tempo, como aqueles cafés no final da tarde. Às futuras gerações do NUPIS, não deixem os detalhes de lado. Às gerações passadas do NUPIS, vocês sempre serão

lembrados. À velha guarda: Marcos, Mellina, Aparecida, Fernanda, Fausto, Raiane, Roberto, Thalles, Daniel e Lucas. Aos novatos: Gui, Stephany, Livia e Davi. Aos amigos de graduação, que se tornaram amigos da vida: Thalles, Daniel, Wesley, Carol.

Ao Thalles, meu parceiro de cervejaria, padrinho, afilhado de casamento, compadre e pai espiritual da minha filha, por toda a ajuda em todos os momentos e também à Beatriz que, com a alegria de sempre, torna mais agradável nossos encontros.

Aos melhores amigos, que cultivei durante a vida, meus padrinhos e também afilhados de casamento: Jamille, Dudu, Victor e Raquel.

Aos professores do Colégio Santa Catarina, em especial o professor Geraldo, que despertou em mim a vontade de cursar química. Seus ensinamentos, seu carinho com os alunos e com a profissão me servem de motivação diária na minha caminhada.

Aos professores Rafael, Gustavo e Denise pelas importantes sugestões durante a qualificação, que descreveram um novo caminho para a tese e por todos os ensinamentos.

Ao professor Welber, por disponibilizar a estrutura do laboratório de eletrônica orgânica (LEO) para uso e também pelas valiosas discussões.

Ao professor, orientador e amigo Renato por aceitar dividir esse desafio comigo. Ao seu empenho em ensinar, que além da eletroquímica, me ensinou como é ser um profissional que sabe amar o trabalho. Que acompanhou a evolução científica e pessoal pela qual passei. Agradeço por acreditar em mim, por me mostrar o caminho da ciência e por fazer parte da minha vida nesta longa caminhada.

Meu agradecimento à FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) por conceder a bolsa de estudos para o desenvolvimento desta pesquisa. Agradeço também as demais instituições de fomento, CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) por projetos aprovados e por auxiliarem no fomento desta jornada científica.

Há muito mais a quem agradecer...A todos aqueles que, embora não nomeados aqui, me brindaram com seus inestimáveis apoios em momentos distintos e por suas presenças inesquecíveis. O meu carinho e reconhecido muito obrigado!

“Só dê importância à força
positiva que te faz seguir, nunca deixe se deixar
levar pelo desespero, siga até o fim, siga até o
fim!”

O Rappa

RESUMO

A tecnologia de impressão 3D (manufatura aditiva) tem se mostrado uma poderosa ferramenta para a construção de dispositivos analíticos. Neste contexto, este trabalho traz como novidade um adaptador para micropipetas comerciais, impresso em copolímero de acrilonitrila butadieno estireno (ABS) ou ácido polilático (PLA), permitindo o uso de microeletrodos no interior de ponteiros plásticos. O trabalho trata ainda sobre a construção de um puxador de micropipetas de vidro (*micropipette puller*) simplificado, com materiais de fácil aquisição para a obtenção de capilares para a confecção dos microeletrodos. Os microeletrodos fabricados foram caracterizados eletroquimicamente e através de microscopia óptica, com uma boa concordância nos valores de diâmetro medidos (cerca de 10,01 μm para platina e 18,57 μm para ouro). Foi realizada a determinação de catecol em suor e saliva sintéticos utilizando volumes reduzidos de amostra (5 μL), com valores de recuperação que variaram de 90 a 110 %. Foram estabelecidos ainda limites de detecção e quantificação instrumentais da ordem de 18 e 54 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, para a amostra de saliva sintética e 51,5 e 156,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, para a amostra de suor sintético. Em um segundo momento, o adaptador foi testado em diferentes solventes orgânicos e aplicado na determinação de ferroceno em 10 μL de DMF apresentando linearidade na faixa de 41 a 142 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Limites de detecção e quantificação de 7,5 e 22,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, foram estabelecidos para o microeletrodo de platina e 6,1 e 18,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, para o microeletrodo de ouro. Foi ainda comprovado o processo de difusão radial envolvido, através do critério de Thomeš, obtendo-se um valor de 55,2 mV. No terceiro trabalho, foi desenvolvido um método eletroanalítico para determinação de dopamina usando microeletrodo de ouro modificado com platina, os testes mostraram que a modificação traz um ganho de cerca de 40 % de sinal analítico, e que a presença de dopamina no meio foi altamente dependente do pH, com a consequente perda de sinal analítico. O método proposto foi avaliado com relação aos limites de detecção e quantificação, que foram 15,6 e 51,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Outro trabalho desenvolvido foi a determinação de cobre em águas naturais, com limites de detecção e quantificação da ordem de 7,98 e 26,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente e uma faixa linear entre o limite de quantificação e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$. Por fim, foi realizada a determinação de chumbo em água de abastecimento usando microeletrodo de ouro modificado com filme de bismuto, com concentrações de chumbo entre 30 e 180 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Palavras-chave: Impressão 3D. Metais traço. Dopamina. Catecol. Ferroceno. Microeletrodo

ABSTRACT

3D printing technology (additive manufacturing) has proven to be a powerful tool for building analytical devices. The novelty of this work is an adapter for commercial micropipettes, printed on a copolymer of acrylonitrile butadiene styrene (ABS) or polylactic acid (PLA), allowing the use of microelectrodes inside plastic tips. The work also deals with the construction of a simplified micropipette puller with materials easily obtained, for the making of the microelectrodes. The microelectrodes manufactured were characterized electrochemically and by optical microscopy, with a good agreement in the measured diameter values (about 10.01 μm for platinum and 18.57 μm for gold). The determination of catechol in synthetic sweat and saliva was performed using reduced sample volumes (5 μL), with recovery values ranging from 90 to 110%. It was also established instrumental detection and quantification limits of the order of 18 and 54 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively, for the synthetic saliva sample and 51.5 and 156.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively for the synthetic sweat sample. In a second moment, the adapter was tested in different organic and applied in the determination of ferrocene in 10 μL of DMF, presenting linearity in the range of 41 to 142 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Limits of detection and quantification of 7.5 and 22.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively, were established for the platinum microelectrode and 6.1 and 18.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively, for the gold microelectrode. It was also verified the process of radial diffusion involved, using the Thomeš criterion, obtaining a value of 55.2 mV. In the third moment of the project, an electroanalytical method was developed for determination of dopamine using platinum modified gold microelectrode. The tests showed that the modification brings a gain of about 40% of analytical signal, and that the presence of dopamine in the medium is highly dependent on the pH, with the consequent loss of analytical signal. The proposed method was evaluated with respect to the limits of detection and quantification, which were 15.6 and 51.9 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. Favorable conditions were sought for the quantification of copper in a sample of water supply, with limits of detection and quantification of the order of 7.98 and 26.6 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectively and a linear range between the limit of quantification and 500 $\mu\text{g L}^{-1}$. Finally, the determination of lead in water supply was carried out using gold microelectrode modified with bismuth film, with concentrations of lead between 30 and 180 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Keywords: 3D printing. Trace metals. Dopamine. Catechol. Ferrocene.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da região interfacial entre eletrodo e solução segundo modelo de Bockris, Devanathan e Müller.	26
Figura 2 - Perfil de aplicação de potencial para um experimento típico de voltametria cíclica.	27
Figura 3 - Voltamograma cíclico típico para um microeletrodo de disco para uma solução contendo ferroceno a 10 mmol L^{-1} em DMF contendo TBATFB à $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$	28
Figura 4 - Perfis de aplicação de potencial nas voltametrias de pulso normal (A), pulso diferencial (B) e onda quadrada (C).....	30
Figura 5 – Geometrias mais importantes de microeletrodos e de arranjos de microeletrodos. (a) microeletrodo de disco, (b) anel, (c) arranjo de microdiscos, (d) arranjo de microbandas construído por litografia, (e) banda, (f) cilíndrico, (g) esférico, (h) hemisférico, (i) arranjo de cilindros e (j) arranjo de bandas interdigitadas.	34
Figura 6 - Etapas para a selagem dos microfios para a construção de um microeletrodo de disco. Etapa 1 – Processo térmico de selagem do fio. Etapa 2 – Processo térmico e mecânico para afinamento. Etapa 3 – Processo de estabelecimento do contato elétrico.	35
Figura 7– (A) Representação esquemática do processo de impressão estereolitográfica. (B) 1 – Resina fotopolimérica líquida, 2 – Plataforma móvel, 3 – Espelho móvel. Processo de SLA invertido.	39
Figura 8 - Representação esquemática do processo de impressão por jateamento de material. 1 – Cabeçote de impressão, 2 – Recipiente contendo resina fotopolimérica líquida, 3 – Recipiente contendo cera.	39
Figura 9 - Representação esquemática do processo de impressão por jateamento de aglutinante. 1 – Recipiente contendo pó do material de impressão, 2 – Plataforma de construção, 3 – Rolo para distribuição do pó.....	40
Figura 10 - Representação esquemática do processo de impressão por fusão de cama de pó. 1 – Recipiente contendo pó aquecido do material de impressão, 2 – Plataforma de construção, 3 – Rolo para distribuição do pó, 4 – Fonte de laser pulsado.	41
Figura 11 - Representação esquemática do processo de impressão por adição de lâminas.	42
Figura 12 – Representação esquemática do processo de deposição com energia direcionada. 1 – Câmara sob alto vácuo, 2 – Feixe de elétrons de alta energia.	43
Figura 13 - Representação esquemática do processo de impressão por FDM. 1 - Plataforma, 2 – Rolo de filamento, 3 – Mecanismo de alimentação de material, 4 – Bico extrusor aquecido, 5 – Objeto impresso.	44
Figura 14 – Modelos mais comuns de movimentação de cabeçote de impressão em impressoras do tipo FDM cartesiana (A) e delta (B).	45
Figura 15 – Equipamentos impressos via FDM, moinho de bolas (A), micromanipulador (B), centrífuga de microtubos (C), suportes de placas (D), de tubos de ensaio (E), agitador magnético (F) e microscópio (G).	46
Figura 16 - Publicações envolvendo a busca por “3D printing” na base de dados Science Direct. Data da pesquisa 13/02/2019.	48
Figura 17 – (A) Representação esquemática do equipamento construído, indicando as partes do mesmo. (B) Fotografia da versão final do puxador de micropipetas montado.	53
Figura 18 – (A) Imagem da extremidade da micropipeta de vidro com o micro fio de platina inserido. (B) Após o processo de selagem térmica com parte do fio ainda exposto. (C) Após o polimento, exibindo a seção transversal do micro fio de $25 \mu\text{m}$ de diâmetro.	55
Figura 19 – (A) Arranjo montado do posicionador fabricado. (B) Arranjo com os microeletrodos de trabalho e referência.	56

Figura 20 - Primeira versão do adaptador para micropipeta eletrônica. (A) Visão geral e sistema de conexões dos microeletrodos de trabalho, referência e auxiliar. (B) Entrada para micropipeta, peça para rosqueamento e encaixe dos microeletrodos no capilar de vidro. (C) Arranjo dos microeletrodos: referência (R), trabalho (W) e auxiliar (X).	58
Figura 21 – Visão geral, detalhe e seção longitudinal do adaptador para micropipetas construído. (A) Conjunto de microeletrodos de trabalho e pseudo referência Ag/AgCl _(sat) , (B) furo para inserção dos microeletrodos, (C) silicone acético para vedação, (D) ponteira plástica, (E) micropipeta eletrônica e (F) furo para inserção da micropipeta eletrônica. Fotografia do dispositivo em sua atual versão, conectado à ponteira e à micropipeta.	59
Figura 22 – Detalhe da montagem dos eletrodos de trabalho e pseudo-referência no adaptador, mostrando a medida aproximada do conjunto.	60
Figura 23 – Impressão teste para avaliar vários formatos de encaixe entre a ponteira e o adaptador.	61
Figura 24 – Esquema mostrando algumas das diferenças entre a segunda e a terceira versões do dispositivo.	61
Figura 25 – Teste de reprodutibilidade de fabricação das micropipetas de vidro utilizadas para confecção de microeletrodos.	64
Figura 26 - Esquema para a medição dos capilares mostrando o raio (r^{cap}) e a espessura (e^{vidro}) originais do capilar, comprimento da ponta e partes do capilar de vidro após estiramento.	64
Figura 27 – Imagem no microscópio Olympus BX51, da área superficial de alguns dos microeletrodos fabricados, as medidas são indicadas em micrômetros.	66
Figura 28 - Voltamogramas cíclicos do $K_3Fe(CN)_6$ em KCl 0,25 mol L ⁻¹ nas concentrações de 0 mmol L ⁻¹ (a) 1,2 mmol L ⁻¹ (b) 2,01 mmol L ⁻¹ (c) 3,04 mmol L ⁻¹ (d), 4,02 mmol L ⁻¹ (e), 5 mmol L ⁻¹ (f) para determinação do raio dos microeletrodos. Condições: velocidade de varredura 50 mV s ⁻¹ , microeletrodo de trabalho - platina (A) e ouro (B), pseudo-referência - Ag/AgCl _(sat)	67
Figura 29 - Voltamogramas cíclicos para catecol à 12 mmol L ⁻¹ em diferentes solventes. Condições: Microeletrodo de trabalho - Pt, referência - Ag/AgCl _(sat) e auxiliar - Pt, velocidade de varredura de 100 mV s ⁻¹ . As letras (a – f) indicam os múltiplos ciclos de varredura.	69
Figura 30 - (A) Voltamogramas de onda quadrada para o estudo da amplitude da onda variando de 5 mV (a) a 150 mV (t) para a determinação de catecol em 20 µL de solução. (B) Gráfico da dependência da corrente de pico pela amplitude da onda. Condições: concentração de catecol 1 mmol L ⁻¹ em HCl 0,1 mol L ⁻¹ , microeletrodo de trabalho - platina, pseudo-referência - Ag/AgCl _(sat) , frequência = 25 Hz e $E_{incremento} = 5$ mV.	70
Figura 31- (A) Voltamogramas de onda quadrada para o estudo da frequência de aplicação dos pulsos variando de 5 Hz (a) a 105 Hz (k) para a determinação de catecol. (B) Gráfico da dependência da corrente de pico pela raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos. Condições: similar ao da Figura 30 e $E_{amplitude} = 58$ mV.	71
Figura 32 - Gráfico da dependência da corrente de pico pelo incremento de potencial variando de 1 a 5 mV aplicado na determinação de catecol por voltametria de onda quadrada. Condições: similar ao da Figura 31 e Frequência = 45 Hz.	73
Figura 33 - Voltamogramas de onda quadrada e curva analítica para catecol nas concentrações de 218 µmol L ⁻¹ (a-c), 327 µmol L ⁻¹ (d-f), 436 µmol L ⁻¹ (g-i) e 545 µmol L ⁻¹ (j-l) obtida em triplicata em meio de HCl 0,01 mol L ⁻¹ . Condições: similar ao da Figura 32 e $E_{incremento} = 5$ mV.	74
Figura 34 - Voltamogramas de onda quadrada obtidos para a análise da amostra de suor sintético (a-c) e amostras fortificadas com catecol em dois níveis (327 (d-f) e 436 µmol L ⁻¹ (g-i)) Condições: similar à Figura 33.	76

Figura 35 – Voltamogramas de onda quadrada para a determinação de catecol em amostra de saliva sintética (a-d), e adições de padrão de 95 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (e-g), 189 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (h-k), 284 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (l-n) e 379 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (o-p). Condições: similar a Figura 33.	77
Figura 36 - Voltamogramas de onda quadrada para a determinação de catecol em amostra de saliva sintética dopada com 142 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de catecol (a-d), e adições de 94,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (e-g), 189 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (h-k), 284 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (l-n), 379 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (o-q) e 473 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (r-s). Condições: similar a Figura 33.	78
Figura 37 - Voltamogramas cíclicos para o ferroceno 10 mmol L^{-1} em 10 μL dos solventes (acetonitrila, acetona, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, metanol e n-hexano) em um microeletrodo de ouro sem a presença de eletrólito suporte. As letras indicam os ciclos consecutivos.	79
Figura 38 - Voltamogramas cíclicos e curva analítica corrigida pela área dos microdiscos em meio de DMF para a construção de uma curva analítica para ferroceno nas concentrações de 0 mmol L^{-1} (a), 1 mmol L^{-1} (b), 2 mmol L^{-1} (c), 3 mmol L^{-1} (d), 4 mmol L^{-1} (e) e 5 mmol L^{-1} (f). Condições: microeletrodo de trabalho de ouro (A) e platina (B) e pseudo-referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$. Eletrólito suporte: TBATFB 0,25 mol L^{-1} . Velocidade de varredura 0,1 V s^{-1}	81
Figura 39 - Voltamogramas cíclicos para uma solução de ferroceno 10 mmol L^{-1} em dimetilformamida usando 30 microeletrodos de platina diferentes. Condições: Eletrodo de pseudo-referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, velocidade de varredura 0,2 mV s^{-1}	82
Figura 40 – (A) Voltamogramas para o estudo da amplitude da onda variando de 5 mV (a) a 115 mV (l) para a determinação de ferroceno. (B) Gráfico da dependência da área do pico pela amplitude da onda. Condições: concentração de ferroceno 1 mmol L^{-1} em DMF contendo TBATFB 0,1 mol L^{-1} como eletrólito suporte, eletrodo de trabalho de platina, pseudo-referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, frequência 25 Hz e $E_{\text{incremento}} = 5 \text{ mV}$	83
Figura 41 – (A) Voltamogramas de onda quadrada para o estudo da frequência de aplicação variando de 5 Hz (a) a 450 Hz (aj) com incrementos de 13,5 Hz dos pulsos para a análise de ferroceno. (B) Dependência da corrente de pico pela raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos. Condições: similar ao da Figura 40 e $E_{\text{amplitude}} = 75 \text{ mV}$	85
Figura 42 – (A) Voltamogramas de onda quadrada para o estudo do incremento de potencial variando de 1 mV (a) a 10 mV (j) para a análise de ferroceno. (B) Dependência da altura do pico pelo incremento de potencial. Condições: similar ao da Figura 41 e frequência = 450Hz.	86
Figura 43 – (A) Voltamogramas de onda quadrada e curva analítica obtida em meio de DMF para o branco (a) e o ferroceno nas concentrações de 41 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (b), 70 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (c), 92 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (d), 108 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (e), 122 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (f), 133 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (g) e 142 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (h) para o eletrodo de platina (A) e ouro (B). Condições: frequência de 450 Hz, Amplitude de 75 mV e incremento de potencial de 1 mV.	88
Figura 44 – Voltamogramas cíclicos de uma solução de ferroceno 10 mmol L^{-1} em dimetilformamida, para o estudo da velocidade de varredura entre 5 mV s^{-1} e 1 V s^{-1} (1-25). Condições: microeletrodo de trabalho de platina, pseudo-referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, frequência de 450 Hz, amplitude de 75 mV e incremento de potencial de 1 mV.	90
Figura 45 – (A) Gráfico de corrente limite em função do pH do tampão BR para a detecção de dopamina em um eletrodo de ouro modificado com platina. (B) Influência do tempo de deposição de platina na resposta eletroquímica da dopamina. Condições: concentração de dopamina - 5,11 mmol L^{-1} , eletrodo pseudo-referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}	92
Figura 46 – Voltamogramas cíclicos para a construção de uma curva analítica nas concentrações de 0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a), 204 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (b), 409 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (c), 613, $\mu\text{mol L}^{-1}$ (d), 818 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (e) e 1022 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (f). Condições: microeletrodo de trabalho de ouro modificado com platina, pseudo-referência $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, eletrólito suporte - tampão BR pH 4, velocidade de varredura - 50 mV s^{-1}	94

Figura 47 – (A) Voltamogramas para o estudo da amplitude da onda variando de 10 mV (a) a 100 mV (j) para a determinação de cobre. (B) Gráfico da dependência da área do pico pela amplitude da onda. Condições: Concentração de cobre $525 \mu\text{g L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de Ag/AgCl _(sat) , $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{d}} = 120 \text{ s}$, $f = 25 \text{ Hz}$, $E_{\text{incremento}} = 3 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$.	96
Figura 48 – Gráfico da dependência da área do pico de redissolução do cobre pelo potencial de deposição. Condições: Concentração de cobre $525 \mu\text{g L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de Ag/AgCl _(sat) , E_{dep} entre $-0,1 \text{ V}$ e $-1,1 \text{ V}$, $t_{\text{d}} = 120 \text{ s}$, $f = 25 \text{ Hz}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$, $E_{\text{incremento}} = 3 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$.	97
Figura 49 – (A) Gráfico da dependência da área integrada do pico de redissolução de cobre pela frequência de aplicação dos pulsos. (B) Dependência da corrente de pico pela raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos. Condições: concentração de cobre $525 \mu\text{g L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de Ag/AgCl _(sat) , $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{d}} = 120 \text{ s}$, f entre 15 e 105 Hz, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$, $E_{\text{incremento}} = 3 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$.	98
Figura 50 – (A) Voltamogramas de onda quadrada para a redissolução do cobre variando o incremento de potencial de 1 mV (a) a 9 mV (e). (B) Gráfico da dependência da área do pico em função do incremento de potencial. Condições: Concentração de cobre $525 \mu\text{g L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de Ag/AgCl _(sat) , $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{d}} = 120 \text{ s}$, $f = 85 \text{ Hz}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$.	100
Figura 51 – (A) Voltamogramas para o estudo do tempo de deposição variando de 30 s (a) a 300 s (j) para a determinação de cobre. (B) Gráfico da dependência da área do pico pelo tempo de deposição. Condições: Concentração de cobre $75 \mu\text{g L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de Ag/AgCl _(sat) , $f = 85 \text{ Hz}$, $E_{\text{incremento}} = 9 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$.	102
Figura 52 – (A) Voltamogramas de onda quadrada e (B) curva analítica para a determinação de cobre nas concentrações de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ (a), $50 \mu\text{g L}^{-1}$ (b), $70 \mu\text{g L}^{-1}$ (c), $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (d), $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (e), $300 \mu\text{g L}^{-1}$ (f) e $500 \mu\text{g L}^{-1}$ (g). Condições: Microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de Ag/AgCl _(sat) , $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{dep}} = 180 \text{ s}$, $f = 85 \text{ Hz}$, $E_{\text{incremento}} = 9 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$.	104
Figura 53 – Voltamogramas de onda quadrada e curva analítica para a determinação de chumbo nas concentrações de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ (a), $60 \mu\text{g L}^{-1}$ (b), $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (c), $120 \mu\text{g L}^{-1}$ (d), $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (e), e $180 \mu\text{g L}^{-1}$ (f). Condições: Microeletrodo de trabalho de ouro modificado com bismuto, pseudo-referência de Ag/AgCl _(sat) , $E_{\text{dep}} = -0,9 \text{ V}$, $t_{\text{dep}} = 70 \text{ s}$, $f = 90 \text{ Hz}$, $E_{\text{incremento}} = 12 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,30 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 15 \text{ s}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$.	106
Figura 54 - Voltamogramas para a amostra de água de abastecimento (a-b) e amostras fortificadas com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ (c-d) e $160 \mu\text{g L}^{-1}$ (e) de Pb^{2+} para o estudo de recuperação. Condições: Microeletrodo de ouro modificado com filme de bismuto, pseudo-referência de Ag/AgCl _(sat) , $E_{\text{dep}} = -0,9 \text{ V}$, $t_{\text{dep}} = 70 \text{ s}$, $E_{\text{limpeza}} = 0,3 \text{ V}$, $f = 90 \text{ Hz}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$, $E_{\text{incremento}} = 12 \text{ mV}$.	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Medidas longitudinais (em cm) tomadas para os capilares confeccionados através do puxador de micropipetas fabricado no laboratório.	65
Tabela 2 - Condições experimentais e instrumentais para as análises de catecol em amostras de suor e saliva sintéticas.....	74
Tabela 3 - Condições experimentais e instrumentais para as análises de ferroceno em solução de DMF.	87
Tabela 4 – Valores de recuperação para as amostras de água fortificadas.	95
Tabela 5 - Condições experimentais e instrumentais para as análises de cobre em água de abastecimento.....	103

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABS	Acrilonitrila butadieno estireno, do inglês “Acrylonitrile butadiene styrene”
ACN	Acetonitrila
ASTM	Sociedade Americana de Testes e Materiais, do inglês “American Society for Testing and Materials”
BIA	Análise por injeção em batelada, do inglês “Batch injection analysis”
BR	Britton-Robinson
CAD	Desenho assistido por computador, do inglês “Computer aided design”
DMF	N,N – Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
FDM	Modelagem por fusão e deposição, do inglês “Fused deposition modelling”
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês “High Performance liquid Chromatography”
IHP	Plano interno de Helmholtz, do inglês “Internal Helmholtz plane”
ISO	Organização internacional de Padronização, do inglês “International Standards Organization”
NASA	Administração Nacional da Aeronáutica e Espaço, do inglês “National Aeronautics and Space Administration”
OHP	Plano externo de Helmholtz, do inglês “outer Helmholtz plane”
PC	Policarbonato
PEEK	Polieteretercetona, do inglês “polyether ether ketone”
PETG	Politereftalato de etileno modificado com glicol
PLA	Ácido polilático, do inglês “polylactic acid”
PP	Polipropileno
PTFE	Politetrafluoretileno
PVA	Álcool polivinílico, do inglês “polyvinyl alcohol”

RepRap Replicação de máquinas de prototipagem, do inglês “replicating rapid prototyper”

SCARA Braço Robótico para Montagem de Conformidade Seletiva, do inglês “Selective Compliance Assembly Robot Arm”

SLA Estereolitografia, do inglês “Stereolithography”

SLS Sinterização seletiva à laser, do inglês “Selective laser sintering”

TBATFB Tetrafluorborato de tetrabutilamônio

LISTA DE SÍMBOLOS

$i_{\text{capacitiva}}$	Corrente capacitiva
$i_{\text{faradaica}}$	Corrente faradaica
i_L	Corrente limite
R_s	Resistência da solução
C_d	Capacitância da dupla camada elétrica
t	Tempo
F	Constante de Faraday
A	Área do eletrodo
D	Constante de difusão
D_r	Constante de difusão da espécie reduzida
D_o	Constante de difusão da espécie oxidada
C	Concentração
$E_{1/2}$	Potencial de meia onda
R	Constante universal dos gases
T	Temperatura absoluta
m	Coefficiente de transferência de massa
$\Delta\psi_p$	Termo de corrente adimensional
f	Frequência de aplicação de pulsos
$\bar{X}_{\text{móvel}}$	Distância de alongamento pelo lado móvel
\bar{X}_{fixo}	Distância de alongamento pelo lado fixo
μ	Potencial químico
r	Raio do microeletrodo

SUMÁRIO

PREFÁCIO.....	21
ESTRUTURA DA TESE.....	21
1.INTRODUÇÃO.....	23
1.1 TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS	23
1.2 MICROELETRODOS	31
1.3 ELETRODOS MODIFICADOS COM FILMES METÁLICOS	35
1.4 TÉCNICAS DE IMPRESSÃO 3D	36
2. OBJETIVOS.....	49
2.1 GERAIS	49
2.2 ESPECÍFICOS	49
3. PARTE EXPERIMENTAL	50
3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES	50
3.2 MATERIAIS	50
3.3 INSTRUMENTAÇÃO	51
3.4 PUXADOR DE MICROPIPETAS DE VIDRO	52
3.5 ELETRODOS	54
3.6 FABRICAÇÃO DO POSICIONADOR PARA OS MICROELETRODOS	56
3.7 ADAPTADOR PARA MICROPIPETA.....	57
3.8 ANALITOS E AMOSTRAS PARA AS PROVAS DE CONCEITO	62
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	63
4.1 CONSTRUÇÃO DOS MICROELETRODOS	63
4.2 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS MICROELETRODOS	67
4.3 PROVAS DE CONCEITO PARA O ADAPTADOR DESENVOLVIDO.....	68
4.3.1 Catecol	68
4.3.2 Ferroceno	79
4.3.3 Dopamina.....	91
4.3.4 Cobre.....	95
4.3.5 Chumbo.....	105
5. CONCLUSÃO.....	108
5.1 PERSPECTIVAS	109

REFERÊNCIAS.....	111
APÊNDICE.....	122
PRODUÇÃO CIENTÍFICA	122
TRABALHOS COLABORATIVOS.....	122

PREFÁCIO

No atual cenário tecnológico e científico, existe uma busca incessante pela criação, obtenção ou desenvolvimento de sistemas em escala micro e nanométrica, sejam microchips, materiais nanoestruturados, componentes eletrônicos ou ainda sistemas analíticos abrangentes.

Esse crescente interesse sobre a redução das dimensões de equipamentos, dispositivos e processos recebeu uma grande ajuda nas últimas décadas, devido à recente expansão da manufatura aditiva ou tecnologia de impressão tridimensional (3D). Tudo isso levou ao fortalecimento e a consolidação de uma interessante linha de pesquisa dentre as diversas ramificações da ciência, em especial na química analítica: a miniaturização.

A construção de dispositivos de pequeno porte, além de ser interessante economicamente, também é interessante do ponto de vista ambiental e produtivo, com pequenos custos de produção e com a possibilidade de utilizar materiais biodegradáveis.

A manufatura aditiva, ou a impressão 3D, ganhou grande atenção na manufatura, porque permite criar diretamente projetos 3D a partir de um arquivo de desenho auxiliado por computador (CAD). A tecnologia evoluiu de uma abordagem de prototipagem rápida para um método de fabricação.

A obtenção de dispositivos e aparelhos de baixo custo e ambientalmente seguros é benéfica, porque possibilita alcançar regiões onde não há pesquisa devido à falta de recursos. Dispositivos miniaturizados tornam possíveis várias etapas analíticas como a amostragem, a extração, pré-tratamento de amostra, a pré-concentração, a separação e a detecção por exemplo em um único dispositivo.

O impacto deste tema é tão grande que vários periódicos o trazem, como o *Lab on a Chip* e o *Nano Letters*, ambos com um alto índice de impacto, mostrando a importância do tema na atualidade e uma tendência a longo prazo à manutenção desta influência na ciência.

ESTRUTURA DA TESE

Esta tese foi estruturada em 6 capítulos. No capítulo 1 é apresentada uma revisão sobre os diversos temas envolvidos no desenvolvimento do trabalho. Inicialmente, um resumo das técnicas eletroquímicas utilizadas e suas particularidades. Também serão tratados aspectos

teóricos e práticos do uso e construção de microeletrodos, assim como uma rápida descrição dos principais métodos de modificação de microeletrodos com filmes metálicos. No final do capítulo, é apresentada uma revisão sobre os métodos de manufatura aditiva, com ênfase no processo de manufatura por fusão e deposição, trazendo aplicações na ciência e na química analítica.

O capítulo 2 descreve os principais objetivos desta tese, enquanto o capítulo 3 contém uma descrição dos reagentes, materiais, instrumentação, informações detalhadas da construção dos equipamentos, do suporte para análises em gota suspensa e do adaptador para micropipetas, e também traz considerações sobre os analitos e procedimentos de preparo das amostras utilizadas para os testes de conceito descritos no trabalho.

O capítulo 4 trata dos resultados da construção dos microeletrodos, caracterizações realizadas, aplicações, estudos preliminares e otimizações das condições para as análises eletroquímicas.

A conclusão está apresentada no capítulo 5, onde são tratadas também as perspectivas e os desdobramentos possíveis para dar continuidade à este trabalho.

O capítulo 6 traz as contribuições relativas à produção de artigos completos publicados no período de desenvolvimento deste trabalho.

1.INTRODUÇÃO

1.1 TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS

As técnicas voltamétricas são um grupo de técnicas interfaciais que envolvem aplicação de um potencial controlado ao longo do tempo em uma célula eletroquímica, promovendo uma reação na interface do eletrodo com a solução analisada. As várias formas de aplicação do potencial ao longo do tempo, são o que tornam cada uma das técnicas voltamétricas única e com características bem definidas. Para tanto são utilizados, no arranjo experimental convencional, três eletrodos: trabalho, referência e auxiliar. Através da polarização do eletrodo de trabalho torna-se possível a ocorrência de reações redox. Tais reações, ao se processarem, geram uma transferência de carga do eletrodo para a solução ou vice-versa, e essa transferência de carga gera uma corrente elétrica, que é registrada em função do tempo, ou em função do potencial aplicado.

É importante destacar neste ponto a existência de dois tipos principais de corrente distintas, que podem surgir ao polarizar um eletrodo: As correntes faradaica e capacitiva. A corrente faradaica é aquela que possui intensidade proporcional ao número de espécies químicas eletroativas na interface eletrodo/solução, ou seja, à sua concentração em solução. A corrente capacitiva por outro lado não guarda uma relação com a concentração de espécies químicas eletroativas, mas é proveniente da aproximação de cargas opostas quando há a aplicação de um potencial elétrico sobre uma superfície eletródica (dupla camada elétrica). Esta corrente, apesar de indesejada, não pode ser eliminada do sistema. Algumas medidas, entretanto, podem ser tomadas para diminuir ao máximo a influência da mesma como, por exemplo, a utilização de microeletrodos, ou o uso de técnicas de pulso. Essas últimas permitem a amostragem da corrente em pontos distintos, onde ocorre uma diferenciação natural das correntes capacitiva e faradaica, uma vez que o perfil de decaimento das mesmas é diferente: a corrente capacitiva decai segundo a Equação 1 e a corrente faradaica segundo a Equação 2 (Bard, 1980):

$$i_{capacitiva} = \frac{E}{R_s} e^{-t/R_s C_d}$$

Equação 1

$$i_{faradaica} = \frac{nFAD^{1/2}C}{\pi^{1/2}t^{1/2}}$$

Equação 2

Onde E é o potencial do eletrodo, R_s é a resistência da solução entre os eletrodos de trabalho e referência, t é o tempo, C_d é a capacitância da dupla camada elétrica, n é o número de elétrons envolvidos, F é a constante de Faraday, A é a área do eletrodo, D é a constante de difusão da espécie e C é a concentração da espécie química envolvida.

A partir das equações Equação 1 e Equação 2 podemos constatar a natureza exponencial do decaimento da corrente capacitiva, enquanto observa-se um decaimento segundo uma raiz quadrada para a corrente faradaica. Após um período curto (usualmente cerca de 20 μ s) a corrente capacitiva decai 95 % do seu valor original em $t = 0$, portanto após esse período a corrente é praticamente decorrente do processo redox que acontece na superfície do eletrodo. A curva que descreve a dependência dessa corrente com o potencial é chamada voltamograma. (Bard, 1980)

Como já descrito anteriormente, a geração de uma corrente num sistema depende das reações redox ocorrendo na interface eletrodo/solução, entretanto essas reações são limitadas pelo transporte de substâncias eletroativas para esta mesma interface, tais processos são denominados transportes de massa e podem ocorrer de três diferentes formas numa célula eletroquímica: migração, convecção e difusão.

A migração está associada ao movimento dos íons sob a ação do campo elétrico gerado ao polarizar o eletrodo. A convecção é o movimento do líquido como um todo. Naturalmente este movimento é influenciado por fatores como diferenças de densidade e de temperatura. Nas células voltamétricas geralmente ocorre o processo de convecção forçada, onde a convecção é impulsionada por uma força motriz externa como um agitador mecânico, magnético, bomba peristáltica, eletrodo rotativo, etc. A difusão ocorre devido à diferença de potenciais químicos (μ) em diferentes pontos de um determinado volume de solução e é o mecanismo responsável pelo movimento de íons ou espécies neutras. Em uma célula eletroquímica, as reações de oxirredução ocorrem apenas na interface eletrodo/solução, consumindo o reagente nesta região e tornando sua concentração menor quando comparada com aquela do seio da solução, gerando portanto um gradiente de concentração em direção ao eletrodo. (Bard, 1980)

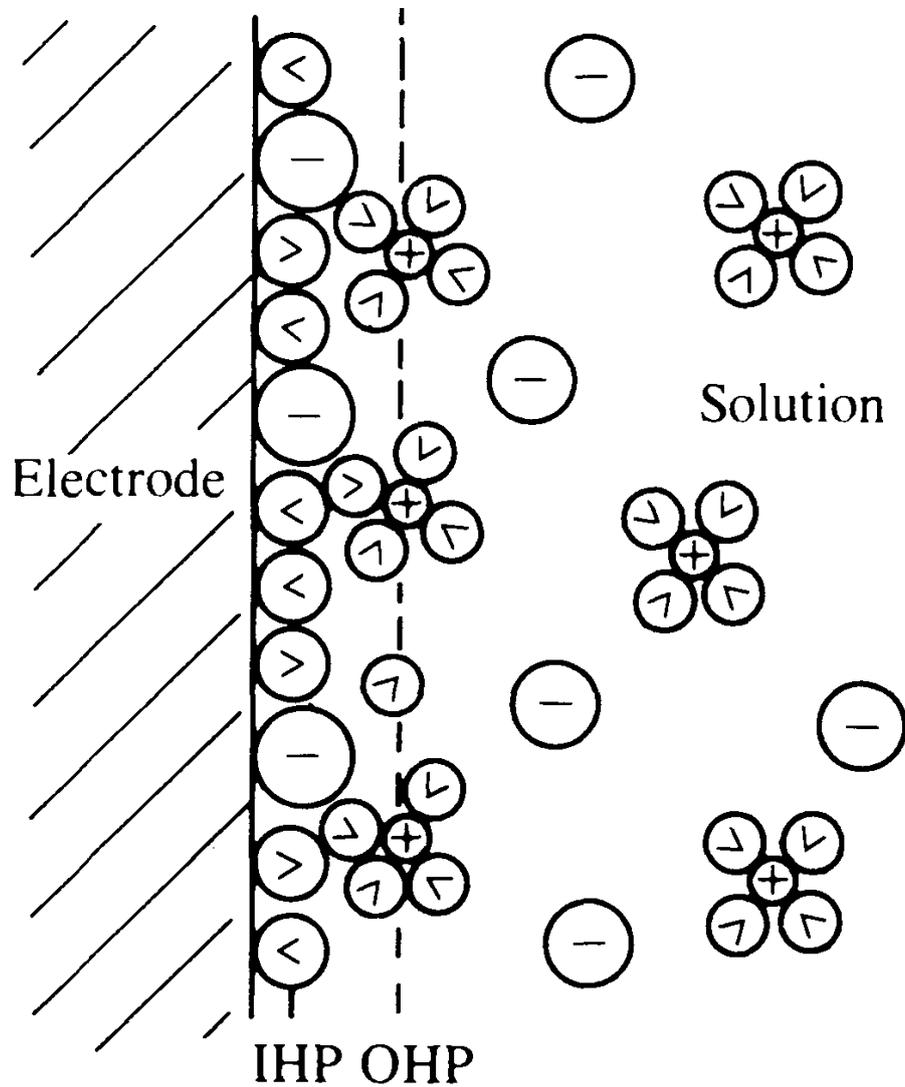
Apesar da existência de três tipos de transporte de massa nas células eletroquímicas, o único que mantém uma relação de proporcionalidade com a concentração das espécies eletroativas é o transporte difusional. Por este motivo, existe uma necessidade de minimizar a contribuição dos demais para a corrente total do sistema.

Uma forma simples e direta de minimizar a convecção é manter a solução em repouso. A migração das espécies de interesse pode ser reduzida à um patamar mínimo através da adição de um eletrólito não eletroativo (eletrólito suporte) em concentração elevada (cerca de 100 vezes maior que a da espécie eletroativa). A adição do eletrólito traz ainda outros benefícios como a diminuição da resistência da solução, diminuindo o efeito da queda ôhmica entre o eletrodo de trabalho e o de referência, melhorando assim o controle do potencial. (Bard, 1980)

Um efeito direto da migração quando um eletrodo é polarizado é a formação da dupla camada elétrica. Esta dupla camada elétrica se comporta experimentalmente como um arranjo de capacitores de placas paralelas, formada, de um lado pelo eletrodo carregado, e pelo outro lado de íons de carga oposta em solução. Diferentemente da superfície eletródica, a solução tem seu comportamento descrito como sendo formada de diferentes camadas de íons, mais precisamente três regiões.

A Figura 1 ilustra o modelo de Bockris, Devanathan e Müller para a região interfacial entre o eletrodo e a solução. Nela podemos visualizar uma primeira camada, diretamente sobre a superfície do metal carregado: é a chamada camada compacta. Esta camada contém íons do solvente ou outras moléculas especificamente adsorvidas, sem mobilidade; à esta primeira camada dá-se também o nome de plano interno de Helmholtz (IHP). Mais externamente, uma segunda camada (camada difusa), mais larga, é formada por íons solvatados que ficam mais afastados do eletrodo, esses íons interagem eletrostaticamente com a superfície do eletrodo e formam o chamado plano externo de Helmholtz (OHP) que é a região de fronteira entre as camadas compacta e difusa. Esta última se estende até uma terceira camada, o seio da solução (representado pelos traços horizontais), onde o eletrodo não apresenta influência sobre as espécies presentes. A concentração de analito na camada difusa é proporcional à concentração de analito no seio da solução, o que tem a importante consequência de proporcionar um aspecto analítico quantitativo na medida de corrente gerada pela interação do analito com o eletrodo. (Bard, 1980)

Figura 1 – Representação da região interfacial entre eletrodo e solução segundo modelo de Bockris, Devanathan e Müller.

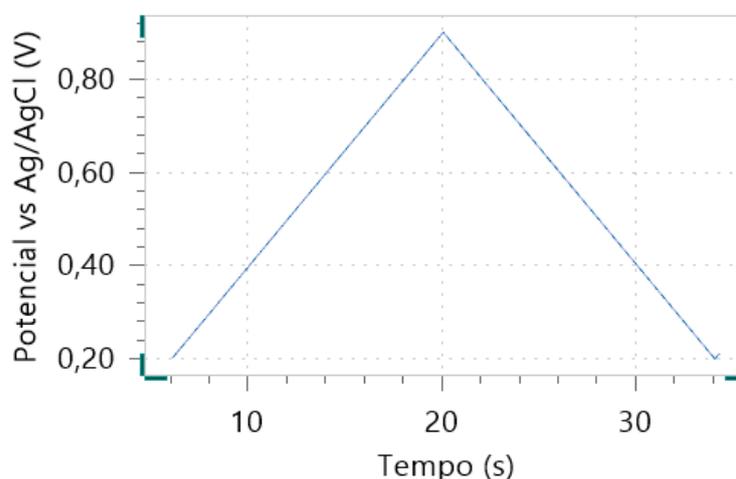


Fonte: Adaptado de Brett *et al.* (Bockris *et al.*, 1963; Brett, 1994)

A escolha da forma de aplicação do potencial é o que permite sob certa perspectiva, o controle sobre os processos redox. Na voltametria cíclica, o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho tradicionalmente varia de forma linear, segundo uma onda triangular, entretanto mais recentemente também sob a forma de uma onda quadrada (Mann *et al.*, 2014), na forma semi-circular (Uchida *et al.*, 2018) e como uma cossenoide. (Uchida *et al.*, 2017), todas sobrepostas à onda triangular.

Nas técnicas de varredura de potencial, como são os casos da voltametria de varredura linear e voltametria cíclica, a corrente que flui no sistema é monitorada enquanto o potencial é variado em função do tempo entre valores pré-estabelecidos (Figura 2). Na voltametria cíclica, o potencial inicial é escolhido geralmente onde não existe atividade eletroquímica, ou seja, onde não se processam reações redox, e o potencial final onde o processo redox é regido pelo transporte de massa, em seguida o potencial retorna ao valor inicial, completando um ciclo do voltamograma cíclico.

Figura 2 - Perfil de aplicação de potencial para um experimento típico de voltametria cíclica.

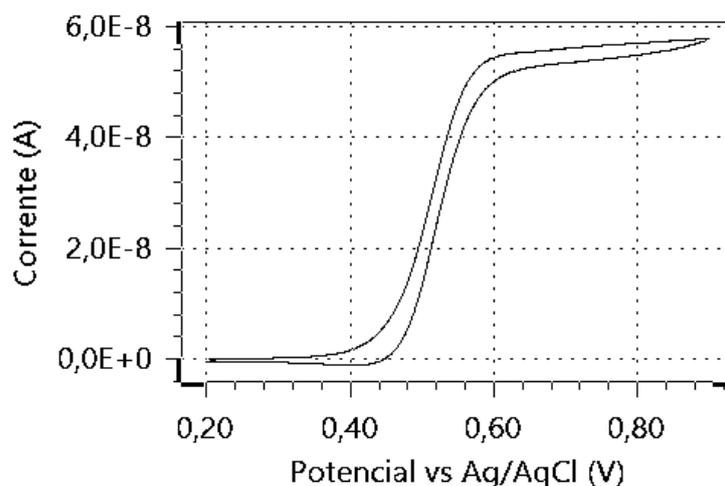


Fonte: Elaborado pelo autor

A técnica, além de versátil, é rápida e possibilita o estudo do número de elétrons envolvidos numa reação, reversibilidade, mecanismos de reações, existência de reações acopladas, quantificações e ainda é uma ferramenta exploratória, para investigar a existência de processos redox de novas substâncias. (Brett, 1994)

É importante perceber que o perfil de resposta dos microeletrodos é diferente daquele dos eletrodos de tamanhos convencionais. Não apenas a magnitude de corrente é menor devido à diminuição da área eletroativa, como também o fato de a corrente atingir um estado estacionário (sigmoide) (Figura 3) e não a forma de um pico, dadas as alterações no transporte de massa que levam a soluções distintas para as equações de difusão de Fick.

Figura 3 - Voltamograma cíclico típico para um microeletrodo de disco para uma solução contendo ferroceno a 10 mmol L^{-1} em DMF contendo TBATFB à $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$.



Fonte: Elaborado pelo autor

Este estado estacionário é resultado do transporte de massa diferenciado existente nos microeletrodos. O perfil hemisférico da camada de difusão se expande até o seio da solução, neste sentido, a quantidade de espécies eletroativas que difundem para a superfície do eletrodo de trabalho é definida pelo volume do hemisfério, ao contrário dos eletrodos macrométricos, onde a difusão é planar. Para uma reação reversível que se processa num microeletrodo, a Equação 3 descreve a forma esperada do voltamograma (Brownson e Banks, 2014)

$$E = E_{1/2}^{rev} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{i_L - i}{i} \quad ; \quad E_{1/2}^{rev} = E^{0'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{D_R^{1/2}}{D_O^{1/2}}$$

Equação 3

Onde $E_{1/2}^{rev}$ é o potencial de meia onda, i_L é a corrente limite, R é a constante universal dos gases, T é a temperatura absoluta, n é o número de elétrons envolvidos, F é a constante de Faraday, D_R e D_O são os coeficientes de difusão da espécie reduzida e oxidada, respectivamente.

Uma vez que a razão entre os coeficientes de difusão é próxima da unidade, $E_{1/2}^{rev}$ é uma boa aproximação de $E^{0'}$ para um sistema reversível.

Uma resposta linear é esperada entre E e $\ln \frac{i_L - i}{i}$, se o processo é reversível, entretanto um método mais direto para avaliar a reversibilidade, é o critério de Thomeš,

$|E_{3/4} - E_{1/4}| = \frac{56,4}{n} \text{ mV}$ à 25°C onde $E_{3/4}$ e $E_{1/4}$ são os potenciais onde as correntes são $\frac{3}{4}$ e $\frac{1}{4}$ da corrente limite, respectivamente. (Bard, 1980)

Outro importante parâmetro a ser considerado, especialmente para fins analíticos é a corrente limite (i_L). Na voltametria cíclica os transportes de massa por convecção e migração são eliminados pela ausência de agitação e pela adição de eletrólito suporte respectivamente, desta forma o único presente é o transporte de massa difusional. Dadas estas condições, as espécies eletroativas seguem a lei de difusão de Fick. Através de um tratamento matemático trabalhoso pode-se chegar à Equação 4, que mostra a parte independente do tempo da equação da corrente: (Ciobanu *et al.*, 2007);(Bard, 1980; Pletcher, 1991)

$$i = nFAmC$$

Equação 4

Onde i é a corrente de estado estacionário, m é o coeficiente de transferência de massa (igual a $\frac{4D}{\pi r}$ para microdiscos), n o número de elétrons envolvidos na reação, F a constante de Faraday, D o coeficiente de difusão da espécie ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$), C a concentração das espécies eletroativas no seio da solução (mol L^{-1}), r o raio do microeletrodo (cm) e A é a área do microeletrodo (cm^2).

Uma vez determinada a corrente limite, a mesma pode ser utilizada para quantificações, haja vista que é proporcional à concentração das espécies eletroativas. Também pode ser avaliado o número de elétrons envolvidos, estabelecer a constante de difusão e o raio do microeletrodo.

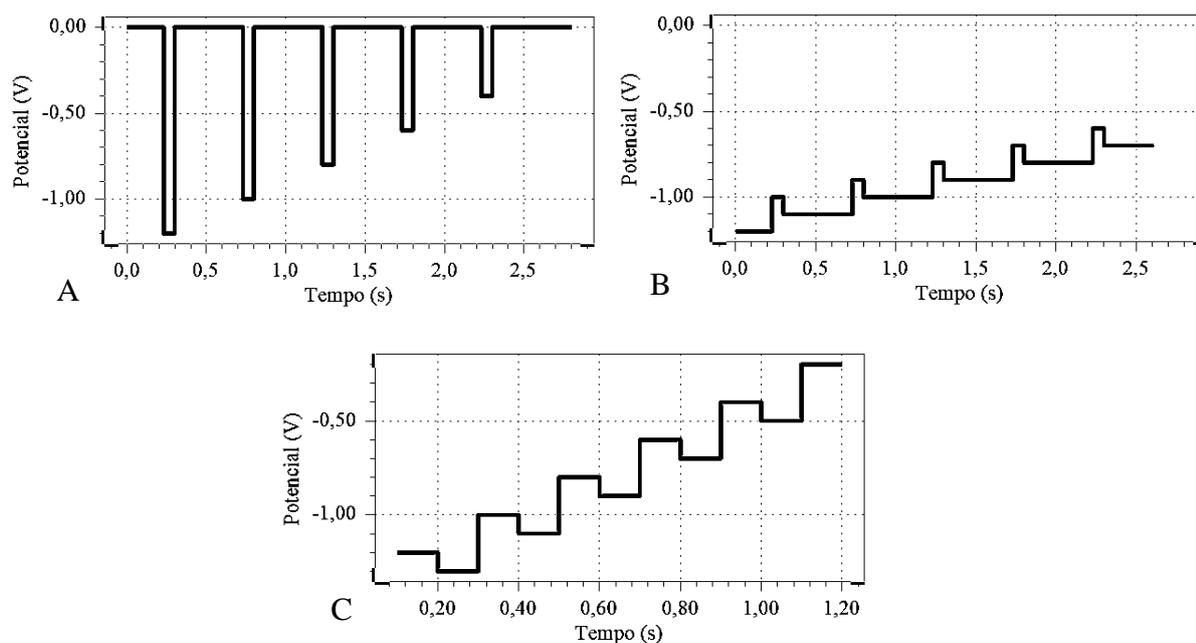
Dentre as inúmeras aplicações da técnica de voltametria cíclica utilizando microeletrodos tem-se a determinação de acidez livre em azeites (Baldo *et al.*, 2016) e a determinação de peróxido de hidrogênio em tecido cerebral através do uso de um microeletrodo de fibra de carbono (Sanford *et al.*, 2010). Outras aplicações envolvem diferentes técnicas analíticas, mas fazem o uso da voltametria cíclica para estudos preliminares de caracterização de microeletrodos. (Wang *et al.*, 2014);(Zhang *et al.*, 2017)

Conforme mencionado anteriormente, a forma de aplicação do potencial sobre o eletrodo de trabalho é o fator determinante de cada uma das diferentes técnicas voltamétricas. Foi visto anteriormente que a forma de aplicação do potencial na voltametria cíclica tem tradicionalmente a forma de uma onda triangular. A fim de aumentar a velocidade e a

sensibilidade das técnicas voltamétricas, foram desenvolvidos outros padrões de aplicação de potencial, através da inclusão de pulsos de potencial, ao invés de apenas uma rampa. Várias são as formas possíveis de aplicação destes pulsos, sendo três mais utilizadas: o pulso normal, o pulso diferencial e a onda quadrada.

A técnica de voltametria de pulso normal usa uma série de pulsos com amplitude crescente (ou decrescente), sobreposta a um potencial de base fixo a fim de realizar uma varredura de potencial (Figura 4A). A amostragem da corrente é realizada no final do período do pulso, para que ocorra a diferenciação da corrente faradaica.

Figura 4 - Perfis de aplicação de potencial nas voltametrias de pulso normal (A), pulso diferencial (B) e onda quadrada (C).



Fonte: Elaborado pelo autor

A técnica de pulso diferencial também realiza uma varredura de potencial. Entretanto, o potencial de base é variado, e não a amplitude dos pulsos, que têm a mesma magnitude nesta técnica (Figura 4B). A amostragem da corrente é realizada em dois momentos, diferentemente da voltametria de pulso normal, sendo medida antes da aplicação e no final do período do pulso. Tal método permite a diferenciação da corrente capacitiva da corrente faradaica, a diferença entre elas é disposta num voltamograma.

Por fim, a voltametria de onda quadrada consiste na aplicação de uma onda simétrica de amplitude constante, sobreposta à uma rampa de potencial, (variação linear em função do tempo) (Figura 4C). A voltametria de onda quadrada é caracterizada por três principais componentes: a frequência de aplicação do pulso, a amplitude de cada pulso e o incremento de potencial para a varredura. A aplicação desse tipo de pulso permite a aquisição das correntes dos processos direto e reverso e a corrente medida pode ser descrita pela seguinte Equação 5 (Bard, 1980):

$$\Delta i_p = \frac{nFAD_O^{1/2}C_O}{\pi^{1/2}t_p^{1/2}} \Delta\psi_p$$

Equação 5

Onde Δi_p é a diferença das correntes amostradas nos processos direto e reverso, t_p é o tempo de aplicação do pulso, $\Delta\psi_p$ é o termo de corrente adimensional, gerado a partir da subtração dos pares de amostragens em cada onda quadrada, n o número de elétrons envolvidos na reação, F a constante de Faraday, D o coeficiente de difusão da espécie, C_o a concentração das espécies eletroativas no seio da solução e A é a área do microeletrodo.

Para um sistema reversível, percebe-se através da Equação 5 que a corrente aumenta linearmente com a raiz quadrada da frequência ($f = 1/t_p$) com a conseqüente melhora na sensibilidade da análise.

1.2 MICROELETRODOS

Na química eletroanalítica em especial, a miniaturização é um processo em contínuo desenvolvimento, onde muita pesquisa já tem sido direcionada, desde a fabricação de microeletrodos (Tsai *et al.*, 1997; Oni *et al.*, 2001; Lowinsohn *et al.*, 2006; Davis *et al.*, 2007; Huan *et al.*, 2012; Belowitz e O'donnell, 2013), na microfluídica para análises em fluxo (Gu *et al.*, 2013; Cerqueira *et al.*, 2014; Kang *et al.*, 2014; Cerqueira *et al.*, 2015) e também em microssistemas totais de análise, que também recebem grande atenção e são tema de diversos trabalhos. (Greenway *et al.*, 1999; Xu *et al.*, 2009; Ríos *et al.*, 2013)

O uso de microeletrodos está amplamente difundido no meio científico e a aplicação do mesmo para diversos tipos de análises químicas também tem sido bastante explorada (Zestos *et al.*, 2013; Jiang *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2014; Chu *et al.*, 2015; Hébert *et al.*, 2015; Mahé *et al.*, 2015; Ng *et al.*, 2015; Zdrachek *et al.*, 2015), uma vez que a miniaturização está cada vez mais presente no cotidiano.

Microeletrodos são definidos, de maneira geral e simplista, como eletrodos que apresentam um tamanho micrométrico (pelo menos uma de suas dimensões). Apesar de parecer pouco, o simples fato de reduzir as dimensões dos eletrodos altera drasticamente as potencialidades das técnicas eletroquímicas, uma vez que em escala microscópica tem-se alterações no perfil de transporte de massa, no efeito causado pela queda ôhmica e na espessura da dupla camada elétrica. Como efeito destas mudanças tornou-se possível trabalhar em meios resistivos (como nos solventes orgânicos apolares), com volumes extremamente reduzidos, podendo inclusive ser utilizado para medidas intracelulares (Brown e Lowry, 2003; Makos *et al.*, 2009; Njagi *et al.*, 2010) e ainda em escalas de tempo reduzidas a nanosegundos, dando a oportunidade de estudar vários eventos eletroquímicos como a transferência de prótons numa reação ou ainda saída de grupos abandonadores ou reações de isomerização.

Uma das formas mais intuitivas de se entender as alterações do transporte de massa consiste em considerar dois casos: primeiramente o de um eletrodo planar de dimensões convencionais, da ordem de mm e em seguida o caso de um outro eletrodo, na ordem de μm , em uma célula eletroquímica tradicional. Para uma varredura no potencial aplicado, iniciando-se em um valor que nenhuma transferência de elétrons ocorre para uma espécie eletroativa em solução, indo em direção a um potencial que ocorre transferência de elétrons, a concentração das espécies ativas redox será reduzida na superfície do eletrodo, levando à formação de um gradiente de concentração. Quanto maior o tempo que o eletrodo permanecer num potencial suficiente para permitir a transferência eletrônica, maior será a extensão do gradiente de concentração em direção ao seio da solução. Esse gradiente induz a difusão do material eletroativo da região mais concentrada (seio da solução) para a região de menor concentração (interface eletrodo/solução). (Stulík *et al.*, 2000) Essa difusão pode ser descrita pela lei de difusão de Fick, sob diferentes formas para eletrodos de diferentes geometrias. Para eletrodos planares sob essas condições, a difusão em direção ao eletrodo é perpendicular à superfície do mesmo. Na voltametria cíclica, essas condições normalmente dão origem ao voltamograma tradicional em forma de pico.

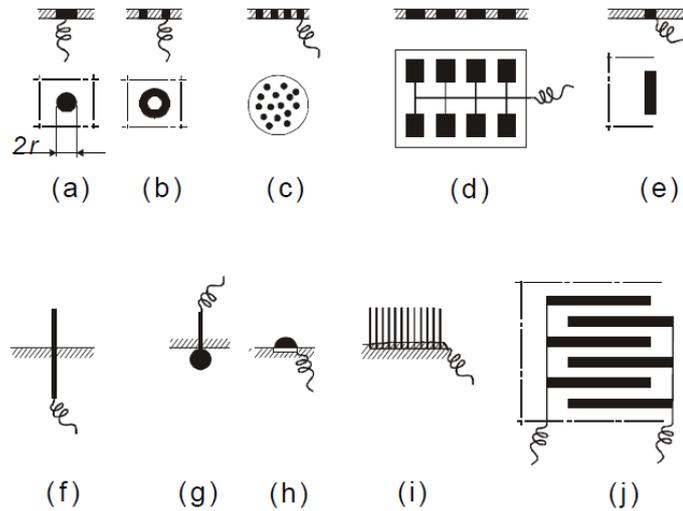
No segundo caso, com as mesmas condições experimentais, um voltamograma sigmoidal (Figura 3) é obtido, ao invés do tradicional, em forma de pico. Este é o resultado de

uma condição de estado estacionário, obtida pelo tipo de difusão que ocorre nos eletrodos micrométricos, onde a taxa de difusão é muito próxima da taxa de transferência eletrônica na superfície do eletrodo. Devido ao tamanho do eletrodo, existe uma contribuição significativa da difusão nas bordas do eletrodo para o transporte de massa, este efeito de difusão radial, permite que um fluxo maior de material chegue até a superfície do eletrodo, e portanto não gera um gradiente de concentração significativo.

Quando uma corrente de qualquer natureza flui por uma solução, ela gera um potencial intrínseco, igual ao produto dessa corrente pela resistência da solução contida entre os eletrodos de trabalho e referência. Este potencial desenvolvido (queda ôhmica) gera uma diminuição do potencial elétrico aplicado, podendo alterar o perfil voltamétrico, por exemplo, através do deslocamento de pico (Forster e Keyes, 2007). Nos microeletrodos ele é substancialmente menor que nos eletrodos de tamanho convencional, porque as correntes desenvolvidas são da ordem de nA, enquanto nos macroeletrodos são da ordem de mA, ou seja cerca de seis ordens de grandeza menores, possibilitando o uso mesmo em solventes resistivos, como já mencionado anteriormente.

No que diz respeito aos aspectos experimentais do uso dos microeletrodos, podemos destacar conceitos da obtenção/fabricação, dos tipos, materiais e algo sobre a instrumentação para a confecção dos mesmos. Alguns microeletrodos de Au, Pt, fibra de carbono e carbono vítreo, podem ser adquiridos comercialmente, entretanto, com um custo ainda relativamente elevado. Por outro lado, eles podem ser fabricados sob diferentes geometrias em laboratório como por exemplo anel, hemisférico, esférico, microbanda, cilíndrico e também combinações dos anteriores como arranjos de microeletrodos. (Figura 5)

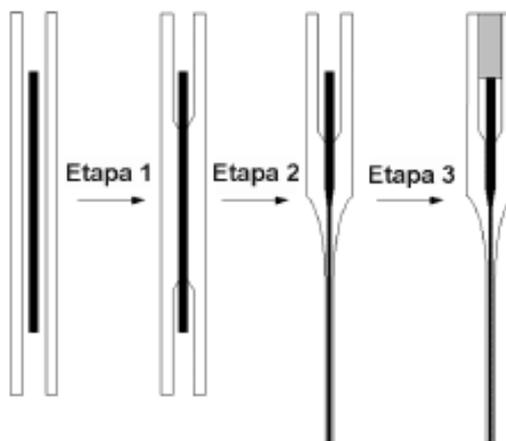
Figura 5 – Geometrias mais importantes de microeletrodos e de arranjos de microeletrodos. (a) microeletrodo de disco, (b) anel, (c) arranjo de microdiscos, (d) arranjo de microbandas construído por litografia, (e) banda, (f) cilíndrico, (g) esférico, (h) hemisférico, (i) arranjo de cilindros e (j) arranjo de bandas interdigitadas.



Fonte: Adaptado de (Stulík *et al.*, 2000)

Um dos procedimentos mais utilizados para a fabricação de microeletrodos de disco é a selagem de microfibras de carbono, ou metais (Au, Cu, Pt), dentro de um isolante apropriado como vidro ou resinas. Em linhas gerais, o processo envolve a inserção de um fio micrométrico em um capilar de vidro, em seguida o capilar é aquecido e puxado e então sela o fio, uma das extremidades é unida a um condutor metálico para estabelecer o contato elétrico com o equipamento/potenciostato para aquisição de dados e a outra, é polida para expor a fibra ou o microfio. (Figura 6)

Figura 6 - Etapas para a selagem dos microfios para a construção de um microeletrodo de disco. Etapa 1 – Processo térmico de selagem do no fio. Etapa 2 – Processo térmico e mecânico para afinamento. Etapa 3 – Processo de estabelecimento do contato elétrico.



Fonte: Adaptado de Bertotti, M. et al.(Paixão e Bertotti, 2009)

1.3 ELETRODOS MODIFICADOS COM FILMES METÁLICOS

A definição de um eletrodo quimicamente modificado é um substrato (material condutor ou semiconductor), que foi recoberto com um filme mono ou multimolecular, iônico ou polimérico, que altera as propriedades interfaciais. O substrato condutor ou semiconductor é derivado dos materiais convencionais de eletrodo, enquanto os modificadores são os mais variados em origem e propriedades, sendo esta diversidade que amplia as possibilidades de aplicação dos eletrodos. (Edwards *et al.*, 2007)

A modificação garante o controle da natureza físico-química da superfície eletródica, alterando a reatividade, seletividade, capacidade adsorptiva, taxa de transferência eletrônica, ampliando a janela de potencial, possibilita estudos interfaciais, favorecendo assim a construção de eletrodos completamente novos. (Pereira *et al.*, 2002)

Os métodos mais usados para modificação de superfícies incluem a adsorção irreversível, por ligação covalente, através do recobrimento com filmes poliméricos ou ainda eletrodos de pasta de carbono modificados.

A modificação através da deposição eletroquímica de metais também é bastante utilizada. A mais comum talvez seja a modificação com filme de mercúrio para a determinação

de metais traço (Vinicius De Faria *et al.*, 2018) ;(Sherigara *et al.*, 2007), mas também é possível a modificação com outros metais: ouro (Dutta *et al.*, 2019); (Wang *et al.*, 2015), prata (Inoue *et al.*, 2018; Smajdor *et al.*, 2018), platina (Chou *et al.*, 2018) e mais recentemente a troca do filme de mercúrio, pelos filmes de bismuto (Tyszczyk-Rotko *et al.*, 2018) ;(Domańska e Tyszczyk-Rotko, 2018; Finšgar *et al.*, 2019), estanho (Czop *et al.*, 2011) ;(Lee *et al.*, 2015) e antimônio (Tesarova *et al.*, 2009); (Serrano *et al.*, 2016), que são menos tóxicos ao analista e ao meio ambiente.

De uma maneira geral, a deposição de filmes metálicos é feita através da aplicação de um potencial suficientemente redutor, com o eletrodo imerso em uma solução contendo íons do metal a ser depositado e, através da aplicação deste potencial, os íons em solução são reduzidos à sua forma metálica, sendo adsorvidos ao eletrodo. (Gerent *et al.*, 2015)

Os filmes metálicos, especialmente aqueles de bismuto, mercúrio e estanho podem ser preparados por dois diferentes processos: *Ex situ* e *in situ*. No processo *ex situ* o eletrodo é imerso em uma solução contendo o íon do metal e eletrólito suporte. Em seguida um potencial redutor é aplicado para a formação do filme metálico. O eletrodo é então, levado para a célula eletroquímica para proceder a análise. (Hutton *et al.*, 2005; Serrano *et al.*, 2010) No processo *in situ* o metal a ser depositado é adicionado à célula eletroquímica em análise, com isso o filme é depositado concomitantemente com os metais à serem analisados (Sukeri *et al.*, 2012; Gerent *et al.*, 2015).

1.4 TÉCNICAS DE IMPRESSÃO 3D

Nesta parte do desenvolvimento do trabalho serão apresentadas tecnologias capazes de gerar objetos a partir de desenhos computacionais: as chamadas técnicas de manufatura aditiva, comumente conhecidas como técnicas de impressão 3D.

Apesar da recente popularização destas técnicas, elas tiveram seu nascimento na década de 1980, com o trabalho de Hideo Kodama (Kodama, 1981), que descreveu as técnicas básicas que ele utilizou para criar peças plásticas à partir da solidificação de camadas consecutivas de um material fotopolimérico. Em 1984 Charles Hull depositou uma patente (Hull, 1984) intitulada “Apparatus for Production of Three-Dimensional Objects by Stereolithography”.

A década de 1980 foi marcada pelas invenções e depósitos de patentes de diversos métodos para a obtenção de objetos tridimensionais a partir de camadas, como foram os casos da estereolitografia do inglês “*stereolithography*” (SLA), da sinterização seletiva à laser do inglês, “*selective laser sintering*” (SLS) (Deckard, 1986) e da modelagem por fusão e deposição do inglês, “*Fused deposition modelling*” (FDM) patenteada por Scott Crump. (Crump, 1989).

Acompanhando a evolução das técnicas de impressão tridimensional, muitos trabalhos foram desenvolvidos na área de computação gráfica na década de 90, com o desenvolvimento dos computadores portáteis e a revolução causada pelos sistemas operacionais, que permitiram a popularização das técnicas de desenho assistido por computador, do inglês, *computer aided drawing* (CAD).

Os anos 2000 foram marcados pela visibilidade dos métodos de impressão 3D, especialmente advinda da queda da patente sobre a técnica de FDM, momento a partir do qual iniciativas para auto replicação de impressoras (RepRap) tornaram-se de grande proporção. A iniciativa baseia-se na impressão de partes plásticas para a confecção de uma nova impressora, facilitando ainda mais a popularização e a visibilidade da impressão 3D. (Pearce, 2014)

Nos últimos anos, a busca por inovação trouxe à tona a potencialidade das técnicas de manufatura aditiva, a partir da impressão de móveis, carros, motos, casas e até prédios valendo-se da manufatura aditiva. Essas potencialidades avançam também na área gastronômica, com a impressão de chocolates, massas, biscoitos, molhos, que podem enriquecer a experiência de se alimentar. A inovação também está presente nas áreas médica e biológica, através da possibilidade de impressão de tecidos (Chia e Wu, 2015), órgãos, próteses, órteses, moldes para odontologia (Ventola, 2014) e fármacos (Awad *et al.*, 2018). Uma infinidade de aplicações é possível, a impressão 3D portanto representa uma promessa de revolução em todas as áreas do conhecimento humano.

Fundamentalmente, todas as técnicas de manufatura aditiva partem de informações eletrônicas que descrevem modelos virtuais tridimensionais. Tais dados são produzidos em programas CAD, digitalizados a partir de objetos físicos e mais recentemente, através de várias plataformas online que disponibilizam esses arquivos. Após a obtenção do modelo tridimensional os dados são convertidos para um formato apropriado, com extensão .STL. O formato é uma aproximação da superfície da peça usando malha de triângulos, e é usado desde o surgimento das plataformas CAD. (Szilvsi-Nagy e Mátyási, 2003) Este arquivo apresenta, portanto, as coordenadas dos vértices dos triângulos e ainda um vetor normal, que orienta a face do triângulo.

Este arquivo deve ser enviado para um software que planeja o processo de adição de camadas. Esse software separa o arquivo em centenas (às vezes milhares) de camadas horizontais planas com base nas configurações programadas, e calcula a quantidade de material que será utilizado, o tempo de impressão e as rotas de deposição. Todas essas informações são agrupadas em um arquivo com a extensão .GCode, o idioma nativo da maioria das impressoras.

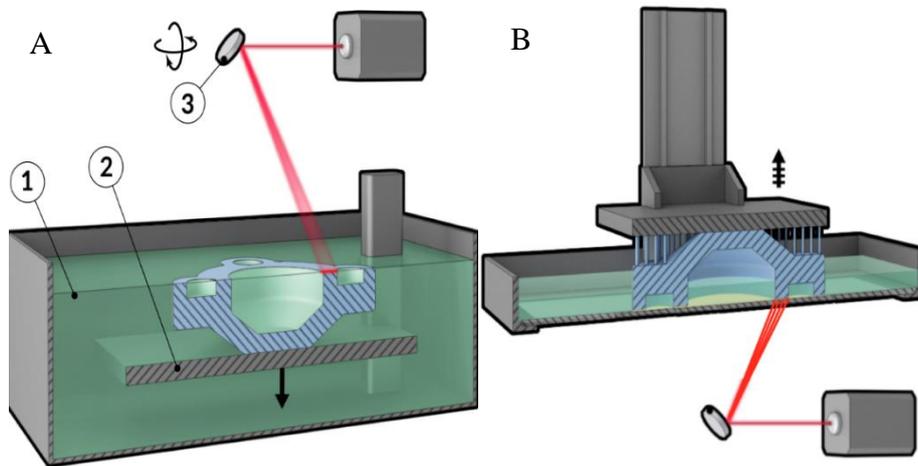
Embora o termo “Impressão 3D” seja utilizado como sinônimo de todos os processos de manufatura aditiva, existem muitos processos individuais que variam em seu método de fabricação de camadas. Os processos individuais serão diferentes dependendo do material e da tecnologia da máquina usada. Assim, em 2015, o grupo ASTM F42 - *Additive Manufacturing da American Society for Testing and Materials* (ASTM), formulou um conjunto de normas que classificam a gama de processos de manufatura aditiva em 7 categorias (Iso/Astm52900-15, 2015).

As categorias supracitadas são: Fotopolimerização em cuba, jateamento de material, jateamento de aglutinante, fusão de cama de pó, adição de lâminas, deposição com energia direcionada e extrusão de material.

A categoria de fotopolimerização em cuba inclui os métodos de estereolitografia, escaneamento vetorial, projeção de imagens entre outras. As técnicas desta categoria são baseadas no endurecimento de um polímero em uma cuba pela aplicação de um laser ou radiação na região do UV. (Rezai *et al.*, 2012)O processo da SLA é representado na Figura 7A.

Os objetos são fabricados em um tanque contendo uma resina fotopolimérica líquida (1) e uma plataforma (2) é posicionada na parte mais alta do tanque, uma camada abaixo da superfície. Um espelho móvel (3) direciona um feixe de luz UV sobre a superfície solidificando a primeira camada do objeto. A plataforma é então abaixada e a camada endurecida anteriormente é recoberta por uma fina camada de líquido, o feixe de luz é então aplicado novamente para solidificar a camada superficial, que fica colada à camada anterior. O processo se repete até a obtenção do objeto, que passa ainda por uma etapa de pós processamento, para fazer a limpeza e a remoção de suportes de construção para total solidificação em uma câmara UV. Uma variação do método envolve a elevação da plataforma, e a aplicação do laser ou imagem pelo fundo do tanque, o que garante um menor consumo de resina. (Figura 7B)

Figura 7– (A) Representação esquemática do processo de impressão estereolitográfica. (B) 1 – Resina fotopolimérica líquida, 2 – Plataforma móvel, 3 – Espelho móvel. Processo de SLA invertido.

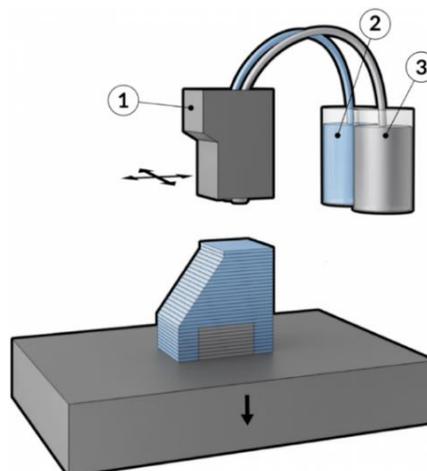


Fonte: Adaptado de Manufacturingguide.com (Manufacturingguide.Com, 2018)

A categoria de jateamento de material inclui os métodos nos quais um líquido termoplástico é adicionado à uma plataforma enquanto uma luz na região do UV realiza a polimerização. Uma representação é apresentada na Figura 8.

Figura 8 - Representação esquemática do processo de impressão por jateamento de material.

1 – Cabeçote de impressão, 2 – Recipiente contendo resina fotopolimérica líquida, 3 – Recipiente contendo cera.



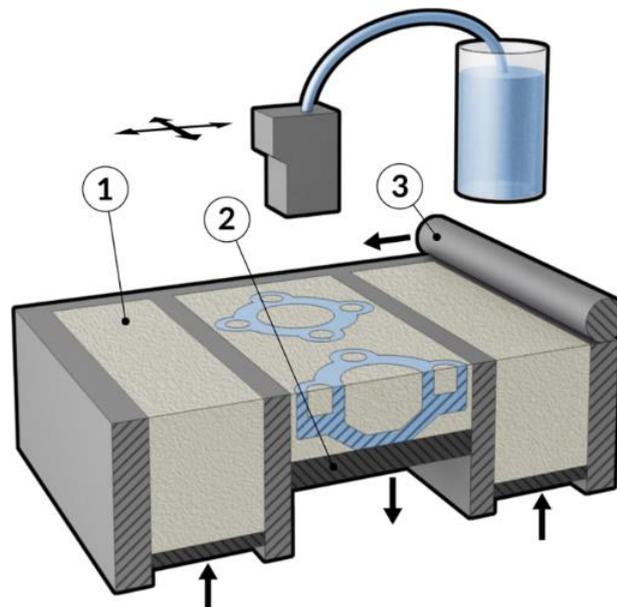
Fonte: Adaptado de Manufacturingguide.com (Manufacturingguide.Com, 2018)

No processo de impressão, uma plataforma é gradualmente abaixada e o objeto é construído através de um cabeçote de impressão (1), que alterna entre dispensar a resina fotopolimerizável (2) e uma cera (3) que funciona de material de suporte para peças com geometrias complicadas ou com partes suspensas. Após cada deposição, a resina é solidificada pela aplicação da luz UV e uma nova camada se inicia, até a completa impressão do modelo. Após o término da impressão o material de suporte é removido por aquecimento. A qualidade de acabamento é altíssima, o que minimiza a necessidade de pós processamento.

A categoria de jateamento de aglutinante (Figura 9) inclui as técnicas nas quais um aglutinante é adicionado a um material em forma de pó. No processo, um material em pó (1) é espalhado através da passagem de um rolo (3) sob a forma de uma camada fina e compacta em uma plataforma (2). O cabeçote de impressão aplica então um agente aglutinante sobre a camada superficial a fim de aglutinar o pó. O processo se repete camada por camada enquanto a plataforma é abaixada até o final da impressão. (Gibson *et al.*, 2015)

Figura 9 - Representação esquemática do processo de impressão por jateamento de aglutinante.

1 – Recipiente contendo pó do material de impressão, 2 – Plataforma de construção, 3 – Rolo para distribuição do pó.



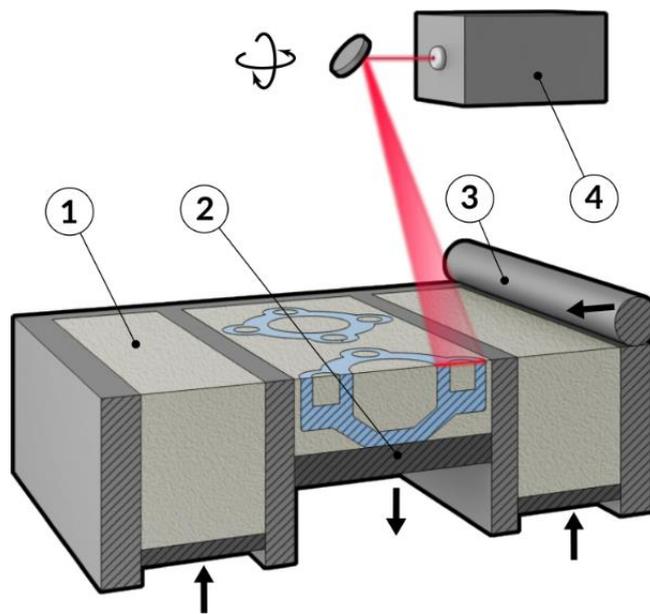
Fonte: Adaptado de Manufacturingguide.com (Manufacturingguide.Com, 2018)

A categoria de fusão de cama de pó é representada na Figura 10 a seguir, e usa uma estrutura semelhante à anterior, com uma plataforma (2) e um rolo (3) para distribuir o material

em pó (1), entretanto o pó é aquecido até próximo do ponto de fusão e um laser pulsado (4) desenha a superfície, sinterizando o material. A plataforma é então abaixada cerca de 0,1 mm ou menos e uma nova camada é construída. O processo se repete camada por camada até a construção do objeto.

Figura 10 - Representação esquemática do processo de impressão por fusão de cama de pó.

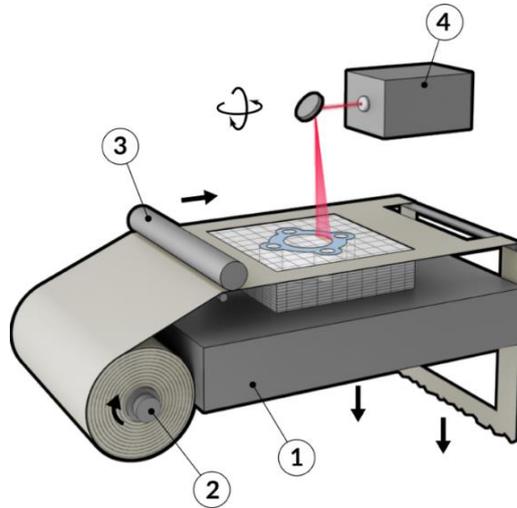
1 – Recipiente contendo pó aquecido do material de impressão, 2 – Plataforma de construção, 3 – Rolo para distribuição do pó, 4 – Fonte de laser pulsado.



Fonte: Adaptado de Manufacturingguide.com (Manufacturingguide.Com, 2018)

A categoria de adição de lâminas inclui os métodos onde sucessivas folhas de material (plástico, metal ou papel) são sobrepostas para a formação do objeto. Um esquema é geral é apresentado na Figura 11.

Figura 11 - Representação esquemática do processo de impressão por adição de lâminas.
1 – Plataforma de construção, 2 – Bobina de material, 3 – Rolo aquecido, 4 – Faca ou laser de corte.

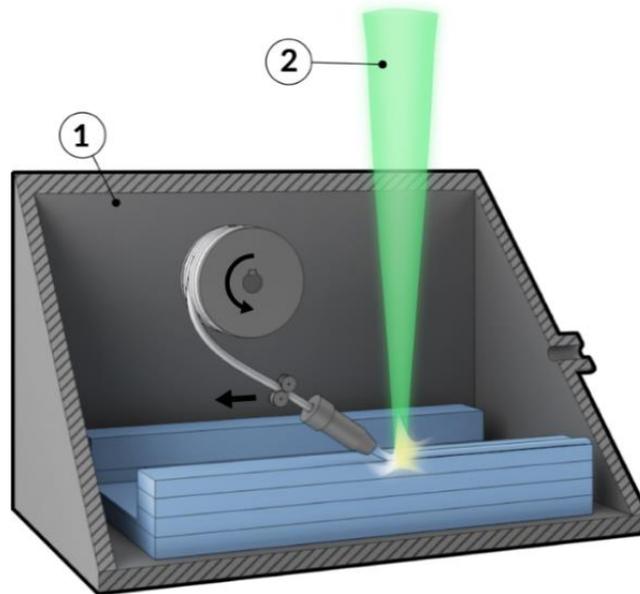


Fonte: Adaptado de Manufacturingguide.com (Manufacturingguide.Com, 2018)

A técnica de deposição com energia direcionada (Figura 12) é baseada na construção de um objeto através da fusão de um fio metálico por um feixe de elétrons de alta energia (2) em uma câmara sob alto vácuo (1). O feixe de elétrons derrete a superfície da peça de trabalho juntamente com o fio de metal. Tanto o feixe de elétrons quanto o bocal são movidos de acordo com uma seção transversal do modelo CAD para formar uma camada completa. O metal líquido solidifica assim que o feixe de elétrons é movido. Em seguida uma nova camada é construída sobre a anterior. Esta técnica não está disponível comercialmente e foi desenvolvida pela NASA para possíveis aplicações espaciais. (Tamingier *et al.*, 2006)

Figura 12 – Representação esquemática do processo de deposição com energia direcionada.

1 – Câmara sob alto vácuo, 2 – Feixe de elétrons de alta energia.



Fonte: Adaptado de Manufacturingguide.com (Manufacturingguide.Com, 2018)

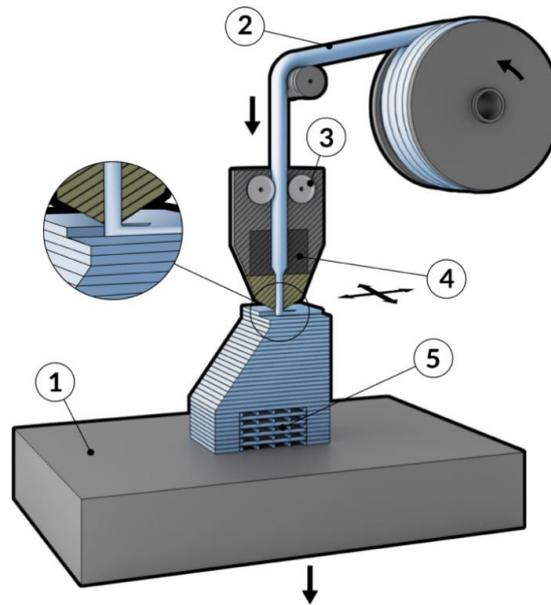
Dentre os métodos de impressão 3D, o mais popular é a FDM, a técnica desenvolvida por Scott Crump se tornou popular pela simplicidade e também graças ao projeto RepRap, que incentivou a construção de inúmeros modelos disponíveis comercialmente. A técnica é baseada na extrusão de um material, tipicamente um termoplástico por um bico extremamente fino (cerca de 0,3 mm, mas pode ter variações dependendo do material). O processo é similar ao processo de aplicação de cola quente, muito utilizado no artesanato, entretanto a aplicação é completamente computadorizada.

A Figura 13 mostra os principais componentes de uma impressora 3D do tipo FDM. Os equipamentos são de maneira geral compostos por uma plataforma que pode ou não ser aquecida (1), um rolo de filamento de um material termoplástico (2), um mecanismo de alimentação de material (3), um cabeçote de impressão contendo um bico de extrusão aquecido (4), motores para a movimentação do cabeçote de impressão e uma eletrônica que controla todo o processo.

O filamento é forçado contra o bico aquecido, ocorrendo a fusão e a extrusão do material plástico enquanto o mesmo é depositado na plataforma segundo um programa pré-estabelecido pelo software de fatiamento. Ao entrar em contato com a plataforma o material solidifica e retém sua forma. Após a fabricação da primeira camada, a plataforma se movimenta e uma nova

camada é construída sobre a anterior, o processo se repete camada por camada até a confecção completa do objeto (5). (Mohamed *et al.*, 2016)

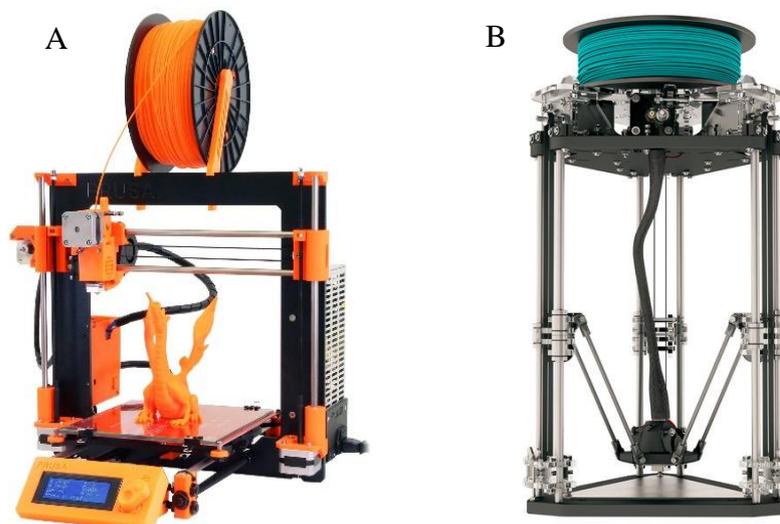
Figura 13 - Representação esquemática do processo de impressão por FDM. 1 - Plataforma, 2 – Rolo de filamento, 3 – Mecanismo de alimentação de material, 4 – Bico extrusor aquecido, 5 – Objeto impresso.



Fonte: Adaptado de Manufacturingguide.com (Manufacturingguide.Com, 2018)

A técnica de FDM apresenta uma grande versatilidade, isto pode ser visto desde a construção das máquinas, que podem apresentar diferentes tipos de movimentação, como por exemplo as cartesianas (Figura 14A) e as do tipo Delta (Figura 14B), também as menos comuns, como as do tipo SCARA e polar, cada uma com suas peculiaridades. A versatilidade se estende também aos materiais utilizados, podendo ser destacado principalmente os diferentes materiais plásticos. Por outro lado, alguns tipos específicos de impressoras têm sido desenvolvidas para trabalhar com concreto (Lim *et al.*, 2016), chocolates (Xie *et al.*, 2017; Zeleny e Ruzicka, 2017), e conforme descrito por Godoi (Godoi *et al.*, 2016) também em glacê, massas e purês de carne.

Figura 14 – Modelos mais comuns de movimentação de cabeçote de impressão em impressoras do tipo FDM cartesiana (A) e delta (B).



Fonte: https://reprap.org/wiki/RepRap_Options

Dentre os materiais plásticos mais explorados estão o polímero do ácido láctico (PLA) (Robertson e Jorgensen, 2015), o copolímero de acrilonitrila, butadieno e estireno (ABS) (Cantrell *et al.*, 2017) e o politereftalato de etileno modificado com glicol (PETG) (Szykiedans *et al.*, 2017). No entanto, outros polímeros como o álcool polivinílico (PVA) (Cataldi *et al.*, 2018), poliamida (Nylon) (Tuan Rahim *et al.*, 2015), policarbonato (PC) (Cantrell *et al.*, 2017), polipropileno (PP) (Kreiger *et al.*, 2014; Carneiro *et al.*, 2015) e polietereetercetona (PEEK) (Wu *et al.*, 2015) por exemplo também vêm sendo explorados.

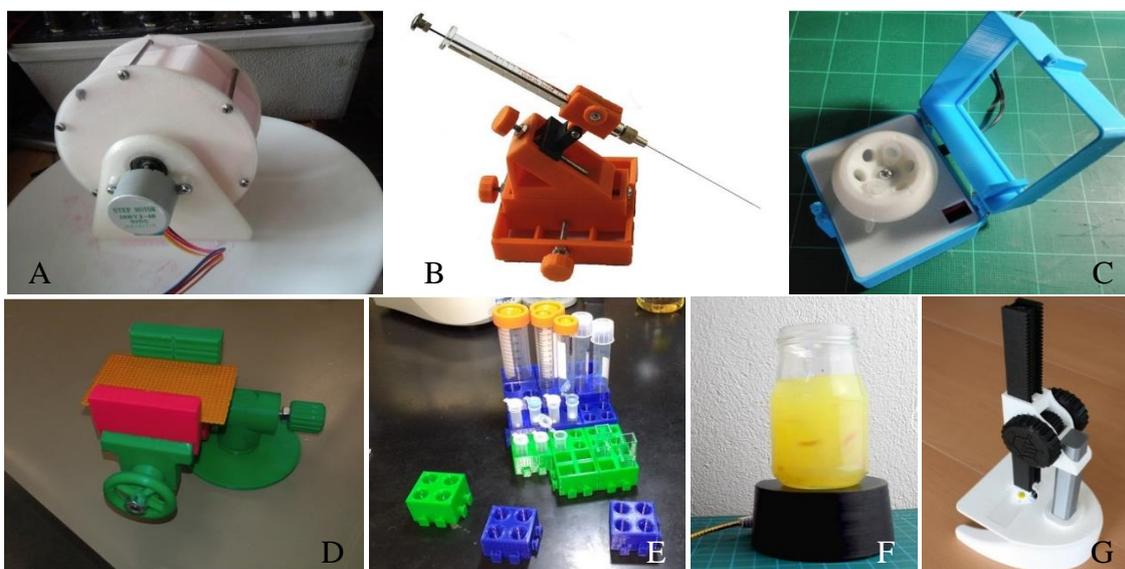
Para garantir ainda mais funcionalidade e tornar os itens impressos mais aplicáveis, uma série de aditivos são incorporados aos filamentos para gerar compósitos com características condutoras, transparência óptica, resistência térmica, estrutural, flexibilidade, dureza, etc. Os aditivos mais empregados são os pigmentos coloridos, entretanto alótropos de carbono (grafeno, fibra de carbono, nanotubos) (García-Tuñon *et al.*, 2015), metais (Prorokova *et al.*, 2014), madeira (Le Duigou *et al.*, 2016), fibra de vidro (Zhong *et al.*, 2001) e elastômeros (Zhang e Xiao, 2018) também têm sido aplicados.

Uma das características mais importantes da técnica de FDM é a sua simplicidade, quando comparada às demais técnicas de manufatura aditiva; junto a esta característica existem as vantagens da ampla gama de materiais poliméricos que podem ser utilizados, baixo custo e a possibilidade de produção de peças inteiramente funcionais.

É necessário destacar também os pontos em que a tecnologia ainda requer atenção: a precisão, especialmente nos modelos de entrada, deixa a desejar, entretanto modelos de ponta possuem resolução excelente, bem próximas daquelas oferecidas pela técnica de estereolitografia, por exemplo. Um outro ponto negativo é a necessidade de suporte para muitos modelos, esses suportes são “colunas” incorporadas ao desenho da peça que servem de sustentação de partes suspensas.

A multifuncionalidade das técnicas de FDM pode ser vista dentre as inúmeras aplicações para a construção de equipamentos comuns de laboratório como: moinho de bolas, micromanipuladores, centrífuga de microtubos, suportes de placas e de tubos de ensaio, agitador magnético e microscópio por exemplo, conforme exemplificado na Figura 15 abaixo.

Figura 15 – Equipamentos impressos via FDM, moinho de bolas (A), micromanipulador (B), centrífuga de microtubos (C), suportes de placas (D), de tubos de ensaio (E), agitador magnético (F) e microscópio (G).



Fonte: Adaptado de <https://www.thingiverse.com>

Além destes, foi descrita por Brennan e colaboradores (Brennan *et al.*, 2018) a construção de uma micropipeta de volume variável de baixo custo, de código aberto e que atende às normas da Organização Internacional de Padronização (ISO). A micropipeta apresenta precisão comparável à de modelos comercialmente disponíveis, podendo substituir a micropipeta comercial por exemplo em casos onde o solvente pode agredir a estrutura da mesma, ou ainda para evitar contaminação cruzada, usando diferentes pipetas impressas.

Grasse e colaboradores (Grasse *et al.*, 2016), descreveram a construção de um espectrofotômetro UV-VIS impresso via FDM, para uso em conjunto com um aparelho celular para o ensino da técnica de espectrofotometria UV-VIS em cursos de graduação. O modelo construído possibilita o estudo do funcionamento e da construção de um espectrofotômetro de absorção molecular e permite ainda abordar temas comuns como resolução, precisão, lei de Lambert-Beer e ainda torna possível o ensino sobre a teoria de conversão de imagens em dados.

Honeychurch e colaboradores (Honeychurch *et al.*, 2018) realizaram a impressão do primeiro eletrodo de carbono impresso para a determinação de zinco utilizando a voltametria de pulso diferencial. Este trabalho demonstrou a possibilidade de imprimir eletrodos de trabalho funcionais e estáveis para determinações, sem a necessidade de modificação do eletrodo com filmes de mercúrio e bismuto, por exemplo. Dá ainda indícios da possibilidade de imprimir o conjunto de eletrodos e a célula eletroquímica em uma única impressão.

Cardoso e colaboradores (Cardoso *et al.*, 2018), descreveram o uso de uma impressora 3D para a construção de uma célula eletroquímica para aplicações em análise por injeção em fluxo e análises por injeção em batelada (BIA), tendo mostrado a performance da mesma em análises de fármacos.

Erkal e colaboradores (Erkal *et al.*, 2014), reportaram a construção de dois dispositivos para análises eletroquímicas em fluxo, com canais construídos da ordem de 500 μm X 500 μm . Eles investigaram a coleta do trifosfato de adenosina, concomitantemente ao estímulo de liberação do mesmo.

Krejцова e colaboradores (Krejцова *et al.*, 2014), descreveram o uso de um chip impresso em 3D para a detecção eletroquímica do vírus influenza marcados com pontos quânticos. O chip desenvolvido é capaz de proceder com duas etapas, sendo a primeira o isolamento do vírus marcado com os pontos quânticos (CdS), e a segunda, a etapa voltamétrica para a detecção indireta do vírus através da eletroatividade do cádmio.

Bishop e colaboradores (Bishop *et al.*, 2015) construíram um dispositivo microfluídico capaz de realizar o preparo de nanopartículas de azul da prússia e depositá-las sobre um eletrodo de ouro para proceder com a detecção de peróxido de hidrogênio em fluxo. O dispositivo conta com encaixes para os eletrodos convencionais de trabalho, referência e auxiliar.

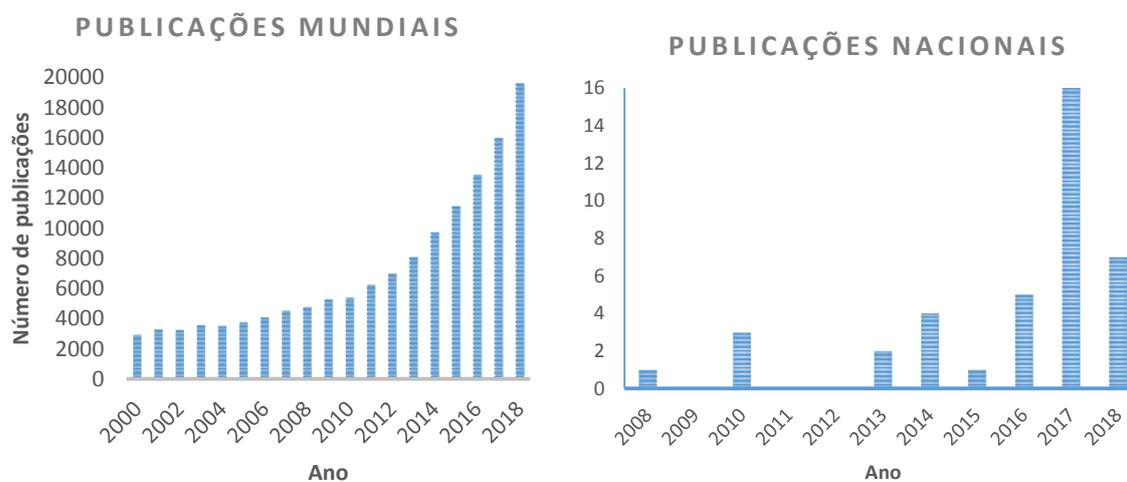
Ambrosi e Pumera (Ambrosi e Pumera, 2016) escreveram uma revisão sobre o tema, trazendo outras aplicações eletroquímicas para impressão 3D, desde a fabricação de eletrodos,

até a construção de células em fluxo, estacionárias, baterias, eletrossíntese, entre outras aplicações.

A relevância deste tema pode ser percebida através da evolução no número de artigos publicados em periódicos mostrado na Figura 16, evidenciando o crescimento também no número de publicações nacionais.

Figura 16 - Publicações envolvendo a busca por “3D printing” na base de dados Science Direct.

Data da pesquisa 13/02/2019.



Fonte: Elaborado pelo autor.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAIS

A proposta do trabalho foi o desenvolvimento de um adaptador miniaturizado para a realização de microanálises dentro de ponteiros de micropipeta. Nesse sentido foram propostas cinco provas de conceito, indicando algumas possíveis aplicações do adaptador construído para diferentes análises.

2.2 ESPECÍFICOS

1. Desenvolver um equipamento puxador de micropipetas de vidro para a confecção de microeletrodos, para determinações em microambientes.
2. Realizar a caracterização eletroquímica e óptica dos microeletrodos construídos.
3. Desenvolver um modelo tridimensional de adaptador para microeletrodos para ser utilizado juntamente com micropipetas comerciais.
4. Realizar a impressão do adaptador desenvolvido utilizando filamentos de ABS e PLA.
5. Desenvolver estudos em diferentes meios e a análise eletroquímica de catecol utilizando microeletrodos em meios com baixa condutividade e em amostras de suor e saliva sintéticos.
6. Realizar a caracterização dos microeletrodos em meio orgânico, por meio da análise de ferroceno em DMF.
7. Realizar a modificação da superfície dos microeletrodos com platina para determinação de dopamina em água.
8. Realizar a quantificação de Cu em água utilizando um microeletrodo de ouro sem a modificação da superfície.
9. Realizar a modificação de um microeletrodo com filme de bismuto para a quantificação de Pb em amostras simples aquosas com volume reduzido.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Soluções de cobre e chumbo foram preparadas a partir de soluções padrão Titrisol (1000 mg L⁻¹) da Vetec (Rio de Janeiro, Brazil) e SpecSol (Jacareí, SP, Brazil) respectivamente. Todas as soluções aquosas utilizadas no trabalho foram preparadas com água deionizada (MilliQ, Millipore, USA), com resistividade maior ou igual a 18 MΩ cm.

Soluções de ferroceno (Sigma-Aldrich) e tetrafluoroborato de tetrabutylamônio (TBATFB) (TCI) foram preparadas por dissolução apropriada dos sólidos em dimetilformamida.

Soluções de catecol (Sigma-Aldrich) foram preparadas a partir da dissolução do sólido imediatamente antes das análises em diferentes solventes (grau HPLC) e soluções aquosas: solução de hidróxido de sódio 0,9 mol L⁻¹, acetonitrila (ACN) (Vetec), acetona (Vetec), acetato de etila (Vetec), N,N dimetilformamida (DMF) (Vetec), dimetilsulfóxido (DMSO) (Vetec), solução de HCl 0,01 mol L⁻¹ (Fluka), metanol (Vetec), metil-isobutil-cetona (Vetec), n-hexano (Vetec), tolueno (Vetec) e solução de KCl 0,25 mol L⁻¹(Vetec).

Soluções de ferricianeto de potássio (Vetec) foram preparadas a partir da dissolução do sólido em água deionizada.

Tampão BR foi preparado pela mistura de H₃BO₃ (Vetec), H₃PO₄ (Vetec), CH₃COOH (Vetec), todos à 0,04 mol L⁻¹, e ajustado com solução de NaOH (Vetec)

Soluções de suor sintético foram preparadas pela mistura de NaCl (Vetec), NH₄Cl (Vetec), ácido acético glacial (Dinâmica) e ácido láctico (Dinâmica).

3.2 MATERIAIS

Microfios de ouro e platina de 25 μm de diâmetro (Goodfellow) foram utilizados para a construção dos microeletrodos de trabalho e um fio de prata (0,3 mm) foi utilizado para confecção do eletrodo de referência. Fio de liga estanho/chumbo de 0,3 mm na proporção 63/37 % m/m (Yaxun) foi utilizado para efetuar a soldagem entre os microfios e os fios de cobre para conexão ao equipamento.

Tubos capilares de vidro sem heparina (Precision Glass) (1,0 mm de diâmetro interno; 1,5 mm de diâmetro externo; 75 mm de comprimento) foram utilizados para fabricação das micropipetas de vidro para encapsulamento dos microfios.

Placas de Alumínio, uma guia linear, fio de níquel-cromo, isolantes elétricos e uma fonte de corrente contínua ajustável de 10 A foram utilizados para a construção do puxador de micropipetas de vidro.

Os suportes para os microeletrodos também foram usinados em alumínio e possuem também um sistema de ajuste de posição por meio de parafusos para posicionamento no plano.

Para as impressões dos modelos foram utilizados filamentos plásticos de PLA e ABS (Voolt3D).

Ponteiras plásticas (10 a 200 μL) foram utilizadas como células eletroquímicas nas medidas utilizando o adaptador para micropipetas.

3.3 INSTRUMENTAÇÃO

Os estudos eletroquímicos foram realizados utilizando um potenciostato/galvanostato AUTOLAB modelo 128N interfaceado a um microcomputador, usando o software NOVA 2.1.3 como programa de aquisição e tratamento de dados, bem como o Microsoft Office Excel 2010® e o Origin 8.0®

A primeira célula eletroquímica consistiu numa gota de solução suspensa pelo próprio arranjo de eletrodos (um microeletrodo de trabalho de platina ou ouro, um fio de prata recoberto com AgCl como eletrodo de referência e um eletrodo de platina como eletrodo auxiliar). Todas as medidas foram realizadas dentro de uma gaiola de Faraday para prevenir interferências eletromagnéticas no sistema.

Uma micropipeta eletrônica Labnet® de volume variável entre 2 e 20 μL foi utilizada como modelo para fabricação do dispositivo impresso.

As imagens da área dos microeletrodos foram obtidas com o Microscópio Olympus BX51 e com um microscópio para aparelhos celulares Smart Scope Estek 60x.

O dispositivo adaptador foi modelado através do software Trimble SketchUp, fatiado utilizando o software de código aberto Slic3r e impresso numa impressora cartesiana Voolt3D (Brasil).

Todas as pesagens foram realizadas em balança analítica Shimadzu®, com precisão de $\pm 0,1$ mg.

3.4 PUXADOR DE MICROPIPETAS DE VIDRO

Para a fabricação das micropipetas de vidro onde foram encapsulados os microfios, é comum o uso de equipamentos disponíveis no mercado, os puxadores de micropipetas de vidro (*micropipette puller*), entretanto os custos de aquisição variam entre USD \$ 6000,00 e \$ 9000,00 para os modelos mais comuns, sem os impostos, taxas alfandegárias e de transporte. Considerando-se o cenário econômico nacional e a redução de custos para a aquisição de novos equipamentos, foi proposto o desenvolvimento, no laboratório, de um puxador de micropipetas utilizando materiais de fácil aquisição permitindo assim a construção do mesmo com um custo reduzido (R\$ 900,00), podendo ser ainda menor.

Para a fabricação do equipamento, foi feita uma pesquisa do modo de operação dos equipamentos comerciais. (Brown e Flaming, 1977) Eles funcionam basicamente aquecendo o tubo capilar, seja por meio de uma resistência elétrica ou por meio de uma micro chama ou laser, por um determinado tempo (apenas o suficiente para fundir o vidro na região próxima) e logo em seguida um atuador elétrico ou pneumático puxa o capilar nos dois sentidos, esticando e estreitando o vidro na forma de uma ponteira. Em algumas versões, a ação de puxar é realizada por um peso preso ao tubo capilar, sendo que o tempo, a temperatura e a distância são controlados por um microprocessador incorporado ao equipamento. (Tamizhanban *et al.*, 2014)

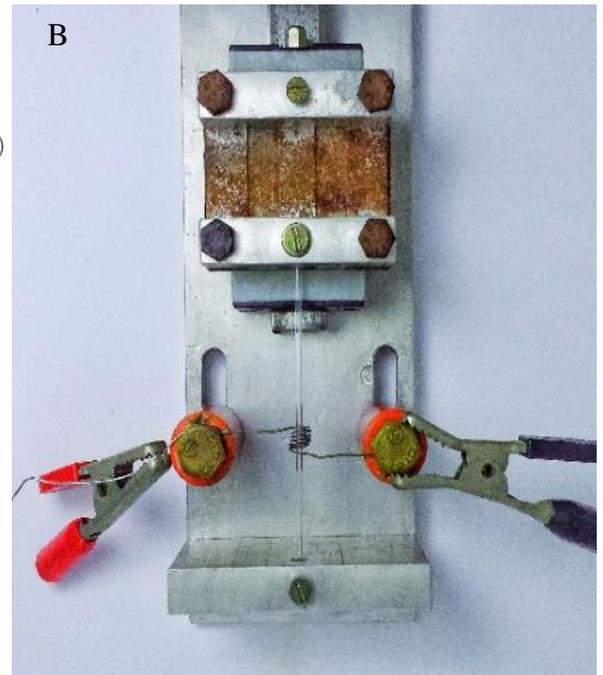
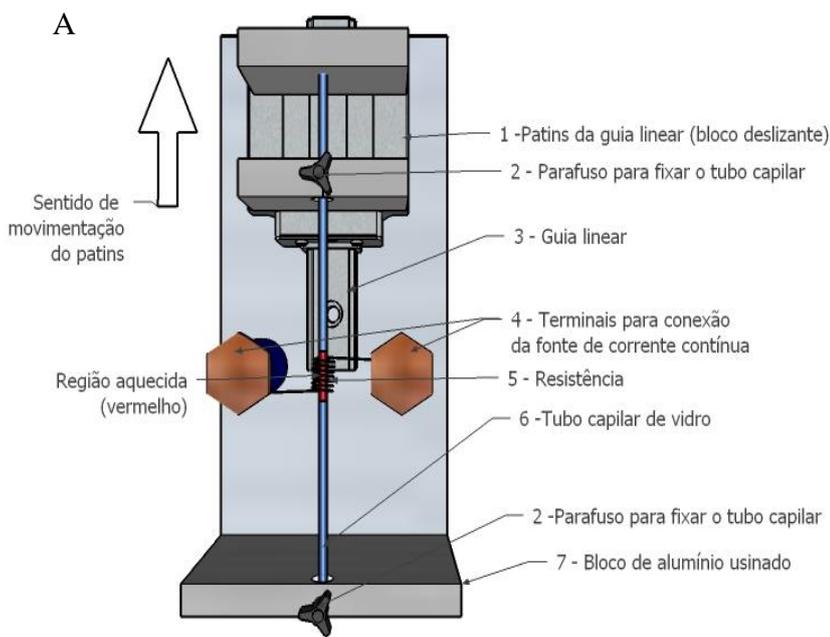
Numa primeira tentativa foi elaborado um projeto utilizando um peso preso ao tubo como nos modelos mais simples, entretanto a imprecisão no aquecimento, no alinhamento e no posicionamento do capilar não permitiram bons resultados, uma vez que o aquecimento era realizado através de um maçarico e o alinhamento era difícil por não possuir precisão, uma vez que dependia de tubos concêntricos.

A percepção das dificuldades no primeiro arranjo levou à correção para a segunda e atual versão. Nela o aquecimento passou a ser resistivo, controlado pela aplicação de uma

corrente contínua numa resistência elétrica montada no laboratório com fio de liga de níquel-cromo de 1 mm de diâmetro, o que melhorou e permitiu fabricar micropipetas mais reprodutíveis. O alinhamento precário na primeira versão foi corrigido pela utilização de uma guia linear, um sistema de movimentação linear baseado no mesmo princípio do rolamento, que possui esferas em seu interior, gerando redução de atrito, suavidade na movimentação e alta precisão de posicionamento.

A Figura 17 mostra a fotografia da versão atual do puxador de micropipetas de vidro (B) e um esquema mostrando as partes equipamento (A). Para puxar os capilares (6), os mesmos são presos à guia linear (3) por um dos lados através de um parafuso (2) e um bloco de alumínio usinado unido a um patins (1), o tubo então é passado pelo centro da resistência (5) montada no laboratório com diâmetro interno de 5 mm e 6 voltas, e a extremidade oposta é fixada com um parafuso à outro bloco de alumínio usinado (7). A fonte era regulada para 50 V, gerando uma corrente de 6 A no sistema, aquecendo a resistência para fundir o vidro no centro da mesma (região em vermelho) por 15 segundos (controlado por meio de um cronômetro). A fonte era então desligada e a guia puxada manualmente por cerca de 3 cm de distância (controlada com uma régua milimetrada) e um batente de alumínio. Em seguida o tubo era quebrado no ponto mais estreito e utilizado para a fabricação dos microeletrodos.

Figura 17 – (A) Representação esquemática do equipamento construído, indicando as partes do mesmo. (B) Fotografia da versão final do puxador de micropipetas montado.



Fonte: Elaborado pelo Autor

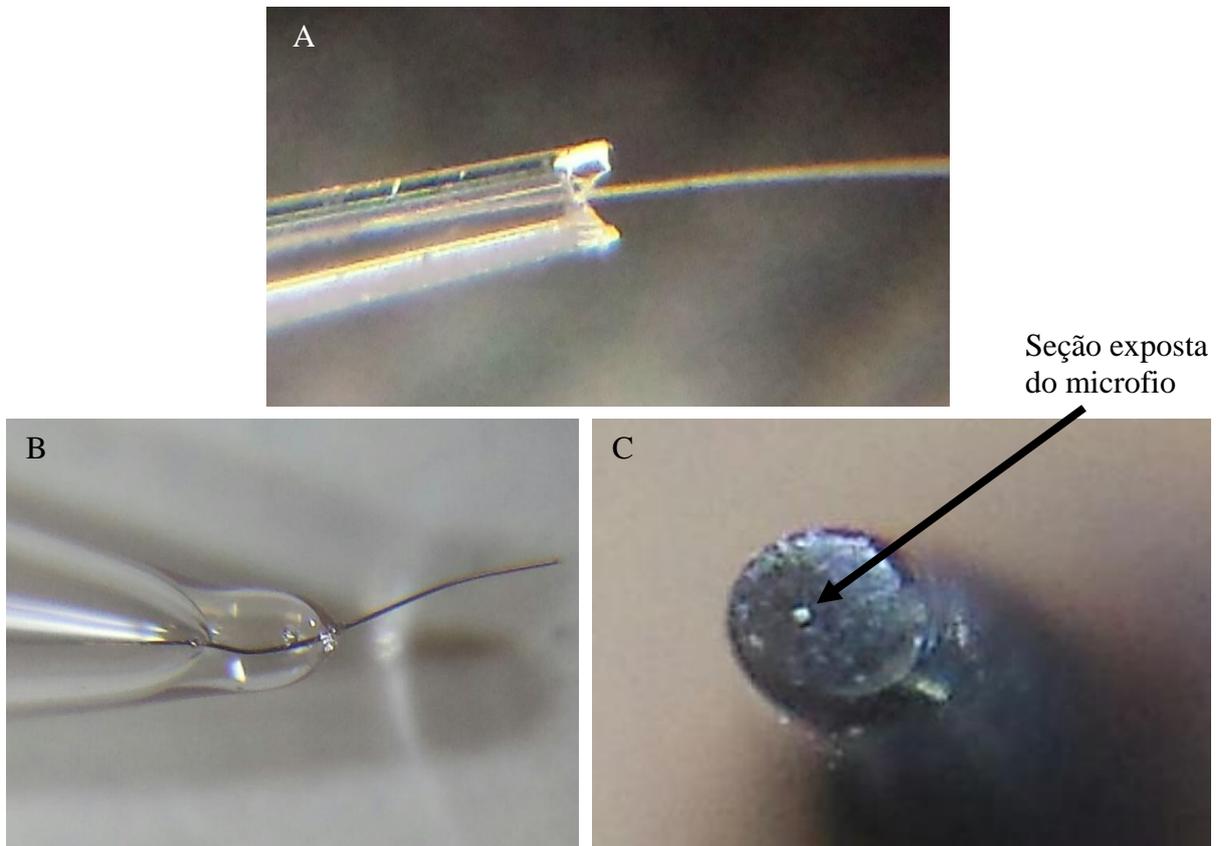
3.5 ELETRODOS

O procedimento para a obtenção das micropipetas de vidro foi baseado em uma rotina simples, com algumas etapas. A primeira delas é a fabricação das micropipetas de vidro com o auxílio do puxador de micropipetas desenvolvido, em seguida a micropipeta de vidro fabricada, bem como os microfios de ouro e platina, são limpos com ácido nítrico 10 % v/v e água deionizada. Os fios são inseridos no interior da micropipeta de vidro deixando exposta a extremidade do fio (Figura 18A), o conjunto tem então a ponta aquecida diretamente na chama ou através da resistência elétrica para a selagem do fio (Figura 18B).

Era realizado um acabamento da extremidade com lixa de diferentes granulometrias para expor a seção transversal do fio (Figura 18C), que tem a forma de um disco. Em seguida o eletrodo era polido em suspensão de alumina e lavado com água deionizada em ultrassom.

O contato elétrico direto não foi possível, uma vez que as dimensões do fio não permitiram a conexão direta ao equipamento. Portanto a última etapa envolveu a inserção na extremidade oposta, de uma pasta de grafite condutora ou uma solda de estanho para estabelecer o contato elétrico, outras alternativas possíveis incluem o uso de mercúrio metálico ou cola de prata, entretanto são opções mais perigosas ou caras do que as utilizadas e não foram utilizadas.

Figura 18 – (A) Imagem da extremidade da micropipeta de vidro com o microfio de platina inserido. (B) Após o processo de selagem térmica com parte do fio ainda exposto. (C) Após o polimento, exibindo a seção transversal do microfio de 25 μm de diâmetro.



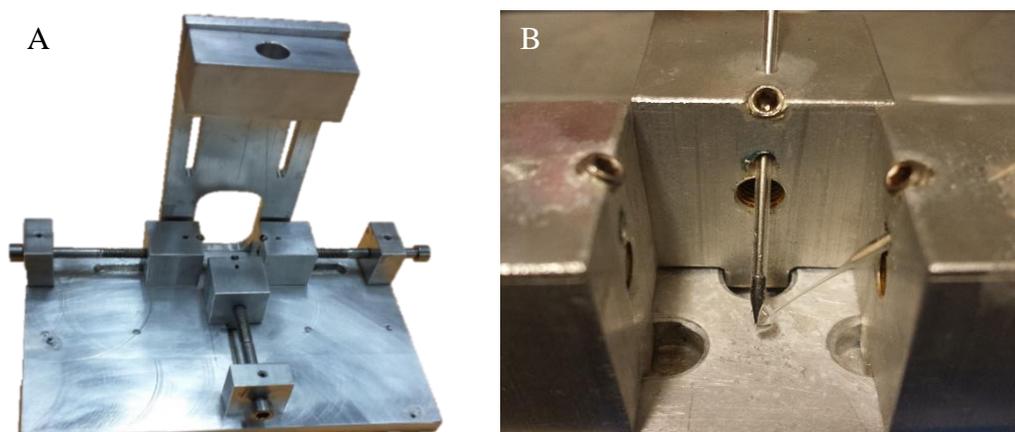
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.6 FABRICAÇÃO DO POSICIONADOR PARA OS MICROELETRODOS

Em conjunto com os microeletrodos foi necessário construir um posicionador para os experimentos iniciais do projeto. Uma vez que as medidas foram realizadas diretamente em um volume reduzido (entre 2 e 10 μL aproximadamente), o posicionamento de três eletrodos torna-se complicado num espaço tão pequeno.

Para tal, o suporte foi construído em alumínio usinado, como alternativa para o microposicionador comercial, cujo custo é relativamente elevado (USD \$ 1200,00), sem os impostos, taxas alfandegárias e transporte. Ele consistiu basicamente de três blocos de alumínio, dois deles posicionados sobre o eixo x e o outro no y do plano, que são movidos por meio de parafusos no sentido de aproximarem-se uns dos outros através dos eixos. Os microeletrodos foram fixados por meio de parafusos em um ângulo de 45° com a base e as extremidades dos microeletrodos foram colocadas próximas para suspender a gota de solução de análise. (Figura 19)

Figura 19 – (A) Arranjo montado do posicionador fabricado. (B) Arranjo com os microeletrodos de trabalho e referência.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.7 ADAPTADOR PARA MICROPIPETA

Foram realizadas algumas tentativas para a construção de um dispositivo único para análise em volumes reduzidos de solução, visando sua adaptação à uma micropipeta eletrônica de volume variável entre 2 e 20 μL utilizando técnicas convencionais de manufatura como a usinagem em torno mecânico e fresa.

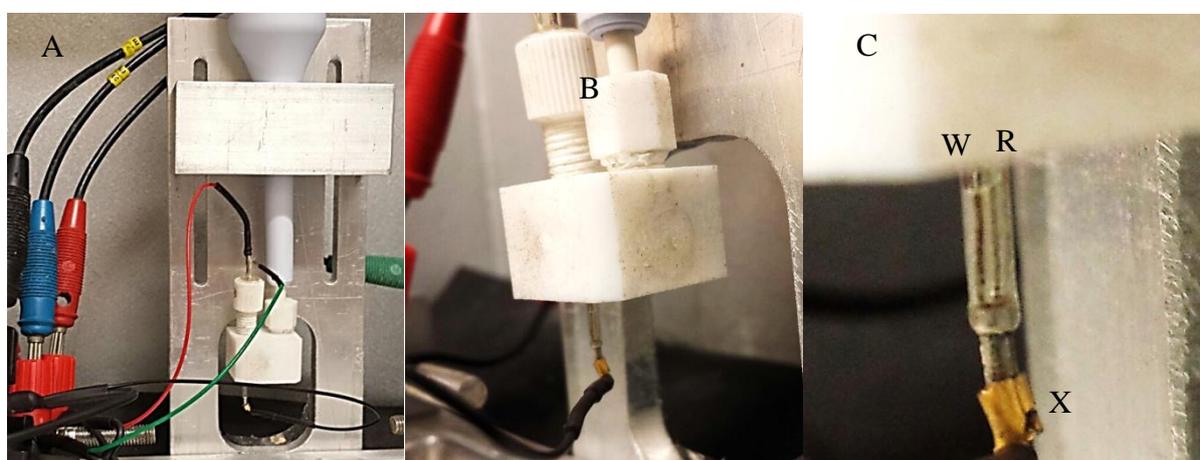
A primeira tentativa se mostrou promissora (Figura 20A) e era formada de três peças rosqueadas. Nela foi testado o uso de polipropileno para selagem dos microfios e, apesar de terem funcionado para algumas tentativas, não apresentaram a robustez necessária para executar os procedimentos tradicionais de polimento, reprodutibilidade de fabricação, selagem e estabelecimento do contato elétrico, fato que impossibilitou o seu uso nas condições de trabalho encontradas no laboratório.

Foi testado ainda a inserção do microfio em tubos capilares de sílica fundida, utilizados em eletroforese capilar. Estes, apesar de terem se mostrado mais resistentes devido ao recobrimento de poliimida, não são facilmente selados e tem as extremidades quebradiças, impossibilitando o polimento da superfície do eletrodo.

Além das dificuldades mencionadas, neste primeiro arranjo, os microeletrodos eram rosqueados para serem inseridos em tubos capilares de vidro de cerca de 1 mm de diâmetro interno (Figura 20B), que além de delicados e quebradiços eram pequenos e apresentavam um grande problema de vedação entre a peça usinada em PTFE e o capilar de vidro (Figura 20C), tornando inviável a sucção através da micropipeta.

Apesar das diversas dificuldades encontradas, foi possível a análise de ferricianeto de potássio com o dispositivo construído. Esse dispositivo precisou ser melhorado para que pudesse permitir, dentre outras coisas, o polimento do microeletrodo de trabalho, a substituição por microeletrodos de outros materiais, reprodutibilidade de fabricação dos microeletrodos, selagem e estabelecimento do contato elétrico eficiente.

Figura 20 - Primeira versão do adaptador para micropipeta eletrônica. (A) Visão geral e sistema de conexões dos microeletrodos de trabalho, referência e auxiliar. (B) Entrada para micropipeta, peça para rosqueamento e encaixe dos microeletrodos no capilar de vidro. (C) Arranjo dos microeletrodos: referência (R), trabalho (W) e auxiliar (X).

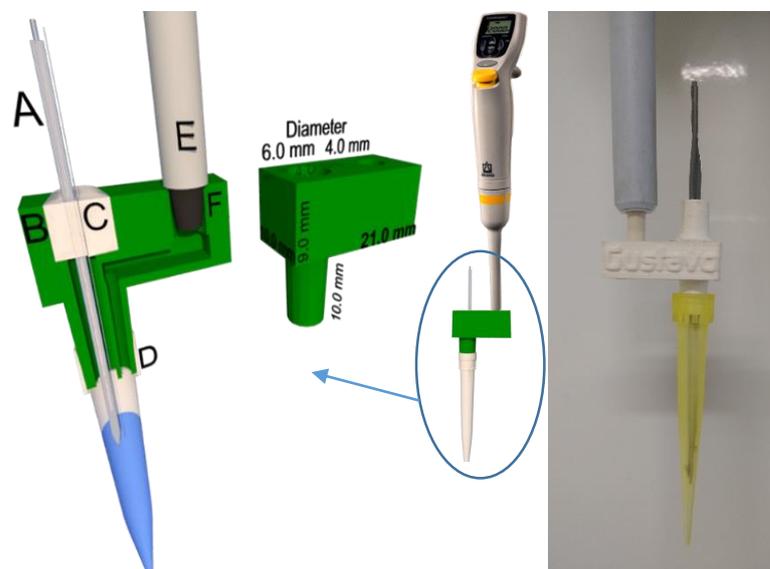


Fonte: Elaborado pelo autor.

A possibilidade recente de imprimir o adaptador em uma impressora cartesiana permitiu alcançar diversas melhorias no sistema e avançar para a segunda versão do dispositivo. Para tanto, inicialmente foi desenvolvido um modelo tridimensional do dispositivo utilizando o software Sketchup.

A Figura 21 apresenta o modelo tridimensional do adaptador fabricado por impressão 3D e uma fotografia do conjunto montado na micropipeta. O conjunto de microeletrodos (A) (trabalho e referência) é inserido através do canal de 6 mm (B), expondo os microeletrodos do outro lado do mesmo. O conjunto é então selado com cola de silicone acético (C) para prevenir vazamentos, através do preenchimento do orifício. A micropipeta (E) é fixada no furo de 4 mm (F) para aspirar as soluções dentro da ponteira. A ponteira (D) é então colocada no adaptador e as soluções são simplesmente aspiradas (entre 5 e 100 μL) e analisadas dentro da ponteira. A Figura 22 mostra o detalhe dos microeletrodos que são inseridos no dispositivo e selados com silicone, bem como as medidas aproximadas do conjunto.

Figura 21 – Visão geral, detalhe e seção longitudinal do adaptador para micropipetas construído. (A) Conjunto de microeletrodos de trabalho e pseudo referência $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, (B) furo para inserção dos microeletrodos, (C) silicone acético para vedação, (D) ponteira plástica, (E) micropipeta eletrônica e (F) furo para inserção da micropipeta eletrônica. Fotografia do dispositivo em sua atual versão, conectado à ponteira e à micropipeta.

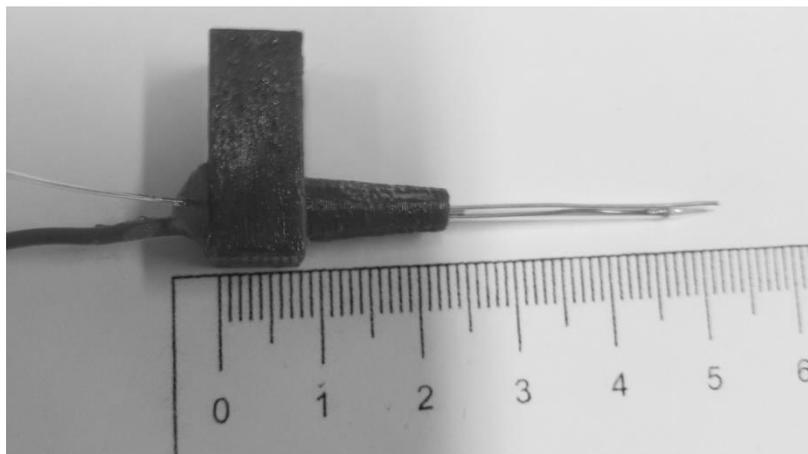


Fonte: Elaborado pelo autor

O conjunto de microeletrodos pode ser trocado, removendo o mesmo, inserindo o novo conjunto e selando novamente com silicone. Outro método para obter diferentes eletrodos de trabalho, consiste em imprimir vários adaptadores e montá-los com diferentes materiais de eletrodo, uma vez que o custo do adaptador é baixo.

Algumas melhorias foram realizadas na segunda versão do adaptador, que permitiram uma impressão mais rápida, gerando economia de material plástico e corrigindo também alguns problemas associados ao filamento de ABS, principalmente a sua contração térmica (Stansbury e Idacavage, 2016), fato que culminava com a geração de peças com dimensões diferentes daquelas programadas. Para contornar esse problema, em substituição ao ABS foi utilizado o PLA, que possui retração desprezível quando comparado ao ABS. As medidas do adaptador também foram adequadas ao novo material, tendo sido realizado um teste para avaliar vários formatos de encaixe entre a ponteira e o adaptador, conforme indicado na Figura 23. A melhor condição estabelecida foi com um tronco de cone com diâmetros externos de 4,95 mm e de 5,8 mm.

Figura 22 – Detalhe da montagem dos eletrodos de trabalho e pseudo-referência no adaptador, mostrando a medida aproximada do conjunto.



Fonte: Elaborado pelo autor.

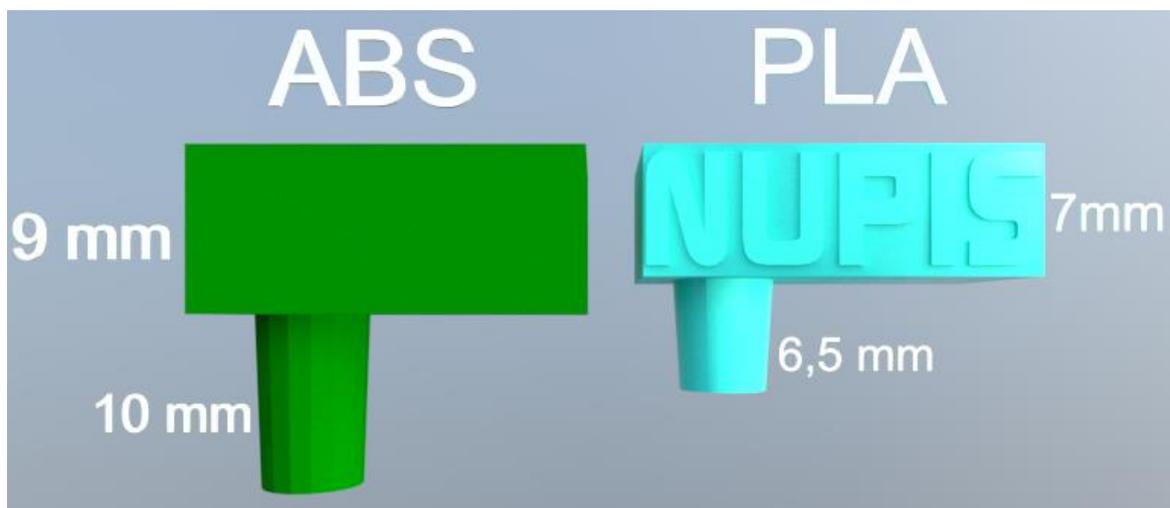
Figura 23 – Impressão teste para avaliar vários formatos de encaixe entre a ponteira e o adaptador.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 24 mostra as alterações realizadas entre a segunda e a terceira versões do adaptador. É importante perceber uma diminuição de cerca de 29 % na altura total do adaptador, resultando numa economia de 25 % de material, além da solução dos problemas relacionados à contração térmica.

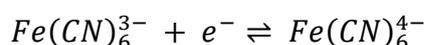
Figura 24 – Esquema mostrando algumas das diferenças entre a segunda e a terceira versões do dispositivo.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.8 ANALITOS E AMOSTRAS PARA AS PROVAS DE CONCEITO

No desenvolvimento deste trabalho alguns analitos foram selecionados para caracterizar os microeletrodos construídos e avaliar o adaptador impresso. Neste contexto os microeletrodos foram inicialmente testados com solução de ferricianeto. O par Fe^{3+}/Fe^{2+} é um sistema “bem comportado” eletroquimicamente, sendo considerado modelo para os experimentos de voltametria cíclica e foi utilizado para a caracterização da área eletroativa dos microeletrodos, bem como para verificação da eficiência do processo de selagem dos fios nos capilares de vidro. Os experimentos para caracterização eletroquímica dos microeletrodos foram realizados baseados na seguinte reação (Equação 6):



Equação 6

Para aprofundar os estudos com microeletrodos foi proposta a análise de catecol em suor e saliva sintéticos. Tal proposta foi realizada com o objetivo de posteriormente proceder com a extração deste composto do meio aquoso para o meio orgânico onde seria feita a determinação, mas o sistema não apresentou os requisitos mínimos para proceder com a microextração.

Por outro lado, o estudo do sistema serviu de prova conceitual para a determinação de amostras de suor e saliva sintéticas em uma única gota e também como base para o desenvolvimento do sistema adaptado para a micropipeta.

A amostra de suor sintético foi preparada pela mistura de $NaCl$ $20,00 \text{ g L}^{-1}$, NH_4Cl $17,50 \text{ g L}^{-1}$, ácido acético $5,00 \text{ g L}^{-1}$, ácido láctico $15,00 \text{ g L}^{-1}$ (Iso, 2015) e na sequência uma alíquota de $50 \mu\text{L}$ de amostra foi diluída diretamente em $50 \mu\text{L}$ de eletrólito suporte, a seguir uma alíquota de $5 \mu\text{L}$ foi utilizada para análise eletroquímica.

A amostra de saliva sintética (Bioxtra) foi adquirida e analisada através de adição de padrão, adicionando diferentes concentrações de catecol em $50 \mu\text{L}$ de saliva sintética para a construção da curva entre 109 e $545 \mu\text{mol L}^{-1}$, em triplicata. Nos experimentos foram utilizados $5 \mu\text{L}$ das soluções preparadas.

Para a prova de conceito em meio orgânico, foi utilizado o par $[Fe(C_5H_5)_2]^+/Fe(C_5H_5)_2$ em diferentes solventes. O interesse no estudo do ferroceno está intimamente ligado

ao fato de o mesmo ser utilizado como um sistema padrão na investigação da influência de solventes sobre os processos redox em meios não aquosos.

A dopamina foi usada como molécula modelo para a análise de compostos orgânicos em meio aquoso através da voltametria cíclica e concomitantemente para mostrar a possibilidade de modificação dos microeletrodos dentro das ponteiros, utilizando o adaptador construído para análise de água de abastecimento, coletada no laboratório e diluída em eletrólito suporte (tampão BR pH 4) na proporção 1:1.

Por fim, foram desenvolvidos métodos para a determinação de metais utilizando o dispositivo adaptador para microeletrodos. Nesta etapa foi executada a quantificação de cobre utilizando um microeletrodo de ouro sem modificação e também a quantificação de chumbo com o microeletrodo de ouro modificado com filme de bismuto, ambas em amostras de água de abastecimento, confirmando a possibilidade de modificação em microambientes, assim como a possibilidade de detecção de baixas concentrações de metais em água.

As amostras de água de abastecimento foram coletadas e misturadas com eletrólito suporte na proporção 1:1 e em seguida foram analisadas.

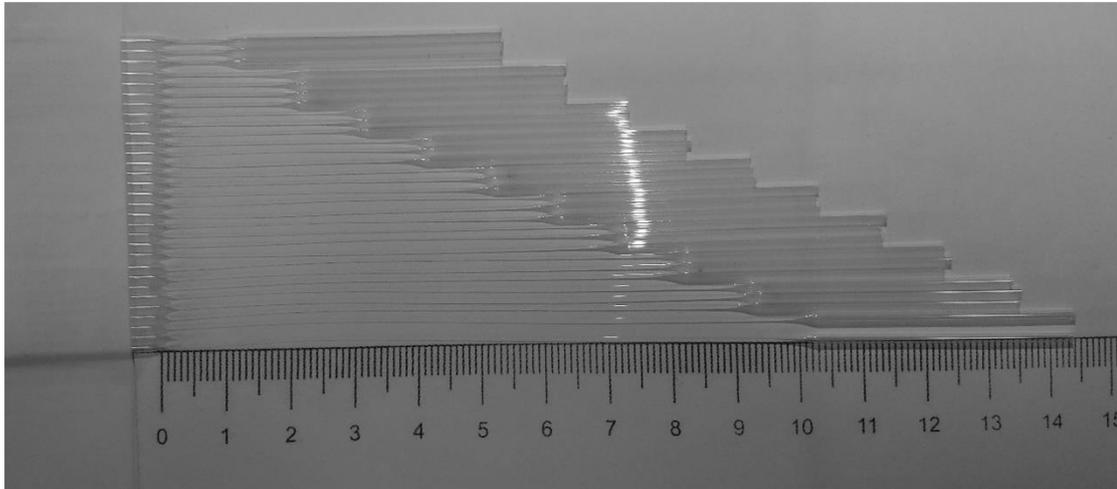
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CONSTRUÇÃO DOS MICROELETRODOS

Uma boa resposta eletroquímica nos experimentos de voltametria está relacionada, dentre outros aspectos, à obtenção de microeletrodos com área reprodutível. Portanto foi necessário o desenvolvimento de uma metodologia de construção de micropipetas capilares suficientemente robusta e capaz de ser reproduzida em qualquer laboratório, com o mínimo de equipamentos, para facilitar a construção de microeletrodos a partir de capilares de vidro.

A construção dos microeletrodos foi avaliada inicialmente com relação à reprodutibilidade da fabricação das micropipetas de vidro, para tanto foi realizado o alongamento de capilares de vidro entre 1 e 10 cm em triplicata (Figura 25), e avaliando principalmente a reprodutibilidade do comprimento, a fragilidade e a forma das pontas obtidas.

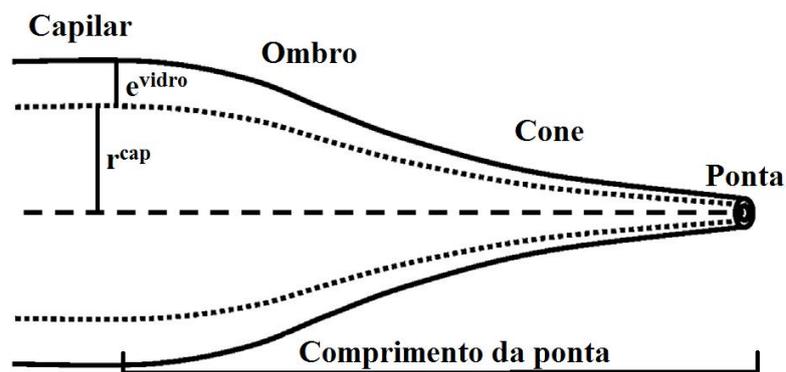
Figura 25 – Teste de reprodutibilidade de fabricação das micropipetas de vidro utilizadas para confecção de microeletrodos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Num primeiro momento foi feita a avaliação dos comprimentos das pontas produzidas tanto pelo lado fixo quanto pelo lado móvel no equipamento, uma vez que as mesmas apresentam características distintas. As medidas foram tomadas da maneira indicada na Figura 26.

Figura 26 - Esquema para a medição dos capilares mostrando o raio (r^{cap}) e a espessura (e^{vidro}) originais do capilar, comprimento da ponta e partes do capilar de vidro após estiramento.



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

Foi possível verificar a partir da Figura 26 e das medições realizadas (Tabela 1), que o comprimento da ponta produzida pelo lado preso à guia linear ($\bar{X}_{\text{móvel}}$) é maior e com um perfil

de estreitamento mais lento (menor ângulo em relação ao sentido longitudinal), enquanto o da parte fixa (\bar{X}_{fixo}) é menor e com um cone com maior angulação com relação ao sentido longitudinal do capilar.

Outro fato notável é que as micropipetas produzidas pelo lado fixo apresentaram características dimensionais semelhantes independentemente da distância de estiramento. A outra ponta, obtida pelo lado preso à guia linear, apresenta uma distribuição aleatória dos comprimentos, não apresentando uma tendência em função da distância de alongamento. Tal distribuição pode ser resultado da ausência de controle do tempo de estiramento, visto que este possui influência sobre o perfil das pontas obtidas.

A distância média entre os ombros das micropipetas ($\bar{X}^{(0-0)}$) aparenta possuir um desvio de aproximadamente 0,38 cm com relação ao valor programado, mostrando a presença de um erro sistemático associado, tal fato pode ser corrigido pela alteração da distância de alongamento programada.

Tabela 1 - Medidas longitudinais (em cm) tomadas para os capilares confeccionados através do puxador de micropipetas fabricado no laboratório.

$X_{programada}$	$\bar{X}^{(0-0)}$	$\bar{X}^{(C-C)}$	\bar{X}_{fixo}	$\bar{X}_{móvel}$
1	1,37	1,02	$0,47 \pm 0,06$	$0,8 \pm 0,1$
2	2,37	2,05	$0,35 \pm 0,05$	$1,03 \pm 0,06$
3	3,42	3,05	$0,43 \pm 0,06$	$1,33 \pm 0,06$
4	4,32	4,07	$0,38 \pm 0,03$	$1,03 \pm 0,06$
5	5,35	5,08	$0,39 \pm 0,01$	$0,88 \pm 0,03$
6	6,40	6,12	$0,47 \pm 0,03$	$1,17 \pm 0,06$
7	7,40	7,13	$0,38 \pm 0,08$	$1,03 \pm 0,06$
8	8,42	8,15	$0,42 \pm 0,08$	$1,47 \pm 0,06$
9	9,37	9,17	$0,33 \pm 0,06$	$1,1 \pm 0,1$
10	10,43	10,13	$0,45 \pm 0,07$	$1,1 \pm 0,2$

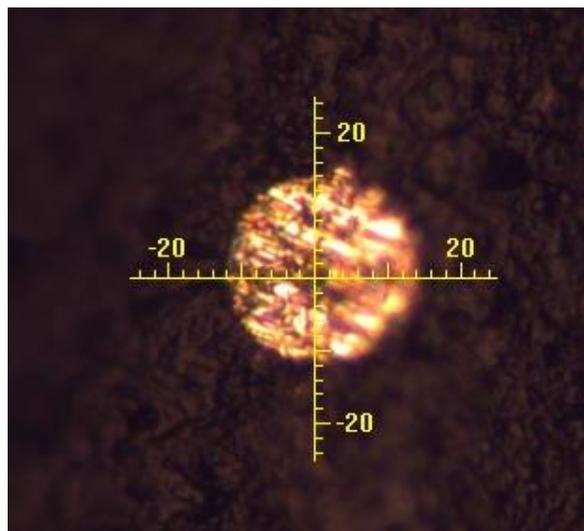
$X_{programada}$ – Distância de alongamento configurada; $\bar{X}^{(0-0)}$ – Distância média entre ombros; $\bar{X}^{(C-C)}$ – Distância média entre os cones; \bar{X}_{fixo} – Distância de alongamento pelo lado preso ao bloco fixo; $\bar{X}_{móvel}$ – Distância de alongamento pelo lado preso à guia móvel

Fonte: Elaborado pelo autor.

As pontas produzidas por estiramentos de maior magnitude possuem parede mais estreita, e apesar de ser uma característica interessante para a fabricação de microeletrodos, pouca resistência mecânica foi atingida nestas condições. A resistência mecânica é um fator extremamente importante na confecção de microeletrodos, uma vez que a necessidade de polimento da superfície é recorrente e realizada através de abrasão manual em lixa d'água e alumina. Neste sentido o comprimento de 3 cm de estiramento foi escolhido para realizar a fabricação dos microeletrodos, uma vez que apresentou espessura de vidro suficiente para dar robustez ao microeletrodo. As pontas obtidas neste comprimento apresentam cerca de 400 μm de diâmetro, ou seja, cerca de 16 vezes o diâmetro dos fios metálicos.

Após o estiramento dos capilares de vidro, os microfios de ouro ou platina foram inseridos e selados por aquecimento, lixados e polidos conforme descrito no capítulo 3.5 e em seguida levados ao microscópio para aquisição das imagens da área geométrica dos mesmos. (Figura 27).

Figura 27 – Imagem no microscópio Olympus BX51, da área superficial de alguns dos microeletrodos fabricados, as medidas são indicadas em micrômetros.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A imagem confirma a geometria em forma de disco e um diâmetro próximo de 25 μm , conforme esperado para os eletrodos confeccionados em platina e também ouro.

4.2 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS MICROELETRODOS

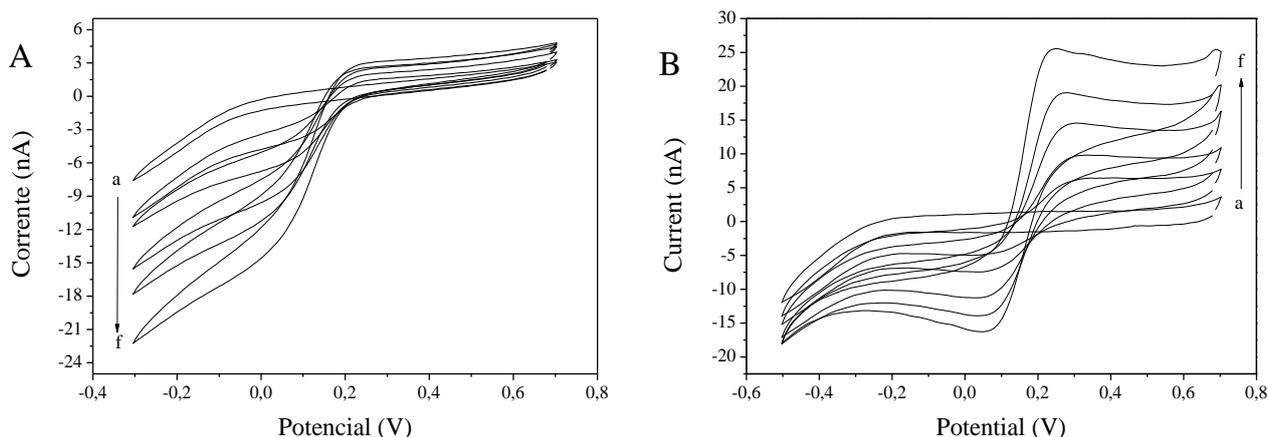
Para caracterizar a área eletroativa dos microeletrodos, inicialmente foram registrados voltamogramas para o eletrólito suporte ($\text{KCl } 0,25 \text{ mol L}^{-1}$), com varredura no intervalo de potencial de 0,7 V a -0,3 V à 50 mVs^{-1} para o microeletrodo de platina e entre 0,7 V e -0,5 V à 50 mVs^{-1} para o microeletrodo de ouro. Em seguida 2 μL de uma série de soluções padrão preparadas de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ em $\text{KCl } 0,25 \text{ mol L}^{-1}$ com concentrações variando de 1,2 a 5 mmol L^{-1} foram adicionadas ao sistema (Figura 28). Sabe-se que para microeletrodos é válida a relação (Bard, 1980) (Equação 7):

$$I_L = 4nFDC^*r$$

Equação 7

Onde I_L é a corrente de difusão, n é o número de elétrons envolvidos, F e D são a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}) e o coeficiente de difusão do analito ($7,3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) respectivamente, C^* (mol cm^{-3}) é a concentração da solução e r é o raio do microeletrodo (cm).

Figura 28 - Voltamogramas cíclicos do $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ em $\text{KCl } 0,25 \text{ mol L}^{-1}$ nas concentrações de 0 mmol L^{-1} (a) 1,2 mmol L^{-1} (b) 2,01 mmol L^{-1} (c) 3,04 mmol L^{-1} (d), 4,02 mmol L^{-1} (e), 5 mmol L^{-1} (f) para determinação do raio dos microeletrodos. Condições: velocidade de varredura 50 mV s^{-1} , microeletrodo de trabalho - platina (A) e ouro (B), pseudo-referência - $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$.



Fonte: Elaborado pelo autor

Foram construídas curvas analíticas e, a partir dos coeficientes angulares ($0,0028 \text{ A cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ para Pt e $0,0052 \text{ A cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ para Au) foram calculados os raios de $10,01$ e $18,57 \mu\text{m}$ respectivamente. Estes valores mostram que o processo de selagem térmica dos microfios em vidro ocorre de maneira eficiente, uma vez que os valores são próximos do valor nominal informado pelo fabricante ($12,5 \mu\text{m}$).

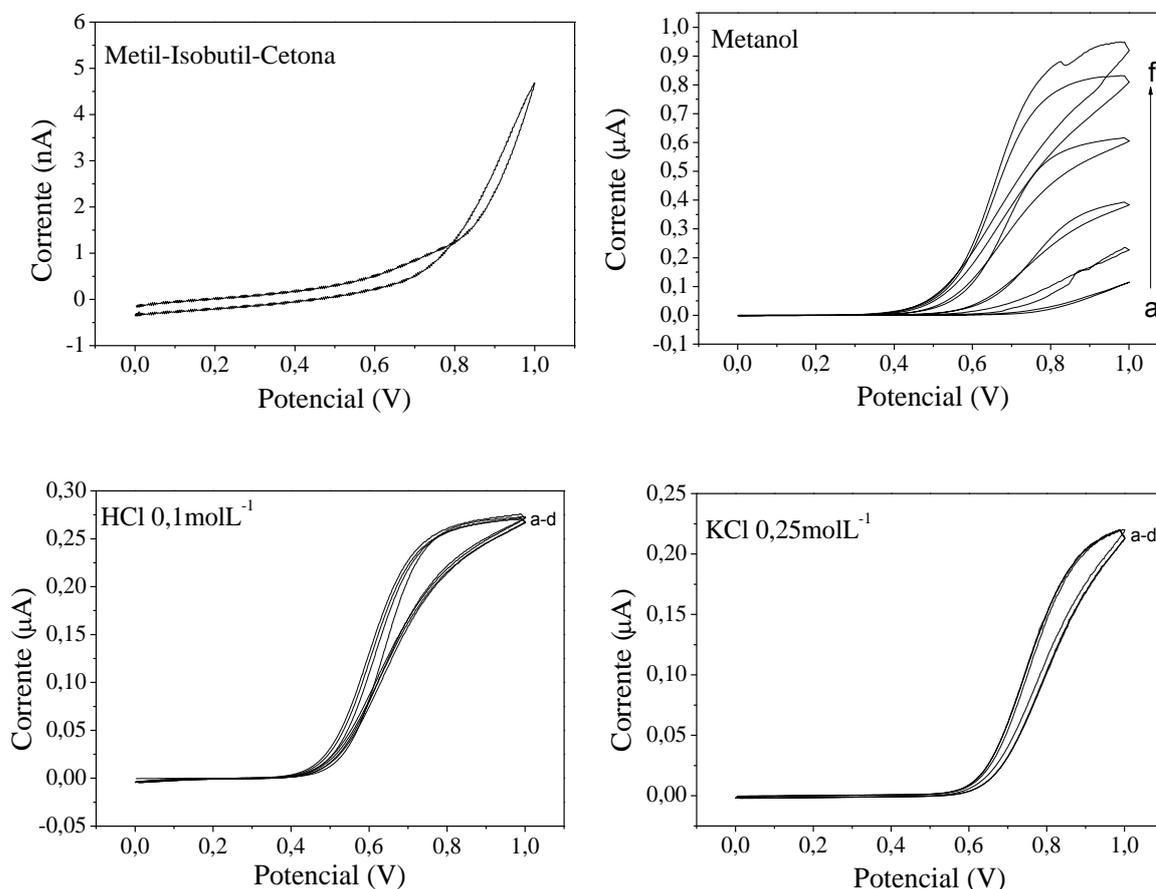
4.3 PROVAS DE CONCEITO PARA O ADAPTADOR DESENVOLVIDO

4.3.1 Catecol

Para iniciar os estudos em volumes reduzidos foi proposto inicialmente o estudo do perfil voltamétrico do catecol em diferentes condições experimentais. Os experimentos com os diferentes solventes foram realizados utilizando o posicionador de microeletrodos num sistema convencional de 3 eletrodos. Os solventes e soluções aquosas utilizados foram selecionados para abranger solventes com polaridades distintas, bem como diferentes condições de pH dentre as soluções aquosas. Os meios escolhidos para realização dos experimentos de voltametria cíclica foram ACN, acetona, acetato de etila, DMF, DMSO, HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, metanol, metil-isobutil cetona, n-hexano, tolueno e KCl $0,25 \text{ mol L}^{-1}$.

A voltametria cíclica foi aplicada em uma gota de $3 \mu\text{L}$ de cada solução, na faixa de 0 V a 1 V com uma velocidade de varredura de $0,1 \text{ Vs}^{-1}$ em um microeletrodo de platina. Não foi utilizado eletrólito suporte para estes testes em solventes orgânicos. Os voltamogramas para alguns solventes são apresentados na Figura 29.

Figura 29 - Voltamogramas cíclicos para catecol à 12 mmol L^{-1} em diferentes solventes. Condições: Microeletrodo de trabalho - Pt, referência - $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$ e auxiliar - Pt, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . As letras (a – f) indicam os múltiplos ciclos de varredura.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para os solventes apolares como metil-isobutil-cetona, n-hexano, tolueno, e acetato de etila (os 3 últimos não mostrados) a baixa condutividade, as altas pressões de vapor e consequentemente a rápida evaporação, também decorrente da relação área superficial/volume da gota não permitiram a análise na temperatura ambiente em um volume tão reduzido e também em volumes maiores como 10-15 μL .

Para os demais solventes não aquosos foi possível observar o início da oxidação em potenciais próximos de 0,6 V como exemplificado na Figura 29, usando metanol como solvente. A evaporação também ocorre nestes casos, mas com menor intensidade sendo possível registrar alguns voltamogramas cíclicos (a-f) até a completa evaporação do solvente, ocorrendo um aumento de sinal referente a diminuição do volume e consequente aumento de concentração.

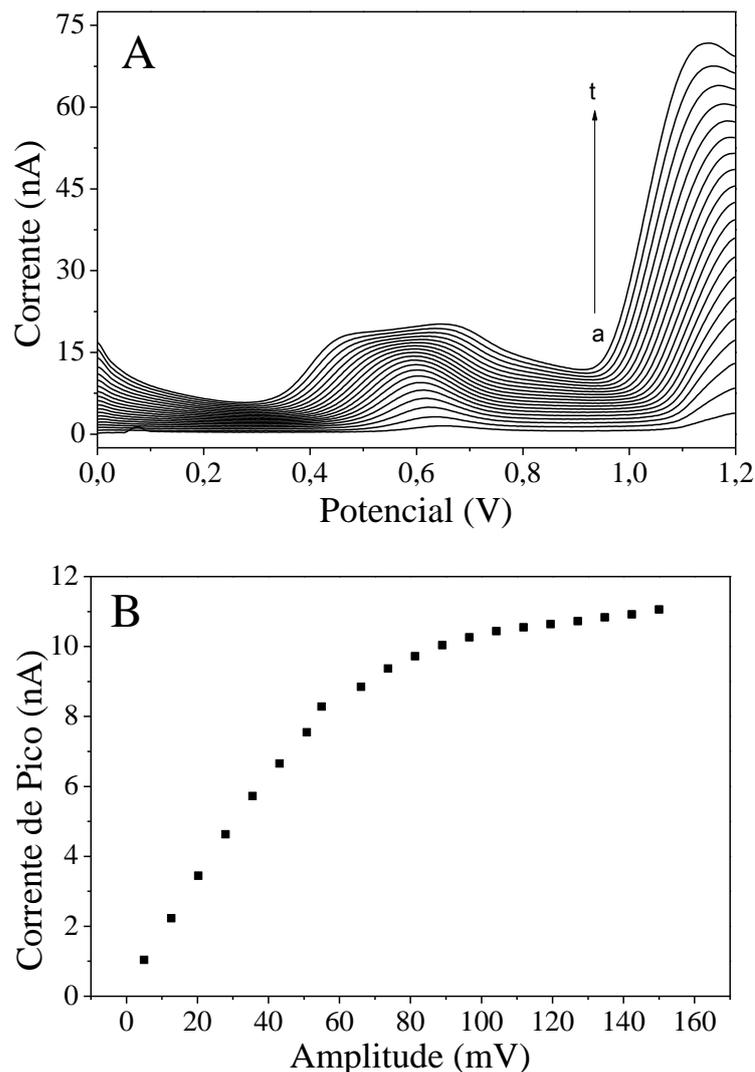
Dentre as soluções aquosas, foi possível perceber a partir da comparação entre os voltamogramas cíclicos para HCl e KCl que a transferência eletrônica foi facilitada em meio ácido, apresentando um potencial de oxidação menor que aquele em soluções neutras ou básicas, apresentando concordância com o trabalho descrito na literatura (Gomes, 2015). Sendo este eletrólito escolhido para os experimentos.

Após definir a condição de pH do meio, foi feita a otimização dos parâmetros da técnica de voltametria de onda quadrada, tendo sido avaliado a amplitude e a frequência de pulso e também o incremento de potencial para as determinações. Nos experimentos descritos a seguir foi utilizado o adaptador impresso em PLA, contendo 2 eletrodos (trabalho e pseudo-referência) aspirando um volume de 20 μL de solução contendo catecol 1 mmol L^{-1} em HCl 0,1 mol L^{-1} .

O primeiro parâmetro estudado foi a amplitude da onda. Para tanto aplicou-se a voltametria de onda quadrada com varredura entre 0 e 1,2 V com frequência de 25 Hz, e um incremento de potencial de 5 mV. O processo foi repetido para os valores de amplitude entre 5 e 150 mV.

Os voltamogramas obtidos são exibidos na Figura 30A, juntamente com o gráfico que apresenta a dependência da corrente do pico pela amplitude da onda (B). É possível perceber um aumento de cerca de 8 vezes no valor da corrente de pico ao se partir de 5 para 58 mV. Entretanto, ao avaliar valores de amplitude acima de 58 mV pode-se perceber um forte desvio da linearidade, bem como um comportamento atípico no sinal eletroquímico esperado, com um desdobramento do pico em dois sinais distintos, portanto, o valor de 58 mV foi utilizado para os experimentos subsequentes, por possuir um melhor comprometimento com a concentração, corrente e com o perfil voltamétrico do sistema.

Figura 30 - (A) Voltamogramas de onda quadrada para o estudo da amplitude da onda variando de 5 mV (a) a 150 mV (t) para a determinação de catecol em 20 μL de solução. (B) Gráfico da dependência da corrente de pico pela amplitude da onda. Condições: concentração de catecol 1 mmol L^{-1} em HCl 0,1 mol L^{-1} , microeletrodo de trabalho - platina, pseudo-referência - $\text{Ag/AgCl}_{(\text{sat})}$, frequência = 25 Hz e $E_{\text{incremento}} = 5 \text{ mV}$.



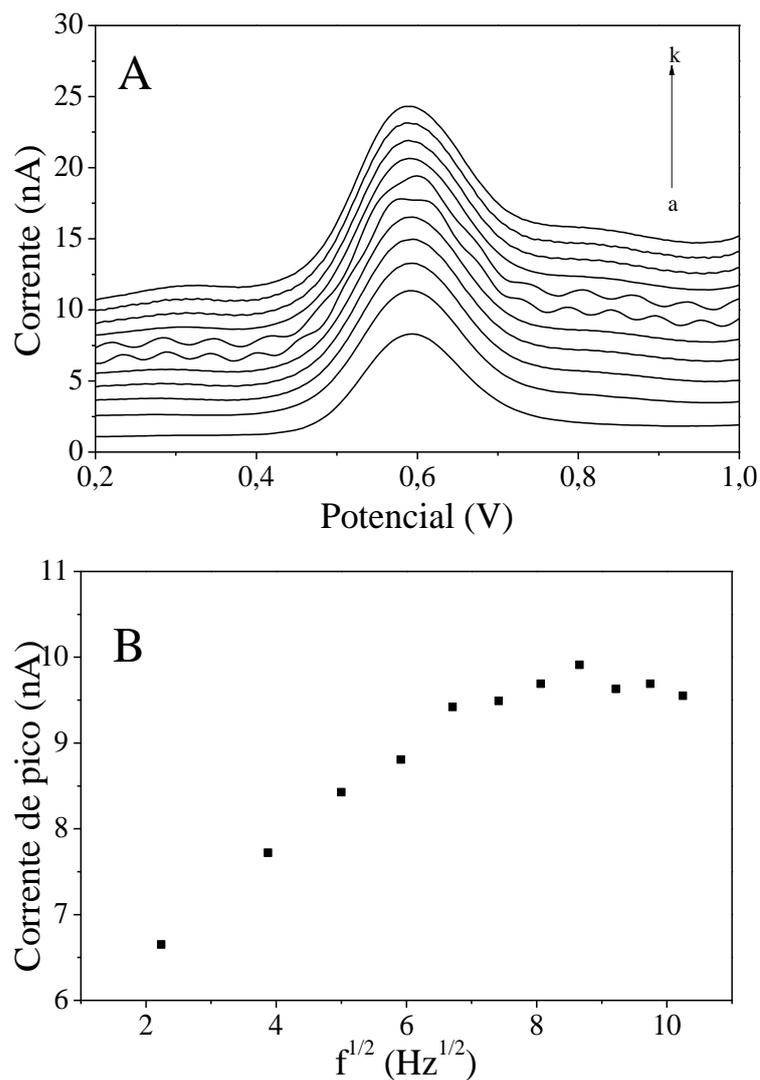
Fonte: Elaborado pelo autor.

Num experimento posterior foi feita a variação da frequência de aplicação dos pulsos. Nos experimentos, foi realizada uma varredura, através da voltametria de onda quadrada, entre 0 e 1,2 V com frequência de pulso entre 5 e 105 Hz, amplitude de 58 mV e um incremento de potencial de 5 mV.

A Figura 31A, mostra os voltamogramas obtidos para o estudo da frequência de aplicação dos pulsos para a análise de catecol e a Figura 31B exibe a dependência da corrente de pico pela raiz quadrada da frequência em uma ampla faixa.

Figura 31- (A) Voltamogramas de onda quadrada para o estudo da frequência de aplicação dos pulsos variando de 5 Hz (a) a 105 Hz (k) para a determinação de catecol. (B) Gráfico da dependência da corrente de pico pela raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos.

Condições: similar ao da Figura 30 e $E_{\text{amplitude}} = 58 \text{ mV}$.



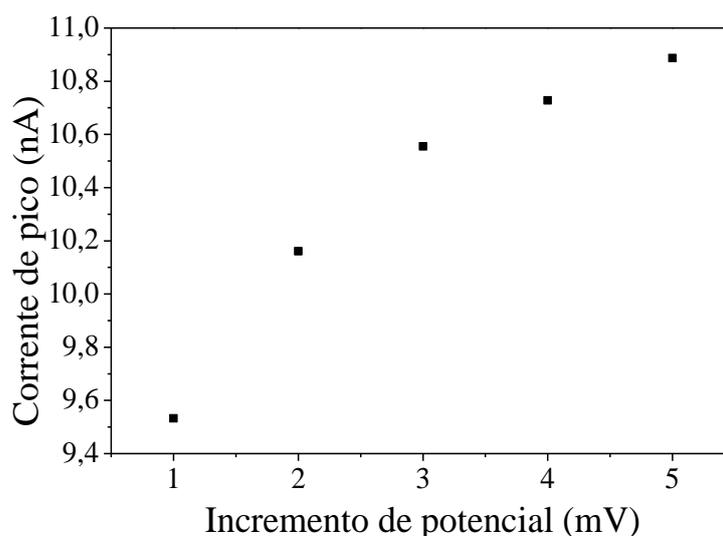
Fonte: Elaborado pelo autor.

É possível notar a partir do gráfico anterior um aumento de cerca de 41 % na altura da corrente de pico quando a frequência varia de 5 para 45 Hz, entretanto, para frequências maiores ocorre um desvio da linearidade esperada para a curva de $i_p \propto \sqrt{f}$. Esse desvio da linearidade pode ser resultado de alterações na reversibilidade e também na alteração da cinética de reação e, portanto, o valor de 45 Hz foi utilizado para os experimentos subsequentes, por possuir um comprometimento com a reversibilidade, concentração e corrente do sistema.

Outro parâmetro avaliado foi o incremento de potencial, uma vez que apresenta uma relação direta com a velocidade de varredura. Neste experimento, foi realizada uma varredura, através da voltametria de onda quadrada entre 0 e 1,2 V com frequência de pulso de 45 Hz, amplitude de 58 mV variando o incremento de potencial linearmente entre 1 e 5 mV. A Figura

32 mostra a relação entre a corrente de pico e o incremento de potencial aplicado na análise de catecol.

Figura 32 - Gráfico da dependência da corrente de pico pelo incremento de potencial variando de 1 a 5 mV aplicado na determinação de catecol por voltametria de onda quadrada. Condições: similar ao da Figura 31 e Frequência = 45 Hz.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A avaliação do gráfico nos permite concluir que a corrente de pico sofre uma pequena variação com o aumento do incremento de potencial na faixa estudada (15 % de aumento), tendo sido definido o valor de 5 mV para os experimentos subsequentes.

Para dar continuidade, foi proposta a aplicação dos microeletrodos na determinação de catecol em amostras de suor sintético através da voltametria de onda quadrada. Nos experimentos foram utilizados 5 μL de solução de catecol em diferentes concentrações para a construção de uma curva analítica (entre 218 e 545 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em triplicata. A varredura foi realizada entre 0 e 1,2 V usando as condições descritas na Tabela 2. Os voltamogramas para as réplicas e a curva analítica obtida são mostrados na Figura 33.

As correntes de pico foram medidas e ajustadas pelo método dos mínimos quadrados à uma reta, a equação que descreve a curva de calibração é mostrada na Equação 8.

$$i_{pt}(nA) = 0,0054 \pm 0,0002 - 0,48 \pm 0,08$$

Equação 8

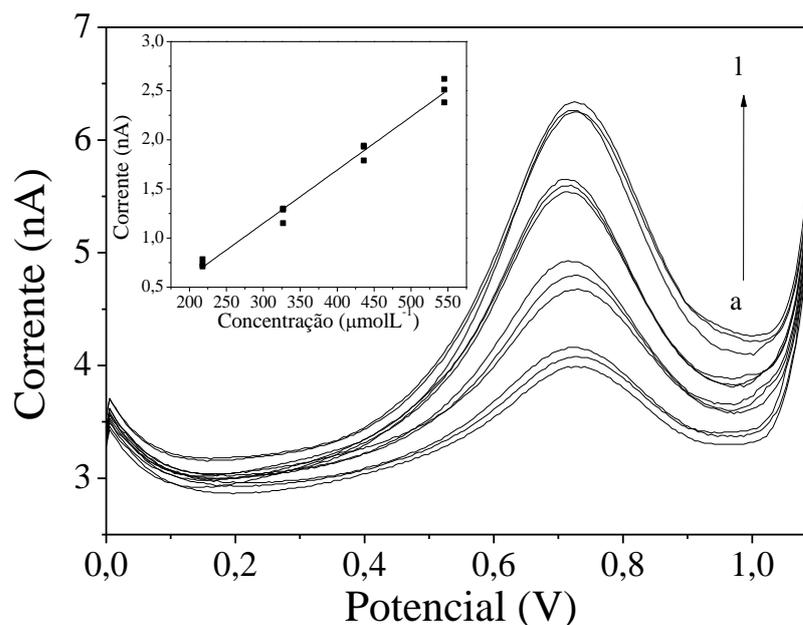
Onde i_{pt} é a corrente de pico e C é a concentração de catecol, as unidades estão entre parênteses.

Tabela 2 - Condições experimentais e instrumentais para as análises de catecol em amostras de suor e saliva sintéticas.

Parâmetro	
Frequência de pulso	45 Hz
Amplitude de pulso	58 mV
Incremento de potencial	5 mV
Microeletrodo de trabalho	Platina
Pseudo-referência	Ag/AgCl _(sat)
Auxiliar	Ausente
Volume de solução	5 μ L

Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 33 - Voltamogramas de onda quadrada e curva analítica para catecol nas concentrações de 218 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a-c), 327 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (d-f), 436 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (g-i) e 545 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (j-l) obtida em triplicata em meio de HCl 0,01 mol L⁻¹. Condições: similar ao da Figura 32 e $E_{\text{incremento}} = 5$ mV.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As curvas foram submetidas à análise de variância e não apresentaram evidências de falta de ajuste à um nível de 95 % de confiança, o valor de F_{calc} foi 0,92 abaixo do valor tabelado (4,46), com 98,7 % de explicação pelo modelo de regressão utilizado.

A partir dos dados da Equação 8 foi possível estabelecer os limites de detecção e quantificação instrumentais. Os valores estabelecidos foram 51,5 e 156,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Eles foram determinados segundo a Equação 9 e a Equação 10, respectivamente, dispostas nos critérios da consulta pública nº129 da ANVISA da seguinte forma: (Anvisa, 2016)

$$LD = \frac{3,3\sigma}{a}$$

Equação 9

$$LQ = \frac{10\sigma}{a}$$

Equação 10

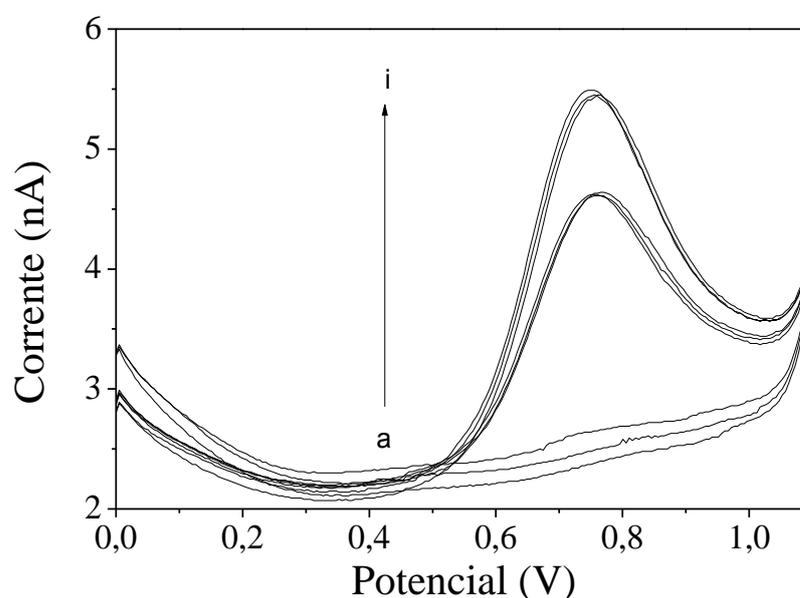
Onde σ é o desvio padrão residual da linha de regressão, e a é o coeficiente angular da curva de analítica.

Após a construção da curva analítica, foi realizada a análise de uma amostra de suor sintético, que foi fortificada em dois níveis para verificar a exatidão do método. As amostras

foram preparadas diluindo diretamente 50 μL de amostra em 50 μL de eletrólito suporte, a seguir uma alíquota de 5 μL foi utilizada para análise eletroquímica.

Um volume de 50 μL de amostra foi fortificada em dois níveis pela adição de 327 e 436 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de uma solução padrão de catecol e em seguida foram avolumadas para 100 μL e analisadas da mesma forma que a amostra pura. Os voltamogramas obtidos para as amostras puras e fortificadas são mostrados na Figura 34. A amostra de suor sintético não apresentou sinal de corrente na região estudada, entretanto a análise da amostra fortificada com catecol permitiu avaliar a dispersão dos resultados como parte do estudo de precisão. Permitiu também a avaliação da exatidão do método através dos ensaios de recuperação. Os valores médios de recuperação (105 e 98 % para os níveis baixo e alto, respectivamente) estiveram dentro da faixa estabelecida pela ANVISA (Anvisa, 2016) para o nível de concentração estudado (90 a 107 %) com desvio padrão relativo de 3 % em ambos os casos, também dentro do limite de 7,3 %.

Figura 34 - Voltamogramas de onda quadrada obtidos para a análise da amostra de suor sintético (a-c) e amostras fortificadas com catecol em dois níveis (327 (d-f) e 436 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (g-i)) Condições: similar à Figura 33.

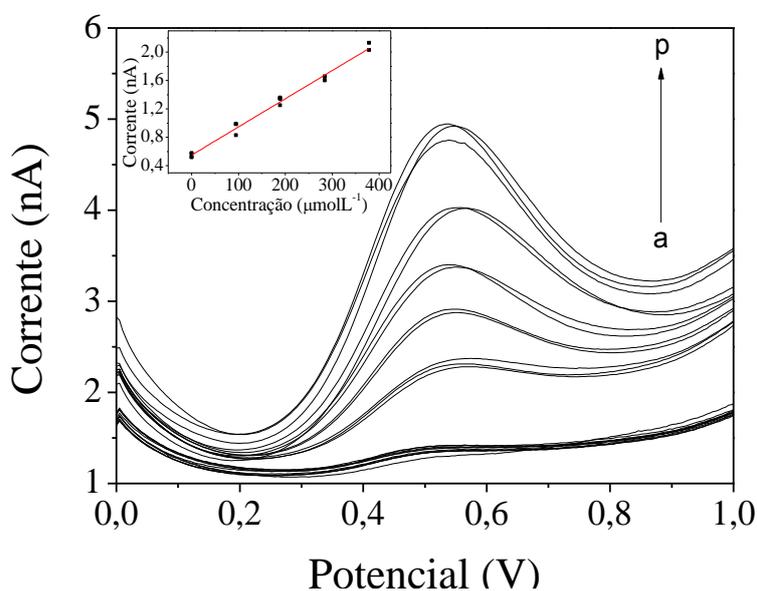


Fonte: Elaborado pelo autor.

Em seguida uma amostra de saliva sintética foi analisada. A curva de adição de padrão foi preparada adicionando diferentes concentrações de catecol em 50 μL de saliva sintética para a construção da curva analítica entre 95 e 379 $\mu\text{mol L}^{-1}$, em triplicata. Nos experimentos foi

utilizada uma gota de 5 μL das soluções preparadas. A varredura foi realizada entre 0 e 1,2 V usando as condições descritas na Tabela 2. Os voltamogramas para as réplicas e a curva obtida são mostrados na Figura 35.

Figura 35 – Voltamogramas de onda quadrada para a determinação de catecol em amostra de saliva sintética (a-d), e adições de padrão de 95 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (e-g), 189 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (h-k), 284 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (l-n) e 379 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (o-p). Condições: similar a Figura 33.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As alturas dos picos de correntes foram medidas e ajustadas pelo método dos mínimos quadrados ordinários a uma reta, descrita na Equação 11.

$$i_{pt}(nA) = 0,00403 \pm 0,00007 - 0,01 \pm 0,02$$

Equação 11

Onde i_{pt} é a corrente de pico e C é a concentração de catecol, as unidades estão entre parênteses.

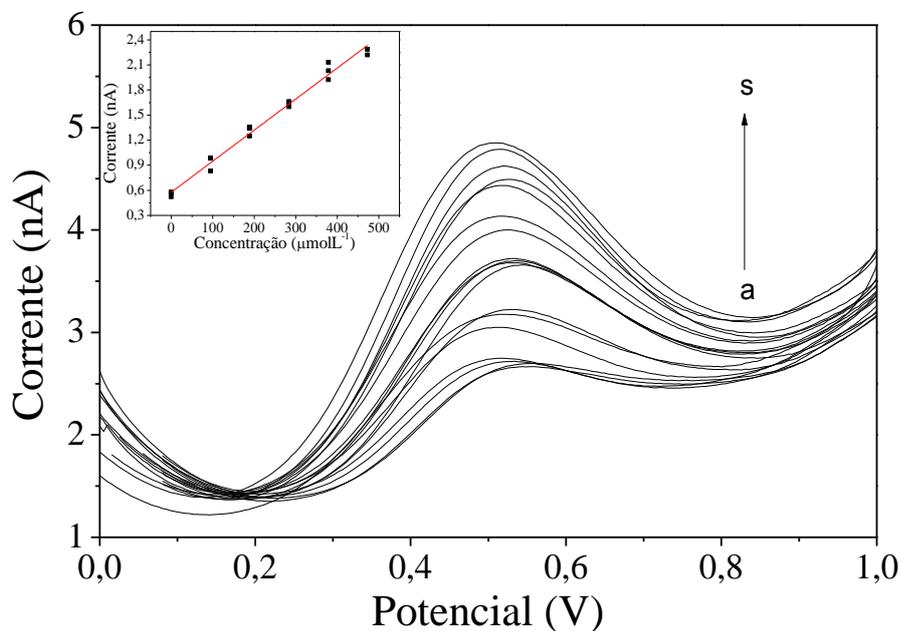
As curvas foram submetidas à análise de variância e não apresentaram evidências de falta de ajuste à um nível de 95 % de confiança, o valor de F_{calc} foi 3,4 estando pouco abaixo do

valor tabelado (3,6). Nestas condições o modelo de regressão utilizado consegue explicar 99,7 % dos pontos experimentais.

A partir dos dados da Equação 11 foi possível estabelecer o limite de detecção e quantificação do método. Os valores estabelecidos foram 18 e 54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente, tendo sido determinados segundo a Equação 9 e Equação 10 (pág.75)

Em seguida uma amostra dopada com uma concentração de 142 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de padrão foi analisada da mesma forma e o mesmo tratamento estatístico foi utilizado. O modelo de regressão ajustado foi testado quanto à falta de ajuste e não apresentou evidências de falta de ajuste à 95% de confiança. Os voltamogramas e a curva de adição de padrão na faixa de 95 a 473 $\mu\text{mol L}^{-1}$ são mostrados na Figura 36. O valor de recuperação foi de 110 %.

Figura 36 - Voltamogramas de onda quadrada para a determinação de catecol em amostra de saliva sintética dopada com 142 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de catecol (a-d), e adições de 94,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (e-g), 189 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (h-k), 284 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (l-n), 379 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (o-q) e 473 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (r-s). Condições: similar a Figura 33.

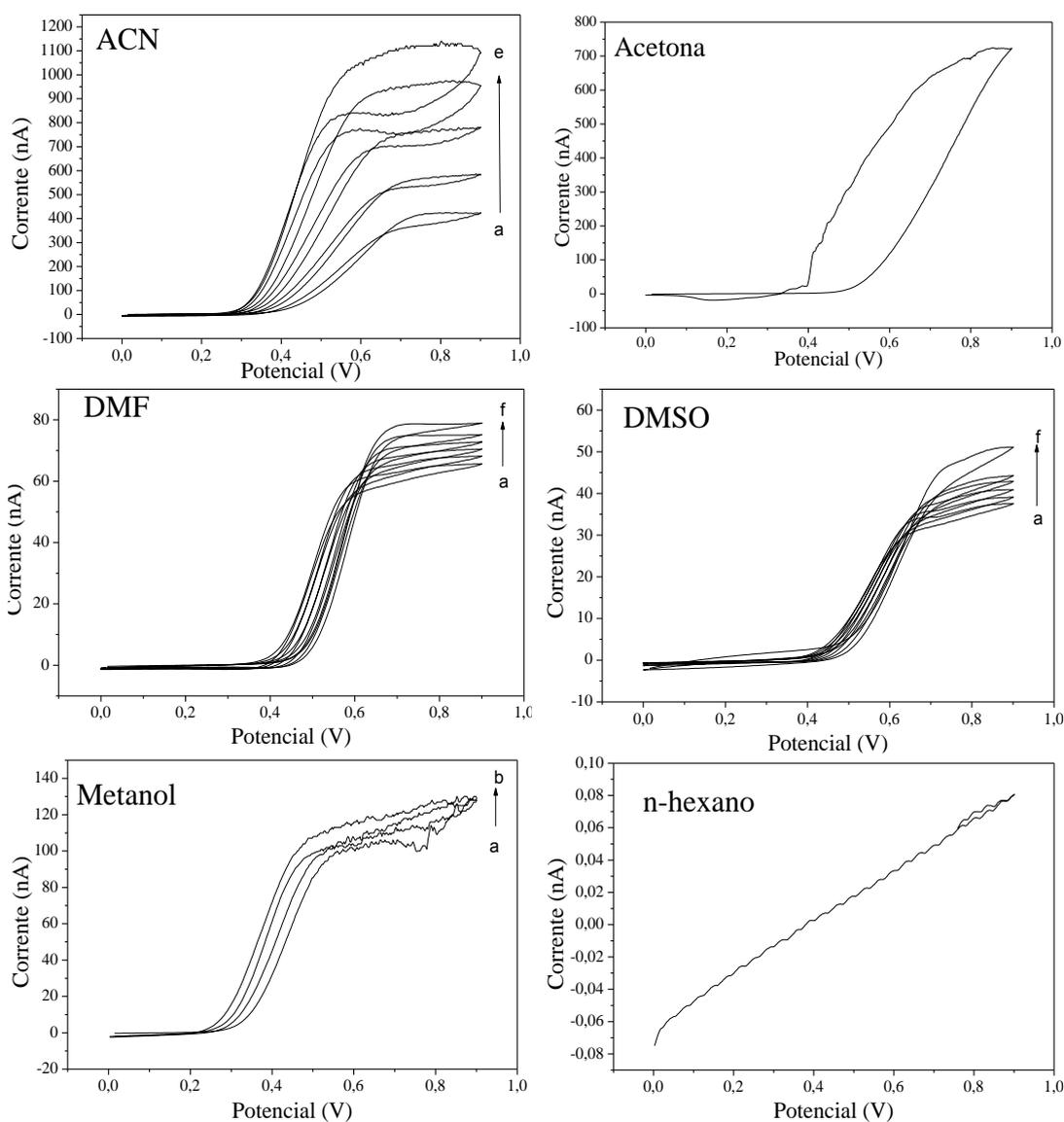


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.2 Ferroceno

Foi realizado um estudo do comportamento dos eletrodos fabricados em meio orgânico, utilizando o par redox $[\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2]^+/\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2$ em diferentes solventes e o sistema adaptador impresso em ABS, contendo o eletrodo de trabalho e o pseudo-referência ($\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$) apenas. As respostas voltamétricas são mostradas na Figura 37 para alguns dos solventes testados.

Figura 37 - Voltamogramas cíclicos para o ferroceno 10 mmol L^{-1} em $10 \mu\text{L}$ dos solventes (acetonitrila, acetona, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, metanol e n-hexano) em um microeletrodo de ouro sem a presença de eletrólito suporte. As letras indicam os ciclos consecutivos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

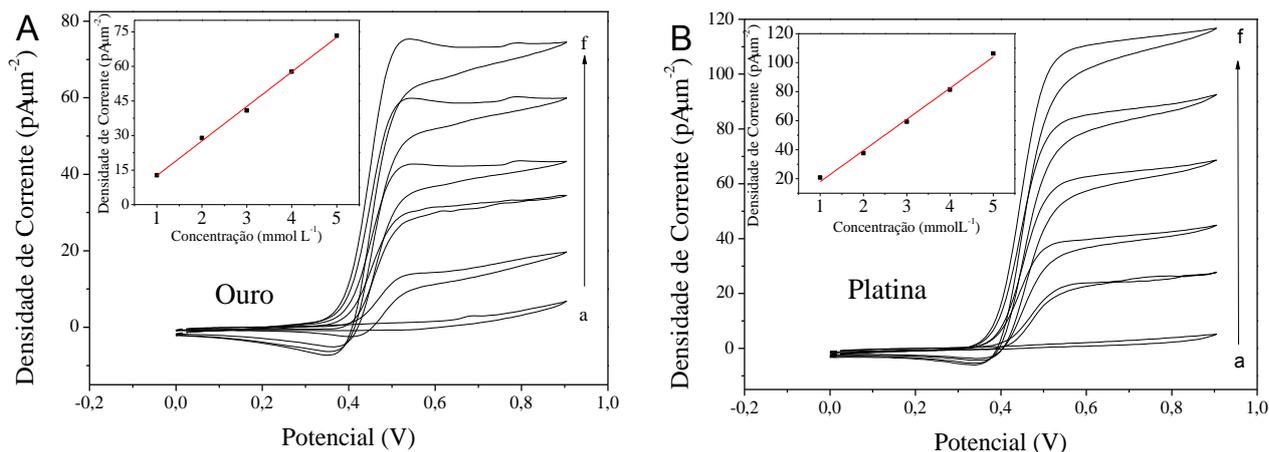
Para os solventes apolares como n-hexano, tolueno e acetato de etila (os dois últimos não mostrados) há baixa condutividade, evidenciada pelas correntes na ordem de pA, impossibilitando a medida eletroquímica. Outro fator crítico foi a evaporação desses solventes, o que também ocorreu para os demais solventes, em especial para ACN, acetona e metanol. Nos três últimos casos, apesar de ser possível a realização da medida, a mesma possui bastante instabilidade devido à evaporação. Para a acetona, por exemplo isso ocorre durante o primeiro ciclo, já para a ACN os sinais aumentam a medida que mais ciclos são realizados com um aumento de aproximadamente 170 % no sinal entre o primeiro e o quinto ciclo, isto porque a diminuição do volume aumenta a concentração do ferroceno no meio até que após 5 ciclos a corrente deixa de fluir pelo sistema, não existindo mais o contato elétrico por meio da solução. O mesmo acontece para o metanol após o segundo ciclo. Já com relação aos potenciais de oxidação percebe-se que para solventes polares próticos como ACN e metanol a transferência eletrônica é facilitada iniciando a oxidação em potenciais próximos de 0,3 V, enquanto para solventes apróticos polares como DMF e DMSO a oxidação inicia-se em potenciais maiores, próximos de 0,4 V, entretanto com correntes mais baixas, evidenciando uma menor condutividade nesses meios.

Em DMF e DMSO a evaporação se apresenta menos pronunciada, permitindo vários ciclos com um desvio padrão relativo de 7 e 8 % (6 ciclos), respectivamente, sem uma diminuição apreciável do volume de solvente em temperatura ambiente. Para melhor investigar o comportamento do ferroceno em solventes apróticos foi utilizado o DMF como solvente nos testes subsequentes com os microeletrodos de ouro e platina.

Foram realizados voltamogramas cíclicos nos microeletrodos de ouro e platina (Figura 38) para efeito de comparação da resposta dos mesmos, para isso os voltamogramas foram normalizados pela área de cada um.

Figura 38 - Voltamogramas cíclicos e curva analítica corrigida pela área dos microdiscos em meio de DMF para a construção de uma curva analítica para ferroceno nas concentrações de 0 mmol L⁻¹ (a), 1 mmol L⁻¹ (b), 2 mmol L⁻¹ (c), 3 mmol L⁻¹ (d), 4 mmol L⁻¹ (e) e 5 mmol L⁻¹ (f).

Condições: microeletrodo de trabalho de ouro (A) e platina (B) e pseudo-referência de Ag/AgCl_(sat). Eletrólito suporte: TBATFB 0,25 mol L⁻¹. Velocidade de varredura 0,1 V s⁻¹.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As correntes foram medidas através da altura das curvas sigmóides exibidas na Figura 38 e foram ajustadas pelo método dos mínimos quadrados ordinários, cujas equações são mostradas para cada um dos eletrodos (Equação 12 e Equação 13).

$$j_{Pt} \text{ (pA}\mu\text{m}^{-2}\text{)} = 20,6x C$$

Equação 12

$$j_{Au} \text{ (pA}\mu\text{m}^{-2}\text{)} = 14,4 x C$$

Equação 13

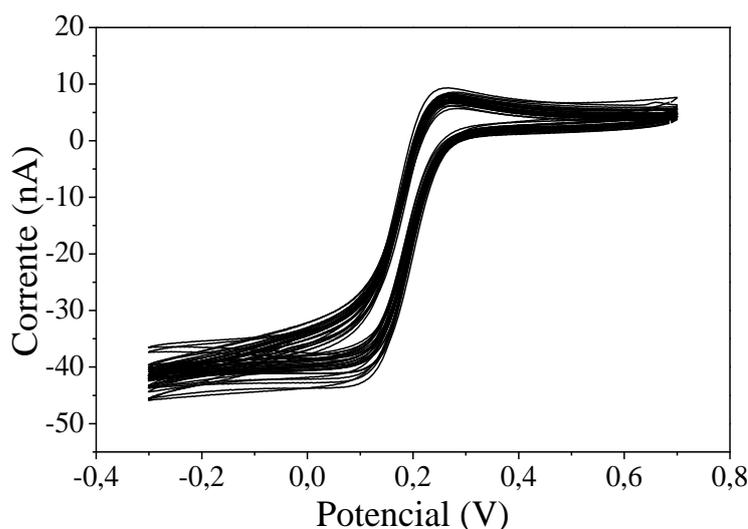
Onde j_{Pt} e j_{Au} são as densidades de corrente para os eletrodos de platina e ouro respectivamente, e C é a concentração de ferroceno, as unidades estão entre parênteses.

A sensibilidade, avaliada pelo coeficiente angular dos dois eletrodos, apresentou uma diferença de cerca de 30 %, evidenciando alterações na forma de transferência eletrônica entre os diferentes eletrodos, com uma sensibilidade maior para o eletrodo de platina.

A reprodutibilidade da construção dos microeletrodos foi testada com a fabricação de 30 eletrodos de platina diferentes e através da comparação da medida de corrente limite para o ferroceno 10 mmol L⁻¹ em solução de DMF, obtendo-se uma corrente média da ordem de 40 nA

e um desvio padrão relativo de 3,6 % entre as correntes medidas com os eletrodos fabricados. Os voltamogramas para os 30 eletrodos construídos são mostrados na Figura 39.

Figura 39 - Voltamogramas cíclicos para uma solução de ferroceno 10 mmol L^{-1} em dimetilformamida usando 30 microeletrodos de platina diferentes. Condições: Eletrodo de pseudo-referência de $\text{Ag/AgCl}_{(\text{sat})}$, velocidade de varredura $0,2 \text{ mV s}^{-1}$.

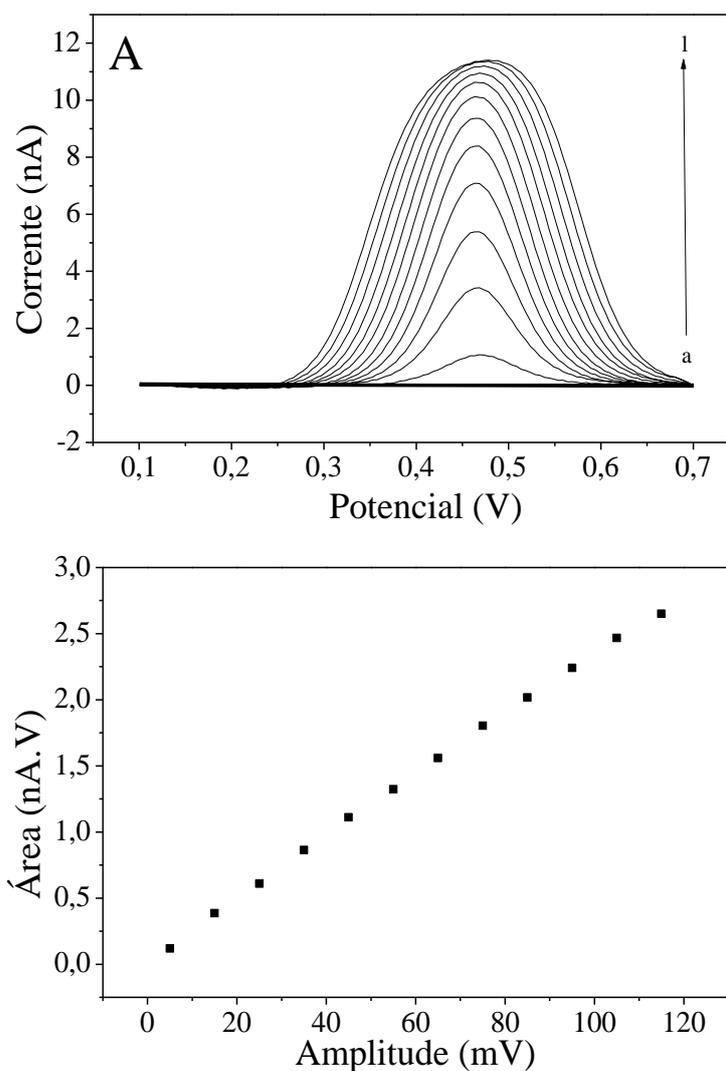


Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi proposta então a aplicação dos microeletrodos na análise do ferroceno através da técnica de voltametria de onda quadrada para investigar a resposta dos microeletrodos à baixas concentrações. Nos experimentos descritos a seguir foi utilizado o adaptador impresso em ABS, aspirando um volume de $20 \mu\text{L}$ de solução contendo ferroceno 1 mmol L^{-1} em DMF contendo TBATFB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte.

O primeiro parâmetro estudado foi a amplitude da onda. Para tanto aplicou-se a voltametria de onda quadrada com varredura entre 0 e $0,7 \text{ V}$ com frequência de 25 Hz , e um incremento de potencial de 5 mV . O processo foi repetido para os valores de amplitude entre 5 e 115 mV . Os voltamogramas obtidos estão exibidos na Figura 40A, juntamente com o gráfico que apresenta a dependência da área do pico pela amplitude da onda (Figura 40B). É possível perceber um aumento linear no valor da área do pico ao se partir de 5 para 115 mV , sendo próximo de 21 vezes o valor da área para a menor amplitude, o estudo confirma, portanto, que a sensibilidade pode ser drasticamente afetada pela mudança deste parâmetro.

Figura 40 – (A) Voltamogramas para o estudo da amplitude da onda variando de 5 mV (a) a 115 mV (l) para a determinação de ferroceno. (B) Gráfico da dependência da área do pico pela amplitude da onda. Condições: concentração de ferroceno 1 mmol L^{-1} em DMF contendo TBATFB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte, eletrodo de trabalho de platina, pseudo-referência de $\text{Ag/AgCl}_{(\text{sat})}$, frequência 25 Hz e $E_{\text{incremento}} = 5 \text{ mV}$.



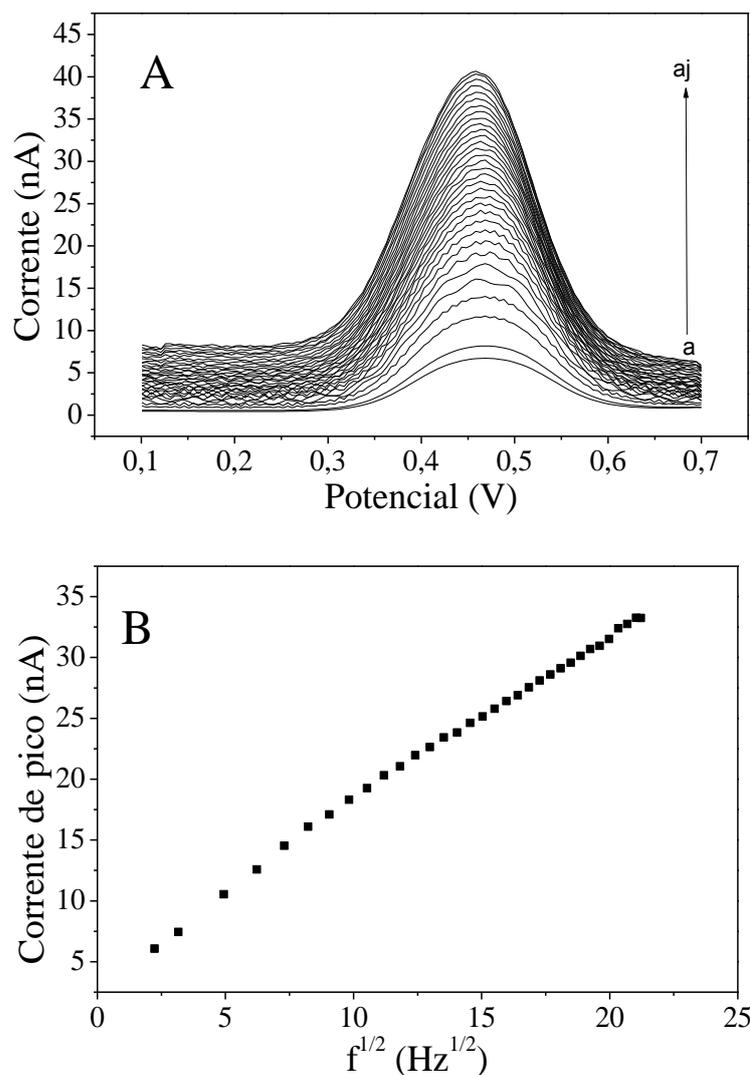
Fonte: Elaborado pelo autor.

Entretanto ao avaliar a largura dos picos dos voltamogramas da Figura 40 pode-se perceber uma contribuição cada vez mais significativa para o alargamento do pico, fato que limitou a amplitude até 75 mV com um bom compromisso entre área e largura, apresentando um aumento de mais de 14 vezes na área do pico para um alargamento da ordem de 70 mV . A partir dos dados expostos, pôde-se definir a amplitude de 75 mV para os experimentos posteriores.

Num experimento posterior foi feita a variação linear da frequência de aplicação dos pulsos. Nos experimentos, foi realizada uma varredura, através da voltametria de onda quadrada, entre 0 e 0,7 V com frequência de pulso entre 5 e 450 Hz, amplitude de 75 mV e um incremento de potencial de 5 mV.

A Figura 41, mostra os voltamogramas para o estudo da frequência e a dependência da área integrada do pico pela raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos em uma ampla faixa. É possível notar um aumento da área do pico quando a frequência varia de 5 para 450 Hz, com uma diferença maior que 5 vezes o valor inicial de corrente. Como pode ser visto na Figura 41B, o sistema apresenta um comportamento linear ao longo de toda a curva de $i_p \propto \sqrt{f}$ e, portanto, o valor de 450 Hz foi utilizado para os experimentos subsequentes.

Figura 41 – (A) Voltamogramas de onda quadrada para o estudo da frequência de aplicação variando de 5 Hz (a) a 450 Hz (aj) com incrementos de 13,5 Hz dos pulsos para a análise de ferroceno. (B) Dependência da corrente de pico pela raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos. Condições: similar ao da Figura 40 e $E_{\text{amplitude}} = 75 \text{ mV}$.

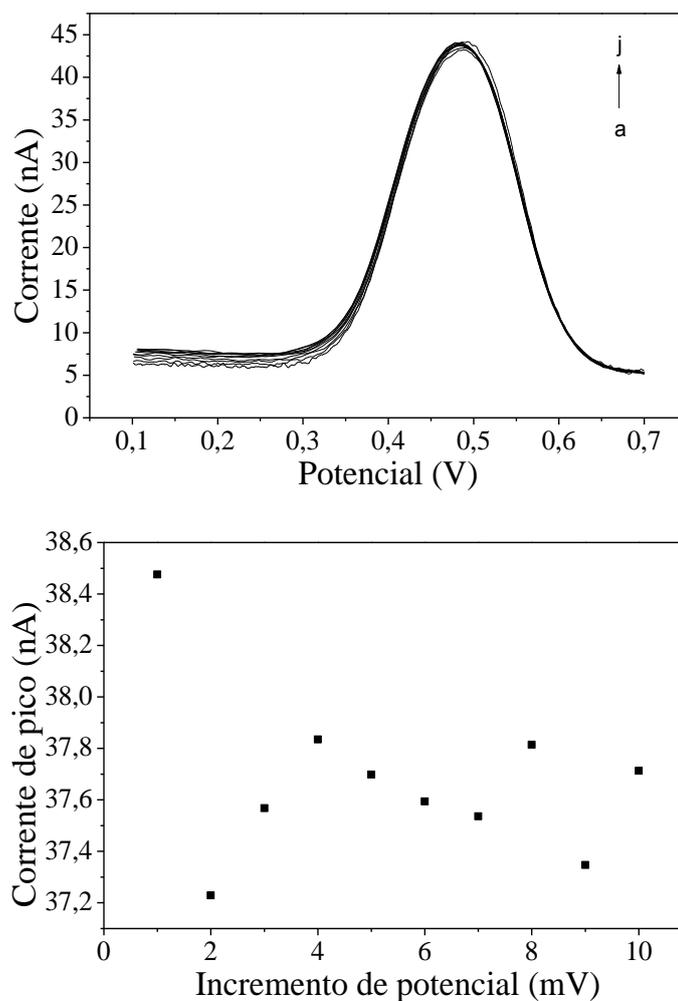


Fonte: Elaborado pelo autor.

Outro parâmetro avaliado foi o incremento de potencial, uma vez que apresenta uma relação direta com a velocidade de varredura. Neste teste foi realizada uma varredura, através da voltametria de onda quadrada entre 0 e 0,7 V com frequência de pulso de 450 Hz, amplitude de 75 mV, variando o incremento de potencial linearmente entre 1 e 10 mV com incremento de 1 mV.

A partir dos voltamogramas e do gráfico da Figura 42 fica evidente que o incremento de potencial não exerceu influência sobre o sinal analítico para a determinação de ferroceno, entretanto, um incremento menor fornece um maior número de pontos de amostragem de corrente no intervalo e por isso foi escolhido o menor incremento de potencial para a realização da análise. A escolha deste valor não comprometeu o tempo de análise de maneira significativa, uma vez que esta apresenta um tempo bem curto mesmo com o menor incremento de potencial (cerca de 1 segundo).

Figura 42 – (A) Voltamogramas de onda quadrada para o estudo do incremento de potencial variando de 1 mV (a) a 10 mV (j) para a análise de ferroceno. (B) Dependência da altura do pico pelo incremento de potencial. Condições: similar ao da Figura 41 e frequência = 450Hz.



Fonte: Elaborado pelo autor.

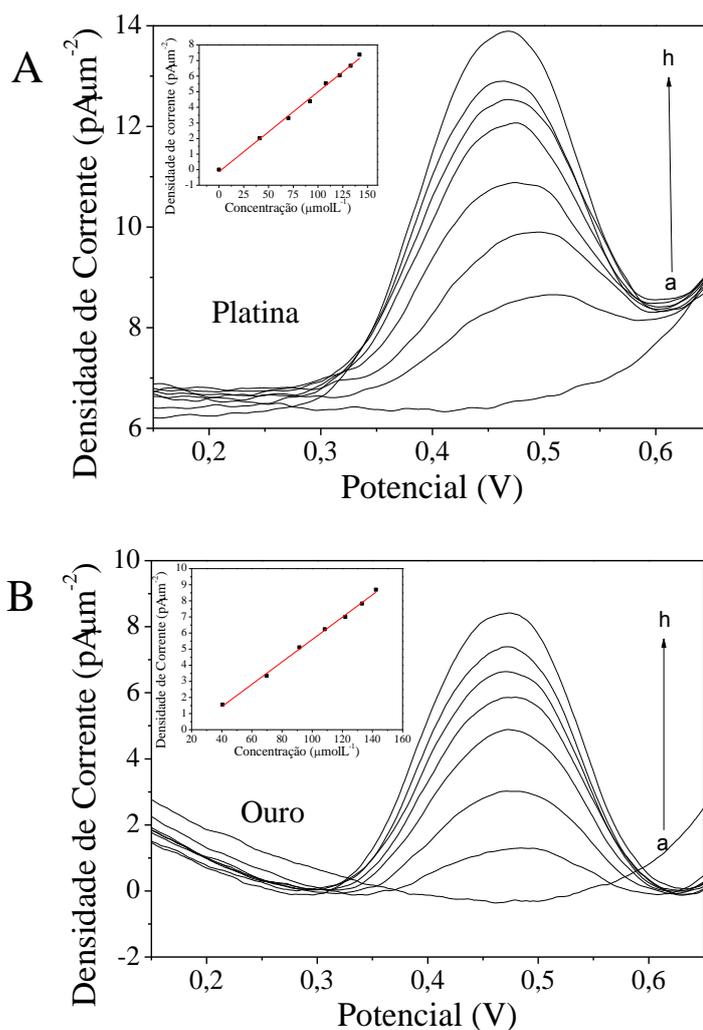
A curva analítica foi construída usando as condições experimentais estabelecidas, resumidas na Tabela 3. Uma sequência de voltamogramas de onda quadrada de soluções contendo concentrações crescentes de ferroceno entre 41 e 142 $\mu\text{mol L}^{-1}$ é apresentada na Figura 43, juntamente com as respectivas curvas analíticas. Nos experimentos foram utilizados 10 μL de solução de ferroceno aspiradas no interior de uma ponteira encaixada no dispositivo adaptador construído.

Tabela 3 - Condições experimentais e instrumentais para as análises de ferroceno em solução de DMF.

Parâmetro	
Frequência de pulso	450 Hz
Amplitude de pulso	75 mV
Incremento de potencial	1 mV
Microeletrodo de trabalho	Platina e Ouro
Pseudo-referência	Ag/AgCl _(sat)
Auxiliar	Ausente
Volume de solução	10 μL

Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 43 – (A) Voltamogramas de onda quadrada e curva analítica obtida em meio de DMF para o branco (a) e o ferroceno nas concentrações de $41 \mu\text{mol L}^{-1}$ (b), $70 \mu\text{mol L}^{-1}$ (c), $92 \mu\text{mol L}^{-1}$ (d), $108 \mu\text{mol L}^{-1}$ (e), $122 \mu\text{mol L}^{-1}$ (f), $133 \mu\text{mol L}^{-1}$ (g) e $142 \mu\text{mol L}^{-1}$ (h) para o eletrodo de platina (A) e ouro (B). Condições: frequência de 450 Hz, Amplitude de 75 mV e incremento de potencial de 1 mV.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As correntes de pico foram medidas e ajustadas pelo método dos mínimos quadrados ordinários, cujas equações são mostradas para cada um dos eletrodos nas Equação 14 e Equação 15.

$$j_{Au} (\text{pA}\mu\text{m}^{-2}) = 0,075 \pm 0,002 \times C - 2,0 \pm 0,2$$

Equação 14

$$j_{Pt} (pA\mu m^{-2}) = 0,182 \pm 0,005 \times C - 2,3 \pm 0,5$$

Equação 15

Onde j_{Pt} e j_{Au} são as densidades de corrente para os eletrodos de platina e ouro respectivamente, e C é a concentração de ferroceno, as unidades estão entre parênteses.

As curvas foram submetidas à análise de variância e não apresentaram evidências de falta de ajuste à um nível de 95 % de confiança, os valores de F_{calc} foram 1,39 para o microeletrodo de ouro e 2,14 para o microeletrodo de platina, ambos abaixo dos valores tabelados.

A partir dos dados da Equação 14 e Equação 15 obtidas foi possível estabelecer os limites de detecção e quantificação instrumental nos dois microeletrodos desenvolvidos. Os valores estabelecidos foram 7,5 e 22,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, para o eletrodo de platina, e 6,1 e 18,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, para o eletrodo de ouro. Eles foram determinados segundo a Equação 9 e a Equação 10, respectivamente.

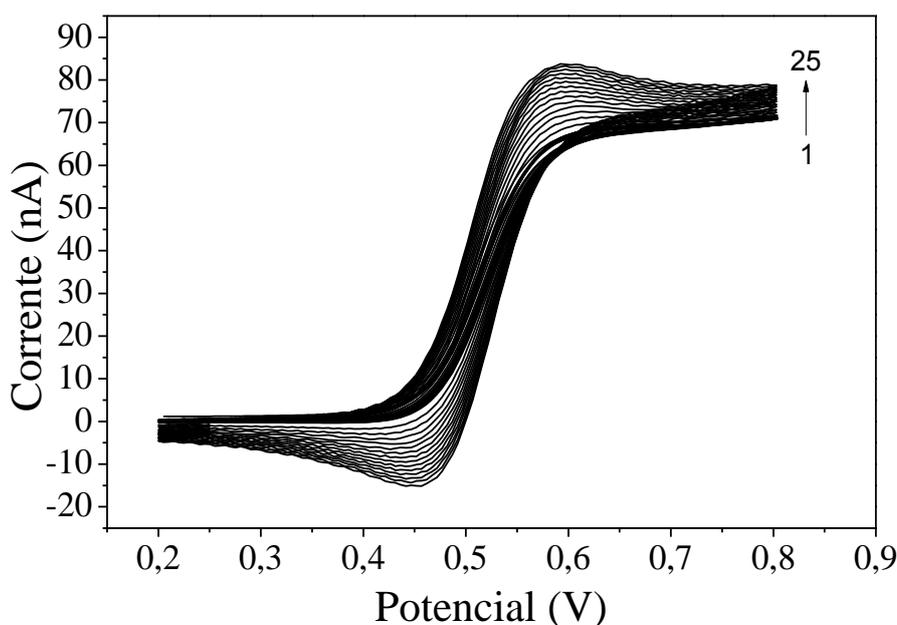
O microeletrodo de platina foi testado ainda para confirmar a teoria relacionada ao perfil do voltamograma. Foi realizado um estudo variando a velocidade de varredura utilizando os microeletrodos inseridos no adaptador para micropipetas. A Figura 44 mostra os 25 voltamogramas registrados com velocidades de varredura variando entre 0,005 e 1 V s^{-1} e o efeito causado por essa variação. É sabido que para microdiscos a densidade de corrente apresenta uma dependência da difusão linear e da difusão radial, apresentando portanto uma contribuição temporal e uma independente do tempo conforme mostrado na Equação 16.

$$I_d = \underbrace{\frac{4nFD C^\infty}{\pi a}}_{\text{radial}} + \underbrace{\frac{nFD^{1/2} C^\infty}{\pi^{1/2} t^{1/2}}}_{\text{linear}}$$

Equação 16

Onde I_d é a corrente de difusão, n é o número de elétrons envolvidos na reação, F é a constante de Faraday, D é o coeficiente de difusão da espécie, C^∞ é a concentração da espécie no seio da solução, a é a área do eletrodo, e t é o tempo.

Figura 44 – Voltamogramas cíclicos de uma solução de ferroceno 10 mmol L⁻¹ em dimetilformamida, para o estudo da velocidade de varredura entre 5 mV s⁻¹ e 1 V s⁻¹ (1-25). Condições: microeletrodo de trabalho de platina, pseudo-referência de Ag/AgCl_(sat), frequência de 450 Hz, amplitude de 75 mV e incremento de potencial de 1 mV.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Conforme pode ser visto na Figura 44, a resposta voltamétrica começa a apresentar um perfil com a presença de um pico, que é esperado para eletrodos com difusão linear (como os macroeletrodos), entretanto a corrente na inversão do potencial e os baixos valores de corrente mostram que o perfil de estado estacionário (microeletrodos) ainda é dominante, mesmo para velocidades altas, da ordem de 1 Vs⁻¹. Por outro lado, para velocidades até 250 mV s⁻¹ existe uma independência entre a corrente limite e a velocidade de varredura, indicando a predominância da contribuição radial e uma fraca dependência temporal.

Para estender um pouco mais a compreensão dos voltamogramas cíclicos registrados, foi avaliado o critério de Thömes $|E_{3/4} - E_{1/4}|$ para os voltamogramas até a velocidade de 250 mV s⁻¹. Foi encontrado um valor médio de 55,2 mV, muito próximo do valor teórico de 56,4 mV, sendo possível confirmar tanto a reversibilidade quanto o número de elétrons envolvidos na oxidação do ferroceno.

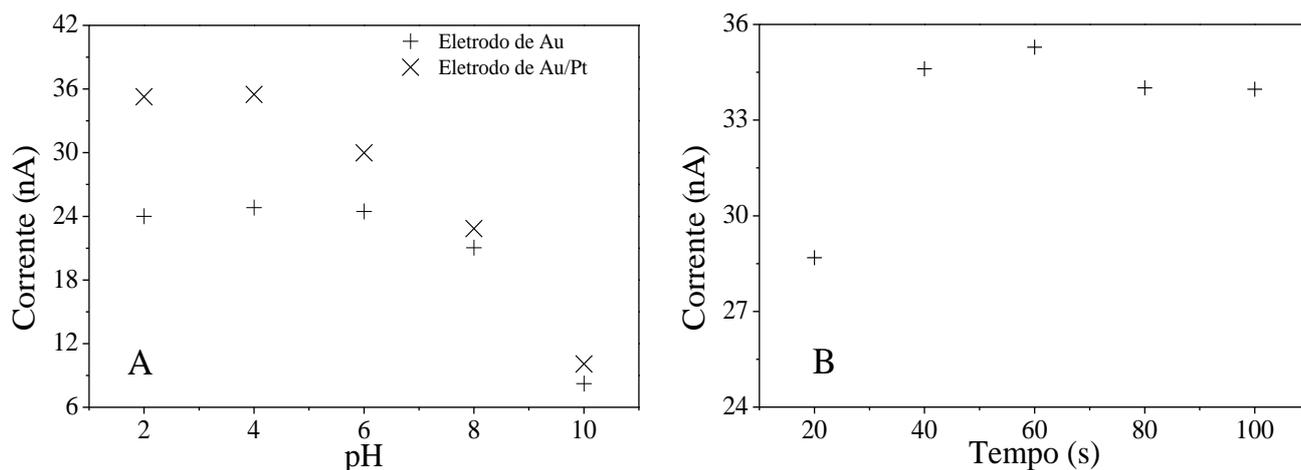
4.3.3 Dopamina

A fim de verificar a versatilidade do dispositivo construído, foi proposta a modificação da superfície de um microeletrodo de trabalho de ouro inserido no sistema adaptador e testado para a determinação de dopamina em água. Inicialmente uma sequência de experimentos foram tratados para definir o pH ideal para a execução das análises. Para este propósito alguns parâmetros foram fixados: tempo de deposição de 120 s, potencial de deposição de -0,9 V e uma concentração de platina de 10 mmol L⁻¹ (K₂PtCl₄ em tampão BR pH 3,3). Uma mistura de H₃BO₃, H₃PO₄ e CH₃COOH todos à 0,04 mol L⁻¹.

Num experimento típico para investigar a oxidação da dopamina, uma alíquota de solução de platina (10 µL) foi aspirada na ponteira e um potencial de -0,9 V foi aplicado para realizar a modificação do eletrodo de ouro. Subsequentemente, a solução foi dispensada, a ponteira foi lavada aspirando e dispensando cerca de 20 µL de água deionizada 5 vezes. Uma alíquota de uma solução tampão BR em pH 2 (10 µL) foi então aspirada, e uma varredura de potencial realizada entre -0,2 e 0,6 V à 50 mV s⁻¹ para verificar o sinal analítico gerado pela solução do branco. Logo em seguida uma alíquota de 10 µL da solução de dopamina à 5,11 mmol L⁻¹ (pH 2) foi tomada e analisada da mesma maneira. A ponteira foi então removida e o eletrodo de trabalho foi polido para remover a platina depositada e testado novamente para diferentes valores de pH (2, 4, 6, 8 e 10).

Os resultados estão apresentados na Figura 45 tanto para o eletrodo limpo quanto para o eletrodo modificado com platina.

Figura 45 – (A) Gráfico de corrente limite em função do pH do tampão BR para a detecção de dopamina em um eletrodo de ouro modificado com platina. (B) Influência do tempo de deposição de platina na resposta eletroquímica da dopamina. Condições: concentração de dopamina - $5,11 \text{ mmol L}^{-1}$, eletrodo pseudo-referência de Ag/AgCl_(sat), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 45(A) mostra o efeito da modificação do eletrodo, um crescimento de mais de 40 % nos valores de corrente quando comparado aos valores obtidos para o eletrodo de ouro não modificado. É interessante também observar um pequeno aumento de corrente quando varia-se o pH de 2 para 4. Após este valor acontece um decaimento da corrente limite em função do aumento do pH, isto porque a dopamina é rapidamente oxidada em meio básico pelo oxigênio dissolvido (Shen e Ye, 1994). Portanto o pH 4 foi escolhido para os experimentos subsequentes.

A Figura 45B mostra a dependência da corrente pelo tempo de deposição de platina. Neste experimento, o eletrodo foi inicialmente polido e então uma alíquota de $10 \mu\text{L}$ de uma solução de K_2PtCl_4 à 10 mmol L^{-1} foi aspirada e um potencial de $-0,9 \text{ V}$ foi aplicado por 20 s. A solução foi então dispensada, a ponteira foi lavada aspirando e dispensando água deionizada repetidas vezes. Uma alíquota de $10 \mu\text{L}$ de uma solução de dopamina foi aspirada e analisada através da voltametria cíclica entre $-0,2$ e $0,6 \text{ V}$ à 50 mV s^{-1} . O mesmo foi realizado para os tempos de 40, 60, 80 e 100 segundos de deposição.

Os resultados indicam que a corrente observada para o menor tempo de deposição é cerca de 17 % mais baixa do que aquela observada para os demais tempos de deposição. Entretanto, após 40 segundos de deposição não foi constatada nenhuma diferença expressiva que

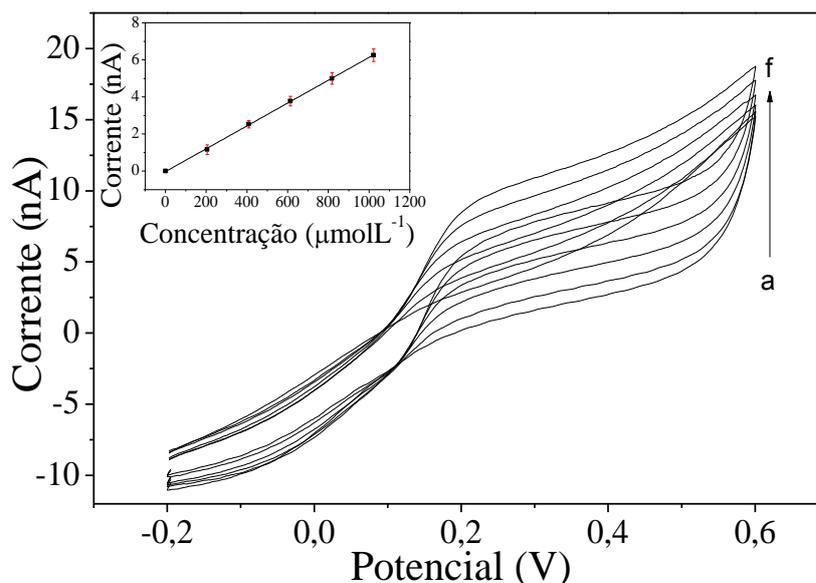
justificasse o aumento do tempo para a realização das análises. Portanto, um tempo de 40 segundos foi utilizado nos experimentos subsequentes.

Após estabelecer as condições de análise, uma curva analítica foi construída e as amostras de água foram analisadas através da voltametria cíclica. As amostras de água de torneira foram coletadas no laboratório e então dopadas com dopamina em 3 níveis distintos.

Para a realização das análises, o dispositivo foi conectado à micropipeta e inserido na ponteira, em seguida os eletrodos foram conectados ao potenciostato. Uma alíquota de 10 μL de uma solução de platina foi aspirada e um potencial de -0,9 V foi aplicado à célula por um período de 40 s. Depois deste procedimento, a ponteira e os eletrodos foram lavados aspirando e dispensando água deionizada repetidas vezes. Posteriormente 10 μL de uma solução contendo apenas o eletrólito suporte foi aspirada e o potencial foi varrido entre -0,2 e 0,6 V à 50 mVs^{-1} . A solução foi dispensada e a ponteira lavada novamente. Logo após, 10 μL de uma solução padrão de dopamina foi aspirada e analisada da mesma forma. O mesmo foi feito para os outros padrões, amostras e amostras fortificadas. Todo o procedimento foi executado em triplicata. As amostras foram preparadas por diluição (1:1) em tampão BR pH 4.

A Figura 46 mostra os voltamogramas cíclicos da dopamina (entre 204 e 1022 $\mu\text{mol L}^{-1}$), utilizados para a construção da curva analítica.

Figura 46 – Voltamogramas cíclicos para a construção de uma curva analítica nas concentrações de 0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a), 204 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (b), 409 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (c), 613, $\mu\text{mol L}^{-1}$ (d), 818 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (e) e 1022 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (f). Condições: microeletrodo de trabalho de ouro modificado com platina, pseudo-referência Ag/AgCl_(sat), eletrólito suporte - tampão BR pH 4, velocidade de varredura - 50 mV s^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor

As correntes limites foram medidas e ajustadas pelo método dos mínimos quadrados à uma reta, a Equação 17 descreve a curva de calibração.

$$i \text{ (nA)} = 0,0062 * C - 0,02, R^2 = 0,9997$$

Equação 17

Onde i é a corrente limite e C é a concentração de catecol, as unidades estão entre parênteses.

A partir dos dados da Equação 17 foi possível estabelecer os limites de detecção e quantificação instrumentais. Os valores estabelecidos foram 15,6 e 51,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente. Eles foram calculados segundo a Equação 9 e a Equação 10, respectivamente.

Testes de adição e recuperação foram realizados em 3 níveis para avaliar a exatidão do método, os resultados são mostrados na Tabela 4 e evidenciam boa exatidão para a análise de dopamina.

Tabela 4 – Valores de recuperação para as amostras de água fortificadas.

Concentração adicionada ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	% recuperação
306,6	99,8
715,4	99,5
919,8	99,5

4.3.4 Cobre

A determinação de cobre foi realizada com o intuito de investigar a potencialidade do uso do adaptador para análises diretas de metais em microeletrodo de ouro. A fim de alcançar as melhores condições instrumentais para a análise, foi elaborada uma sequência de testes para otimizar os parâmetros fundamentais da técnica de voltametria de onda quadrada como: o tempo e potencial de pré-concentração, amplitude, frequência e ainda o incremento de potencial. Todos os estudos foram realizados de forma univariada, avaliando a área do pico de redissolução do cobre.

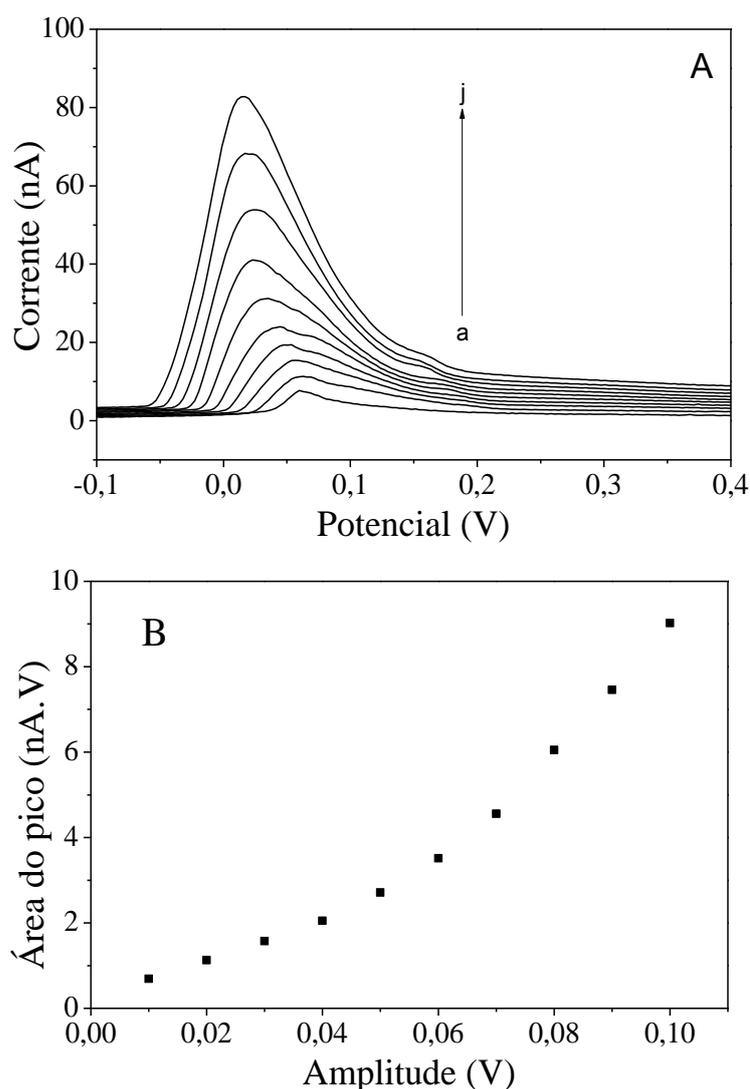
Nos experimentos descritos a seguir foi utilizado o adaptador impresso em PLA, aspirando um volume de 12 μL de solução contendo cobre 525 $\mu\text{g L}^{-1}$ em HCl 0,1 mol L^{-1} , o sistema foi mantido sem agitação mecânica ou magnética durante o período de análise.

O primeiro parâmetro estudado foi a amplitude da onda. Para tanto foi aplicado um potencial de -1,1 V permanecendo por 120 s para a pré-concentração do Cu^{2+} . Em seguida, aplicou-se a voltametria de onda quadrada com varredura entre -1,1 e 0,4 V com frequência de 25 Hz, e um incremento de potencial de 3 mV para a redissolução do cobre. Posteriormente, um potencial de condicionamento de 0,65 V foi aplicado por 30 segundos para limpeza do eletrodo. O processo foi repetido para os valores de amplitude entre 10 e 100 mV.

Os voltamogramas obtidos estão exibidos na Figura 47A, juntamente com o gráfico que apresenta a dependência da área do pico pela amplitude da onda (Figura 47B). É possível perceber um aumento de cerca de 13 vezes no valor da área do pico ao se partir de 10 para 100 mV. Confirmando que a sensibilidade pode ser drasticamente afetada pela mudança deste

parâmetro. A partir dos dados expostos, pôde-se definir a amplitude de 100 mV para os experimentos posteriores.

Figura 47 – (A) Voltamogramas para o estudo da amplitude da onda variando de 10 mV (a) a 100 mV (j) para a determinação de cobre. (B) Gráfico da dependência da área do pico pela amplitude da onda. Condições: Concentração de cobre $525 \mu\text{g L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de Ag/AgCl_(sat), $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{d}} = 120 \text{ s}$, $f = 25 \text{ Hz}$, $E_{\text{incremento}} = 3 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$.



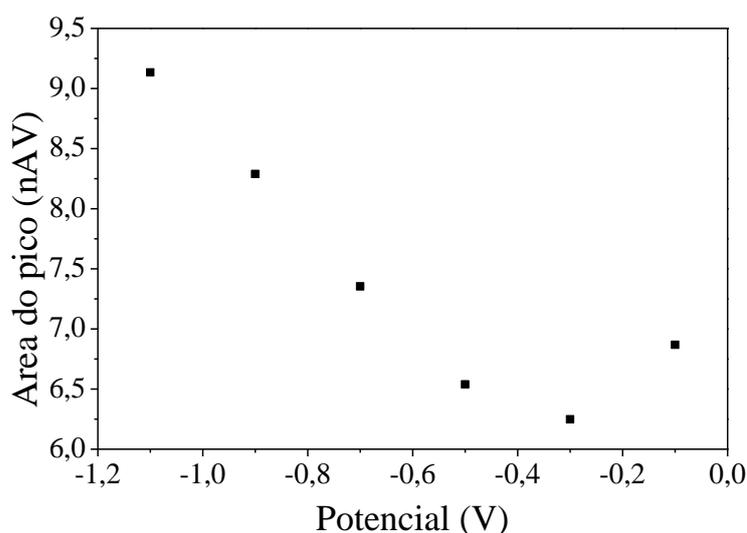
Fonte: Elaborado pelo autor.

O segundo parâmetro estudado foi o potencial para a deposição do Cu^{2+} , onde avaliou-se potenciais entre -0,1 e -1,1 V. Os potenciais foram aplicados por 120 s para a pré-concentração do Cu^{2+} . Neste estudo, aplicou-se a voltametria de onda quadrada com varredura entre o potencial de deposição e 0,4 V com frequência de 25 Hz, amplitude de 100 mV e um incremento de

potencial de 3 mV para a redissolução do cobre. Posteriormente, um potencial de condicionamento de 0,65 V foi aplicado por 30 s para limpeza do eletrodo.

O gráfico que mostra a dependência entre a área do pico e o potencial de deposição aplicado é apresentado na Figura 48. É possível perceber um aumento de cerca de 46 % na área do pico ao se partir de um potencial de deposição de -0,3 para -1,1 V. Nesse sentido, definiu-se como -1,1 V o potencial para a deposição de cobre.

Figura 48 – Gráfico da dependência da área do pico de redissolução do cobre pelo potencial de deposição. Condições: Concentração de cobre $525 \mu\text{g L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de Ag/AgCl_(sat), E_{dep} entre -0,1 V e -1,1 V, $t_d = 120 \text{ s}$, $f = 25 \text{ Hz}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$, $E_{\text{incremento}} = 3 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$.

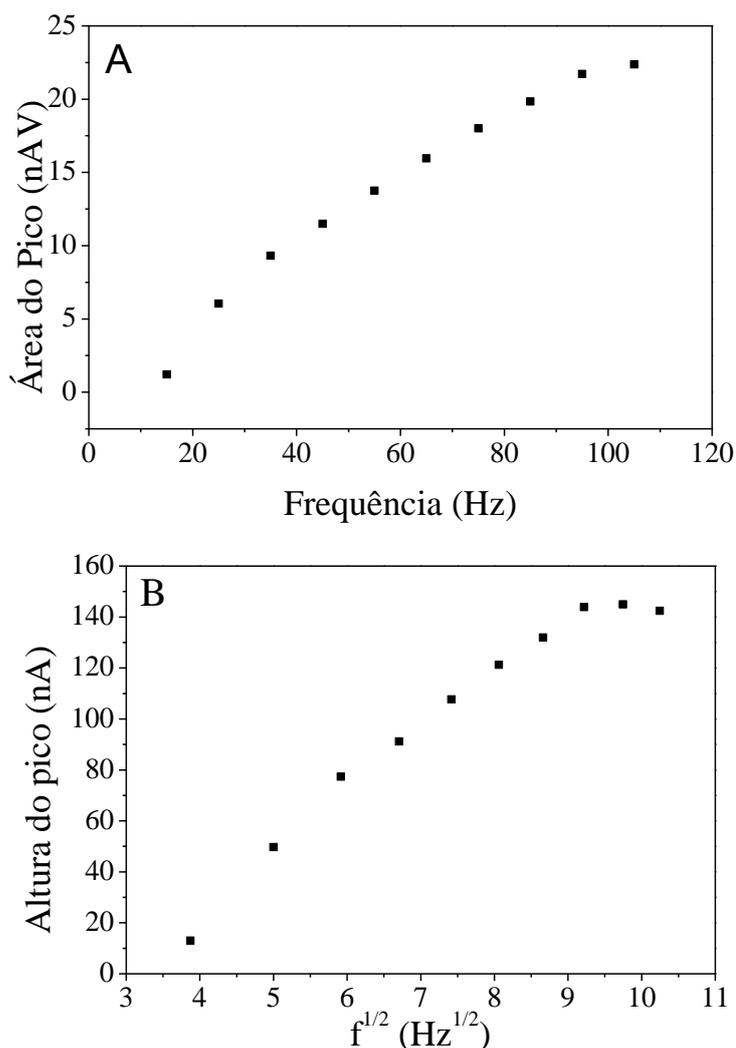


Fonte: Elaborado pelo autor.

Num experimento posterior foi feita a variação linear da frequência de aplicação dos pulsos. Nos experimentos, um potencial de -1,1 V foi aplicado, permanecendo por 120 s para a pré-concentração do Cu^{2+} . Em seguida, foi realizada uma varredura, através da voltametria de onda quadrada, entre -1,1 e 0,4 V com frequência de pulso entre 15 e 105 Hz, amplitude de 100 mV e um incremento de potencial de 3 mV para a redissolução do cobre. Finalmente um potencial de condicionamento de 0,65 V foi aplicado por 30 segundos para limpeza do eletrodo.

Os gráficos da Figura 49 mostram a dependência entre a área do pico de redissolução do cobre e a frequência de aplicação dos pulsos e também a dependência entre a corrente de pico e a raiz quadrada da frequência.

Figura 49 – (A) Gráfico da dependência da área integrada do pico de redissolução de cobre pela frequência de aplicação dos pulsos. (B) Dependência da corrente de pico pela raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos. Condições: concentração de cobre $525 \mu\text{g L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{d}} = 120 \text{ s}$, f entre 15 e 105 Hz, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$, $E_{\text{incremento}} = 3 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$.



Fonte: Elaborado pelo autor.

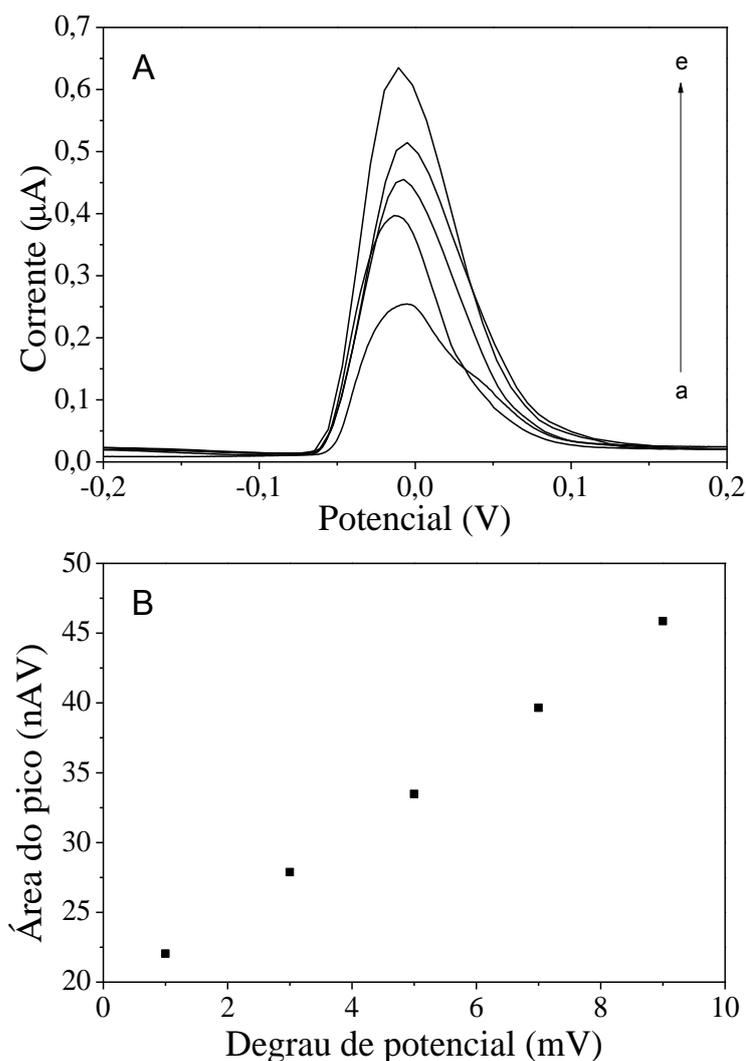
É possível notar a partir da Figura 49A um aumento de mais de 18 vezes na área do pico de redissolução do cobre quando a frequência varia de 15 para 105 Hz, entretanto, como pode ser visto na Figura 49B, para as frequências de 95 e 105 Hz ocorre um desvio da linearidade esperada para a curva de $i_p \propto \sqrt{f}$. Esse desvio da linearidade pode ser resultado de alterações na reversibilidade e também na alteração da cinética de reação e, portanto, o valor de 85 Hz foi

utilizado para os experimentos subsequentes, por possuir um comprometimento com a reversibilidade, concentração e corrente do sistema.

Outro parâmetro avaliado foi o incremento de potencial, uma vez que apresenta uma relação direta com a velocidade de varredura. Neste teste, um potencial de -1,1 V foi aplicado por 120 s para a pré-concentração do Cu^{2+} . Em seguida, foi realizada uma varredura, através da voltametria de onda quadrada entre -1,1 e 0,4 V com frequência de pulso de 85 Hz, amplitude de 100 mV variando o incremento de potencial linearmente entre 1 e 9 mV para a redissolução do cobre. Por fim, um potencial de condicionamento de 0,65 V foi aplicado por 30 segundos para limpeza do eletrodo.

A Figura 50 mostra os voltamogramas obtidos, bem como a relação entre a área do pico de redissolução e o incremento de potencial aplicado. A avaliação do gráfico nos permite concluir que a área do pico aumenta linearmente com o aumento do incremento de potencial na faixa estudada, tendo sido definido o valor de 9 mV para a construção da curva analítica, por ter apresentado tanto uma melhor sensibilidade como um menor tempo de análise.

Figura 50 – (A) Voltamogramas de onda quadrada para a redissolução do cobre variando o incremento de potencial de 1 mV (a) a 9 mV (e). (B) Gráfico da dependência da área do pico em função do incremento de potencial. Condições: Concentração de cobre $525 \mu\text{g L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{d}} = 120 \text{ s}$, $f = 85 \text{ Hz}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Um último experimento foi realizado para definir o tempo de deposição para a determinação de cobre, neste experimento foi utilizado o adaptador impresso em PLA, aspirando um volume de $12 \mu\text{L}$ de solução contendo cobre $75 \mu\text{g L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e também as condições atingidas nos experimentos anteriores.

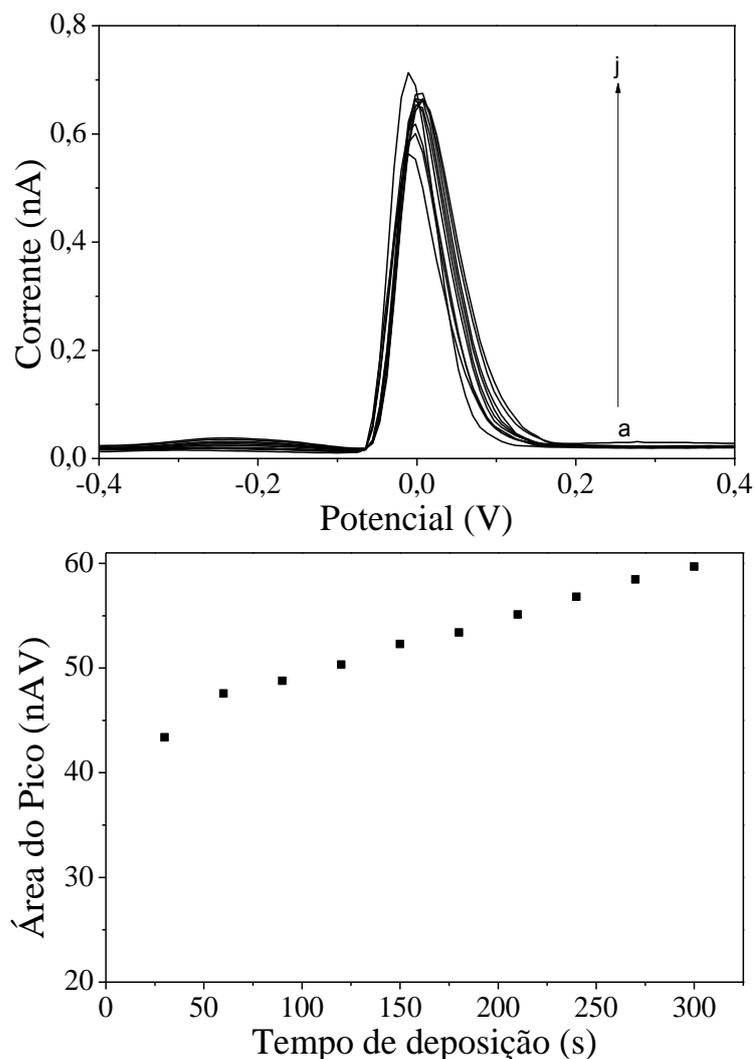
Um potencial de -1,1 V foi aplicado, permanecendo entre 30 e 300 s para a pré-concentração do Cu^{2+} . Em seguida, foi realizada uma varredura, através da voltametria de onda quadrada, entre -1,1 e 0,4 V com frequência de pulso de 85 Hz, amplitude de 100 mV e incremento de potencial de 9 mV para a redissolução do cobre. Por fim, um potencial de condicionamento de 0,65 V foi aplicado por 30 segundos para limpeza do eletrodo.

Os voltamogramas obtidos para estes testes são mostrados na Figura 51, bem como o gráfico que mostra a dependência da área integrada do pico de corrente pelo tempo de deposição.

É notável o aumento da área integrada do pico de redissolução partindo-se de 30 para 300 s de deposição (um aumento de cerca de 38 %). Entretanto elevados tempos de deposição comprometem a frequência analítica, diminuindo consideravelmente o número de análises em um mesmo intervalo de tempo. Neste sentido a aplicação do método deve levar em consideração também a adequação às necessidades da amostra a ser trabalhada e também o ganho de sensibilidade deve ser criteriosamente avaliado.

Buscando um comprometimento entre frequência analítica e detectabilidade foi utilizado o tempo de 180 s de deposição, que apresenta um ganho de cerca de 23 % de sinal analítico com relação ao menor tempo testado ao passo que utiliza um tempo 40 % menor que o maior tempo de deposição testado.

Figura 51 – (A) Voltamogramas para o estudo do tempo de deposição variando de 30 s (a) a 300 s (j) para a determinação de cobre. (B) Gráfico da dependência da área do pico pelo tempo de deposição. Condições: Concentração de cobre $75 \mu\text{g L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de Ag/AgCl_(sat), $f = 85 \text{ Hz}$, $E_{\text{incremento}} = 9 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$.



Fonte: Elaborado pelo autor.

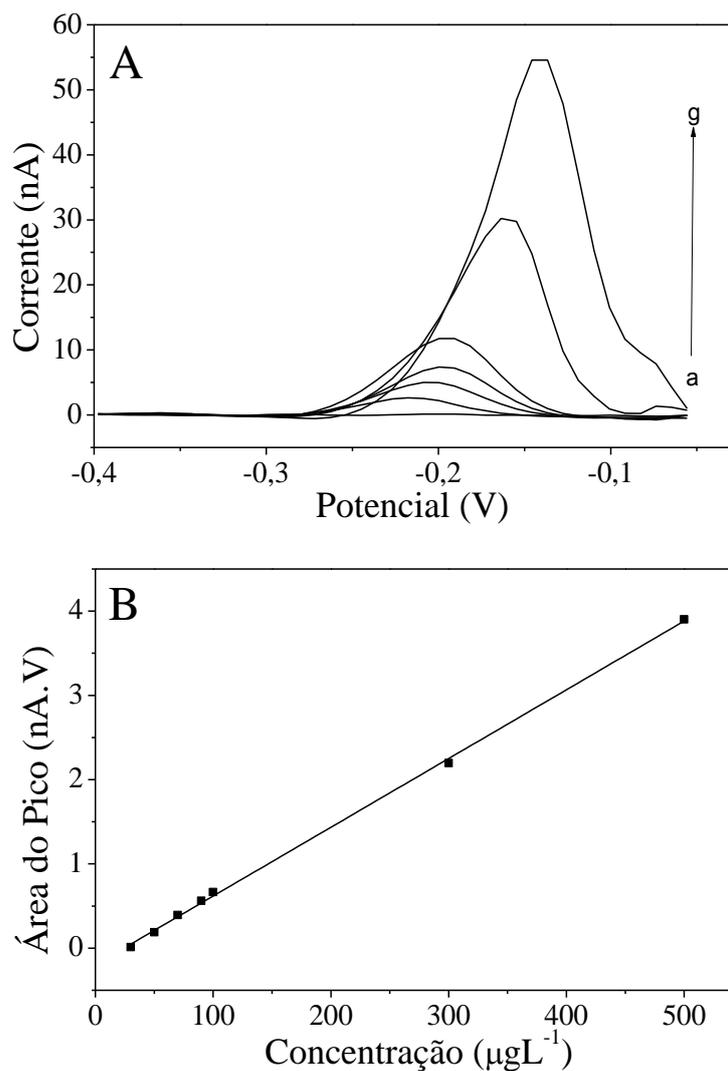
A curva analítica foi construída usando as condições experimentais estabelecidas, resumidas na Tabela 5. Uma sequência de voltamogramas de soluções contendo concentrações crescentes de cobre entre 30 e $500 \mu\text{g L}^{-1}$ é apresentada na Figura 52.

Tabela 5 - Condições experimentais e instrumentais para as análises de cobre em água de abastecimento

Parâmetro	
Frequência de pulso	85 Hz
Amplitude de pulso	100 mV
Incremento de potencial	9 mV
Potencial de deposição	-1,1 V
Tempo de deposição	120 s
Potencial de condicionamento	0,65 V
Tempo de condicionamento	30 s
Microeletrodo de trabalho	Ouro
Pseudo-referência	Ag/AgCl _(sat)
Auxiliar	Ausente
Eletrólito suporte	HCl 0,1 mol L ⁻¹
Volume de solução	12 µL

Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 52 – (A) Voltamogramas de onda quadrada e (B) curva analítica para a determinação de cobre nas concentrações de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ (a), $50 \mu\text{g L}^{-1}$ (b), $70 \mu\text{g L}^{-1}$ (c), $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (d), $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (e), $300 \mu\text{g L}^{-1}$ (f) e $500 \mu\text{g L}^{-1}$ (g). Condições: Microeletrodo de trabalho de ouro, pseudo-referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{dep}} = 180 \text{ s}$, $f = 85 \text{ Hz}$, $E_{\text{incremento}} = 9 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,65 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As áreas integradas dos picos de redissolução foram medidas e ajustadas pelo método dos mínimos quadrados à uma reta ($R^2 = 0,999$), a Equação 18 descreve a curva de calibração.

$$\text{Área (nAV)} = 8,16 \times 10^{-3} \pm 0,09 \times 10^{-3} \times C - 0,20 \pm 0,02$$

Equação 18

Onde *Área* é a área integrada do pico de corrente e *C* é a concentração de Cu^{2+} , as unidades estão entre parênteses.

A partir dos dados da Equação 18 foi possível estabelecer o limite de detecção e quantificação instrumental. Os valores estabelecidos foram 7,98 e 26,6 $\mu\text{g L}^{-1}$, tendo sido determinados segundo a Equação 9 e a Equação 10, respectivamente.

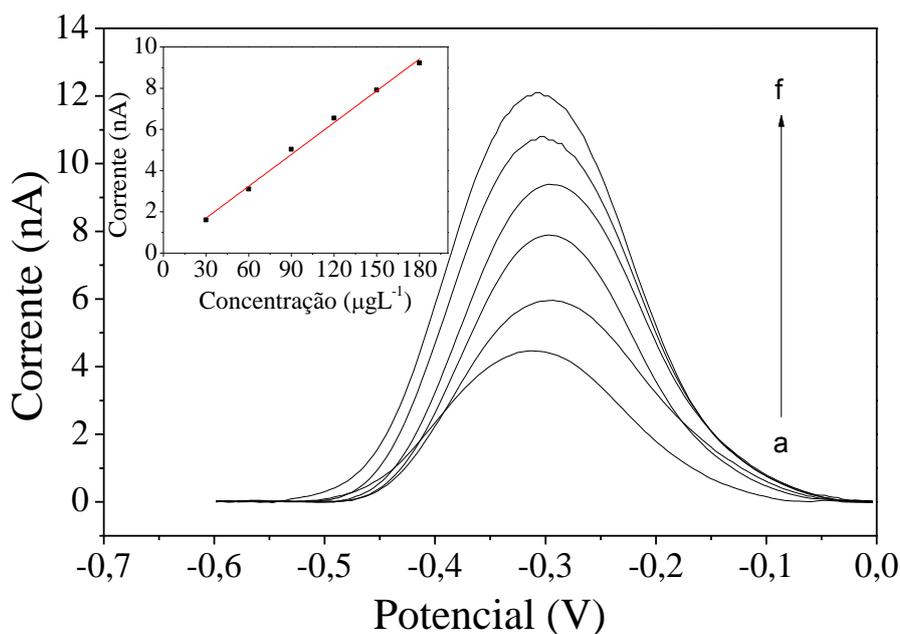
Uma amostra de água de abastecimento foi fortificada com 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cobre e analisada. Obteve-se uma recuperação de cerca de 93 % estando dentro do limite máximo aceitável para a faixa de concentração estudada. (Anvisa, 2016)

4.3.5 Chumbo

Foi proposta em seguida a determinação de chumbo através da modificação do microeletrodo de ouro modificado com filme de bismuto em substituição ao filme de mercúrio, muito utilizado para essa finalidade.

Nos experimentos foram utilizados 10 μL de solução de cada um dos pontos da curva analítica, preparada entre 30 e 180 $\mu\text{g L}^{-1}$ em tampão acetato pH 4, a partir de uma solução estoque de Pb 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$. O método desenvolvido por Rehacek e colaboradores (Rehacek *et al.*, 2008) foi adaptado e aplicado, e consiste na aplicação de um potencial de deposição de - 0,9 V por 70 segundos para a redução do Bi^{3+} (numa proporção 20 vezes maior que a concentração de Pb^{2+}) juntamente com o Pb^{2+} . Em seguida, aplicou-se a voltametria de onda quadrada com varredura entre - 0,9 e 0 V usando 90 Hz, com amplitude de 100 mV e um incremento de potencial de 12 mV em um microeletrodo de ouro para a redissolução dos metais. Após a análise, um potencial de limpeza de 0,3 V foi aplicado por 15 segundos para eliminação completa do filme de bismuto. Os voltamogramas e a curva analítica obtida são mostrados na Figura 53.

Figura 53 – Voltamogramas de onda quadrada e curva analítica para a determinação de chumbo nas concentrações de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ (a), $60 \mu\text{g L}^{-1}$ (b), $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (c), $120 \mu\text{g L}^{-1}$ (d), $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (e), e $180 \mu\text{g L}^{-1}$ (f). Condições: Microeletrodo de trabalho de ouro modificado com bismuto, pseudo-referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, $E_{\text{dep}} = -0,9 \text{ V}$, $t_{\text{dep}} = 70 \text{ s}$, $f = 90 \text{ Hz}$, $E_{\text{incremento}} = 12 \text{ mV}$, $E_{\text{cond}} = 0,30 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 15 \text{ s}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As alturas dos picos correntes foram medidas e ajustadas pelo método dos mínimos quadrados à uma reta, a equação que descreve a curva analítica é mostrada na Equação 19.

$$i(\text{nA}) = 0,052 \pm 0,001x C - 0,1 \pm 0,1$$

Equação 19

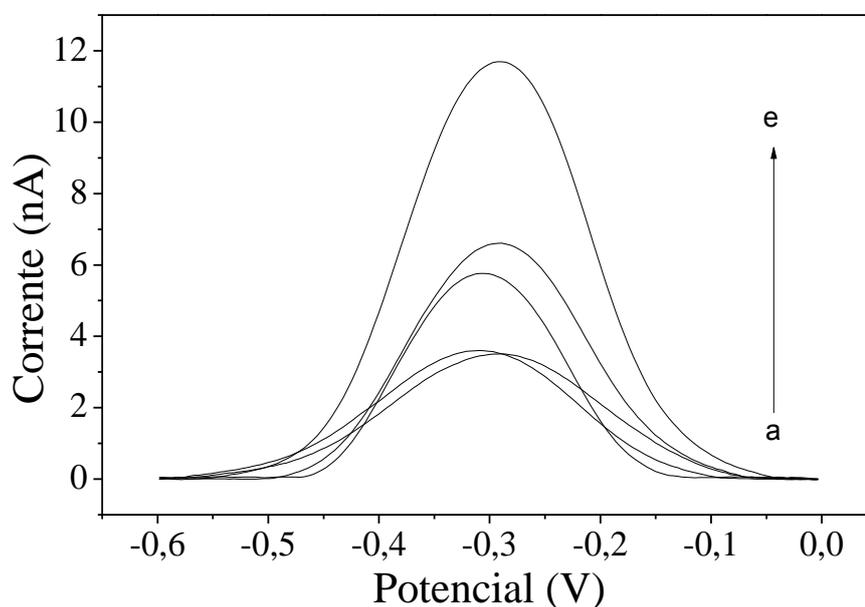
Onde i é a corrente de pico e C é a concentração de Pb^{2+} , as unidades estão entre parênteses.

A partir dos dados da Equação 19 foi possível estabelecer o limite de detecção e quantificação instrumental. Os valores estabelecidos foram $5,8$ e $19,2 \mu\text{g L}^{-1}$, tendo sido determinados segundo as Equação 9 e Equação 10, respectivamente.

A amostra de água de abastecimento foi adicionada diretamente no eletrólito suporte utilizado na proporção 1:1, tendo sido tomada uma alíquota de 5 μL de amostra para análise. Em seguida a amostra foi dopada em dois níveis com 50 e 160 $\mu\text{g L}^{-1}$ de padrão de Pb^{2+} e analisada da mesma forma. O valor médio estimado para a concentração de chumbo na amostra ficou abaixo do limite de quantificação estabelecido. Os valores de recuperação calculados foram de 118 e 83 % para as réplicas fortificadas com 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de 80 % para a fortificação em 160 $\mu\text{g L}^{-1}$. O desvio padrão relativo médio calculado para a amostra fortificada com 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ foi de 20 %, dentro do limite máximo aceitável (Anvisa, 2016) para a faixa de concentração estudada (35 %). Os voltamogramas para a amostra e a amostra fortificada podem ser vistos na Figura 54.

Figura 54 - Voltamogramas para a amostra de água de abastecimento (a-b) e amostras fortificadas com 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ (c-d) e 160 $\mu\text{g L}^{-1}$ (e) de Pb^{2+} para o estudo de recuperação.

Condições: Microeletrodo de ouro modificado com filme de bismuto, pseudo-referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, $E_{\text{dep}} = -0,9 \text{ V}$, $t_{\text{dep}} = 70 \text{ s}$, $E_{\text{limpeza}} = 0,3 \text{ V}$, $f = 90 \text{ Hz}$, $E_{\text{amplitude}} = 100 \text{ mV}$, $E_{\text{incremento}} = 12 \text{ mV}$.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5. CONCLUSÃO

A construção do puxador de micropipetas foi realizada com materiais de baixo custo, podendo ser utilizado para a confecção dos microeletrodos. Existem entretanto, inúmeras possibilidades de melhorias a serem exploradas para a construção de uma máquina mais robusta, como por exemplo através da inclusão de dois patins para deslocamento, motores para tração dos patins e também a automação do sistema através de microcontroladores com código aberto.

Os microeletrodos fabricados foram caracterizados eletroquimicamente com ferricianeto de potássio e através de microscopia óptica, tendo apresentado medidas de diâmetro do fio compatíveis com aquelas informadas pelo fabricante, confirmando que o processo de selagem térmica dos fios não altera significativamente as dimensões dos mesmos.

Uma série de provas conceituais foram desenvolvidas para abranger diferentes possibilidades de aplicação do sistema desenvolvido. Investigou-se a análise de diferentes classes de compostos, em diferentes meios, valendo-se do uso de eletrodos modificados ou não, através da deposição eletroquímica.

Nos testes iniciais foi realizada a determinação de catecol em suor e saliva sintéticos utilizando o sistema de posicionamento dos microeletrodos. O uso do sistema permitiu a realização de análises em gota suspensa e serviu de base para o desenvolvimento do adaptador para eletroanálises diretamente em micropipetas.

Foi possível otimizar as condições voltamétricas de análise de catecol em suor e saliva sintéticos, utilizando volumes reduzidos de amostra (5 μL), onde foi verificado que não houve evidências de falta de ajuste do modelo a 95 % de confiança. A precisão e a exatidão das medidas foram verificadas respectivamente a partir dos desvios padrão relativos (3%) e de ensaios de adição e recuperação, com valores de recuperação que variaram de 90 a 110 %. Foram estabelecidos ainda limites de detecção e quantificação instrumentais nas condições utilizadas sendo definidos como 51,5 e 156,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Algumas tentativas levaram a construção da versão mais avançada do dispositivo impresso em 3D. O conjunto foi testado em diferentes solventes orgânicos como DMF, ACN, metanol, DMSO entre outros e foram aplicados na otimização dos parâmetros instrumentais e na determinação de ferroceno à baixas concentrações em apenas 10 μL de solvente orgânico apresentando linearidade na faixa de 41 a 142 $\mu\text{mol L}^{-1}$, testada com relação à falta de ajuste, bem como bons resultados para os limites de detecção e quantificação (7,5 e 22,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$) para

o eletrodo de platina e 6,1 e 18,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o eletrodo de ouro). Foi ainda atestado o processo de difusão radial envolvido, através do critério de Thomeš.

Os testes com a dopamina mostraram que a modificação com platina é benéfica e se traduz num ganho de cerca de 40 % de sinal analítico. Foi possível ainda investigar a forte dependência em função do pH do meio, sendo evidente a perda da estrutura da mesma em meios alcalinos e levemente acidificados. O método proposto apresentou bons valores de recuperação (entre 99,5 e 99,8%) e foi avaliado com relação aos limites de detecção e quantificação, que foram 15,6 e 51,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente.

Apesar de simplificada, a abordagem proposta para a determinação de cobre em águas destaca a possibilidade da realização de análises utilizando o sistema adaptador proposto para a determinação direta de cobre através do uso de um microeletrodo de ouro. Foram buscadas condições favoráveis à quantificação de cobre em amostra de água de abastecimento, apresentando sensibilidade adequada, com limites de detecção e quantificação da ordem de 7,98 e 26,6 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, e uma faixa linear entre o limite de quantificação e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$.

A determinação de chumbo foi feita através da modificação de um eletrodo de ouro com filme de bismuto, em substituição ao mercúrio, demonstrando a possibilidade de modificação do mesmo para a análise de metais em solução aquosa na faixa de 30 a 180 $\mu\text{g L}^{-1}$ com boa linearidade. A precisão e exatidão estão dentro dos valores esperados na faixa de concentração avaliada, entretanto, esses podem ser melhorados através de um número maior de experimentos e aplicado a um número maior de amostras.

5.1 PERSPECTIVAS

Em relação a estudos fundamentais, é necessário compreender melhor e realizar modificações no puxador de micropipetas, tanto na vertente de melhorias de design e inclusão de novas peças, mas principalmente na automação do sistema. Desta forma a construção das micropipetas de vidro poderá ser realizada de forma ainda mais reprodutível, preservando a simplicidade de operação que se propõe nesta tese. Ainda com relação ao equipamento construído, é necessário estudar a viabilidade de construir um equipamento contendo peças impressas em uma impressora do tipo FDM, a fim de diminuir os custos de produção e facilitar o acesso à esta tecnologia.

O dispositivo adaptador apresentado nesta tese deu apenas os seus primeiros passos, com a demonstração de suas etapas de fabricação, dos processos envolvidos na confecção e caracterização dos microeletrodos e da aplicabilidade do sistema como um todo através de diversas provas de conceito. Existem muitas melhorias e modificações a fazer, sobretudo na perspectiva de torná-lo um dispositivo ainda mais robusto, por exemplo com todos os eletrodos integrados numa só unidade.

Outra possibilidade a ser explorada diz respeito à impressão de ponteiros com diferentes formatos em PLA e ABS com a finalidade de serem modificadas com enzimas para permitir a análise indireta de espécies com a detecção do peróxido de hidrogênio gerado através das reações enzimáticas específicas.

É possível ainda investigar a viabilidade da impressão de eletrodos neste sistema adaptador utilizando filamentos condutores. Ainda no que diz respeito aos filamentos condutores, é possível investigar um conjunto de parâmetros, como diferentes modificadores de filamento (grafeno, grafite, nanotubos, nanopartículas metálicas), orientação de impressão, ativação eletroquímica ou por solventes, com o acompanhamento da morfologia da superfície por microscopia, caracterização através de técnicas de impedância eletroquímica e voltametria, buscando diferentes aplicações eletroanalíticas para eletrodos condutores impressos.

Finalmente, estudar o comportamento de compostos nas áreas ambiental, alimentícia, clínica e farmacêutica utilizando o sistema construído como um dispositivo do tipo *point of care* é promissor.

REFERÊNCIAS

AMBROSI, A.; PUMERA, M. 3D-printing technologies for electrochemical applications. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 10, p. 2740-2755, 2016. ISSN 0306-0012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/C5CS00714C> >.

ANVISA. Guia para validação de métodos analíticos. **Consulta Pública nº129** 2016.

AWAD, A. et al. 3D printed medicines: A new branch of digital healthcare. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 548, n. 1, p. 586-596, 2018/09/05/ 2018. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517318304927> >.

BALDO, M. A. et al. A novel electroanalytical approach based on the use of a room temperature ionic liquid for the determination of olive oil acidity. **Talanta**, v. 161, p. 881-887, 2016/12/01/ 2016. ISSN 0039-9140. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914016307135> >.

BARD, A. J. **Electrochemical methods : fundamentals and applications** / Allen J. Bard, Larry R. Faulkner. New York: Wiley, 1980. ISBN 0471055425.

BELOWITZ, R.; O'DONNELL, M. J. Ion-selective microelectrode measurements of Tl⁺ and K⁺ transport by the gut and associated epithelia in *Chironomus riparius*. **Aquatic Toxicology**, v. 138-139, n. 0, p. 70-80, 8/15/ 2013. ISSN 0166-445X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X13001100> >.

BISHOP, G. W. et al. 3D-Printed Fluidic Devices for Nanoparticle Preparation and Flow-Injection Amperometry Using Integrated Prussian Blue Nanoparticle-Modified Electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 10, p. 5437-5443, 2015/05/19 2015. ISSN 0003-2700. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b00903> >.

BOCKRIS, J. O. M. et al. On the structure of charged interfaces. **Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences**, v. 274, n. 1356, p. 55-79, 1963/06/25 1963. Disponível em: < <https://doi.org/10.1098/rspa.1963.0114> >. Acesso em: 2019/01/07.

BRENNAN, D. M.; BOKHARI, F. F.; EDDINGTON, T. D. Open Design 3D-Printable Adjustable Micropipette that Meets the ISO Standard for Accuracy. **Micromachines**, v. 9, n. 4, 2018. ISSN 2072-666X.

BRETT, C. M. A. Holze, R., C.M.A. Brett, A.M.O. Brett: *Electrochemistry — Principles, methods and applications*, Oxford University Press, Oxford, ISBN 0-19-855388-9, 1993, 427 pages, £ 25.00. **Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie**, v. 98, n. 10, p. 1350-1350, 1994. ISSN 0005-9021. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bbpc.19940981033> >.

BROWN, F. O.; LOWRY, J. P. Microelectrochemical sensors for in vivo brain analysis: an investigation of procedures for modifying Pt electrodes using Nafion[registered sign]. **Analyst**, v. 128, n. 6, p. 700-705, 2003. ISSN 0003-2654. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/B300266G> >.

BROWN, K. T.; FLAMING, D. G. New microelectrode techniques for intracellular work in small cells. **Neuroscience**, v. 2, n. 6, p. 813-827, 1977/01/01/ 1977. ISSN 0306-4522. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0306452277901099> >.

BROWNSON, D. A. C.; BANKS, C. E. Interpreting Electrochemistry. In: BROWNSON, D. A. C. e BANKS, C. E. (Ed.). **The Handbook of Graphene Electrochemistry**. London: Springer London, 2014. p.23-77. ISBN 978-1-4471-6428-9.

CANTRELL, J. T. et al. Experimental characterization of the mechanical properties of 3D-printed ABS and polycarbonate parts. **Rapid Prototyping Journal**, v. 23, n. 4, p. 811-824, 2017/06/20 2017. ISSN 1355-2546. Disponível em: < <https://doi.org/10.1108/RPJ-03-2016-0042> >. Acesso em: 2019/01/08.

CARDOSO, R. M. et al. 3D printing for electroanalysis: From multiuse electrochemical cells to sensors. **Analytica Chimica Acta**, v. 1033, p. 49-57, 2018/11/29/ 2018. ISSN 0003-2670. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267018307864> >.

CARNEIRO, O. S.; SILVA, A. F.; GOMES, R. Fused deposition modeling with polypropylene. **Materials & Design**, v. 83, p. 768-776, 2015/10/15/ 2015. ISSN 0264-1275. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264127515004037> >.

CATALDI, A. et al. Polyvinyl alcohol reinforced with crystalline nanocellulose for 3D printing application. **Materials Today Communications**, v. 15, p. 236-244, 2018/06/01/ 2018. ISSN 2352-4928. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352492817300533> >.

CERQUEIRA, M. R. F. et al. A novel functionalisation process for glucose oxidase immobilisation in poly(methyl methacrylate) microchannels in a flow system for amperometric determinations. **Talanta**, v. 126, n. 0, p. 20-26, 8/1/ 2014. ISSN 0039-9140. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914014001465> >.

CERQUEIRA, M. R. F. et al. Use of poly(methyl methacrylate)/polyethyleneimine flow microreactors for enzyme immobilization. **Microchemical Journal**, v. 118, n. 0, p. 231-237, 1// 2015. ISSN 0026-265X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X14001854> >.

CHIA, H. N.; WU, B. M. Recent advances in 3D printing of biomaterials. **Journal of Biological Engineering**, v. 9, n. 1, p. 4, 2015/03/01 2015. ISSN 1754-1611. Disponível em: < <https://doi.org/10.1186/s13036-015-0001-4> >.

CHOU, T.-C. et al. Pt-MWCNT modified carbon electrode strip for rapid and quantitative detection of H₂O₂ in food. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 2, p. 662-669, 2018/04/01/ 2018. ISSN 1021-9498. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949817301618> >.

CHU, J. et al. An Integrated Solid-State pH Microelectrode Prepared Using Microfabrication. **Electrochimica Acta**, v. 152, n. 0, p. 6-12, 1/10/ 2015. ISSN 0013-4686. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001346861402310X> >.

CIOBANU, M. et al. 1 - Fundamentals. In: ZOSKI, C. G. (Ed.). **Handbook of Electrochemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2007. p.3-29. ISBN 978-0-444-51958-0.

CRUMP, S. S. **Apparatus and method for creating three-dimensional objects**. United States of America: Stratasy Inc: 15 p. 1989.

CZOP, E.; ECONOMOU, A.; BOBROWSKI, A. A study of in situ plated tin-film electrodes for the determination of trace metals by means of square-wave anodic stripping voltammetry. **Electrochimica Acta**, v. 56, n. 5, p. 2206-2212, 2011/02/01/ 2011. ISSN 0013-4686. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001346861001649X> >.

DAVIS, F. et al. Procedure 24 Construction of an enzyme-containing microelectrode array and use for detection of low levels of pesticides. In: ALEGRET, S. e MERKOÇI, A. (Ed.). **Comprehensive Analytical Chemistry**: Elsevier, v. Volume 49, 2007. p.e169-e176. ISBN 0166-526X.

DECKARD, C. R. **Method and apparatus for producing parts by selective sintering**. United States of america: University of Texas System 12 p. 1986.

DOMAŃSKA, K.; TYSZCZUK-ROTKO, K. Integrated three-electrode screen-printed sensor modified with bismuth film for voltammetric determination of thallium(I) at the ultratrace level. **Analytica Chimica Acta**, v. 1036, p. 16-25, 2018/12/07/ 2018. ISSN 0003-2670. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267018308432> >.

DUTTA, S.; STRACK, G.; KURUP, P. Gold nanostar electrodes for heavy metal detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 281, p. 383-391, 2019/02/15/ 2019. ISSN 0925-4005. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400518318896> >.

EDWARDS, G. A.; BERGREN, A. J.; PORTER, M. D. 8 - Chemically Modified Electrodes. In: ZOSKI, C. G. (Ed.). **Handbook of Electrochemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2007. p.295-327. ISBN 978-0-444-51958-0.

ERKAL, J. L. et al. 3D printed microfluidic devices with integrated versatile and reusable electrodes. **Lab Chip**, v. 14, n. 12, p. 2023-32, Jun 21 2014. ISSN 1473-0189 (Electronic) 1473-0189 (Linking).

FINŠGAR, M.; PETOVAR, B.; VODOPIVEC, K. Bismuth-tin-film electrodes for Zn(II), Cd(II), and Pb(II) trace analysis. **Microchemical Journal**, v. 145, p. 676-685, 2019/03/01/ 2019. ISSN 0026-265X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X18311093> >.

FORSTER, R. J.; KEYES, T. E. 6 - Ultramicroelectrodes. In: ZOSKI, C. G. (Ed.). **Handbook of Electrochemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2007. p.155-171. ISBN 978-0-444-51958-0.

GARCÍA-TUÑÓN, E. et al. Printing in Three Dimensions with Graphene. **Advanced Materials**, v. 27, n. 10, p. 1688-1693, 2015/03/01 2015. ISSN 0935-9648. Disponível em: < <https://doi.org/10.1002/adma.201405046> >. Acesso em: 2019/01/08.

GERENT, G. G. et al. In situ bismuth-film electrode for square-wave cathodic voltammetric detection of pendimethalin at nanomolar level. **Electrochimica Acta**, v. 168, p. 379-385, 2015/06/20/ 2015. ISSN 0013-4686. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468615008567> >.

GIBSON, I.; ROSEN, D.; STUCKER, B. **Additive manufacturing technologies: 3D printing, rapid prototyping, and direct digital manufacturing, second edition**. 2015. 1-498.

GODOI, F. C.; PRAKASH, S.; BHANDARI, B. R. 3d printing technologies applied for food design: Status and prospects. **Journal of Food Engineering**, v. 179, p. 44-54, 2016/06/01/ 2016. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877416300243> >.

GOMES, G. J. A. **Determinação voltamétrica multivariada simultânea de compostos fenólicos**. 2015. 82 f Dissertação (Dissertação em Química) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

GRASSE, E. K.; TORCASIO, M. H.; SMITH, A. W. Teaching UV–Vis Spectroscopy with a 3D-Printable Smartphone Spectrophotometer. **Journal of Chemical Education**, v. 93, n. 1, p. 146-151, 2016/01/12 2016. ISSN 0021-9584. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00654> >.

GREENWAY, G. M.; HASWELL, S. J.; PETSUL, P. H. Characterisation of a micro-total analytical system for the determination of nitrite with spectrophotometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 387, n. 1, p. 1-10, 4/16/ 1999. ISSN 0003-2670. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267099000471> >.

GU, S. et al. Droplet-based microfluidics for dose–response assay of enzyme inhibitors by electrochemical method. **Analytica Chimica Acta**, v. 796, n. 0, p. 68-74, 9/24/ 2013. ISSN 0003-2670. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267013010805> >.

HÉBERT, C. et al. Microfabrication, characterization and in vivo MRI compatibility of diamond microelectrodes array for neural interfacing. **Materials Science and Engineering: C**, v. 46, n.

0, p. 25-31, 1/1/ 2015. ISSN 0928-4931. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493114006377> >.

HONEYCHURCH, K. C.; RYMANSAIB, Z.; IRAVANI, P. Anodic stripping voltammetric determination of zinc at a 3-D printed carbon nanofiber–graphite–polystyrene electrode using a carbon pseudo-reference electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 267, p. 476-482, 2018/08/15/ 2018. ISSN 0925-4005. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400518307500> >.

HUAN, T. N. et al. Spirally oriented Au microelectrode array sensor for detection of Hg (II). **Talanta**, v. 94, n. 0, p. 284-288, 5/30/ 2012. ISSN 0039-9140. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003991401200269X> >.

HULL, C. W. **Apparatus for production of three-dimensional objects by stereolithography**. United States of America: UVP Inc 16 p. 1984.

HUTTON, E.; B. HOČEVAR, S.; OGOREVC, B. **Ex situ preparation of bismuth film microelectrode for use in electrochemical stripping microanalysis**. 2005. 285-292.

INOUE, H. et al. Mechanism of glycerol oxidation reaction on silver-modified palladium electrode in alkaline medium. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 43, n. 40, p. 18664-18671, 2018/10/04/ 2018. ISSN 0360-3199. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S036031991831591X> >.

ISO. **Watch-cases and accessories -- Gold alloy coverings -- Part 2: Determination of fineness, thickness, corrosion resistance and adhesion**. 3160-2: 14 p. 2015.

ISO/ASTM52900-15. **Standard Terminology for Additive Manufacturing - General Principles - Terminology**. ASTM International, West Conshohocken, PA 2015.

JIANG, T.-J. et al. Application of Planar Microelectrode Array Modified by Nano-structure Titanium Nitride on Dual Mode Neural Information Recording. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 42, n. 8, p. 1071-1076, 8// 2014. ISSN 1872-2040. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1872204014607544> >.

KANG, D.-K. et al. Droplet microfluidics for single-molecule and single-cell analysis in cancer research, diagnosis and therapy. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 58, n. 0, p. 145-153, 6// 2014. ISSN 0165-9936. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993614000612> >.

KODAMA, H. Automatic method for fabricating a three-dimensional plastic model with photo-hardening polymer. **Review of Scientific Instruments**, v. 52, n. 11, p. 1770-1773, 1981/11/01 1981. ISSN 0034-6748. Disponível em: < <https://doi.org/10.1063/1.1136492> >. Acesso em: 2019/01/03.

KREIGER, M. A. et al. Life cycle analysis of distributed recycling of post-consumer high density polyethylene for 3-D printing filament. **Journal of Cleaner Production**, v. 70, p. 90-96, 2014/05/01/ 2014. ISSN 0959-6526. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652614001504> >.

KREJCOVA, L. et al. 3D printed chip for electrochemical detection of influenza virus labeled with CdS quantum dots. **Biosens Bioelectron**, v. 54, p. 421-7, Apr 15 2014. ISSN 1873-4235 (Electronic) 0956-5663 (Linking).

LE DUIGOU, A. et al. 3D printing of wood fibre biocomposites: From mechanical to actuation functionality. **Materials & Design**, v. 96, p. 106-114, 2016/04/15/ 2016. ISSN 0264-1275. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264127516301654> >.

LEE, P. M. et al. Reduced graphene oxide decorated with tin nanoparticles through electrodeposition for simultaneous determination of trace heavy metals. **Electrochimica Acta**, v. 174, p. 207-214, 2015/08/20/ 2015. ISSN 0013-4686. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468615012153> >.

LIM, S. et al. **Modelling curved-layered printing paths for fabricating large-scale construction components**. 2016.

LOWINSOHN, D. et al. Design and fabrication of a microelectrode array for iodate quantification in small sample volumes. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 113, n. 1, p. 80-87, 1/17/ 2006. ISSN 0925-4005. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400505002133> >.

MAHÉ, E.; DEVILLIERS, D.; DARDOIZE, F. Boron doped diamond microelectrodes arrays for electrochemical detection in HPLC. **Talanta**, v. 132, n. 0, p. 641-647, 1/15/ 2015. ISSN 0039-9140. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003991401400856X> >.

MAKOS, M. A. et al. In Vivo Electrochemical Measurements of Exogenously Applied Dopamine in *Drosophila melanogaster*. **Analytical Chemistry**, v. 81, n. 5, p. 1848-1854, 2009/03/01 2009. ISSN 0003-2700. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/ac802297b> >. Acesso em: 2014/12/09.

MANN, M. A.; HELFRICK, J. C.; BOTTOMLEY, L. A. Diagnostic Criteria for the Characterization of Quasireversible Electron Transfer Reactions by Cyclic Square Wave Voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 16, p. 8183-8191, 2014/08/19 2014. ISSN 0003-2700. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/ac501550j> >.

MANUFACTURINGGUIDE.COM. Additive Manufacturing. 2018. Disponível em: < https://www.manufacturingguide.com/en/search/process?f%5B0%5D=field_process_parents%3A1022 >. Acesso em: 08/01/2019.

MOHAMED, O. A.; MASOOD, S. H.; BHOWMIK, J. L. Parametric Analysis of the Build Cost for FDM Additive Processed Parts Using Response Surface Methodology. In: (Ed.). **Reference Module in Materials Science and Materials Engineering**: Elsevier, 2016. ISBN 978-0-12-803581-8.

NG, A. M. H. et al. Highly sensitive reduced graphene oxide microelectrode array sensor. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 65, n. 0, p. 265-273, 3/15/ 2015. ISSN 0956-5663. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566314008471> >.

NJAGI, J. et al. Amperometric Detection of Dopamine in Vivo with an Enzyme Based Carbon Fiber Microbiosensor. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 3, p. 989-996, 2010/02/01 2010. ISSN 0003-2700. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/ac9022605> >. Acesso em: 2014/12/09.

ONI, J.; WESTBROEK, P.; NYOKONG, T. Construction and characterization of carbon paste ultra-microelectrodes. **Electrochemistry Communications**, v. 3, n. 9, p. 524-528, 9// 2001. ISSN 1388-2481. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388248101002120> >.

PAIXÃO, T. R. L. C.; BERTOTTI, M. Métodos para fabricação de microeletrodos visando a detecção em microambientes. **Química Nova**, v. 32, p. 1306-1314, 2009. ISSN 0100-4042. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000500037&nrm=iso >.

PEARCE, J. M. Chapter 5 - RepRap for Science—How to Use, Design, and Troubleshoot the Self-Replicating 3-D Printer. In: PEARCE, J. M. (Ed.). **Open-Source Lab**. Boston: Elsevier, 2014. p.95-162. ISBN 978-0-12-410462-4.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. D. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 25, p. 1012-1021, 2002. ISSN 0100-4042. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000600019&nrm=iso >.

PLETCHER, D. Why Microelectrodes? In: MONTENEGRO, M. I.; QUEIRÓS, M. A., et al (Ed.). **Microelectrodes: Theory and Applications**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1991. p.3-16. ISBN 978-94-011-3210-7.

PROROKOVA, N. P. et al. Modification of polypropylene filaments with metal-containing nanoparticles immobilized in a polyethylene matrix. **Nanotechnologies in Russia**, v. 9, n. 9, p. 533-540, 2014/09/01 2014. ISSN 1995-0799. Disponível em: < <https://doi.org/10.1134/S1995078014050140> >.

REHACEK, V. et al. Bismuth film electrodes for heavy metals determination. **Microsystem Technologies**, v. 14, n. 4, p. 491-498, 2008/04/01 2008. ISSN 1432-1858. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00542-007-0432-z> >.

REZAI, P.; WU, W. I.; SELVAGANAPATHY, P. R. 1 - Microfabrication of polymers for bioMEMS. In: BHANSALI, S. e VASUDEV, A. (Ed.). **MEMS for Biomedical Applications**: Woodhead Publishing, 2012. p.3-45. ISBN 978-0-85709-129-1.

RÍOS, Á. et al. Sample preparation for micro total analytical systems (μ -TASs). **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, n. 0, p. 174-188, 2// 2013. ISSN 0165-9936. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993612003731> >.

ROBERTSON, M. J.; JORGENSEN, W. L. Illustrating Concepts in Physical Organic Chemistry with 3D Printed Orbitals. **Journal of Chemical Education**, v. 92, n. 12, p. 2113-2116, 2015/12/08 2015. ISSN 0021-9584. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00682> >.

SANFORD, A. L. et al. Voltammetric Detection of Hydrogen Peroxide at Carbon Fiber Microelectrodes. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 12, p. 5205-5210, 2010/06/15 2010. ISSN 0003-2700. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/ac100536s> >.

SERRANO, N. et al. Ex situ Deposited Bismuth Film on Screen-Printed Carbon Electrode: A Disposable Device for Stripping Voltammetry of Heavy Metal Ions. **Electroanalysis**, v. 22, n. 13, p. 1460-1467, 2010. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elan.200900183> >.

SERRANO, N. et al. Antimony- based electrodes for analytical determinations. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 77, p. 203-213, 2016/03/01/ 2016. ISSN 0165-9936. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993615301825> >.

SHEN, Y.; YE, M. Y. Determination of the Stability of Dopamine in Aqueous Solutions by High Performance Liquid Chromatography. **Journal of Liquid Chromatography**, v. 17, n. 7, p. 1557-1565, 1994/04/01 1994. ISSN 0148-3919. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/10826079408013178> >.

SHERIGARA, B. S. et al. Simultaneous determination of lead, copper and cadmium onto mercury film supported on wax impregnated carbon paste electrode: Assessment of quantification procedures by anodic stripping voltammetry. **Electrochimica Acta**, v. 52, n. 9, p. 3137-3142, 2007/02/15/ 2007. ISSN 0013-4686. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468606010553> >.

SILVA, E. et al. New fluorinated diamond microelectrodes for localized detection of dissolved oxygen. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 204, n. 0, p. 544-551, 12/1/ 2014. ISSN 0925-4005. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400514009678> >.

SMAJDOR, J.; PIECH, R.; PACZOSA-BATOR, B. Spironolactone voltammetric determination on renewable amalgam film electrode. **Steroids**, v. 130, p. 1-6, 2018/02/01/ 2018. ISSN 0039-

128X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039128X17302337> >.

STANSBURY, J. W.; IDACAVAGE, M. J. 3D printing with polymers: Challenges among expanding options and opportunities. **Dental Materials**, v. 32, n. 1, p. 54-64, 2016/01/01/ 2016. ISSN 0109-5641. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564115004145> >.

STULÍK, K. et al. **Microelectrodes. Definitions, characterization, and applications (Technical report)**. Pure and Applied Chemistry. 72: 1483 p. 2000.

SUKERI, A.; JAYARAMAN, M.; K.L.N.PHANI, A. **In-situ bismuth film modified carbon fiber microelectrode for nanomolar detection of cadmium and lead**. 2012.

SZILVSI-NAGY, M.; MÁTYÁSI, G. Analysis of STL files. **Mathematical and Computer Modelling**, v. 38, n. 7, p. 945-960, 2003/10/01/ 2003. ISSN 0895-7177. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0895717703900793> >.

SZYKIEDANS, K.; CREDO, W.; OSIŃSKI, D. Selected Mechanical Properties of PETG 3-D Prints. **Procedia Engineering**, v. 177, p. 455-461, 2017/01/01/ 2017. ISSN 1877-7058. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877705817307531> >.

TAMINGER, M. et al. **Electron beam freeform fabrication for cost effective near-net shape manufacturing**. 2006.

TAMIZHANBAN, R.; SREEJITH, K. R.; JAYANTH, G. R. An automated pipette puller for fabrication of glass micropipettes. **Review of Scientific Instruments**, v. 85, n. 5, p. 055105, 2014. Disponível em: < <https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.4874316> >.

TESAROVA, E. et al. Anodic stripping voltammetric measurement of trace heavy metals at antimony film carbon paste electrode. **Electrochimica Acta**, v. 54, n. 5, p. 1506-1510, 2009/02/01/ 2009. ISSN 0013-4686. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468608011511> >.

TOGNONI, E. et al. Characterization of tip size and geometry of the pipettes used in scanning ion conductance microscopy. **Micron**, v. 83, p. 11-18, 2016/04/01/ 2016. ISSN 0968-4328. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968432816300026> >.

TSAI, M. L.; CHAI, C. Y.; YEN, C. T. A simple method for the construction of a recording-injection microelectrode with glass-insulated microwire. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 72, n. 1, p. 1-4, 3// 1997. ISSN 0165-0270. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165027096021516> >.

TUAN RAHIM, T. N. A. et al. Preparation and characterization of a newly developed polyamide composite utilising an affordable 3D printer. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**,

v. 34, n. 19, p. 1628-1638, 2015/10/01 2015. ISSN 0731-6844. Disponível em: < <https://doi.org/10.1177/0731684415594692> >. Acesso em: 2019/01/08.

TYSZCZUK-ROTKO, K.; MADEJSKA, K.; DOMAŃSKA, K. Ultrasensitive hexavalent chromium determination at bismuth film electrode prepared with mediator. **Talanta**, v. 182, p. 62-68, 2018/05/15/ 2018. ISSN 0039-9140. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914018300596> >.

UCHIDA, Y.; KÄTELHÖN, E.; COMPTON, R. G. Cyclic voltammetry with non-triangular waveforms: Electrochemically reversible systems. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 801, p. 381-387, 2017/09/15/ 2017. ISSN 1572-6657. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572665717305519> >.

_____. Linear sweep voltammetry with non-triangular waveforms at a microdisc electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 823, p. 465-473, 2018/08/15/ 2018. ISSN 1572-6657. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572665718304636> >.

VENTOLA, C. L. Medical Applications for 3D Printing: Current and Projected Uses. **P & T : a peer-reviewed journal for formulary management**, v. 39, n. 10, p. 704-711, 2014. ISSN 1052-1372. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25336867> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/PMC4189697/> >.

VINICIUS DE FARIA, L. et al. Experimental design for metal extraction from facial cosmetics samples and determination by square wave voltammetry. **Analytical Methods**, v. 10, n. 44, p. 5327-5334, 2018. ISSN 1759-9660. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/C8AY01696H> >.

WANG, J. et al. Facile synthesis of flexible gold film electrodes for highly selective photoelectrochemical sensing of ascorbic acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 759, p. 2-7, 2015/12/15/ 2015. ISSN 1572-6657. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572665715001447> >.

WANG, X. et al. Determination of ascorbic acid in individual liver cancer cells by capillary electrophoresis with a platinum nanoparticles modified electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 712, p. 139-145, 2014/01/01/ 2014. ISSN 1572-6657. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572665713005079> >.

WU, W. et al. Influence of Layer Thickness and Raster Angle on the Mechanical Properties of 3D-Printed PEEK and a Comparative Mechanical Study between PEEK and ABS. **Materials**, v. 8, n. 9, 2015. ISSN 1996-1944.

XIE, Y. et al. **Design and Implementation of Chocolate 3D Printer**. 2017.

XU, X. et al. Integration of electrochemistry in micro-total analysis systems for biochemical assays: Recent developments. **Talanta**, v. 80, n. 1, p. 8-18, 11/15/ 2009. ISSN 0039-9140. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914009004615> >.

ZDRACHEK, E. A. et al. H⁺-selective microelectrodes with optimized measuring range for corrosion studies. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 207, Part B, n. 0, p. 967-975, 2// 2015. ISSN 0925-4005. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400514009460> >.

ZELNY, P.; RUZICKA, V. **The design of the 3D printer for use in gastronomy**. 2017. 1744-1747.

ZESTOS, A. G. et al. Epoxy insulated carbon fiber and carbon nanotube fiber microelectrodes. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 182, n. 0, p. 652-658, 6// 2013. ISSN 0925-4005. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092540051300347X> >.

ZHANG, J.; XIAO, P. 3D printing of photopolymers. **Polymer Chemistry**, v. 9, n. 13, p. 1530-1540, 2018. ISSN 1759-9954. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/C8PY00157J> >.

ZHANG, Y. et al. Single gold nanowire electrodes and single Pt@Au nanowire electrodes: electrochemistry and applications. **Chemical Communications**, v. 53, n. 19, p. 2850-2853, 2017. ISSN 1359-7345. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/C6CC09854A> >.

ZHONG, W. et al. Short fiber reinforced composites for fused deposition modeling. **Materials Science and Engineering: A**, v. 301, n. 2, p. 125-130, 2001/03/31/ 2001. ISSN 0921-5093. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921509300018104> >.

APÊNDICE

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

AZEVEDO, G. C.; CASTRO, R. H. S.; MATOS, M. A. C.; MATOS, R.C. Amperometric Determination of Hydrogen Peroxide in Whitening Gels Using Boron-doped Diamond Electrode. *Analytical Sciences*, v. 34, p. 913-917, 2018.

AZEVEDO, G. C. QUIRINO, W. G.; MATOS, M. A. C.; MATOS, R.C. 3D Printed Adapter to Commercial Electronic Micropipettes for Electroanalysis Directly Inside Disposable Tips. *Electroanalysis*, v. 30, n. 10, p. 2434-2439, 2018. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elan.201800416> >.

TRABALHOS COLABORATIVOS

DE FARIA, L. V.; LISBOA, T. P.; AZEVEDO, G. C.; SOUSA, R. A.; MATOS, M. A.C.; MUÑOZ, R. A. A.; MATOS, R. C. Chemically-reduced Graphene Oxide Sensor for Dipyrone Quantification in Pharmaceutical Samples Using Amperometric Detection. *Electroanalysis*. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elan.201800784>.

NEVES R. A. L.; ARAUJO F. M.; PACHECO F. S.; AZEVEDO G. C.; MATOS M. A. C.; MATOS R. C. Electrochemical Determination of Sunscreens Agents in Cosmetic Using Square Wave Voltammetry. *Electroanalysis*. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elan.201800747> >.

Tavares, T. T.; Azevedo, G. C.; Garcia, A.; Carpanez, A. G.; Lewer, P. M.; Paschoal, D.; Müller, B. L.; Santos, H. F.; Matos, R. C.; Silva, H.; Grazul, R. M.; Fontes, A. P. S. Gold(I) complexes with aryl-thiosemicarbazones: Molecular modeling, synthesis, cytotoxicity and TrxR inhibition. *Polyhedron*, v. 132, p. 95-104, 2017/08/16/ 2017. ISSN 0277-5387. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0277538717303261> >.

CHAVES, J. D. S.; DAMASCENO, J. L.; PAULA, M. C. F.; OLIVEIRA, P. F.; AZEVEDO, G. C.; MATOS, R. C.; LOURENÇO, M. C. S.; TAVARES, D. C.; SILVA, H.; FONTES, A. P. S. ALMEIDA, M. V. Synthesis, characterization, cytotoxic and antitubercular activities of new gold(I) and gold(III) complexes containing ligands derived from carbohydrates. **BioMetals**, v. 28, n. 5, p. 845-860, 2015/10/01 2015. ISSN 1572-8773. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s10534-015-9870-8> >.

HONORIO, G. G.; AZEVEDO, G. C.; Matos, M. A. C.; OLIVEIRA, M. A. L.; MATOS, R. C. Use of Boron-Doped Diamond Electrode Pre-treated Cathodically for the Determination of Trace Metals in Honey by Differential Pulse Voltammetry. *Food Control*, v. 36, p. 42-48, 2014.