

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

Guilherme Figueira Alves

**Desenvolvimento de sensores portáteis e de baixo custo a base de grafite para a
determinação de analitos de interesse alimentício e farmacêutico**

Juiz de Fora

2022

Guilherme Figueira Alves

Desenvolvimento de sensores portáteis e de baixo custo a base de grafite para a determinação de analitos de interesse alimentício e farmacêutico

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.
Área de concentração: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Renato Camargo Matos
Coorientadora: Profa. Dra. Maria Auxiliadora Costa Matos

Juiz de Fora

2022

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Alves, Guilherme Figueira.

Desenvolvimento de sensores portáteis e de baixo custo a base de grafite para a determinação de analitos de interesse alimentício efarmacêutico / Guilherme Figueira Alves. -- 2022.

78 f.

Orientador: Renato Camargo Matos

Coorientadora: Maria Auxiliadora Costa Matos

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, ICE/Engenharia. Programa de Pós-Graduação em Química, 2022.

1. Eletrodos descartáveis . 2. Grafite. 3. Antibióticos. 4. Corantes . 5. Voltametria . I. Matos, Renato Camargo, orient. II. Matos, Maria Auxiliadora Costa, coorient. III. Título.

Guilherme Figueira Alves

**Desenvolvimento de sensores portáteis e de baixo custo a base de grafite para a
determinação de analitos de interesse alimentício e farmacêutico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.
Área de concentração: Química Analítica.

Aprovada em 22 de julho de 2022

BANCA EXAMINADORA

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

Prof^a. Dr^a. Maria Auxiliadora Costa Matos – Coorientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Rafael Machado Dornellas
Universidade Federal Fluminense

Prof^a. Dr^a. Celly Mieko Shinohara Izumi
Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 15/07/2022.



Documento assinado eletronicamente por **Renato Camargo Matos**, Coordenador(a), em 22/07/2022, às 16:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Machado Dornellas**, UsuárioExterno, em 22/07/2022, às 16:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Celly Mieko Shinohara Izumi**, Professor(a), em 22/07/2022, às 16:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Auxiliadora Costa Matos**, Professor(a), em 22/07/2022, às 16:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **0872293** e o código **CRC 2D2E5569**.

Dedico este trabalho aos meus pais, José e Rose, aos meus irmãos Rafael e Nathan.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todas as oportunidades, bênçãos, e resiliência a mim concedidos durante a minha jornada acadêmica.

Agradeço a meus pais, José e Rose, por todo incentivo e apoio incondicional que me deram durante toda a minha vida. Serei eternamente grato a vocês por tudo que abdicaram para que eu pudesse viver meus sonhos. Agradeço também por toda compreensão, paciência e carinho para comigo, e por terem me ajudado a superar os mais diversos desafios. Da mesma forma, agradeço meus irmãos, Rafael e Nathan, por todos os momentos de descontração, apoio e amizade. Essa conquista não é só minha, mas de todos vocês.

Agradeço também ao meu orientador, Prof. Dr. Renato Matos, por ter confiado em mim, e pela coragem de aceitar orientar um aluno de iniciação científica que ainda cursava o segundo período da faculdade. Serei eternamente grato por esta oportunidade, e por todas outras que você me propiciou. Agradeço por ter compartilhado seus conhecimentos de forma irrestrita, e por todos os direcionamentos dados, durante a execução dos mais diversos projetos que desenvolvemos juntos. Tenho a certeza que além do conhecimento técnico adquirido, aprendi a encarar a pesquisa de forma mais leve, mas com toda a dedicação e responsabilidade que esta exige, agradeço por todos os momentos de descontração dentro e fora do laboratório, respeito, amizade e carinho durante todos estes anos.

Agradeço a professora Maria Auxiliadora, Dora, por todos os ensinamentos, pela orientação do meu trabalho de conclusão de curso, pelo carinho e preocupação que sempre teve para comigo, e com todos os demais estudantes.

Agradeço pela oportunidade de ter trabalhado com pessoas ímpares e pelo acolhimento que recebi, e espero ter retribuído da mesma forma, de todos integrantes do NUPIS: Gustavo, Fernanda, Fausto, Lucas, Thalles, Raiane, Roberto, Bruno, Taimara, Livia, Stephany e Monisa. Agradeço pelos momentos de descontração e trocas de conhecimento durante nosso café da tarde. Agradeço também a todos os amigos da graduação (Davi, Hugo, Nathalia, Paulo, Pamella, Hudson e William), por terem me acompanhado durante as disciplinas, café, almoços e por todos os momentos que tivemos, estarei torcendo sempre pelo sucesso de cada um de vocês.

Agradeço aos professores Celly Izumi e Maiara Salles, por todas as contribuições dadas ao trabalho nos exames de qualificação. Estendo esse agradecimento aos demais professores do departamento de química por todos os ensinamentos e conselhos, fundamentais na minha formação durante minha graduação e pós-graduação.

Agradeço a todos os técnicos do departamento, em especial Fernando, por sempre zelarem no preparo das aulas, e por sempre serem tão solícitos quanto as demandas dos alunos. Agradeço a toda equipe de limpeza e seguranças do ICE, por sempre cuidarem para que os alunos tivessem o melhor ambiente possível para realizarem seus estudos e pesquisa.

Agradeço ainda a Universidade Federal de Juiz de Fora por sempre propiciar condições das mais diversas formas para que seus alunos tenham sucesso em suas carreiras, e pelo cuidado em fornecer formação de excelente qualidade. Agradeço também, as agências de fomento CAPES, CNPq e FAMPENIG por todo apoio financeiro concedido durante a minha graduação e pós-graduação.

Agradeço por fim a todos aqueles que tive o prazer de encontrar durante essa jornada. Muito obrigado.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

(SCHOPENHAUER, 2014, p. 76)

RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidas duas plataformas eletroquímicas para a fabricação de eletrodos de baixo custo a base de grafite, uma suportada em capilar de vidro e outra em papel, sendo os sensores aplicados na análise de analitos de interesse alimentício e farmacêutico. O eletrodo de grafite suportado em capilar, apresentou reprodutibilidade de fabricação, resposta e performance superior ao eletrodo comercial de carbono vítreo, reposta 2,6 vezes maior. A fim de se melhorar ainda mais as características do sensor um tratamento eletroquímico baseado/ na voltametria cíclica foi proposto e diferentes meios (ácido, neutro e básico) foram investigados. Todas as modificações propiciaram aumento significativo na resposta do antibiótico ciprofloxacina, sendo o aumento de sinal em meio básico de 43 vezes, frente ao eletrodo sem tratamento. Medidas de microscopia eletrônica de varredur, e espectroscopia Raman, revelaram que este aumento pode estar relacionado a exfoliação das folhas de grafeno na superfície do eletrodo. Um método baseado na voltametria de onda quadrada foi desenvolvido para os sensores de grafite, sendo os limites de detecção iguais a 0,35 e 5,56 $\mu\text{mol L}^{-1}$, para o eletrodo tratado e sem tratamento, respectivamente. O eletrodo sem tratamento e tratado foram aplicados na determinação de ciprofloxacina em amostras de fármaco, leite bovino e água, os valores de recuperação para as amostras variaram de 80 a 116 % indicando adequada exatidão do método. Enquanto que, o eletrodo de papel apresentou fabricação acessível, simples, e passível de aplicação em larga escala, uma vez que materiais extremamente acessíveis foram utilizados pra este fim. A fim de mostrar a aplicabilidade do sensor, este foi utilizado para a determinação dos corantes amarelo crepúsculo e tartrazina, amplamente utilizados na indústria alimentícia e com potenciais efeitos tóxicos ao ser humano. Um método por voltametria de pulso diferencial foi desenvolvido para a detecção simultânea dos analitos, com faixa linear de 4 a 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e limites de detecção iguais a 2,09 e 2,38 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para amarelo tartrazina e crepúsculo, respectivamente. Amostras de isotônico, suco em pó, suco, gelado comestível e gelatina foram analisadas, onde o tratamento da amostra concistiu em simples diluição.

Palavras-chave: Eletrodo de grafite. Eletrodo de papel. Tratamento eletroquímico. Ciprofloxacina. Antibióticos. Amarelo crepúsculo. Amarelo tartrazina. Corantes. Voltametria de onda quadrada. Voltametria de pulso diferencial.

ABSTRACT

In this work, two electrochemical platforms were developed for the manufacture of low-cost electrodes based on graphite, one supported on a glass capillary and the other on paper, with the sensors being applied in the analysis of analytes of food and pharmaceutical interest. The graphite electrode showed reproducibility of manufacturing, response, and performance superior to the commercial glassy carbon electrode, with 2.6 times greater analytical signal. An electrochemical treatment based on cyclic voltammetry was proposed to improve the electrode characteristics, and different media (acid, neutral and basic) were investigated. All the modifications significantly increased the response to the antibiotic ciprofloxacin, with a 43-fold increase in the basic medium compared to the untreated electrode. Scanning electron microscopy and Raman spectroscopy measurements revealed that this increase might be related to the exfoliation of graphene sheets at the electrode surface. A method by square wave voltammetry was developed for both electrodes with detection limits equal to 0.35 and 5.56 $\mu\text{mol L}^{-1}$ for the treated and untreated electrodes, respectively. Both electrodes with and without treatment were applied to determine ciprofloxacin in drug, bovine milk, and water samples, the recovery values for the samples ranged from 80 to 116 %, indicating good accuracy of the method. The paper electrode presented affordable, simple manufacturing, and amenable to large-scale application since low-cost materials were used for this purpose. The applicability of the sensor was performed by determining sunset yellow and tartrazine, dyes widely used in the food industry with potentially toxic effects on humans. A differential pulse voltammetry method was developed for the simultaneous detection of analytes, with a linear range from 4 to 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and detection limits equal to 2.09 and 2.38 $\mu\text{mol L}^{-1}$ for tartrazine yellow and sunset yellow, respectively. Samples of isotonic, powdered juice, juice, freeze pops, and gelatin were analyzed, and a simple dilution was performed.

Keywords: Graphite electrode. Paper electrode. Electrochemical treatment. Ciprofloxacin. Antibiotics. Twilight yellow. Tartrazine yellow. dyes. Square wave voltammetry. Differential pulse voltammetry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Estrutura básica de quinolonas (A) e ciprofloxacina (B). 22
- Figura 2 – Estrutura química dos corantes amarelo (A) crepúsculo e (B) tartrazina. 24
- Figura 3 – Aplicação de potencial na voltametria de onda quadrada. 29
- Figura 4 – Representação esquemática da forma de aplicação de potencial e corrente resultante na VPD. 30
- Figura 5 – Representação do eletrodo de grafite construído. 33
- Figura 6 – Voltamogramas cíclicos de uma solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 5 mmol L^{-1} em meio de KCl $0,1\text{ mol L}^{-1}$ utilizando (A) eletrodos de grafite HB, B e 2B e (B) carbono vítreo e grafite HB. Velocidade de varredura 100 mV s^{-1} 35
- Figura 7 – Voltamogramas cíclicos de 5 mmol L^{-1} $K_3[Fe(CN)_6]$ em meio de KCl ($0,01\text{ mol L}^{-1}$) para os nove eletrodos construídos em triplicata. Velocidade de varredura 100 mV s^{-1} 36
- Figura 8 – (A) Voltamogramas cíclicos do CIP $500\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ usando Tampão BR ($0,04\text{ mol L}^{-1}$) variando o pH de 2,0 a 10,0. (B) Efeito do pH do eletrólito no potencial de oxidação para a oxidação CIP, e ajuste linear $E_p\text{ (V)} = 1,29 - 0,042\text{ pH}$, $R^2 = 0,998$. Velocidade de varredura 100 mV s^{-1} 38
- Figura 9 – Mecanismo de oxidação da CIP no EG. 38
- Figura 10 – Voltamogramas cíclicos de uma solução CIP $500\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR ($0,04\text{ mol L}^{-1}$) pH = 6,00 uma velocidade de varredura de (a) 25 a (g) 175 mV s^{-1} utilizando o EG. O gráfico inserido mostra a relação entre a corrente e a raiz quadrada da velocidade de varredura $I_p = (0,05 \pm 0,01)v^{1/2} + (2,21 \pm 0,04)$, $R^2 = 0,998$ 39
- Figura 11 – Dependência do sinal VOQ com (A) incremento de potencial, (B) frequência e (C) amplitude, na presença de CIP $40\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR ($0,04\text{ mol L}^{-1}$) pH = 6,00. 40
- Figura 12 – Voltamogramas correspondente ao estudo de repetibilidade ($n = 10$) da CIP, $40\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR ($0,04\text{ mol L}^{-1}$) e pH = 6,00. Condições: Incremento de potencial 10 mV , frequência 80 Hz , e amplitude 70 mV 40
- Figura 13 – (A) Curva analítica para CIP por VOQ na faixa de concentração de $12\text{ a }55\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando o EG em tampão BR ($0,04\text{ mol L}^{-1}$) pH = 6,00, o gráfico inserido mostra a relação entre corrente e a concentração da CIP. (B) Voltamogramas obtidos para a determinação de CIP em amostra de formulação farmacêutica por VOQ. Em (a) eletrólito de suporte, (b) amostra, (c) e (d) amostras fortificadas nível baixo e alto, respectivamente. 42
- Figura 14 – Voltamogramas cíclicos de $0,1\text{ mol L}^{-1}$ (A) $NaOH$, (B) HNO_3 e (C) KCl do tratamento eletroquímico do eletrodo. Velocidade de varredura: 1 V s^{-1} 43

- Figura 15 – (A) Espectro de impedância de $5,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 5 mmol L^{-1} em meio de KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e (B) Voltamograma de $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIP (linha sólida) e eletrólito de suporte (tracejado) tampão BR ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) $\text{pH} = 6,0$ para o EG e EGTE. 44
- Figura 16 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura da seção transversal do (A) eletrodo construído em (a) capilar de vidro, (b) cola de cianoacrilato e em (c) grafite e ampliação de 600 vezes dos (B) EG e EGTE em meio de (C) KCl , (D) HNO_3 e (E) NaOH 45
- Figura 17 – Espectros Raman dos EG e EGTE ($\lambda_0 = 633 \text{ nm}$). 46
- Figura 18 – Voltamograma cíclico de $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIP em tampão BR ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$). 47
- Figura 19 – Dependência da corrente de oxidação da CIP no EGTE com (A) Incremento de potencial, (B) Frequência e (C) Amplitude da VOQ. 48
- Figura 20 – Voltamogramas da curva analítica com concentrações de 5 a $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. O gráfico inserido mostra o ajuste linear entre a corrente e a concentração ($I_p (\mu\text{A}) = (0.0098 \pm 0.0002)C_{cip} (\mu\text{mol L}^{-1}) + (0.21 \pm 0.01)$, $R^2 = 0,994$). 49
- Figura 21 – Variação do sinal de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ CIP na presença diferentes interferentes: cloranfenicol (CLO), sulfanilamida (SULF), ácido salicílico (AS), ácido benzoico (AB), tetraciclina (TET) e peróxido de hidrogênio (HP), em tampão BR ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) $\text{pH} = 6,00$ 51
- Figura 22 – (A) Eletrodo de papel construído após polimento e (B) célula eletroquímica utilizada. 56
- Figura 23 – Voltamogramas cíclicos obtidos para AC (A) e AT (C) em solução tampão BR com valores de pH variando de 2,0 a 10,0 em. O gráfico inserido em A e B mostra a corrente de pico versus pH , (B) e (D) mostram a influência do pH no potencial de pico para AC e AT, respectivamente. 57
- Figura 24 – Voltamogramas cíclicos com velocidades de varredura de (a) 25, (b) 50, (c) 75, (d) 100, (e) 125, (f) 150, (g) 175, (h) 200, (i) 225, (j) 250, (k) 275 e (l) 300 mV s^{-1} . O gráfico inserido mostra a relação linear entre $I_p \times v$, e $I_p \times v^{1/2}$, na presença de $325 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de (A) AC e (B) AT, respectivamente. 58
- Figura 25 – Dependência da corrente com (A) incremento de potencial (de 2 a 20 mV) e (B) amplitude (de 10 a 200 mV), para $65 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de AC (■) e AT (▲). Condições: eletrodo de referência Ag/AgCl , $\text{KCl}_{(\text{sat})}$, eletrólito de suporte tampão BR (10 mmol L^{-1} , $\text{pH} = 2,0$). 60
- Figura 26 – Voltamogramas de pulso diferencial para incremento de concentrações de (A) AC e (B) AT ($2,0$ a $21 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) na presença de uma concentração fixa de $30 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de um dos corantes. O gráfico inserido mostra a relação linear entre a corrente e a concentração. 60
- Figura 27 – Voltamogramas da curva analítica para (a) AC e (b) AT obtidos por VPD com concentrações variando de $4,0$ a $60,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Dependência da corrente e

concentração de (B) AC e (C) AT. Condições: eletrólito de suporte tampão BR (10 mmol L⁻¹, pH = 2,0)..... 61

Figura 28 – Variação do sinal de 16 µmol L⁻¹ de AC e AT na presença (proporção de 1:1) de diferentes interferentes, glicose (GLI), frutose (FRU), sacarose (SAC), citrato de sódio (CS), ácido cítrico (CA) e ácido benzóico (AB), em tampão BR (0,04 mol L) pH = 2,00. 64

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Resultados obtidos para a determinação do CIP nas amostras de formulações farmacêuticas por VOQ e CLAE (n = 3). Valor do rótulo CIP = 500 mg.42
- Tabela 2 – Valores de recuperação da CIP nas diferentes amostras analisadas (n = 3). 50
- Tabela 3 – Comparação dos métodos desenvolvidos com outros reportados na literatura. 52
- Tabela 4 – Valores de recuperação para a determinação simultânea de AC e AT em amostras de gelatina, suco, suco em pó, geladinho e isotônico (n = 3). 63
- Tabela 5 – Comparação do método proposto por VPD utilizando EP com outros métodos eletroanalíticas reportados na literatura para a determinação de AC e AT. 65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB	Ácido benzóico
AC	Amarelo crepúsculo
ANOVA	Análise de variância
AS	Ácido salicílico
AT	Amarelo Tartrazina
BR	Britton-Robinson
CA	Ácido cítrico, do inglês <i>citric acid</i>
C_{ac}	Concentração amarelo crepúsculo
C_{at}	Concentração amarelo tartrazina
C_{cip}	Concentração ciprofloxacina
CIP	Ciprofloxacina
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLO	Cloranfenicol
CS	Citrato de sódio
DPR	Desvio padrão relativo
EG	Eletrodos de grafite
EGTE	Eletrodos de grafite tratados eletroquimicamente
EIE	Espectroscopia eletroquímica de impedância
E_p	Potencial de pico
EP	Eletrodos de papel
ER	Espectroscopia Raman
F	Frequência
FQ	Fluoroquinolonas
FRU	Frutose
GLU	Glicose, do inglês <i>glucose</i>
HP	Peroxido de hidrogênio, do inglês <i>hydrogen peroxide</i>
I	Corrente de pico
I_d	Intensidade de pico da banda D
I_D	Corrente de pico
I_G	Intensidade de pico da banda G
LD	Limite de detecção

Log	Logaritmo na base 10
LQ	Limite de quantificação
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MOF	Rede metalorgânica, do inglês <i>metal-organic framework</i>
Øe	Diâmetro externo
Øi	Diâmetro interno
S.T	Sem tratamento
SAC	Sacarose
SULF	Sulfanilamida
TET	Tetraciclina
UV-Vis	Ultravioleta-visível
V	Velocidade de varredura
VC	Voltametria cíclica
VOQ	Voltametria de onda quadrada
VPD	Voltametria de pulso diferencial
ΔE	Incremento de potencial
ΔP	Largura de pico
T	Período

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	ELETRODOS DE CARBONO IMPRESSOS EM PAPEL	19
1.2	ELETRODO DE GRAFITE	20
1.3	TRATAMENTO ELETROQUÍMICO	20
1.4	ANTIBIÓTICOS E FLUOROQUINOLONAS	21
1.5	ADITIVOS QUÍMICOS: AMARELO CREPÚSCULO E TARTRAZINA	23
1.6	ANÁLISE DE CIP, AC E AT EM ALIMENTOS E FÁRMACOS	25
1.7	TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS DE PULSO	27
2	OBJETIVO	31
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
3	METODOLOGIA	32
3.1	REAGENTES E INSTRUMENTAÇÃO	32
3.1.1	Eletrodo de Grafite	33
3.1.2	Tratamento Eletroquímico do Eletrodo de Grafite	33
3.1.3	Aquisição e Tratamento das Amostras	34
3.1.4	Estudos Eletroquímicos e Determinação de CIP por Voltametria de Onda Quadrada	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
4.1	FABRICAÇÃO DO ELETRODO DE GRAFITE	35
4.2	COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA CIP NO ELETRODO DE GRAFITE	37
4.2.1	Efeito do pH e Transporte de Massa na Oxidação da CIP	37
4.2.2	Determinação Da Ciprofloxacina Em Formulações Farmacêuticas	39
4.3	ELETRODOS DE GRAFITE TRATADOS ELETROQUIMICAMENTE (EGTE)	43
4.3.1	Modificação E Caracterização Eletroquímica	43
4.3.2	Caracterização Espectroscópica e Morfológica dos EGME	45
4.3.3	Efeito do pH e Transporte de Massas da CIP Sobre o EGME	46
4.3.4	Determinação de CIP em Amostras de Fármaco, Leite e Água	47
4.3.5	Comparação do EG e EGME	51
4.4	CONCLUSÕES PARCIAIS	53
4.5	PERSPECTIVAS.....	54
5	METODOLOGIA	55

5.1	REAGENTES E INSTRUMENTAÇÃO.....	55
5.1.1	Construção do EP	55
5.1.2	Aquisição e Tratamento das Amostras	56
5.1.3	Estudos Eletroquímicos e Determinação de AC e AT por VPD.....	56
6	RESULTADOS E DISCUSSÕES	57
6.1	COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO AC E AT NO EP POR VC	57
6.2	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA VPD PARA DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE AC E AT.....	59
6.3	DETERMINAÇÃO DE AC E AT EM BEBIDAS E SOBREMESAS.....	62
6.4	CONCLUSÃO PARCIAL	65
6.5	PERSPECTIVAS.....	66
7	CONCLUSÕES.....	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
	APÊNDICE A – ARTIGOS PUBLICADOS.....	76
	APÊNDICE B – ARTIGOS E CAPÍTULOS DE LIVRO ACEITOS, EM REVISÃO OU SUBMETIDOS	77
	APÊNDICE C – PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS.....	78

Capítulo 1: Considerações Gerais

1 INTRODUÇÃO

A eletroanalítica é o ramo da eletroquímica que usa medidas de corrente, potencial, carga em função do tempo, em análises quantitativas. Esta possui grande versatilidade, uma vez que permite a determinação de analitos orgânicos e inorgânicos, além de apresentar baixo custo instrumental, boa portabilidade e sensibilidade, sendo que o uso dessas medidas possui vasta aplicação em análises ambientais, controle de qualidade e biomedicina (WANG, 2006).

Grande parte dos sistemas de análise, necessitam de um transdutor, que converte um fenômeno químico, ou físico, em um sinal elétrico, portanto, um transdutor é um dispositivo que transfere energia de um sistema para outro. Enquanto que um sensor, é o elemento de reconhecimento em si, sendo este, um dispositivo que detecta um estímulo, e converte este, em um sinal que pode ser medido. Para sistemas eletroquímicos o transdutor é o conjunto eletrodo de trabalho e potenciostato, e o sensor é o eletrodo de trabalho, que converte a taxa com a qual os elétrons se movem entre a interface eletrodo-solução em corrente elétrica. (USHER; KEATING, 1996) .

A fim de se agregar aos métodos eletroanalíticas uma maior sensibilidade e seletividade é imprescindível o desenvolvimento de novos sensores eletroquímicos. Neste sentido, intensas pesquisas têm sido realizadas nas áreas de microeletrodos, eletrodos modificados e materiais compósitos, com o intuito de desenvolver novos materiais com potencial eletroquímico (TALLMAN; PETERSEN, 1990).

Desta forma o uso de materiais de baixo custo para a fabricação de sensores descartáveis, têm ganhado destaque recentemente, uma vez que eletrodos comerciais necessitam de sofisticados processos de fabricação, insumos de alta pureza e condições de ambiente controladas, encarecendo o produto final e o custo da análise de modo geral (USLU; OZKAN, 2007). Como alternativa, pode-se destacar o uso de grafite na fabricação de eletrodos de baixo custo em diferentes substratos como: eletrodos de pasta de carbono (ŠVANCARA *et al.*, 2009), uso direto para fabricação de eletrodos de grafite (BAYSAL; UZUN; HASDEMIR, 2020; GÖKÇE *et al.*, 2020; TORRINHA *et al.*, 2018) e na fabricação de tintas condutivas suportada em cartolina e papel (DE LIMA *et al.*, 2021; LISBOA *et al.*, 2021).

1.1 ELETRODOS DE CARBONO IMPRESSOS EM PAPEL

O primeiro uso do papel em laboratório data do século XVIII onde um papel foi impregnado com diversos corantes extraído de líquens, sendo usado para medidas em campo de pH, sendo reações colorimétricas o principal meio de detecção destes dispositivos (OZER; MCMAHON; HENRY, 2020). Entretanto um número limitado de ensaios, e moléculas, produzem reações com mudanças significativas de coloração que podem ser enxergadas pelo olho humano, afetando, portanto, a sensibilidade desses métodos, e diminuindo suas aplicações. A fim de superar essas desvantagens é possível combinar medidas eletroquímicas e dispositivos de papel, gerando sistemas de análise com baixo custo, portabilidade e sensibilidade (OH; CHOW, 2015). Entretanto, para que isto seja possível se faz necessário criar trilhas condutivas, eletrodos, na superfície do papel, uma vez que em sua forma natural estes não apresentam condutividade elétrica.

A estratégia mais explorada recentemente para a fabricação dos eletrodos de papel é por meio do uso tintas condutoras, a composição típica de tintas consiste em uma fase condutora, ligantes e solventes. A fase condutora pode ser feita utilizando nanomateriais como grafeno, nanotubos de carbono e nanopartículas metálicas, entretanto grafite tem sido mais utilizado uma vez que apresenta características atrativas como fácil obtenção e baixo custo (BEITOLLAHI *et al.*, 2020; LI, MENG *et al.*, 2012). Para que a tinta seja aderida ao papel alguns ligantes são necessários, pois auxiliam na dispersão dos materiais da fase condutora e na coesão da tinta ao papel, sendo estes materiais poliméricos, como acrílico, uretano e acrilatos, por exemplo. Por fim, para garantir que a tinta seja fluida, solventes são necessários e estes devem dissolver os ligantes, aumentar a tensão superficial da tinta e melhorar a homogeneidade (KIM *et al.*, 2017; SURESH *et al.*, 2021).

Diferentes métodos de aplicação podem ser utilizados na fabricação de dispositivos eletroquímicos de papel (EP) como estêncil, serigrafia, flexografia, impressão de jato de tinta e desenho com lápis (AKYAZI; BASABE-DESMONTS; BENITO-LOPEZ, 2018). A técnica de estêncil possui vantagens frente as outras técnicas como simplicidade e baixo custo, e consiste em delimitar a área que se deseja pintar, criando um padrão com o desenho dos eletrodos, estêncil. A tinta entra em contato diretamente com o substrato, sendo que esta, deve possuir viscosidade elevada para garantir um recobrimento homogêneo e assim uma maior durabilidade do eletrodo (ATAIDE *et al.*, 2020).

1.2 ELETRODO DE GRAFITE

Uma das formas alotrópicas mais conhecidas do carbono é a grafite, formada por folhas de grafeno empilhadas, ligadas por interações de van der Waals. Nesta, os átomos de carbono apresentam hibridização sp^2 (trigonal), ligação covalente e deslocalização eletrônica, como resultado a grafite é um bom condutor elétrico, sendo assim um material interessante para a fabricação de sensores eletroquímicos (CHUNG, 2002; KARIUKI; ERVIN; OLAFSON, 2015).

O grafite disponível comercialmente é um compósito, composto de grafite (65–80% m/m), argilas ($\leq 30\%$ m/m) e ligantes ($\leq 13\%$ m/m - ceras, resinas ou polímeros de alto peso molecular). O processo de fabricação do grafite é realizado da seguinte forma: com a mistura acima preparada, esta é moldada em formato cilíndrico e seca a uma temperatura que varia de 100 a 300 °C, em seguida sinterizada a 1000 °C, conferindo maior resistência mecânica e evitando defeitos de fabricação. Diferentes tipos de grafite podem ser fabricados, a partir de diferentes misturas de grafite, argila e ligantes, a escala HB classifica os diferentes tipos, onde as do tipo B contém mais grafite e são mais maleáveis, enquanto que as do tipo H possuem mais argila e são mais rígidas, já os números indicam o grau de dureza e escuridão sendo 9H, mais duro, a 8B, mais macio, e HB sendo intermediário com proporção igual de argila e grafite (DAVID; POPA; BULEANDRA, 2017; PANDEY *et al.*, 2020).

Os primeiros estudos publicados em que o grafite foi utilizado diretamente como eletrodo datam das décadas de 50 e 60, sendo utilizado como anodo, contra um eletrodo gotejante de mercúrio (MAŠEK, 1960). Entretanto, apenas na década de 90 que seu uso foi intensificado, uma vez que possui propriedades como: simplicidade e baixo custo de fabricação, inércia química, rigidez mecânica, ampla janela de potencial, grande área superficial e facilidade de modificação, esta última devido a sua alta capacidade de adsorção.

1.3 TRATAMENTO ELETROQUÍMICO

A performance dos eletrodos pode ser melhorada por meio de modificações e tratamentos de sua superfície. O primeiro se dá principalmente por meio de *dropcast*, usando nano materiais como: polímeros eletroativos, nanopartículas, sulfetos de metais de transição, e redes organometálicas. Uma suspensão dos materiais acima citados é preparada em meio de um solvente, que em seguida é seco, por meio de estufa, radiação infravermelho, ou evaporação. Entretanto, esse processo tem como desvantagens: diminuição da frequência analítica e menor reprodutibilidade da modificação, por exemplo. Tratamentos

eletroquímicos, em contrapartida podem ser realizados em *situ*, e diferentes técnicas eletroquímicas podem ser aplicadas, alterando a superfície de diferentes modos, oferecendo a esses sensores características eletroquímicas distintas (AKANDA *et al.*, 2016).

Eletrodos de grafite sem nenhum tipo de pré-tratamento quando em contato com oxigênio, impurezas do ar e/ou resquícios de analitos adsorvidos em sua superfície, podem ter seus sítios ativos bloqueados, levando a uma perda de sensibilidade (JI *et al.*, 2006). A fim de se contornar estes problemas, e ainda melhorar a performance dos sensores eletroquímicos, por meio da modificações em sua estrutura eletrônica, diferentes pré-tratamentos além dos já consolidados, polimento mecânico e limpeza com solventes, têm sido reportados na literatura como: lasers, radiação micro-ondas, plasma com radiofrequência e tratamentos eletroquímicos. Sendo que o último vem se destacando devido ao seu baixo custo e simplicidade de operação (RANA; BAIG; SALEH, 2019).

O pré-tratamento realizado, seja para limpeza, ou ativação dos eletrodos, produzem novos planos de borda e introduzem grupos carboxílicos e carbonílicos, produzindo grande densidade de estados eletrônicos, que possuem um papel significativo nas propriedades eletroquímicas dos eletrodos. Desta forma sítios ativos são formados, os quais possibilitam um aumento na taxa de transferência eletrônica, e conseqüentemente melhora das propriedades do sensor (CHEN; FENG; LI, 2012), possibilitando o uso destes sensores na análise de traços, como por exemplo na análise de alimentos e fármacos para fins de controle qualidade, como também para a determinação de aditivos, como corantes (LI, JUNHUA *et al.*, 2019; WU; LEE, 2020), e adulterantes e/ou contaminantes, como antibióticos (POLLAP *et al.*, 2020; RADIČOVÁ *et al.*, 2017).

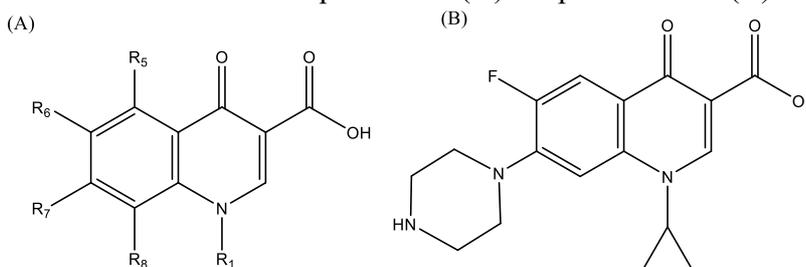
1.4 ANTIBIÓTICOS E FLUOROQUINOLONAS

Antibiótico são moléculas sintéticas ou naturalmente produzidas por micróbios com ação antagonista ao crescimento de outros micróbios (CLARDY; FISCHBACH; CURRIE, 2009). Há pouco mais de cem anos a primeira substância com esta ação foi sintetizada por Paul Ehrlich, denominada de salvarsan e neosalvarsan. Este trabalho impulsionou pesquisas e estudos sistemáticos de microrganismos produtores de agentes antimicrobianos, sendo o período que compreende dos anos 1940 a 1960 conhecida como a era de ouro dos antibióticos, onde por meio do estudo de metabólitos secundários, novas classes de compostos surgiram, dentre estes as quinolonas (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019).

Em 1962, como resultado de pesquisas em remédios antimaláricos, surge o primeiro

composto desta nova classe de antibióticos: o ácido nalidíxico, que se mostrou eficaz contra microrganismos gram-negativos. Em 1970, três novas quinolonas foram introduzidas: ácido pipemídico, ácido oxolínico e cinoxacina, as quais apresentaram efeito superior ao do ácido nalidíxico (SUKUL; SPITELLER, 2007). Mudanças estruturais nessas moléculas acarretaram na melhora das características farmacodinâmicas e farmacocinéticas destes compostos, sendo que nas décadas de 80 e 90, com a introdução de substituintes flúor e piperazina, surgia uma nova classe de antibióticos mais potentes que as quinolonas, a estrutura base desses compostos está apresentada na Figura 1, denominada fluoroquinolonas (FQ) como: enrofloxacin, ciprofloxacina (CIP) e ofloxacina (HOOPER; C., 1993). Sendo este, um grupo potente de antibióticos que nos últimos quarenta anos têm sido usados para tratar uma variedade de infecções bacterianas em humanos, gado e peixes.

Figura 1 – Estrutura básica de quinolonas (A) e ciprofloxacina (B).



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

FQ são obtidas pela adição de um grupo flúor e piperazina as posições C-6 e C-7, respectivamente, quinolonas possuem atividade gram-negativa intrínseca, e a adição do grupo flúor aumenta a lipofilicidade, aumentando sua atividade gram-positiva e controlando o espectro de atividade e potência do antibiótico. Os grupos ácido carboxílico e cetona nas posições C-3 e C-4, respectivamente, são responsáveis pela inibição da enzima DNA girase, responsável pela replicação da bactéria (SUKUL; SPITELLER, 2007). Este grupo de antibióticos são o terceiro maior grupo de antibióticos em uso, compondo 17% do mercado global, e vendas no valor de 7,1 bilhões de dólares em 2009. Sendo utilizados no tratamento de infecções pulmonares, urinárias e digestivas, em humanos, enquanto que enrofloxacin e sarfloxacin foram desenvolvidas especificamente para uso veterinário.

Em março de 2019 por meio de nota à imprensa a Agência Europeia de Medicamentos, recomendou que o uso de fluoroquinolonas deve ser evitado uma vez que estas podem causar danos incapacitantes e efeitos colaterais permanentes envolvendo: tendões, músculos, articulações, e o sistema nervoso (EMA, 2019), a Agência Americana para

Alimentos e Drogas adotou postura similar, uma vez que em estudo próprio, foi evidenciado uma relação de aneurisma aórtico e o uso de fluoroquinolonas (U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2018). No mesmo ano a organização mundial da saúde cria diretrizes e classificações em grupos para a prescrição e uso de antibióticos levando em conta os benefícios, danos e potencial resistência em bactérias (HSIA *et al.*, 2019).

O primeiro grupo é denominado de acesso, e compreende antibióticos com atividade contra diversos patógenos causadores de infecções mais comuns, mostrando menor potencial de resistência do que antibióticos pertencentes aos outros grupos, composto de 48 antibióticos. O segundo grupo é o de antibióticos em observação, pois apresentam elevado potencial de seleção de bactérias resistentes, sendo as quinolonas, fluoroquinolonas pertencentes a este grupo. Por fim, tem-se o grupo reservado, sendo indicado seu uso para casos confirmados ou suspeitos de organismos multirresistente a drogas, sendo estes o último recurso contra estes microrganismos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

O uso indevido de antibióticos, sem respeitar o período de carência e receituários, é a principal fonte de resíduos deste tipo no leite e em amostras de água, além disso estes já são considerados pela comunidade científica poluentes emergentes, e estão associados ao surgimento de bactérias e genes resistentes a antibióticos. Segundo a Organização Mundial de Saúde poucos países possuem programas de monitoramento e estudos sobre a exposição desse tipo de contaminante em água de abastecimento (FENG; HUANG; CHEN, 2021; GODOY; SÁNCHEZ, 2020).

A fim de garantir a segurança dos consumidores, a União Europeia estabeleceu os limites máximos residuais das mais diversas drogas em leite, carne e outros alimentos por meio da lei nº 470/2009, e em particular para a soma de enrofloxacina e seu metabolito CIP, sendo estabelecido como $100 \mu\text{g Kg}^{-1}$ para toda a espécie animal (EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION, 2010). No Brasil cabe a Agência de Vigilância Sanitária a regulamentação, controle e fiscalização de resíduos de antibiótico em alimentos, a qual utiliza o mesmo valor da Agência Europeia como limite residual máximo, para amostras de leite.

1.5 ADITIVOS QUÍMICOS: AMARELO CREPÚSCULO E TARTRAZINA

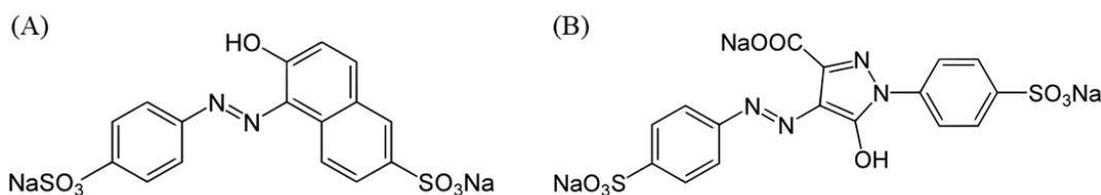
Em contraste aos antibióticos que estão presentes em alimentos como adulterantes ou contaminantes, aditivos químicos são todas substâncias intencionalmente adicionadas a alimentos com o fim de melhorar as propriedades organolépticas de um alimento. Corantes

em particular, formam uma classe de aditivos utilizados para conferir ou uniformizar a coloração de alimentos, tornando estes mais atraentes ao consumidor (KAUR *et al.*, 2021).

Os corantes naturais foram os primeiros corantes utilizados, obtidos por meio da extração de plantas, vegetais e frutas. Entretanto, para a fabricação destes, grandes quantidades de materiais são necessárias para extração do pigmento, além disso alguns destes corantes podem conferir aos alimentos sabores e aromas indesejáveis (SIGURDSON; TANG; GIUSTI, 2017). E por possuírem baixa estabilidade química, térmica, limitação de cores, e fotossensibilidade, corantes sintéticos têm sido desenvolvidos a fim de se mitigar estes problemas (JAFARI-ARVARI; SAEI-DEHKORDI; FARHADIAN, 2021).

Os primeiros corantes sintéticos obtidos datam do século 19, em especial os azo corantes formam um grupo de corantes que apresentam o grupo azo em sua estrutura química, são representante deste grupo os corantes amarelo crepúsculo (AC) e amarelo tartrazina (AT) com estruturas químicas apresenta na Figura 2, utilizados em sucos, isotônicos, doces, gelatinas, balas de goma, coberturas e cereais (ZOUGHFI *et al.*, 2021).

Figura 2 – Estrutura química dos corantes amarelo (A) crepúsculo e (B) tartrazina.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Os grupos azo e anéis aromáticos presentes na estrutura destes compostos são metabolizados por bactérias presentes na flora intestinal formando aminas aromáticas, que podem causar efeitos adversos como cefaleia, neurotoxicidade, genotoxicidade e carcinogenicidade (YAMJALA; NAINAR; RAMISSETTI, 2016). O comitê de experts para aditivos químicos, parte da organização mundial da saúde e da organização para alimentação e agricultura das Nações Unidas, estabelece os limites de ingestão diários aceitáveis como sendo no máximo 2,5 e 7,5 mg kg⁻¹ corporal para o AC e AT, respectivamente (BASU; SURESH KUMAR, 2016; KAUR *et al.*, 2021). Dado estes efeitos a saúde humana alguns países já aboliram o uso destes corantes em alimentos dentre estes Estados Unidos, Índia, China, Japão, Austrália e os países da União Europeia.

Assim se faz necessário, métodos analíticos com elevada sensibilidade para detecção

de AC e AT, visando o controle de qualidade de fármacos e alimentos, bem como o monitoramento dos resíduos destes em amostra de leite e na avaliação da qualidade das águas. Pesquisas para o desenvolvimento de novas metodologias para análise destes compostos tem tido grande apelo por parte da comunidade científica (SCHNEIDER; DONOGHUE, 2019).

1.6 ANALISE DE CIP, AC e AT EM ALIMENTOS E FÁRMACOS

Os métodos para análise de alimentos e formulações farmacêuticas afim de se determinar FQ, AC, e AT são baseadas principalmente em: técnicas cromatográficas com detecção no ultravioleta/visível (LI, QI; LIU; ZHU, 2019; MARAZUELA; MORENO-BONDI, 2004; QIU *et al.*, 2016), fluorescência (GARCIA *et al.*, 2005; LOLO *et al.*, 2005; ZOTOU; MILTIADOU, 2002), espectrometria de massas (FUH, 2002; TANG *et al.*, 2009; VAN HOOFF *et al.*, 2005) e eletroforese capilar (LIU *et al.*, 2015; MICHALSKA; PAJCHEL; TYSKI, 2004; MONTES *et al.*, 2014; PIÑERO *et al.*, 2012). Apesar destas técnicas permitirem o desenvolvimento de métodos robustos, sensíveis e seletivos, apresentam desvantagens tais como: baixa frequência analítica, elevado custo de análise, elevada geração de resíduos, entre outros. Como alternativa, as técnicas eletroanalíticas têm sido cada vez mais utilizadas por possuírem baixo custo instrumental, alta sensibilidade e simplicidade.

Chauhan e colaboradores fabricaram um sensor por meio da eletropolimerização de vermelho fenol, seguida da modificação por *dropcast* de oxido de grafeno reduzido. Sendo a voltametria de pulso diferencial (VPD) utilizada para quantificação de CIP, o método apresentou sensibilidade adequada, limite de detecção (LD) de 2 nmol L^{-1} , sendo o método desenvolvido aplicado em amostras de soro animal, os valores de recuperação variaram de 97 a 105 %, o sensor se mostrou estável em um período de cinco dias (CHAUHAN *et al.*, 2020).

Bagheri e colaboradores utilizaram um eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de múltiplas paredes magnéticos decorado com polímero molecularmente impresso, sendo observado a oxidação da CIP próximo de $+ 0,9 \text{ V}$ (vs $\text{Ag/AgCl, KCl}_{(\text{sat})}$). A VPD foi empregada para a quantificação da CIP, com as condições otimizadas o método apresentou ampla faixa linear ($5,00 - 850,00 \text{ nmol L}^{-1}$), elevada sensibilidade ($\text{LD} = 1,7 \text{ nmol L}^{-1}$) e seletividade frente a diferentes interferentes (glicose (GLI), sacarose (SAC), ácido cítrico (CA), ácido ascórbico (AA), e dopamina). Sendo este aplicado em amostras de fármaco, soro e urina dopadas, os percentuais de recuperação variaram de 97 a 101% (BAGHERI *et al.*, 2016).

Além dos métodos estacionários de análise, Faria e colaboradores desenvolveram um método por meio de análises em fluxo e detecção amperométrica para a determinação de rápida e seletiva de CIP em amostras de leite. O método apresentou ampla faixa linear de trabalho (1 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$), LD de 0,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e elevada frequência analítica (110 análises por hora), os valores de recuperação variaram de 101 a 113 %, e resultados comparáveis a técnica de referência por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), sendo uma alternativa atraente para métodos de rotina (DE FARIA, LUCAS VINÍCIUS *et al.*, 2020).

Um sensor baseado em rede metalorgânica (MOF) de cobre foi desenvolvido por Rani e colaboradores, para determinação de CIP. A quantificação desta foi baseada na atenuação do sinal analítico do cobre, devido a adsorção de CIP aos sítios ativos da Cu-MOF. Um método baseado na voltametria de pulso diferencial foi aplicado na análise de amostras de água de abastecimento. O método apresentou faixa de trabalho adequada (0,01 a 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e excelente sensibilidade (LD = 0,47 nmol L^{-1}), o sensor ainda apresentou prolongada estabilidade, 28 dias, sendo aplicado em amostras de água de abastecimento dopadas, os valores de recuperação variando de 94 a 108 % (RANI *et al.*, 2020).

De forma similar Wu e colaboradores desenvolveram um sensor utilizando um composto de redes metalorgânica de Ni (Ni-MOF) e óxido de grafeno reduzido para a determinação simultânea de AC e AT. A modificação acrescentou ganho considerável na resposta eletroquímica de 33 e 35 vezes, frente ao eletrodo sem modificação, para AC e AT, respectivamente. Um método por VPD foi otimizado, e apresentou faixa de trabalho de 0,05 e 0,075 a 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e LD de 0,025 a 0,050 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AC e AT, respectivamente, além disso o sensor apresentou estabilidade de 14 dias. Amostras de isotônico foram analisadas e valores de recuperação de 96 a 102 % foram obtidos (WU; LEE, 2020).

Li e colaboradores avaliaram o impacto da morfologia de cristais de CuS, na resposta eletroquímica do AC e AT. Sendo que as nanoflores apresentaram maior área específica (37,12 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$) e maior atividade eletrocatalítica para AC e AT. Um método por VPD foi otimizado, onde este apresentou elevada sensibilidade, LD iguais a 6 e 12 nmol L^{-1} , ampla faixa linear de trabalho 0,1 a 700 e 0,1 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AC e AT, respectivamente, além disso o sensor mostrou excelente estabilidade, 30 dias. Amostras de refrigerante, jujubas e balas foram analisadas e valores de recuperação de 97 a 105 % obtidos (LI, JUNHUA *et al.*, 2019).

Deng e colaboradores utilizaram óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente funcionalizado com nanobastões de ouro para a modificação de eletrodos de carbono vítreo,

para a determinação de AC e AT. A modificação promoveu aumento significativo na resposta eletroquímica dos sensores de 9,2 e 11,7 vezes, frente ao eletrodo modificado somente com grafeno. Um método por VPD foi otimizado e um tempo de acumulação de 300 s utilizado, sendo a faixa linear de trabalho de 0,01 a 3,0 e 0,03 a 6,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e LD de 2,4 e 8,6 nmol L^{-1} , para o AC e AT, respectivamente. Amostras de gelatina, suco e refrigerante foram analisadas onde os valores de recuperação obtidos variaram de 89 a 106 % (DENG *et al.*, 2016).

Ghoreishi e colaboradores desenvolveram de um sensor de pasta de carbono modificado com nanopartículas de ouro para a determinação simultânea de AC e AT em amostras de isotônico. O método desenvolvido, baseado na VPD, apresentou elevada sensibilidade, LD de 30 e 2 nmol L^{-1} para AC e AT, respectivamente, o sensor também se mostrou seletivo a outros corantes como: azul brilhante, vermelho 10B, vermelho sírio e íons (K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , NO_3^- e Cl^-). Os valores de recuperação para as amostras analisadas variaram de 94 a 104% (GHOREISHI; BEHPOUR; GOLESTANEH, 2012).

1.7 TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS

Há exatos cem anos Heyrovský publicava seus primeiros resultados sobre o desenvolvimento de uma nova técnica, mais tarde denominada polarografia, onde este observou uma relação entre aplicação de um potencial e medidas de corrente, usando um eletrodo gotejante de mercúrio, sendo esta um tipo de técnica voltamétrica. Anos mais tarde devido a sua contribuição no desenvolvimento de um novo ramo da eletroquímica, a eletroanalítica este foi agraciado com o prêmio Nobel de química (BAREK; ZIMA, 2003; LUBERT; KALCHER, 2010).

Ao se colocar em contato duas fases condutoras, como um eletrodo e uma solução, e conecta-lós á uma fonte externa de potencial, há a formação da dupla camada elétrica na interface das fases, há um acúmulo de cargas em uma das fases, a fim de compensar este excesso, íons de carga oposta, são atraídos para a superfície da outra fase, formando o plano interno de Helmholtz. A camada imediatamente após esta é denominada de plano externo de Helmholtz, formada por íons solvatados e moléculas de solvente, e se estende até o seio da solução (BRETT, 2008; MONK, 2001).

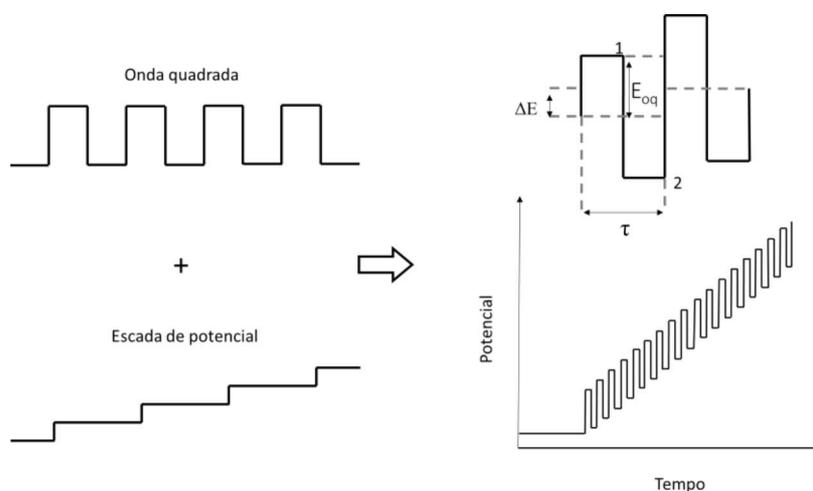
As reações eletroquímicas dependem da quantidade de espécies eletroáticas que chegam a superfície do eletrodo que é determinada pelo transporte de massas destas. Podendo três tipos de transporte ocorrer: migração, convecção e . O primeiro está relacionado com o

movimento de espécies carregadas em solução devido a um campo elétrico, a convecção é proveniente do movimento físico, causado por uma agitação mecânica, eletrodo rotativo, ou ainda uma solução em fluxo. Por fim, a difusão é devida a um gradiente de concentração entre a interface do eletrodo e o seio da solução, onde espécies eletroativas são consumidas e produtos são formados ao mesmo tempo que há um fluxo de corrente na superfície do eletrodo. Como a difusão é o único transporte de massas que possui relação com a concentração os demais devem ser minimizados, a migração pode ser diminuída por meio da adição de um eletrólito iônico não reativo, enquanto que a convecção pode ser minimizada ao deixar a solução em repouso durante as medidas (MONK, 2001).

Dois tipos de correntes podem se originar na superfície de um eletrodo, a corrente faradaica e a capacitiva. A corrente faradaica está relacionada com a transferência eletrônica entre a interface eletrodo-solução, quando uma reação redox ocorre nesta interface, sendo esta corrente relacionada com a concentração das espécies presentes em solução, obedecendo a lei de Faraday. Já a corrente capacitiva está relacionada a formação da dupla camada elétrica, em razão da aplicação e/ou variação de potencial diferentemente da faradaica, esta corrente não está relacionada com nenhuma reação redox. Para fins de análises quantitativas a corrente capacitiva deve ser minimizada (BARD; FAULKNER, 2000).

Com este objetivo, Baker e Jenkin desenvolveram as técnicas voltamétricas de pulso, dentre elas a voltametria e onda quadrada (VOQ) e a VPD. Na VOQ, uma onda quadrada simétrica é sobreposta a uma rampa de potencial na forma de escada, como ilustrado na Figura 3, onde os parâmetros da técnica são a amplitude do pulso, E_{oq} , incrementode potencial, ΔE , e o período da onda, τ , sendo mais comum o uso da frequência da onda quadrada, $f = 1/2 \tau$. O produto destes dois últimos parâmetros, incrementode potencial e frequência, determinam a velocidade de varredura da técnica, v . (BARD; FAULKNER, 2000; MONK, 2001).

Figura 3 – Aplicação de potencial na voltametria de onda quadrada.

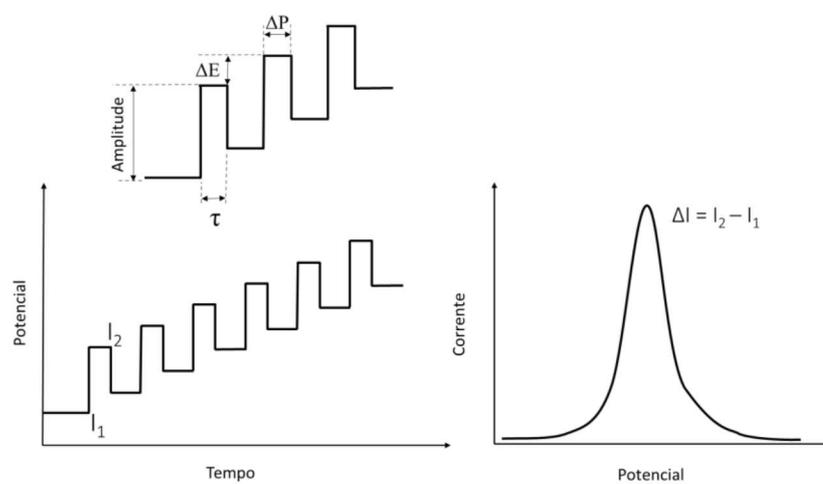


Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

A corrente é amostrada duas vezes em cada ciclo de onda quadrada, no final do pulso direto, em 1, e no final do pulso reverso, em 2, a diferença entre as duas medidas é plotada versus o incremento de potencial, como mostrado na Figura 3. A corrente capacitiva apresenta um decaimento exponencial com o tempo, ao se medir os valores de corrente, esta possui um valor constante, sendo a sua contribuição para o sinal anulada na VOQ (COMPTON; BANKS, 2010; MONK, 2001). Além disso, para sistemas reversíveis a sensibilidade desta técnica é maior, quando comparado com sistemas irreversíveis. Quando comparada a outras técnicas de pulso, como pulso diferencial, mesmo sistemas irreversíveis produzem maiores sinais de resposta, devido principalmente ao uso de elevadas velocidades de varredura durante o experimento (WANG, 2006).

Na VPD pulsos de magnitude fixa, sobrepostos a uma rampa linear de potencial, são aplicados ao eletrodo de trabalho, a corrente é amostrada antes da aplicação do pulso e em seu final, como mostrado na Figura 4, de forma similar a VOQ, a diferença entre os valores de corrente é obtido sendo proporcional a concentração do analito (COMPTON; BANKS, 2010). Além disso a resposta da VPD resulta em uma melhora na resolução para espécies como potenciais redox semelhantes, uma vez que a amplitude, de pulso está relacionada com a largura do pico, ΔP , assim, após as devidas otimizações picos bem definidos são obtidos, fazendo com que esta seja bastante útil em análises simultâneas (WANG, 2006).

Figura 4 – Representação esquemática da forma de aplicação de potencial e corrente resultante na VPD.



Fonte: elaborado pelo autor (2022).

2 OBJETIVO

Desenvolver sensores eletroquímicos a base de grafite simples, sensíveis e de baixo custo suportados em capilar de vidro em impressos em papel para determinação de analitos de interesse alimentício e farmacêutico.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) construir eletrodos de grafite (eg) usando diferentes tipos de grafite (hb, b e 2b);
- b) avaliar o comportamento antes e depois do tratamento eletroquímico de sua superfície;
- c) caracterizar o grafite utilizada para construção dos eletrodos por meio da microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia raman e difração de raios x;
- d) construir eletrodos de papel utilizando tintas condutoras de grafite (ep);
- e) estudar o transporte de massa, potencial de oxidação e faixa linear de trabalho para cip com eg, ac e at, com ep, respectivamente, usando a voltametria cíclica;
- f) desenvolver um método analítico utilizando a voq para determinação de cip, e vpd para ac e at;
- g) determinar cip de em amostras de fármacos, água e leite bovino, e comparar os resultados os obtidos por cromatografia líquida;
- h) determinar ac e at em amostras de isotônico, geladinho, suco, suco em pó e gelatina.

Capítulo 2: Estudos eletroquímicos da ciprofloxacina utilizando eletrodo de grafite

3 METODOLOGIA

Nesta seção serão discutidos os reagentes, equipamentos, procedimento de construção dos eletrodos bem como parâmetros instrumentais utilizados nos estudos do EG e EGTE.

3.1 REAGENTES E INSTRUMENTAÇÃO

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada (Milli-Q – Quantum EX) com resistividade maior ou igual a $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$. Tampão Britton-Robinson (BR) $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (ácido acético, ácido fosfórico, ácido bórico) foi utilizado como eletrólito de suporte, sendo que o ajuste do pH foi feito com adição de hidróxido de sódio 2 mol L^{-1} . A solução padrão de CIP (98% m/m, Sigma Aldrich) 5 mmol L^{-1} , foi preparada diariamente a partir da dissolução do reagente. Cloranfenicol (98% m/m) e tetraciclina (99,0% m/m), foram adquiridos junto a Sigma Aldrich (San Luis, EUA). Sulfanilamida (99,0% m/m), ácido salicílico (99,0% m/m), ácido acético (99,7 % m/v), ácido nítrico (65% m/v) e ácido bórico (99,8 % m/m) foram adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Ácido benzoico (99,9% m/m), hidróxido de sódio (97,0% m/m), cloreto de potássio (99,0% m/m) e ferricianeto de potássio (99,0 % m/m) foram adquiridos junto a Synth (Diadema, Brasil). Enquanto que peróxido de hidrogênio (30% v/v) e ácido fosfórico (85,0% m/v) foram adquiridos junto a Dinâmica (Indaiatuba, Brasil)

Para a realização de todas as medidas eletroquímicas, um potenciostato PGSTAT 128N (EcoChemie, Utrecht, Holanda) interfaceado a um microcomputador foi utilizado. Uma célula eletroquímica constituída por um eletrodo de trabalho de grafite, um eletrodo de $\text{Ag}|\text{AgCl}_{(s)}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$, como eletrodo de referência, e um eletrodo de platina, como eletrodo auxiliar, foi usada em todas as análises. A aquisição e tratamento dos dados foi realizada pelos softwares Origin 2019b e NOVA 2.1.5.

Para a caracterização do eletrodo utilizou-se as técnicas de espectroscopia Raman (ER) e a microscopia eletrônica de varredura (MEV). As análises de Raman foram realizadas em um espectrômetro Raman dispersivo modelo Senterra da marca Bruker, com radiação de 633 nm e laser He/Ne com potência de 20 mW. A caracterização morfológica do grafite foi feita a partir de um microscópio eletrônica de

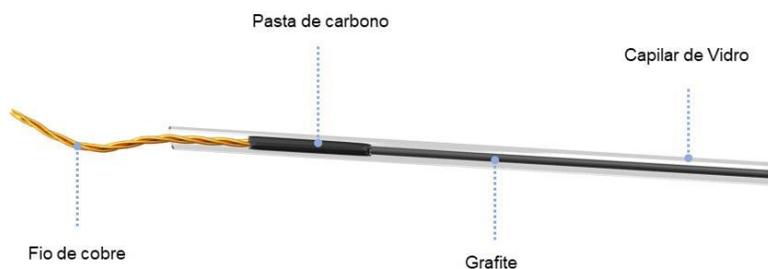
varredura modelo Hitachi TM 3000 combinado com EDS (Bruker) para análise dispersiva de raios-X.

Para a validação do método proposto foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Shimadzu, modelo Prominence CLAE, equipado com software LC solution, coluna C18 Shim-Pack XR-ODS (3,0 mm x 75mm, 2,2 μ m), amostrador automático (SIL-20A8HT UPLC) e detector espectrofotométrico UV-Vis (SPD-20 UPLC). As medidas de pH foram feitas usando um potenciômetro da Digimed DM 20 e um eletrodo de vidro (Metrohm) combinado com eletrodo de referência de Ag/AgCl_(s), KCl_(sat) calibrado com soluções tampão Merck de pH 4,01 e pH 7,00.

3.1.1 Eletrodo de Grafite

Os grafites utilizados na construção dos eletrodos foram adquiridos no comércio local de Juiz de Fora. O EG, ilustrado na Figura 5, foi construído inserindo-se a grafite (HB, B e 2B - 0,5 mm) em um capilar de vidro ($\varnothing_e = 1,5$ mm x $\varnothing_i = 1,0$ mm) e depois selado com cola de cianoacrilato, seco em estufa por 5 min à 50 °C. O contato elétrico foi feito utilizando um fio de cobre e pasta de carbono (2:1 grafite/óleo mineral % (m/m)). Em seguida o eletrodo foi polido com lixa de diferentes granulometrias e em papel sulfite até que uma superfície espelhada fosse observada.

Figura 5 – Representação do eletrodo de grafite construído.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

3.1.2 Tratamento Eletroquímico do Eletrodo de Grafite

Uma etapa de limpeza e tratamento da superfície do EG foi realizada no início de cada dia de trabalho ou quando se percebesse a perda de atividade da superfície

eletroativa do eletrodo, a limpeza foi realizada por meio de polimento da superfície com suspensão de alumina $0,3 \mu\text{m}$ e lavagem com água ultrapura. O tratamento eletroquímico do EG foi realizado por meio de VC aplicando 100 ciclos varrendo-se de $2,00$ a $-1,00$ V, com velocidade de varredura de 1 V s^{-1} , em diferentes eletrólitos suporte (HNO_3 , KCl e NaOH) na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Para as análises de MEV e Raman um pedaço de grafite de aproximadamente 1 cm foi cortado, e ligado diretamente ao potenciostato onde realizou-se o tratamento nos diferentes meios estudados, sendo realizadas em seguida as análises acima citadas.

3.1.3 Aquisição e Tratamento das Amostras

As amostras de fármacos e leite, foram adquiridas em comércio local no município de Juiz de Fora, e as amostras de água de abastecimento foram coletadas nas dependências do laboratório NUPIS. Os comprimidos do antibiótico foram macerados com auxílio de um almofariz/pistilo e em seguida aproximadamente 10 mg da amostra foram pesados e transferidos para um balão volumétrico de $10,0 \text{ mL}$ sendo o volume ajustado com eletrólito suporte tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ no pH previamente otimizado. As amostras de água e leite foram diluídas cinco e dez vezes em balão volumétrico de $10,0 \text{ mL}$, respectivamente, com eletrólito suporte. Para a determinação de CIP as amostras de leite e água foram intencionalmente contaminadas, para que a concentração de CIP em célula fosse de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$.

3.1.4 Estudos Eletroquímicos e Determinação de CIP por Voltametria de Onda Quadrada

Estudos exploratórios da resposta eletroquímica da CIP no EG e EG tratado eletroquimicamente (EGTE) foram feitos usando a VC, a fim de avaliar o transporte de massa e o efeito do pH do eletrólito de suporte. A quantificação da CIP nas amostras foi realizada por meio de voltametria de onda quadrada, onde os parâmetros instrumentais da técnica (amplitude, frequência e incremento de potencial) foram otimizados sendo os valores ótimos iguais a 70 mV , 80 Hz e 10 mV , respectivamente. Curvas analíticas de CIP para o eletrodo limpo e tratado variando de 12 a $55 \mu\text{mol L}^{-1}$ e de 5 a $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, foram construídas.

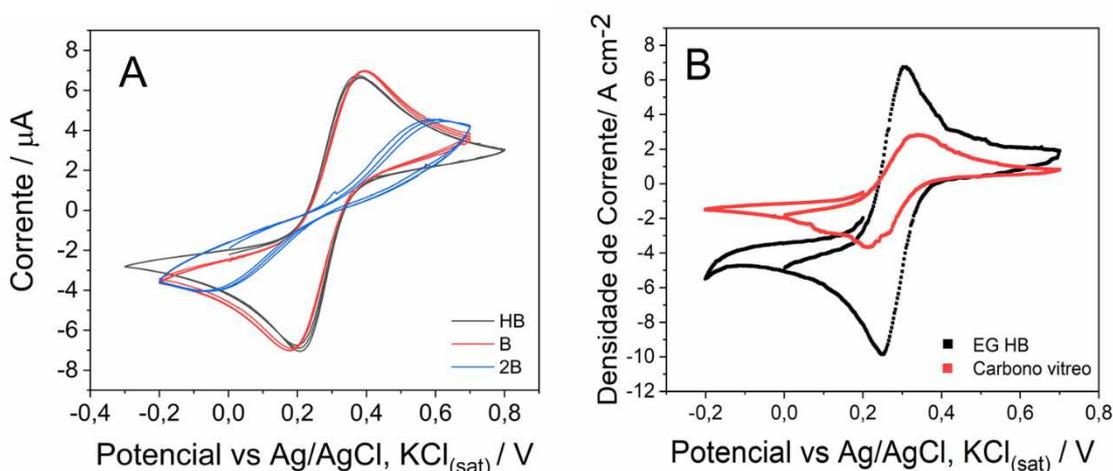
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos utilizando o EG e EGTE, onde os estudos realizados para CIP de pH, transporte de massas, curva analítica, análise das amostras (fármaco, água e leite), interferentes e comparação com a técnica de referência por CLAE, bem como as caracterizações feitas para EGTE, por meio do MEV e ER serão discutidos.

4.1 FABRICAÇÃO DO ELETRODO DE GRAFITE

A fim de se avaliar como o tipo de grafite influencia sua resposta eletroquímica, eletrodos contendo grafites dos tipos B, 2B e HB foram construídos, e o sinal da sonda redox ferricianeto/ferrocianeto foi usada para este fim. Na Figura 6A pode-se observar que o tipo de grafite tem grande influência na performance eletroquímica do eletrodo. A grafite 2B, apresentou um processo lento de transferência eletrônica, tal fato pode ser atribuído a quantidade de materiais isolantes (ceras, resinas e polímeros) na composição desse tipo de grafite. Os grafites de tipo HB e B apresentaram respostas quase idênticas. Entretanto como a grafite HB possui maior resistência mecânica, dureza, uma característica desejada na fabricação de eletrodos, este grafite foi utilizado nos demais estudos.

Figura 6 – Voltamogramas cíclicos de uma solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 5 mmol L⁻¹ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹ utilizando (A) eletrodos de grafite HB, B e 2B e (B) carbono vítreo e grafite HB. Velocidade de varredura 100 mV s⁻¹.

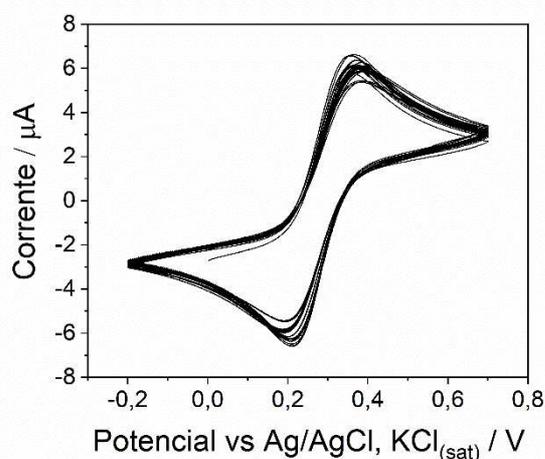


Fonte: Elaborada pelo autor (2022).

Na Figura 6B está apresentado voltamogramas cíclicos do eletrodo fabricado, frente ao eletrodo de carbono vítreo, onde pode-se observar uma sensibilidade superior do EG, sinal de resposta 2,6 vezes maior, quando comparado ao eletrodo de carbono vítreo comercial. Para sistemas reversíveis, o valor teórico para a separação entre os potenciais de pico catódico e anódico é de $59,2 \text{ mV}/n$ onde n é o número de elétrons envolvidos na reação redox, os potenciais obtidos a partir da Figura 6B foram de 59 mV e 128 mV , para o EG e carbono vítreo, respectivamente. Desta forma, há indícios da melhor performance eletroquímica do EG frente o eletrodo de carbono vitreo, verificada por uma maior reversibilidade do sistema ferricianeto/ferrocianeto. Além disso, o eletrodo ainda apresentou um custo muito inferior ao comercial, aproximadamente R\$ 0,05 por eletrodo.

Na Figura 7 está apresentado os voltamogramas cíclicos para uma solução de 5 mmol L^{-1} de ferricianeto/ferrocianeto de potássio em meio de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl, onde o desvio padrão do sinal analítico da sonda redox foi utilizado para avaliar a reprodutibilidade ($n = 9$) da fabricação do eletrodo de grafite e repetibilidade ($n = 3$) de sua resposta. O desvio padrão da resposta dos diferentes eletrodos fabricados foi menor que $5,3 \%$, para a repetibilidade da resposta analítica, para um mesmo eletrodo o desvio padrão foi menor que $3,0 \%$. Estes resultados mostram que o eletrodo desenvolvido possui elevada reprodutibilidade de fabricação e repetibilidade de resposta analítica.

Figura 7 – Voltamogramas cíclicos de $5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em meio de KCl ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) para os nove eletrodos construídos em triplicata. Velocidade de varredura 100 mV s^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4.2 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA CIP NO ELETRODO DE GRAFITE

Nesta seção serão apresentados os resultados para CIP utilizando o EG.

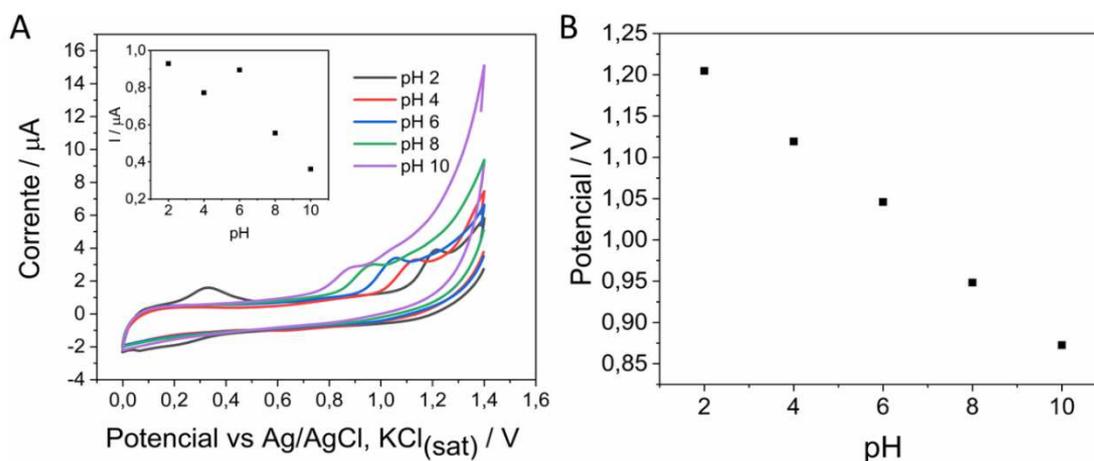
4.2.1 Efeito do pH e Transporte de Massa na Oxidação da CIP

Inicialmente, o comportamento eletroquímico da CIP foi estudado usando eletrodo de grafite sem qualquer modificação, uma vez que este apresentou uma resposta satisfatória para o ferricianeto, quando comparado ao eletrodo de carbono vítreo. A fim de se avaliar a dependência do pH no processo de oxidação da CIP no eletrodo de grafite, a VC foi empregada utilizando como eletrólito suporte o tampão BR ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) na faixa de pH de 2,0 a 10,0.

Voltamogramas cíclicos de $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ da CIP para os diferentes valores de pH do eletrólito suporte, mostraram um deslocamento do potencial de oxidação para regiões catódicas com aumento do pH (Figura 8A), portanto, a oxidação da CIP é dependente do pH e é irreversível na faixa de pH estudada. As correntes de oxidação da CIP também foram influenciadas pelo pH do meio, em meio ácido valores maiores de correntes são obtidos, enquanto que em meio básico ocorreu uma perda de sensibilidade na resposta eletroquímica da CIP, o que pode estar relacionado a sua baixa solubilidade em meio básico, apesar da oxidação do analito ter sido facilitada neste meio, para garantir uma maior sensibilidade e maior seletividade, por meio de um menor potencial de oxidação, selecionou-se o $\text{pH} = 6,0$ para os demais estudos.

Figura 8 – (A) Voltamogramas cíclicos do CIP 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ usando Tampão BR (0,04 mol L^{-1}) variando o pH de 2,0 a 10,0. (B) Efeito do pH do eletrólito no potencial de oxidação para a oxidação CIP, e ajuste linear $E_p (\text{V}) = 1,29 - 0,042 \text{ pH}$, $R^2 = 0,998$.

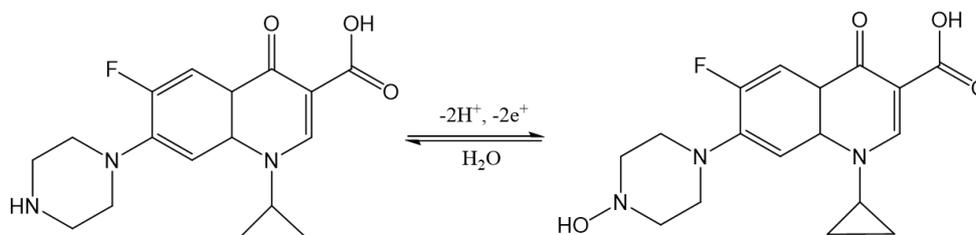
Velocidade de varredura 100 mV s^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Uma relação linear ($E_p (\text{V}) = 1,29 - 0,042 \text{ pH}^{-1}$, $R^2 = 0,998$) foi observada entre o potencial de oxidação da CIP e o pH, como mostrado na Figura 8B, a inclinação da reta ajustada está próximo do valor de 59 mV pH^{-1} , indicando que o número de elétrons e prótons envolvidos na reação de oxidação da CIP é o mesmo. O mecanismo de oxidação proposto está apresentado na Figura 9, com base nos dados anteriores, e na literatura (FOTOUHI; ALAHYARI, 2010; REDDY; BRAHMAN; SURESH, 2018). Pode ser observado na estrutura da ciprofloxacina que o grupo amina secundária, um centro básico com elétron não ligante, é um forte grupo aceptor de elétrons, e, portanto, a amina secundária pode ser oxidada a um derivado de hidroxilamina.

Figura 9 – Mecanismo de oxidação da CIP no EG.

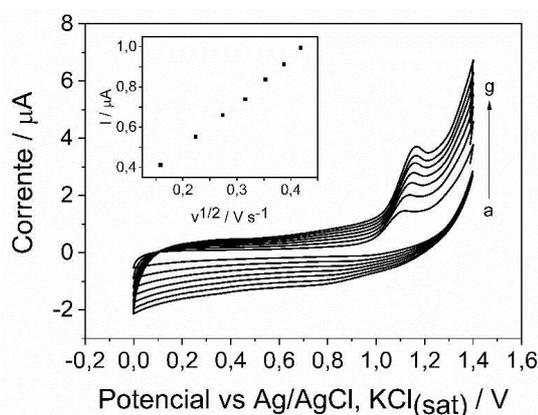


Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

O transporte de massa da CIP no eletrodo de grafite foi avaliado utilizando a VC

com diferentes velocidades de varredura de 25 a 175 mV s^{-1} , como mostrado na Figura 10. Uma relação linear entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura foi obtida ($I_p (\mu\text{A}) = 0,05v^{1/2} + 2,21$, $R^2 = 0,998$), o que caracteriza um transporte de massa controlado por difusão das espécies eletroativas na superfície do EG.

Figura 10 – Voltamogramas cíclicos de uma solução CIP $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) $\text{pH} = 6,00$ uma velocidade de varredura de (a) 25 a (g) 175 mV s^{-1} utilizando o EG. O gráfico inserido mostra a relação entre a corrente e a raiz quadrada da velocidade de varredura $I_p = (0,05 \pm 0,01)v^{1/2} + (2,21 \pm 0,04)$, $R^2 = 0,998$.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

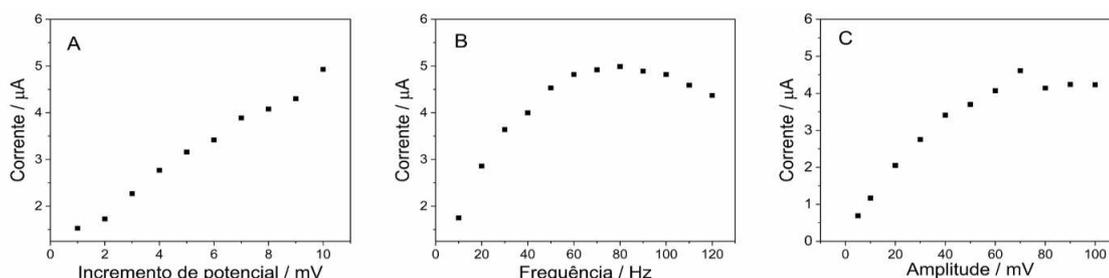
4.2.2 Determinação Da Ciprofloxacina Em Formulações Farmacêuticas

A técnica de voltametria de onda quadrada foi selecionada para a determinação da CIP devido a alta velocidade de varredura e sensibilidade da mesma. Os parâmetros relacionados a técnica (amplitude, frequência e incremento de potencial) foram otimizados para se determinar a melhor condição de análise da CIP. A otimização foi realizada em triplicata de maneira univariada utilizando uma concentração de ciprofloxacina $40 \mu\text{mol L}^{-1}$. Na Figura 11 estão representadas as respostas analíticas em função de cada um dos parâmetros otimizados.

O primeiro parâmetro otimizado foi o incremento de potencial, onde estudou-se valores de 1 a 10 mV. Observa-se da Figura 11A que houve um aumento significativo e aproximadamente linear do sinal analítico até 10 mV. Neste sentido, o incremento de potencial foi selecionado em 10 mV. Em seguida, a frequência de onda foi otimizada utilizando um intervalo de 10 e 120 Hz. De acordo com a Figura 11B, tem-se que o maior sinal analítico foi em 80 Hz, sendo que a partir deste valor houve perda de sensibilidade e

precisão das medidas. Portanto, 80 Hz foi a frequência ótima para determinação da ciprofloxacina.

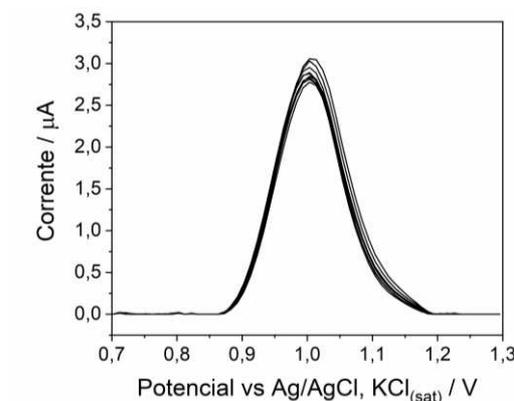
Figura 11 – Dependência do sinal VOQ com (A) incremento de potencial, (B) frequência e (C) amplitude, na presença de CIP $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) pH = 6,00.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Por fim, a amplitude de onda foi avaliada de 5 a 100 mV (Figura 11C), onde um aumento significativo foi observado até 70 mV, sendo este valor selecionado. Para valores maiores um alargamento significativo do sinal de oxidação da CIP ocorreu. Após as condições serem otimizadas, ensaios de repetibilidade foram realizados ($n = 10$) na presença de $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ da CIP, como mostrado na Figura 12, o desvio padrão obtido foi menor 3,2 % indicando uma adequada precisão intermediária do método desenvolvido usando o EG.

Figura 12 – Voltamogramas correspondente ao estudo de repetibilidade ($n = 10$) da CIP, $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) e pH = 6,00. Condições: Incremento de potencial 10 mV, frequência 80 Hz, e amplitude 70 mV.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Com as condições previamente otimizadas uma curva analítica foi construída

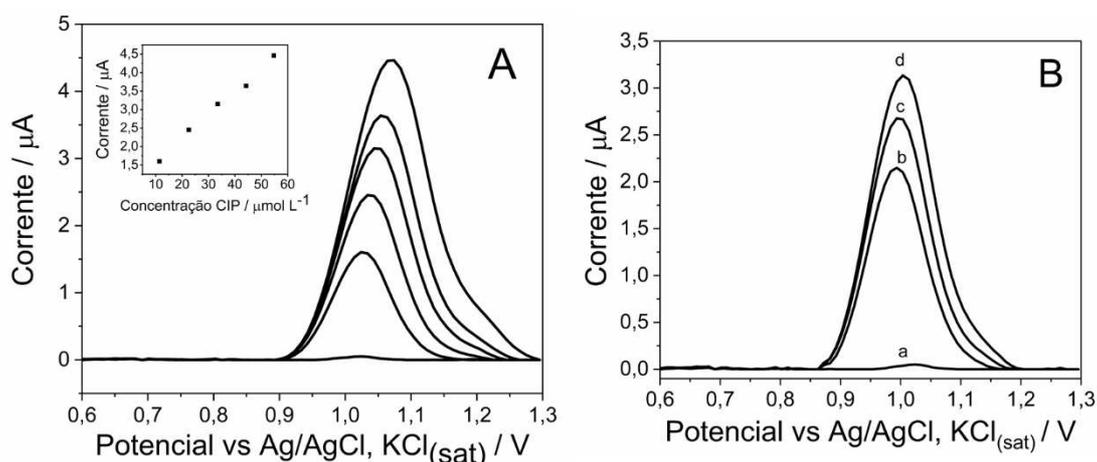
com faixa linear variando de 12 a 55 $\mu\text{mol L}^{-1}$, ($I_p (\mu\text{A}) = (0,064 \pm 0,003) C_{cip} (\mu\text{mol L}^{-1}) + (0,9 \pm 0,1)$), como apresentado na Figura 13, para concentrações acima de 55 $\mu\text{mol L}^{-1}$, observou-se uma queda na corrente, o que pode ser atribuído a uma contaminação na superfície do eletrodo. A curva apresentou um bom ajuste linear ($R^2 = 0,994$), e através da equação de reta foram obtidos os limites de detecção e quantificação instrumentais, de acordo com as orientações da União Internacional de Química Pura e Aplicada (MOCAK *et al.*, 1997), utilizando as Equações 1 e 2, respectivamente:

$$L. D = \frac{3s_b}{S} \quad (\text{Equação 1}) \qquad L. Q = \frac{10s_b}{S} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde s_b é o desvio do coeficiente linear e S é o coeficiente angular.

Os valores de LD e LQ foram calculados como 5,56 e 11,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O método desenvolvido foi então aplicado em três amostras de formulações farmacêuticas contendo 500 mg de CIP, a Figura 13B, curva b, mostra o perfil típico de um voltamograma das amostras. A fim de verificar a exatidão do método, ensaios de adição e recuperação foram realizados em dois níveis de concentração da CIP 7 e 12 $\mu\text{mol L}^{-1}$, como mostrado na Figura 13B, curvas c e d respectivamente. Os valores de recuperação para o nível baixo ($87 \pm 4 \%$) e nível alto ($116 \pm 6 \%$) indicam uma adequada exatidão do método proposto (GUSTAVO GONZÁLEZ; ÁNGELES HERRADOR, 2007).

Figura 13 – (A) Curva analítica para CIP por VOQ na faixa de concentração de 12 a 55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando o EG em tampão BR ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) pH = 6,00, o gráfico inserido mostra a relação entre corrente e a concentração da CIP. (B) Voltamogramas obtidos para a determinação de CIP em amostra de formulação farmacêutica por VOQ. Em (a) eletrólito de suporte, (b) amostra, (c) e (d) amostras fortificadas nível baixo e alto, respectivamente.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Os resultados obtidos por VOQ foram comparados com CLAE, os resultados estão apresentados na Tabela 1. Os níveis de CIP obtidos por VOQ e CLAE foram comparados por meio de teste t pareado, a 95 % de confiança, e como $t_{\text{calculado}}$ (0,04) foi menor que o t_{tabelado} (2,92), não há diferença significativa entre os valores obtidos por VOQ e CLAE.

Tabela 1 – Resultados obtidos para a determinação do CIP nas amostras de formulações farmacêuticas por VOQ e CLAE (n = 3). Valor do rótulo CIP = 500 mg.

Amostra	VOQ (mg)	CLAE (mg)
1	548 ± 41	530 ± 64
2	557 ± 40	565 ± 19
3	539 ± 34	550 ± 41

Fonte: Elaborado pelo autor

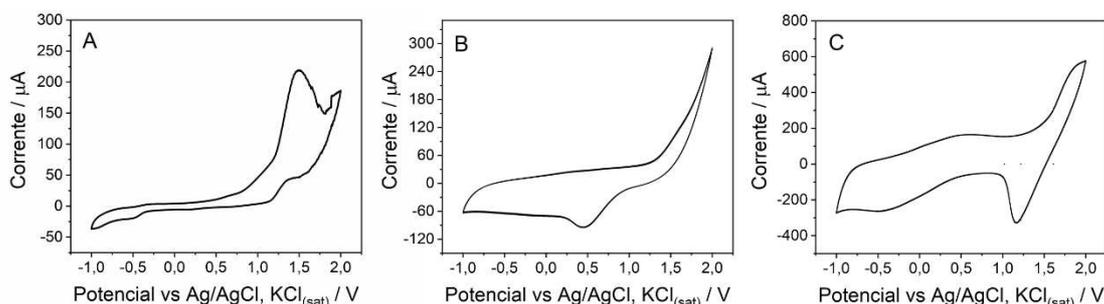
4.3 ELETRODOS DE GRAFITE TRATADOS ELETROQUIMICAMENTE (EGTE)

Nesta seção serão discutidos os resultados obtidos utilizando o EGTE.

4.3.1 Modificação e Caracterização Eletroquímica

Como diferentes abordagens para o tratamento eletroquímico são reportadas na literatura (DA SILVA *et al.*, 2020; RANA; BAIG; SALEH, 2019), a voltametria cíclica foi selecionada para acompanhar as mudanças no comportamento eletroquímico do eletrodo de grafite nos diferentes meios estudados. Na Figura 14 podem ser observados os diferentes voltamogramas cíclicos obtidos nos diferentes eletrólitos de suporte estudados: NaOH (A), HNO₃ (B) e KCl (C). Os resultados obtidos indicam que diferentes mecanismos estão envolvidos no pré-tratamento do eletrodo de grafite, de forma que o eletrólito suporte provoca diferentes modificações na superfície do eletrodo.

Figura 14 – Voltamogramas cíclicos de 0,1 mol L⁻¹ (A) NaOH, (B) HNO₃ e (C) KCl do tratamento eletroquímico do eletrodo. Velocidade de varredura: 1 V s⁻¹.

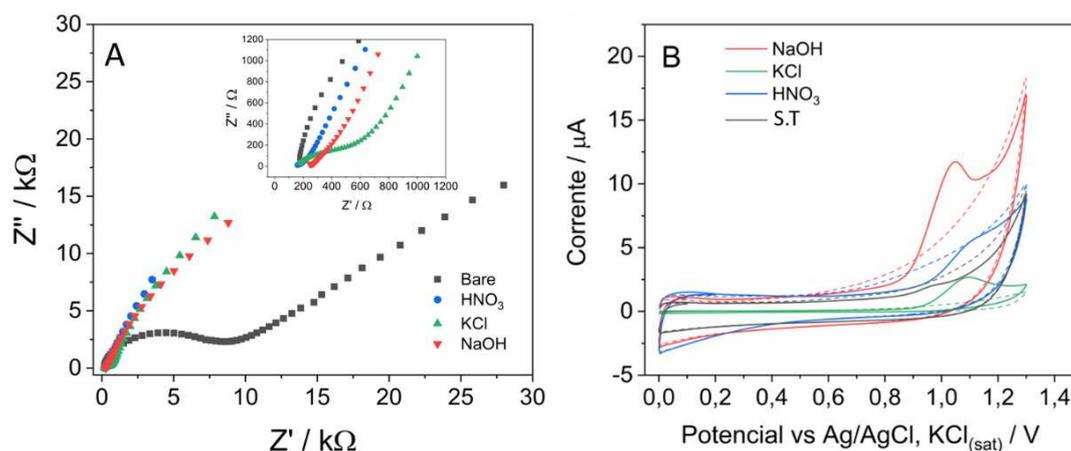


Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Medidas de EIS foram realizadas para avaliar as alterações de resistência a transferência de carga do eletrodo tratado e sem tratamento, o gráfico de Nyquist é mostrado na Figura 15A, todos os tratamentos eletroquímicos proporcionam uma redução no semicírculo em regiões de frequências mais altas, este comportamento é mais pronunciado em meio ácido e alcalino, onde apenas uma linha reta é observada, indicando uma redução na resistência a transferência de carga, frente ao eletrodo sem tratamento.

O voltamograma cíclico para a CIP (500 µmol L⁻¹) usando o EG (S.T) e EGTE é apresentado na Figura 15B, um aumento de 4, 14 e 43 vezes na corrente de oxidação da CIP foi obtida para os tratamentos usando HNO₃, KCl e NaOH, respectivamente, quando comparado ao EG.

Figura 15 – (A) Espectro de impedância de 5,0 mmol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆] 5 mmol L⁻¹ em meio de KCl (0,1 mol L⁻¹) e (B) Voltamograma de 500 μmol L⁻¹ de CIP (linha sólida) e eletrólito de suporte (tracejado) tampão BR (0,04 mol L⁻¹) pH = 6,0 para o EG (S.T) e EGTE.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

A VC de uma solução de 5,0 mmol L⁻¹ de ferricanteto de potássio em 0,1 mol L⁻¹ de KCl em diferentes velocidades de varredura (2 a 500 mV s⁻¹) foi utilizada para estimar a área eletroativa dos eletrodos. Onde a equação de Randles-Sevcik, foi utilizada para este fim:

$$I = 2,69 \times 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} c v^{1/2}$$

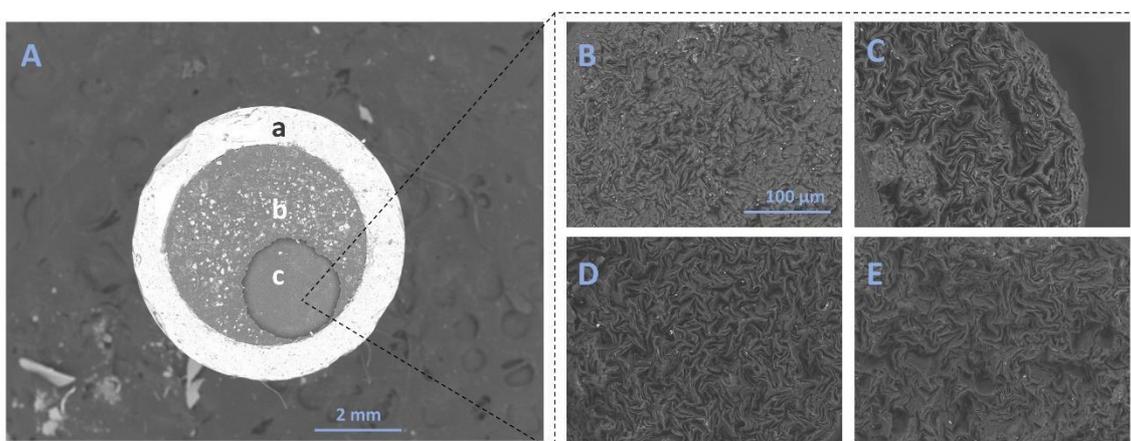
Onde n representa o número de elétrons envolvidos no processo redox, igual a um para K₃[Fe(CN)₆], A é a área eletroativa do eletrodo em cm², D é o coeficiente de difusão da espécie igual a 7,26 × 10⁻⁶ cm² s⁻¹, para o K₃[Fe(CN)₆], c é a concentração, e v a velocidade de varredura. Os valores obtidos de área foram iguais a 0,72 e 0,99 mm² para o EG e EGTE tratado em meio de NaOH, respectivamente, assim houve um aumento de aproximadamente 38% na área eletroativa com o tratamento eletroquímico. O que pode estar relacionado com a oxidação dos materiais isolantes e a exfoliação das folhas de grafite a grafeno, uma vez que o ganho de sinal da CIP foi superior ao ganho de área eletroativa.

4.3.2 Caracterização Espectroscópica e Morfológica dos EGME

Imagens de MEV da superfície do eletrodo antes do tratamento eletroquímico mostram que o eletrodo foi construído com sucesso (Figura 16A), onde é possível ver que a seção transversal do grafite foi exposta, uma magnificação na área do grafite revela uma superfície heterogênea com várias folhas de grafite densamente empacotados (Figura 16B). Após o tratamento com KCl (Figura 16C), HNO₃ (Figura 16D) e, NaOH (Figura 16E) o espaço entre as camadas de grafite foi expandido em um arranjo menos compacto, isso pode ser atribuído à intercalação dos íons, presentes no eletrólito, e oxidação das resinas e ligantes presentes na composição das folhas de grafite.

Os espectros Raman do EG e EGME estão apresentados na Figura 17. Em todos os espectros estão presentes quatro bandas, em torno de 1340, 1580, 1620 e 2680 cm⁻¹, denominadas como D, G, D' e 2D, respectivamente, características de materiais de carbono. Uma quebra de simetria translacional dá origem às bandas D e D', que estão relacionadas à presença de defeitos, grupos funcionais ou desordem estrutural, no grafite enquanto a banda G é um modo de espalhamento de fônon de primeira ordem que é ativo para redes de carbono hibridizados em sp² e representa a presença de grafite cristalina. A banda 2D é um sobretom da banda D e está relacionada à ordem de empilhamento das folhas de grafeno (INAM; BRYDSON; EDMONDS, 2020; REICH; THOMSEN, 2004).

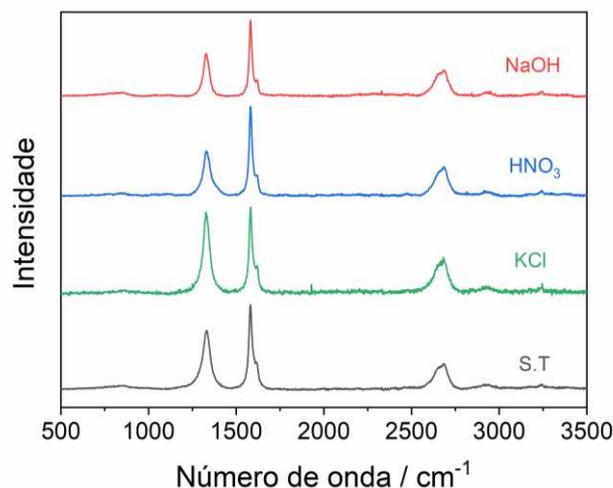
Figura 16 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura da seção transversal do (A) eletrodo construído em (a) capilar de vidro, (b) cola de cianoacrilato e em (c) grafite e ampliação de 600 vezes dos (B) EG e EGTE em meio de (C) KCl, (D) HNO₃ e (E) NaOH.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

A densidade de defeitos causada pelos diferentes pré-tratamentos pode ser avaliada com base na razão de I_D / I_G , para todas as condições de tratamento ocorreu uma redução no valor de 0,49 para o EG (S.T), para 0,25 para meio básico. Enquanto para os meios ácido (0,76) e neutro (1,03) houve um aumento na densidade de defeitos, o que indica uma reorganização das folhas de grafeno no grafite. Além disso, a localização da banda 2D indica uma diminuição no número de camadas de grafite, pois em grafeno com mais de dez camadas, essa banda está localizada acima de 2720 cm^{-1} , para todos os tratamentos a banda foi localizada abaixo deste valor, indicando a presença de grafeno com até dez camadas (BUZAGLO *et al.*, 2017; MALARD *et al.*, 2009).

Figura 17 – Espectros Raman dos EG e EGTE ($\lambda_0 = 633 \text{ nm}$).



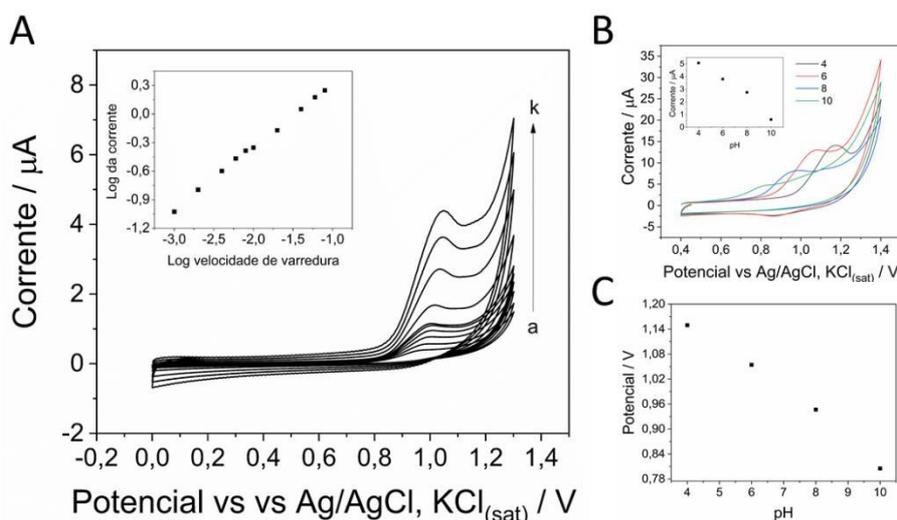
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4.3.3 Efeito do pH e Transporte de Massas da CIP Sobre o EGME

Como o meio básico foi o que apresentou melhor resultado para a determinação da CIP, selecionou-se esse meio para a modificação eletroquímica e os estudos subsequentes foram feitos usando este eletrodo. A fim de se verificar o transporte de massa da CIP estudos por VC com velocidades de varredura variando de 2 a 100 mV s^{-1} foram realizados, como mostrado na Figura 18A. A oxidação da CIP no EGTE é irreversível com potencial de oxidação igual a 1,05 V. Um gráfico de $\log I_p$ versus $\log \nu$ foi construído, e a inclinação desta curva ($\log I_p(\mu\text{A}) = 0,65 \log \nu (\text{mV s}^{-1}) + 0,97$) está próxima de 0,5, indicando que na oxidação eletroquímica da CIP o transporte de massas é difusional, assim o tratamento eletroquímico não alterou o transporte de massa da CIP.

Novamente avaliou-se o efeito do pH sobre a oxidação da CIP onde variou-se o pH de 4,0 a 10,0 em tampão BR ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$). Com o aumento do pH ocorreu uma pequena diminuição na corrente de oxidação (Figura 18B e C), comportamento similar ao encontrado com os estudos realizados usando o eletrodo sem tratamento, desta forma para fins de comparação com o EG selecionou-se o pH 6,0 para a quantificação da CIP nas amostras.

Figura 18 – Voltamograma cíclico de $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIP (A) em tampão BR pH = 4 e velocidades de varredura variando de (a) 2 a (k) 100 mV s^{-1} o gráfico inserido mostra a relação entre log da corrente de pico e log da velocidade de varredura e efeito do pH sobre (B) sinal de corrente e (C) variação do potencial de oxidação da CIP.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

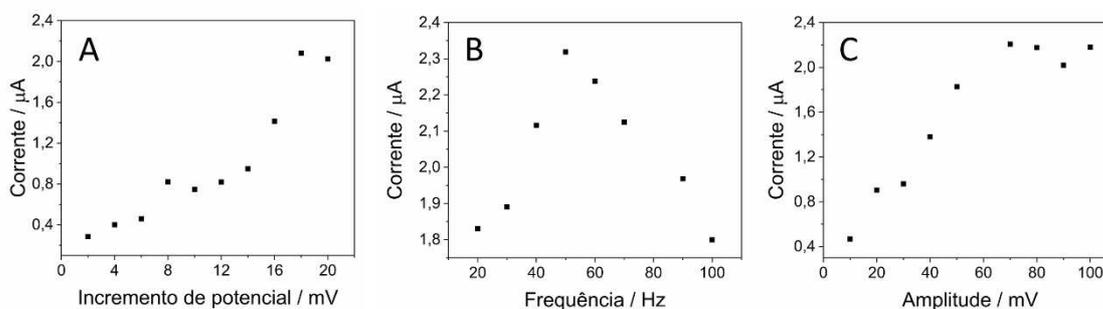
4.3.4 Determinação de CIP em Amostras de Fármaco, Leite e Água

A VOQ também foi selecionada para a determinação da ciprofloxacina usando o eletrodo EGTE. Os parâmetros relacionados com a técnica (amplitude, frequência e incremento de potencial) foram previamente otimizados. A otimização foi realizada em triplicata de maneira univariada utilizando uma concentração de CIP de $40 \mu\text{mol L}^{-1}$. Na Figura 19 estão representadas as respostas analíticas em função de cada um dos parâmetros otimizados.

O primeiro parâmetro otimizado foi o incremento de potencial de 2 a 20 mV (Figura 19A), onde observa-se que com aumento no incremento de potencial ocorreu um

aumento do sinal analítico até 18 mV, depois tem-se uma estabilização da corrente, desta forma 18 mV foi escolhido como valor ótimo no incremento de potencial. Em seguida a frequência da onda foi otimizada de 20 a 100 Hz (Figura 19B), até 50 Hz ocorreu um aumento do sinal analítico. Após esse valor observa-se uma perda considerável de sensibilidade devido a um alargamento do sinal da CIP. Por fim otimizou-se a amplitude de 10 a 100 mV (Figura 19C), sendo observado um aumento do sinal analítico até 70 mV, para valores maiores há uma tendência de estabilização do sinal, sendo selecionado este valor como condição ótima.

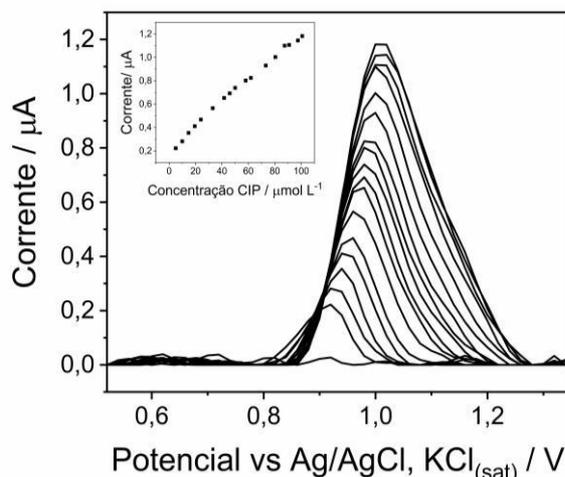
Figura 19 – Dependência da corrente de oxidação da CIP no EGTE com (A) Incremento de potencial, (B) Frequência e (C) Amplitude da VOQ.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Utilizando os parâmetros instrumentais otimizados para a voltametria de onda quadrada estudou-se a precisão intermediária do método. Para isso foi realizado um teste de repetibilidade ($n = 10$) na presença de $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ da CIP, neste teste foi obtido um desvio padrão igual a 3,5 %, indicando uma adequada precisão intermediária do método. Uma curva analítica (Figura 20) foi obtida com concentrações de CIP variando de 5 a $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($I_p(\mu\text{A}) = 0,0098C_{cip} \mu\text{mol L}^{-1} + 0,21$, $R^2 = 0,994$), utilizando as equações 1 e 2 os limites de detecção e quantificação instrumental foram calculados como sendo 0,35 e $1,15 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Figura 20 – Voltamogramas da curva analítica com concentrações de 5 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O gráfico inserido mostra o ajuste linear entre a corrente e a concentração ($I_p (\mu\text{A}) = (0.0098 \pm 0.0002)C_{cip} (\mu\text{mol L}^{-1}) + (0.21 \pm 0.01)$, $R^2 = 0,994$).



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Nesta etapa do trabalho optou-se em aplicar o método desenvolvido na determinação da ciprofloxacina também em amostras de águas e leite, evidenciando uma outra aplicabilidade do método. O método foi então aplicado em amostras de fármaco, água e duas amostras de leite. O teor encontrado de CIP no fármaco foi de $558 \pm 30 \text{ mg}$. Para as amostras de leite (1 e 2) e água o teor ficou abaixo do limite de detecção do método, de modo que dopou-se as amostras com $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIP antes da diluição, o que corresponde a uma concentração em célula de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$, para as amostras de leite-1, leite-2 e água. No caso das amostras de fármaco a concentração na célula foi de aproximadamente $25 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Os valores de recuperação obtidos encontram-se na Tabela 2, onde os valores obtidos foram adequados, evidenciando que os possíveis interferentes das amostras (lipídios, proteínas, conservantes e excipientes) não interferiram na oxidação da CIP na superfície do EGTE. Para comparar os resultados obtidos da análise do fármaco utilizando o EG, EGTE e CLAE aplicou-se o teste ANOVA de fator único, onde a 95 % de confiança não houve evidência significativa de diferença entre os métodos, uma vez que o $F_{\text{calculado}}$ (0,25) foi menor que $F_{\text{crítico}}$ (5,78), mostrando que não diferença significativa nos teores obtidos pelos três métodos.

Tabela 2 – Valores de recuperação da CIP nas diferentes amostras analisadas (n = 3).

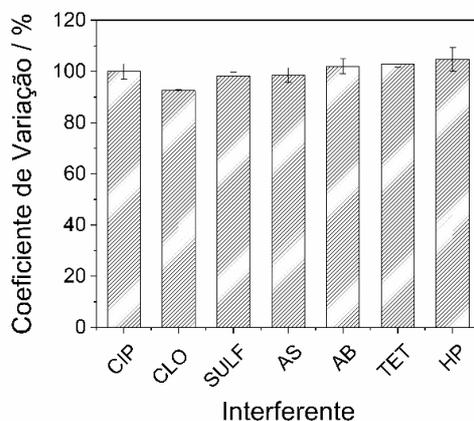
Amostra	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Determinado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Leite 1	50,0	39,4 \pm 1,2	80 \pm 2
Leite 2	50,0	47,1 \pm 1,3	94 \pm 3
Fármaco 1 fortificado	24,7	24,2 \pm 0,9	98 \pm 3
Água de abastecimento	50,0	51,4 \pm 0,8	104 \pm 2

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

O estudo da seletividade de um método analítico é de grande importância para avaliar a exatidão e robustez deste, assim é possível garantir a determinação exata do analito na presença de outros componentes em amostras complexas. Testes com possíveis interferentes que podem ser encontrados nas amostras de leite e água, como antibióticos (cloranfenicol, tetraciclina e sulfanilamida) e conservantes e/ou contaminantes (ácido benzóico, ácido salicílico e peróxido de hidrogênio), foram realizados, na proporção de 1:1, sendo a concentração da CIP e dos possíveis interferentes sempre mantida em 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

A legislação preconiza que tanto os antibióticos quanto conservantes não estejam presentes nas amostras de leite, já para as amostras de água ainda não há legislação (ATTREY, 2017; SINGH; GANDHI, 2015). Na Figura 21 é possível observar a variação no sinal da corrente de oxidação da ciprofloxacina na presença dos diferentes compostos estudados nesse teste, sendo possível concluir que nenhuma destes compostos testados interferiu de forma significativa no sinal da CIP.

Figura 21 – Variação do sinal de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ CIP na presença diferentes interferentes: cloranfenicol (CLO), sulfanilamida (SULF), ácido salicílico (AS), ácido benzoico (AB), tetraciclina (TET) e peróxido de hidrogênio (HP), em tampão BR (0,04 mol L) pH = 6,00.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4.3.5 Comparação do EG e EGTE

Os métodos desenvolvidos usando o EG e EGTE, foram comparados entre si e com outros sensores eletroquímicos reportados na literatura (Tabela 3) utilizados para a determinação da CIP. Comparando-se os sensores desenvolvidos neste trabalho, o eletrodo tratado eletroquimicamente com NaOH proporcionou um aumento de 43 vezes do sinal analítico, a faixa linear dobrou de tamanho no EGTE, e o limite de detecção foi aproximadamente 16 vezes menor, frente ao EG, mostrando que o EGTE se mostrou mais adequado do que o EG, sendo considerável a melhora da performance do sensor após o tratamento.

Quando comparado com outros sensores reportados na literatura o EGTE apresentou limites de detecção comparáveis aos de outros eletrodos modificados. Deve-se destacar que o tempo total para o tratamento eletroquímico dos eletrodos de grafite foi de 10 minutos, enquanto que a modificação dos eletrodos por *dropcast* varia de 20 a 30 minutos quando secos em estufa (FARIA, LUCAS V. *et al.*, 2019; FOTOUHI; ALAHYARI, 2010; REDDY; BRAHMAN; SURESH, 2018) e de 2 a 20 horas quando seco em temperatura ambiente (MARTIN SANTOS *et al.*, 2017; POLLAP *et al.*, 2020), de forma que uma maior frequência analítica é obtida com o tratamento eletroquímico.

Tabela 3 – Comparação dos métodos desenvolvidos com outros reportados na literatura.

Sensor	Método	Potencial (V)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Amostra	Referência
CV/rGO	VOQ	1,10	0,21	Fármacos e leite	(FARIA, LUCAS V. <i>et al.</i> , 2019)
DDB	VOQ	1,15	0,05	Urina	(RADIČOV <i>Á et al.</i> , 2017)
SPE/AuNp/Qui	VOQ	1,05	0,001	Urina, soro e plasma	(REDDY; BRAHMA N; SURESH, 2018)
CV/rGO/NiONPs	VOQ	1,00	0,006	Urina e soro sintético	(WONG; SANTOS; FATIBELLO-FILHO, 2018)
CV/AuMIP-Qui	VPD	-	0,21	Leite, águas fármacos	(SURYA <i>et al.</i> , 2020)
EG/Naf/CMK3/AuNPs/TiO ₂	VC	-	0,108	Água	(POLLAP <i>et al.</i> , 2020)
EG		1,03	5,56	Fármacos	Este
EGTE	VOQ	1,03	0,35	Leite, água e fármaco	Trabalho

rGO: óxido de grafeno reduzido; CV: carbono vítreo; camadas; DDB: diamante dopado com boro; SPE: eletrodo impresso de carbono; AuNP: nanopartículas de ouro; Qui: quitosana; NiONPs: nanopartículas de óxido de níquel; AuMIP: polímero molecular impresso decorado com nanopartículas de ouro; Naf: nafion; CMK-3: mesoporos de carbono; TiO₂: sol gel de titânio; EG: eletrodos de grafite; EGTE: eletrodo de grafite modificado eletroquimicamente.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

Foi possível construir e avaliar o tratamento eletroquímico sobre EG visando a quantificação da ciprofloxacina em diferentes amostras. O procedimento fácil e reprodutível de construção, aliado ao baixo custo de fabricação do eletrodo de grafite, faz desse uma alternativa atraente ao eletrodo comercial de carbono vítreo, de modo que também se aplicou o EG na quantificação de ciprofloxacina em amostras de fármaco.

O método desenvolvido por VOQ foi aplicado em três amostras de formulações farmacêuticas com teor de 500 mg de ciprofloxacina. A exatidão do método foi verificada por meio de ensaios de adição e recuperação, onde foi possível verificar que não houve efeitos de matriz, visto que os níveis de recuperação variaram de 87 a 116 %. A exatidão também foi avaliada usando a CLAE, onde os resultados obtidos no método desenvolvido foram comparáveis ao indicado pelo fabricante e aos obtidos pela metodologia oficial, a um nível de 95% de confiança.

Com o objetivo de melhorar a resposta eletroquímica do EG, um tratamento eletroquímico baseada na VC em altas velocidades de varredura foi empregado, onde diferentes meios (ácido, neutro e básico) foram estudadas. As diferenças morfológicas e estruturais causadas pelo tratamento no eletrodo de grafite foram estudadas por microscopia eletrônica de varredura, onde foi possível observar que o tratamento em todos os meios estudados provocou a exfoliação superficial das folhas de grafeno. Espectros Raman do eletrodo evidenciaram uma reorganização nas folhas de grafeno no grafite após o tratamento nos diferentes meios.

Os espectros de EIS mostraram uma redução na resistência a transferência de carga para todos os meios utilizados, quando comparado ao eletrodo sem tratamento, estudos por VC corroboraram esses resultados uma vez que a resposta da CIP aumentou de 4 a 43 vezes, sendo o maior aumento observado em meio básico, de forma que este foi selecionado para o desenvolvimento do método por VOQ. O método desenvolvido apresentou ampla faixa linear, duas vezes maior, limites de detecção, dezesseis vezes menor, quando comparados ao EG.

O método desenvolvido foi aplicado em duas amostras de leite, uma amostra de água e fármaco, sendo que as amostras foram dopadas para este fim. Os valores de recuperação do método variaram de 80 % a 104 % mostraram que possíveis interferentes presentes nas amostras não modificaram a resposta da ciprofloxacina, além disso outros antibióticos (tetraciclina, cloranfenicol e sulfanilamida) e adulterantes/contaminantes

(ácido salicílico, ácido benzoico e peróxido de hidrogênio) não interferiram na resposta do sensor na proporção de 1:1. Comparou-se os teores obtidos para as amostras de fármaco, por meio do teste ANOVA fator único, utilizando o eletrodo de grafite limpo, tratado, e a técnica de referência por CLAE, não havendo evidências de diferença significativas nos resultados obtidos.

Os sensores e métodos desenvolvidos apresentaram LD comparáveis ao de outros sensores reportados na literatura, faixa linear ampla, sendo que o tratamento eletroquímico, propiciou uma maior frequência analítica frente a técnica de *dropcast*, assim o eletrodo de grafite tratado, ou não, se mostrou uma excelente alternativa no uso de análises de rotina para o monitoramento de ciprofloxacina em amostras alimentícias, ambientais e farmacêuticas.

4.5 PERSPECTIVAS

Pretende-se futuramente estudar o tratamento eletroquímico em meio básico utilizando eletrólitos suporte diferentes, como KOH, LiOH, NH₄OH, entre outros, a fim de se avaliar como a força iônica do meio interfere na resposta do sensor eletroquímico. Aplicar o melhor sensor na determinação de ciprofloxacina e em outras classes de antibióticos, como tetraciclina e sulfanilamida. Associar a etapa de ativação com uma etapa de síntese eletroquímica de nanopartículas e polímeros, para a quantificação dos antibióticos mencionados anteriormente.

Capítulo 3: Estudos eletroquímicos dos corantes AC e At utilizando eletrodo de papel

5 METODOLOGIA

Nesta seção serão discutidos os reagentes, equipamentos, procedimento de construção dos eletrodos bem como parâmetros instrumentais utilizados nos estudos com o EP.

5.1 REAGENTES E INSTRUMENTAÇÃO

Além dos já descritos na seção 3.1, do Capítulo 2, utilizou-se também padrões analíticos de AC (95,0% m/m), AT (97% m/m) adquirido junto a Sigma-Aldrich (San Luis, EUA), citrato de sódio (CS) (99,0% m/m), glicose (GLU) (99,9 % m/m), frutose (FRU) (99,9% m/m) e sacarose (SAC) (99,9% m/m) adquirido junto a Vetec (Rio de Janeiro, Brasil) e ácido cítrico (CA) (99,5% m/m) adquirido junto a Synth (Diadema, Brasil). Todas as soluções foram preparadas diariamente, em eletrólito de suporte constituído de tampão BR (10 mmol L^{-1} , pH 2,0).

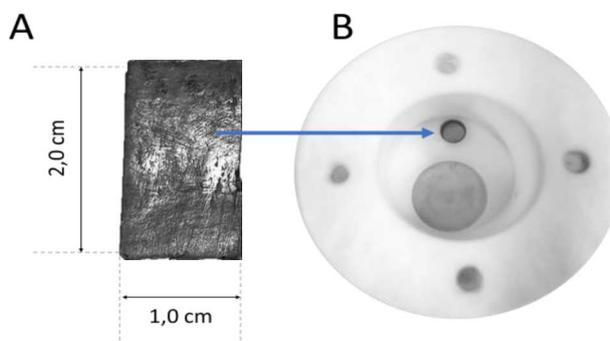
Uma célula eletroquímica de nylon com volume interno de aproximadamente 10 mL foi usada em todas as medidas, onde o EP foi utilizado como eletrodo de trabalho, onde a área exposta do eletrodo ($0,4 \text{ cm}^2$) foi delimitada pela célula eletroquímica, Ag/AgCl, $\text{KCl}_{(\text{sat})}$ e uma barra de platina foram usados como eletrodo de referência e auxiliar, respectivamente.

5.1.1 Construção do EP

Para a fabricação da tinta condutora, grafite em pó com diâmetro 20 mm (Sigma-Aldrich) e base de esmalte (Risque) foram misturados em quantidades iguais, a essa mistura adicionou-se 250 μL de acetona (Didática), volume necessário para produzir uma tinta com consistência e uniformidade. Uma camada espessa de tinta condutora foi aplicada a um pedaço de cartolina ($1 \times 2 \text{ cm}$, 240 g m^{-2}) usando um pincel. A fim de conferir maior hidrofobicidade ao EP, base de esmalte também foi aplicado na parte inferior do eletrodo, deixando 0,5 cm sem recobrimento, para o contato elétrico. O eletrodo foi levado a estufa a 50°C por 20 minutos, para evaporação do solvente e para curar o esmalte. Por fim o eletrodo foi polido utilizando-se lixas de diferentes granulometrias e papel ofício até que uma superfície espelhada fosse observada. Na

Figura 22 estão apresentados o eletrodo construído e a célula eletroquímica utilizada.

Figura 22 – (A) Eletrodo de papel construído após polimento e (B) célula eletroquímica utilizada.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

5.1.2 Aquisição e Tratamento das Amostras

Todas as amostras foram adquiridas no comércio local do município de Juiz de Fora. As amostras de isotônico, suco e geladinho foram diluídas 20 vezes em eletrólito de suporte e avolumadas em um balão volumétrico de 5,00 mL. Aproximadamente 100 mg das amostras de suco em pó e gelatina foram pesadas e dissolvidas em água a 50 °C em seguida avolumadas para balão volumétrico de 5,00 mL. Nenhum procedimento de filtração foi necessário.

5.1.3 Estudos Eletroquímicos e Determinação de AC e AT por VPD

O comportamento eletroquímico, o transporte de massas e a influência do pH sobre a oxidação do AC e AT foram investigados por CV de 0,00 a + 1,30 V (vs Ag/AgCl, KCl_(sat)), em solução tampão BR (10 mmol L⁻¹). O estudo de pH foi feito na faixa de 2,0 a 10,0. No estudo de transporte de massa dos corantes utilizou-se velocidades de varredura variando de 25 a 300 mV s⁻¹ e concentração de 325 μmol L⁻¹ para AC e AT.

Os parâmetros instrumentais de VPD, amplitude (10 a 200 mV) e incremento de potencial (2 a 20 mV) foram otimizados utilizando 65 μmol L⁻¹ de AC e AT. Curvas analíticas na faixa de 4,0 a 60,0 μmol L⁻¹ de ambos os analitos foram construídas utilizando soluções padrão dos analitos. Em todos os experimentos, foi utilizada solução tampão BR (10 mmol L⁻¹, pH 2,0) como eletrólito de suporte.

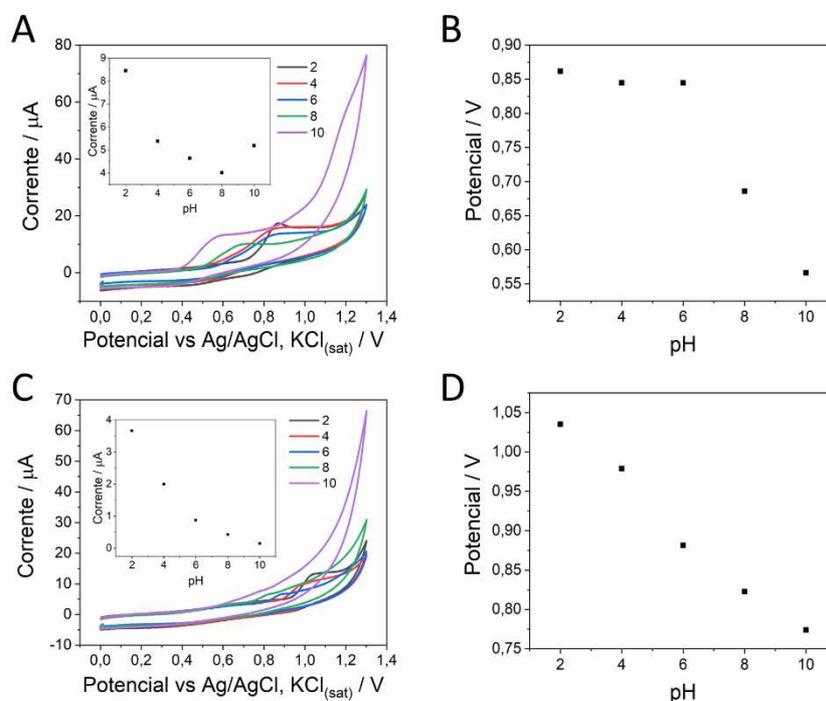
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesta seção serão apresentados os estudos de pH, transporte de massas, curva analítica, análise das amostras, e de interferentes, realizados para AC e AT utilizando o EP.

6.1 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO AC E AT NO EP POR VC

O efeito do pH sobre a oxidação do AC e AT foi investigado usando solução tampão BR na faixa de 2,0 a 10,0, conforme mostrado nos voltamogramas cíclicos nas Figuras 23A e 23C. Pode-se observar que ambos os corantes sofreram um processo de oxidação irreversível, onde a maior resposta analítica ocorreu em meio ácido (pH ~ 2,0). Para valores de pH maiores aque este, observou-se uma diminuição considerável na resposta analítica, verificada pela diminuição no sinal de corrente.

Figura 23 – Voltamogramas cíclicos obtidos para AC (A) e AT (C) em solução tampão BR com valores de pH variando de 2,0 a 10,0 em. O gráfico inserido em A e B mostra a corrente de pico versus pH, (B) e (D) mostram a influência do pH no potencial de pico para AC e AT, respectivamente.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

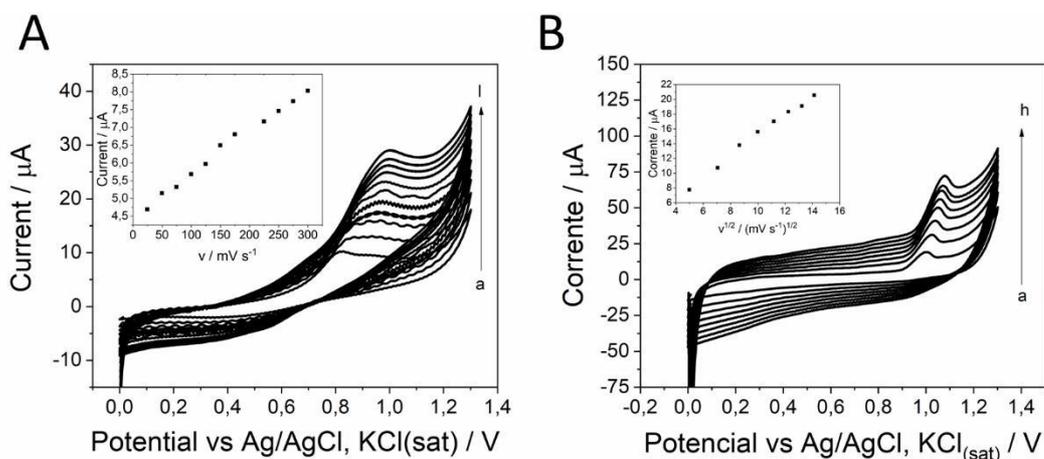
Os corantes apresentaram comportamentos distintos, quanto a dependência do

potencial de pico com o pH. Para AC, é possível observar que o potencial de pico varia pouco até valores de pH 6,0. Para valores maiores que este, houve um deslocamento mais pronunciado para potenciais mais catódicos, conforme mostrado na Figura 23B. Em contraste, o AT apresentou uma dependência linear de E_p vs pH em toda a faixa de pH avaliada, conforme mostrado na Figura 23D. Obteve-se uma inclinação de aproximadamente 34 mV pH^{-1} , o que indica que um próton e dois elétrons estão envolvidos no processo de oxidação da AT, conforme relatado por outros trabalhos na literatura (KOLOZOF *et al.*, 2020).

O transporte de massa de ambos os corantes ($325 \mu\text{mol L}^{-1}$) foi investigado usando VC. Uma relação linear entre a corrente e a velocidade de varredura foi observada para o AC, ($I_p (\mu\text{A}) = (0,0120 \pm 0,0004)v^{1/2} + (4,51 \pm 0,07)$) ($R^2 = 0,995$) para toda a faixa de varredura estudadas, de 25 a 300 mV s^{-1} , indicando que o transporte de massas é controlado pela adsorção, conforme mostrado na Figura 24A. Enquanto isso, o AT apresentou um comportamento linear entre a corrente e a raiz quadrada velocidade de varredura com equação expressa por $I_p (\mu\text{A}) = (1,39 \pm 0,05)v^{1/2} + (1,2 \pm 0,6)$ ($R^2 = 0,995$), para velocidades de varredura de 25 a 200 mV s^{-1} , o que indica que o transporte de massa da AT é difusional, conforme mostrado na Figura 24B.

Figura 24 – Voltamogramas cíclicos com velocidades de varredura de (a) 25, (b) 50, (c) 75, (d) 100, (e) 125, (f) 150, (g) 175, (h) 200, (i) 225, (j) 250, (k) 275 e (l) 300 mV s^{-1} .

O gráfico inserido mostra a relação linear entre $I_p \times v$, e $I_p \times v^{1/2}$, na presença de $325 \mu\text{mol L}^{-1}$ de (A) AC e (B) AT, respectivamente..

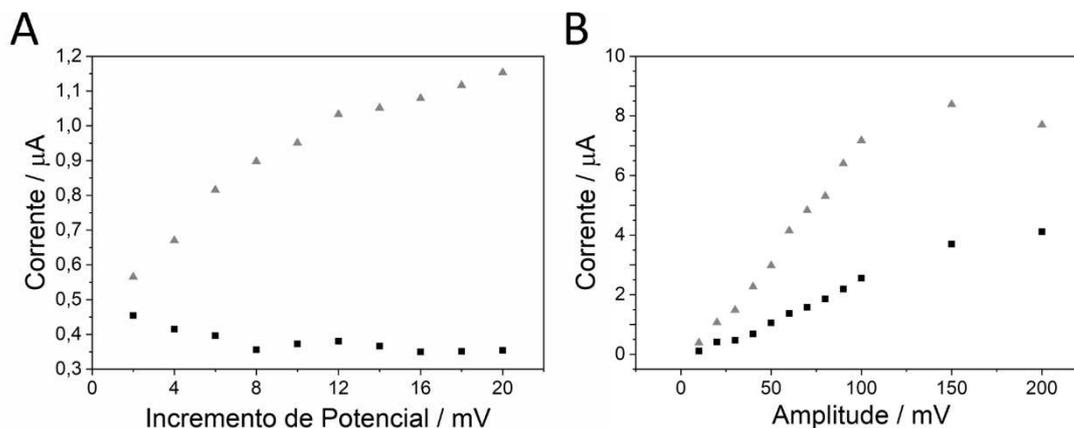


Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

6.2 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA VPD PARA DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE AC E AT

Um método por VPD foi desenvolvido utilizando uma solução contendo ambos os corantes e uma concentração de $65 \mu\text{mol L}^{-1}$, uma vez que para detecções simultâneas esta técnica é a mais indicada por apresentar maior resolução. Os parâmetros instrumentais incremento de potencial e a amplitude foram otimizados na faixa de 2 a 20 mV, e 10 a 200 mV, respectivamente. Assim como na VOQ, o incremento de potencial está relacionado com a velocidade de varredura da análise. Desta forma, espera-se que com o aumento deste parâmetro ocorra ganho de sinal analítico, em razão do menor consumo de espécies eletroativas. Para AC, foi observada perda de sensibilidade com o aumento do incremento de potencial, enquanto que para AT, um comportamento oposto, ou seja, aumento da corrente. Com relação à amplitude, observou-se um aumento linear na resposta analítica até 150 mV para ambos os analitos, enquanto para valores superiores a este não houve variação significativa de corrente. Nesse sentido, uma condição intermediária de incremento de potencial foi selecionada, sendo fixado em 8 mV, uma vez que há aumento considerável de sensibilidade para o AT sem perda muito significativa para o AC, e a amplitude fixada em 150 mV, conforme mostrado na Figura 25.

Figura 25 – Dependência da corrente com (A) incremento de potencial (de 2 a 20 mV) e (B) amplitude (de 10 a 200 mV), para 65 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AC (■) e AT (▲). Condições: eletrodo de referência Ag/AgCl, $\text{KCl}_{(\text{sat})}$, eletrólito de suporte tampão BR (10 mmol L^{-1} , $\text{pH} = 2,0$).



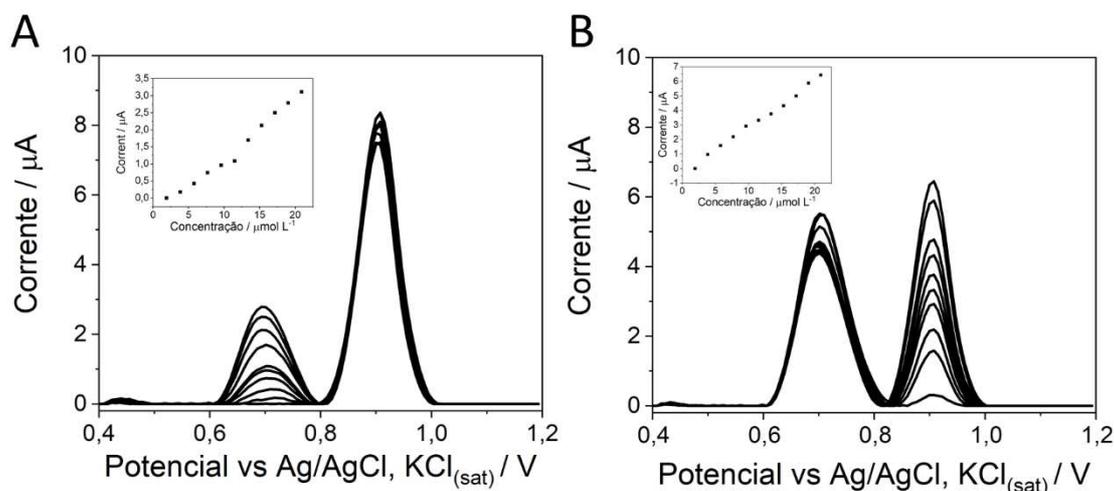
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Nas condições previamente otimizadas, um estudo de repetibilidade para o AC e o AT 65 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 10$) foi realizado, neste sentido foram obtidos valores de desvio padrão relativo de 6,8 % e 4,0 % para AC e AT, respectivamente, o que sugere uma precisão intermediária adequada do método.

Para avaliar uma possível interferência entre os analitos na determinação simultânea destes, a concentração de um dos corantes foi fixada em 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$, enquanto adições sucessivas foram realizadas na faixa de 2,0 a 21,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o outro, conforme mostrado nas Figuras 26A e B. Curvas analíticas foram construídas entre resposta instrumental e concentração para AC ($R^2 = 0,991$) e AT ($R^2 = 0,997$), onde estas apresentaram boa linearidade. Além disso, o desvio padrão relativo (RSD) da resposta analítica para a quantidade fixa de AC e AT foi inferior a 4,0 % e 7,4 %, respectivamente, o que indica que não há interferência, sendo possível a determinação simultânea destes corantes.

Figura 26 – Voltamogramas de pulso diferencial para incremento de concentrações de (A) AC e (B) AT (2,0 a 21 $\mu\text{mol L}^{-1}$) na presença de uma concentração fixa de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$

L^{-1} de um dos corantes. O gráfico inserido mostra a relação linear entre a corrente e a concentração.



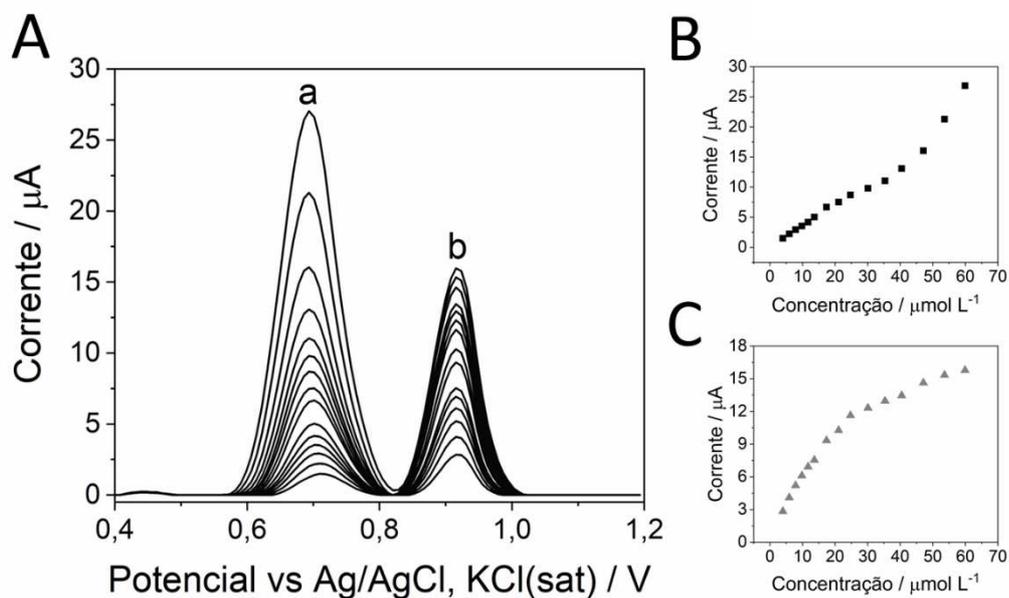
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Curvas analíticas foram construídas no intervalo de 4,0 a 60,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o perfil voltamétrico é mostrado na Figura 78A. Para ambos os analitos, foram observadas duas faixas lineares de trabalho. Para AT, a primeira variou de 2,0 a 35,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com linearidade adequada ($R^2 = 0,994$) e equação de ajuste linear expressa por $I_p(\mu\text{A}) = (0,313 \pm 0,012)C_{AC} (\mu\text{mol L}^{-1}) + (0,576 \pm 0,225)$, enquanto que o segundo intervalo linear, com maior sensibilidade, variou de 40,0 a 60,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ mostrando também linearidade adequada ($R^2 = 0,990$) e equação de ajuste linear expressa por $I_p(\mu\text{A}) = (0,718 \pm 0,073)C_{AC} (\mu\text{mol L}^{-1}) - (16,7 \pm 3,71)$, como mostra a Figura 28B.

Para AT, a primeira faixa linear (4,0 a 21,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) apresentou maior sensibilidade com a equação de ajuste linear expressa por $I_p(\mu\text{A}) = (0,433 \pm 0,022)C_{AT} (\mu\text{mol L}^{-1}) + (1,59 \pm 0,27)$ e boa linearidade ($R^2 = 0,993$), enquanto que a segunda (25,0 a 60,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) apresentou uma equação de ajuste linear expressa por $I_p(\mu\text{A}) = (0,123 \pm 0,005)C_{AT} (\mu\text{mol L}^{-1}) + (8,62 \pm 0,22)$ ($R^2 = 0,996$), como mostra a Figura 28C. LD e LQ foram calculados, utilizando as equações 1 e 2, respectivamente. Os valores obtidos para o LD foram 2,38 e 2,09 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AC e AT, respectivamente, enquanto o valor LQ foi de 4,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para ambos os corantes.

Figura 27 – Voltamogramas da curva analítica para (a) AC e (b) AT obtidos por VPD com concentrações variando de 4,0 a 60,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Dependência da corrente e

concentração de (B) AC e (C) AT. Condições: eletrólito de suporte tampão BR (10 mmol L⁻¹, pH = 2,0).



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

6.3 DETERMINAÇÃO DE AC E AT EM BEBIDAS E SOBREMESAS

O método eletroquímico otimizado utilizando o EP foi aplicado para a quantificação dos corantes em amostras de isotônico, suco, suco em pó, geladinho e gelatina. Para avaliar a exatidão do método, as amostras foram fortificadas com dois níveis de concentração (5,0 e 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AC e 12,0 e 18,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AT). Os valores de recuperação são apresentados na Tabela 4 e variaram de 89 a 115 % para todas as amostras estudadas, os resultados obtidos para as diferentes amostras indicam que o sensor EP apresentou uma exatidão adequada sem a presença de efeito de matriz após uma simples diluição para a detecção simultânea de AC e AT.

Tabela 4 – Valores de recuperação para a determinação simultânea de AC e AT em amostras de gelatina, suco, suco em pó, geladinho e isotônico (n = 3).

Amostras	AC			AT		
	Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)		Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	
		Nível Baixo	Nível Alto		Nível Baixo	Nível Alto
Gelatina	4,75 ± 0,14	93 ± 7	95 ± 4	LD	89 ± 3	102 ± 4
Suco	LD	96 ± 4	101 ± 9	LD	115 ± 4	99 ± 7
Suco em pó	LD	98 ± 2	108 ± 2	LD	108 ± 2	106 ± 5
Geladinho	LD	100 ± 4	98 ± 5	LD	105 ± 7	103 ± 10
Isotônico	LD	102 ± 3	103 ± 3	LQ	110 ± 4	102 ± 2

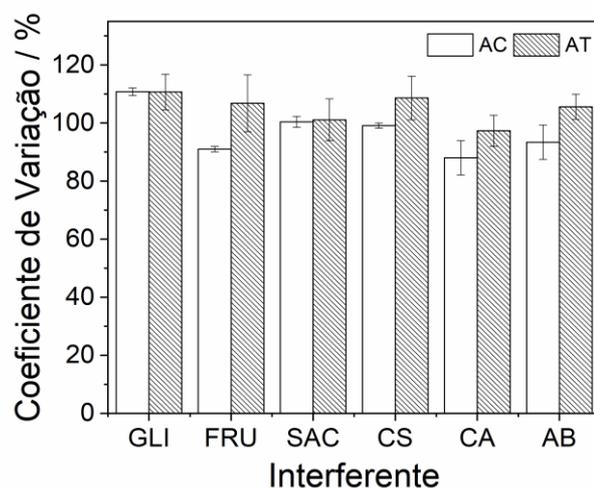
Nível Baixo corresponde a fortificações com 5 e 12 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AC e AT, respectivamente.

Nível Alto corresponde a fortificações com 10 e 18 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AC e AT, respectivamente.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Para preservar, regular a acidez, e uniformizar sabor, após o seu processamento, conservantes alimentares, tais como ácido benzóico (AB), reguladores de acidez, tais como citrato de sódio (CS) e ácido cítrico (CA), e, adoçantes tais como glicose (GLU), frutose (FRU), sacarose (SAC) podem ser adicionados a bebidas e sobremesas. Neste sentido, foram realizados estudos de interferência utilizando os aditivos acima mencionado, que se encontram na lista de ingredientes das amostras analisadas, uma razão de concentração de 1:1 entre AC e AT (16 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e cada um dos possíveis agentes interferentes (Figura 29). Para todas as possíveis espécies interferentes, a variação da resposta analítica de AC e AT foi inferior a 12% e 10%, respectivamente; o que demonstrou uma seletividade adequada do sensor proposto.

Figura 28 – Variação do sinal de $16 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AC e AT na presença (proporção de 1:1) de diferentes interferentes, glicose (GLI), frutose (FRU), sacarose (SAC), citrato de sódio (CS), ácido cítrico (CA) e ácido benzóico (AB), em tampão BR ($0,04 \text{ mol L}$) $\text{pH} = 2,00$.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Pode-se destacar que o método utilizou um sensor extremamente acessível (descartável), fácil de construir e que não requer um processo de modificação da superfície do eletrodo. O método desenvolvido apresentou uma ampla faixa linear de trabalho, e LD comparável a outros métodos relatados na literatura, como apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 – Comparação do método proposto por VPD utilizando EP com outros métodos eletroanalíticas reportados na literatura para a determinação de AC e AT.

Sensor	Analitos	Faixa linear ($\mu\text{mo L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mo L}^{-1}$)	Amostra	Referência
CPE/S G/ CPCI	AC	0,02 – 1,0	0,005	Bebidas doces não alcoólicas	(CHEBOTAREV <i>et al.</i> , 2019)(FARIA, LUCAS V. <i>et al.</i> , 2019)
	AT	0,04 – 1,0	0,008		
ERGO -SPCE	AC	0,01 – 20,0	0,0005	Isotônico, suco concentrado, energético e refrigerantes	(JAMPASA <i>et al.</i> , 2016)
	AT	0,02 – 20,0	0,00045		
sMo- SPE	AC	0,005 – 0,25	0,002	Doces de laranja e verde e preparado de “Margarita”	(KOLOZOF <i>et al.</i> , 2020)
	AT				
rGO/N iBTC/ SPCEs	AC	0,05 – 5,0	0,025	Isotônicos laranja e amarelo	(WU; LEE, 2020)
	AT	0,075 – 5,0	0,05		
EP	AC		2,38	Isotônico, suco, suco em pó, geladinho e gelatina	Este Trabalho
	AT	4,0 – 60,0	2,09		

CPE/SG/CPCL: eletrodo de pasta de carbono modificado com sílica gel impregnado de cloreto de cetilpiridina; ERGO-SPCE: eletrodo impresso de carbono modificado com oxido de grafeno reduzido eletroquimicamente; sMO-SPCE: eletrodo impresso de carbono modificado com nanoestrutura de molibdenio; rGO/NiBTC/SPCE: eletrodo impresso de carbono modificado com rede metalorgânica de NiBTC e grafeno reduzido, VPD: voltametria de pulso diferencial; VOQ: voltametria de onda quadrada.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

6.4 CONCLUSÃO PARCIAL

Foi possível construir eletrodos a base de grafite suportados em cartolina e o desenvolvimento de um método analítico por VPD para a determinação simultânea de AC e AT em amostras de isotônico, suco, suco em pó, gelatina e geladinho. Comportamentos distintos de transporte de massas para os corantes foram observados onde AC apresentou

caráter adsorptivo, enquanto AT apresentou caráter difusional das espécies eletroativas na superfície do EP. O comportamento eletroquímico de ambos os corantes foi investigado, sendo um maior sinal de corrente, maior sensibilidade, em meio ácido. Além disso foi possível observar que para o AT o número de prótons e elétrons, envolvidos na reação de oxidação são iguais, resultado corroborado por outros estudos reportados na literatura.

Após a otimização dos parâmetros instrumentais da técnica, o método apresentou performance analítica satisfatória com LD de 2,38 e 2,09 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o AC e AT, respectivamente. Os estudos realizados demonstraram que outros ingredientes (GLU, FRU e SAC), e aditivos (CS, AB e CA) não interferiram na resposta analítica dos corantes avaliados. Além disso a estratégia de fabricação do sensor se mostra uma alternativa para fabricação em larga escala, o qual associado ao mínimo preparo de amostra, diluição das amostras, torna o método atraente para análises de rotina.

6.5 PERSPECTIVAS

Futuramente pretende-se investigar a impressão dos três eletrodos, trabalho, referência e auxiliar, usando tintas condutoras, seja de grafite ou de prata, além disso pretende-se avaliar a resposta do eletrodo de papel frente ao tratamento eletroquímico. Pretende-se também usar o eletrodo aqui descrito para a análise de outros analitos de interesse alimentício e farmacêutico.

Capítulo 4: Considerações finais

Neste capítulo serão discutidos os resultados obtidos com este trabalho

7 CONCLUSÕES

Neste trabalho explorou-se diferentes plataformas para a fabricação simples e de baixo custo de eletrodos descartáveis a base de grafite, onde foi demonstrando duas opções para isto: um sensor suportado em capilar de vidro, e outro em cartolina, sendo que ambos apresentaram performance analítica satisfatória.

O EG apresentou resposta superior, maior densidade de corrente, frente eletrodo comercial de carbono vítreo. Além disso por meio de um tratamento baseado na voltametria cíclica, a performance eletroquímica do EG mostrou considerável melhora com aumento para todas as condições avaliadas. Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície do eletrodo antes e após o tratamento eletroquímico mostram uma exfoliação das folhas de grafeno na superfície do eletrodo de grafite, resultado este congruente com a análise por espectroscopia Raman, onde uma reorganização na estrutura do grafite pode ser observada, por meio da diminuição da intensidade do sinal da distância interplanar das folhas de grafeno e diminuição na densidade de defeitos do grafite, respectivamente.

O tratamento em meio de básico ($\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) foi o que resultou em melhor resposta eletroquímica propiciando um aumento de 43 vezes na resposta da ciprofloxacina, redução de 16 vezes no limite de detecção, frente ao eletrodo sem tratamento. Métodos baseados na VOQ foram desenvolvidos utilizando o EG e EGTE para a determinação de CIP em amostras de fármacos, leite bovino e água. Estes apresentaram importantes características analíticas como precisão, exatidão, detectabilidade adequada e seletividade frente a outros antibióticos e adulterantes/contaminantes que podem ser encontrados nas amostras analisadas.

Os teores dos princípios ativos estavam de acordo com os informados no rótulo dos medicamentos, enquanto que os níveis de antibióticos nas amostras de leite e água ficaram abaixo do LD. Os valores de recuperação nas amostras analisadas variaram de 84 a 116 % demonstrando que possíveis interferentes presentes nas amostras não interferiram nas repostas da CIP, os resultados obtidos utilizando o EG e EGTE foram comparados com a técnica de CLAE não sendo observado diferenças significativas nos resultados a 95% de confiança.

No que diz respeito aos EPs, foi possível desenvolver uma tinta condutora e aplicá-la na fabricação do sensor eletroquímico, pode-se destacar que o uso de ferramentas (pincel), e materiais de baixo custo (cartolina, base de esmalte e grafite), associado a simplicidade de fabricação do eletrodo, permitem a acessibilidade deste em laboratórios com poucos recursos. O eletrodo foi aplicado na quantificação de AC e AT, em diferentes amostras de bebidas e sobremesas. Um método baseado na VPD foi otimizado sendo que este apresentou ampla faixa linear e limites de detecção inferiores ao limite máximo de corantes que podem ser adicionados em alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKANDA, Md. Rajibul *et al.* Recent Advances in Nanomaterial-Modified Pencil Graphite Electrodes for Electroanalysis. **Electroanalysis** v. 28, n. 3, p. 408–424 , 2016.
- AKYAZI, Tugce; BASABE-DESMONTS, Lourdes; BENITO-LOPEZ, Fernando. *Review on microfluidic paper-based analytical devices towards commercialisation* .**Analytica Chimica Acta**. v. 1001, p. 1–17 , 2018.
- ATAIDE, Vanessa N. *et al.* Electrochemical paper-based analytical devices: Ten years of development. **Analytical Methods** v. 12, n. 8, p. 1030–1054 , 2020.
- ATTREY, D. P. Detection of food adulterants contaminants. In: GUPTA, R.K., DUDEJA, P., Minhas, A.S. **Food Safety in the 21st Century: Public Health Perspective**. 1. ed. Londres: Academic Press, 2017. p. 129–143.
- BAGHERI, H. *et al.* Fabrication of an electrochemical sensor based on magnetic multi-walled carbon nanotubes for the determination of ciprofloxacin. **Analytical Methods** v. 8, n. 16 , 2016.
- BARD, Allen J; FAULKNER, Larry R. **Electrochemical Methods Fundamentals and Applications**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, Ltd, 2000. 864 p.
- BAREK, Jiří; ZIMA, Jiří. Eighty years of polarography - History and future. **Electroanalysis** v. 15, n. 5–6, p. 467–472 , 2003.
- BASU, Anirban; SURESH KUMAR, Gopinatha. Studies on the interaction of the food colorant tartrazine with double stranded deoxyribonucleic acid. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics** v. 34, n. 5, p. 935–942 , 2016.
- BAYSAL, Gülşen; UZUN, Demet; HASDEMİR, Erdoğan. The fabrication of a new modified pencil graphite electrode for the electrocatalytic reduction of 2-nitrophenol in water samples. **Journal of Electroanalytical Chemistry** v. 860, 2020.
- BEITOLLAHI, Hadi *et al.* Applications of electrochemical sensors and biosensors based on modified screen-printed electrodes: a review. **Analytical Methods** v. 12, n. 12, p. 1547–1560 , 2020.
- BRETT, Christopher. Fundamentals of electrochemistry. In: VIVES. A.A. **Piezoelectric Transducers and Applications**. Nova York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2004. p. 185–194.
- BUZAGLO, Matat *et al.* Graphite-to-Graphene: Total Conversion. **Advanced Materials** v. 29, n. 8 , 2017.
- CHAUHAN, Ruchika *et al.* Highly selective electrochemical detection of ciprofloxacin using reduced graphene oxide/poly(phenol red) modified glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry** v. 871 , 2020.
- CHEBOTAREV, Alexander *et al.* Simultaneous determination of Sunset Yellow and Tartrazine in soft drinks on carbon-paste electrode modified by silica impregnated with

cetylpyridinium chloride. **Journal of Food Measurement and Characterization** v. 13, n. 3, p. 1964–1972 , 2019.

CHEN, Da; FENG, Hongbin; LI, Jinghong. Graphene Oxide: Preparation, Functionalization, and Electrochemical Applications. **Chemical Reviews** v. 112, n. 11, p. 6027–6053 , 2012.

CHUNG, D D L. Review Graphite. **Journal of Materials Science** v. 37, n. 8, p. 1475–1489 , 2002.

CLARDY, Jon; FISCHBACH, Michael A.; CURRIE, Cameron R. The natural history of antibiotics. **Current Biology** v. 19, n. 11, p. R437–R441 , 2009.

COMPTON, Richard G; BANKS, Craig E. **Understanding Voltammetry**. 3. ed. Londres: World Scientific Publishing Company, 2010.

SILVA, Francisco D. *et al.* In situ electrochemical exfoliation of embedded graphite to superficial graphene sheets for electroanalytical purposes. **Electrochimica Acta** v. 354 , 2020.

DAVID, Iulia Gabriela; POPA, Dana-elena; BULEANDRA, Mihaela. Pencil Graphite Electrodes : A Versatile Tool in Electroanalysis. v. 2017, n. Cv , 2017.

FARIA, Lucas Vinícius D. *et al.* Electrochemical Study of Different Sensors for Simple and fast Quantification of Ciprofloxacin in Pharmaceutical Formulations and Bovine Milk. **Electroanalysis** v. 32, n. 10, p. 2266–2272 , 2020.

LIMA, Lucas F. de *et al.* Disposable and low-cost electrochemical sensor based on the colorless nail polish and graphite composite material for tartrazine detection. **Talanta** v. 227 , 2021.

DENG, Keqin *et al.* Simultaneous detection of sunset yellow and tartrazine using the nanohybrid of gold nanorods decorated graphene oxide. **Journal of Electroanalytical Chemistry** v. 780, p. 296–302 , 2016.

EMA. Disabling and potentially permanent side effects lead to suspension or restrictions of quinolone and fluoroquinolone antibiotics. **European Medicines Agency-Science Medicines Agency** v. 31, n. 795349, p. 1–3 , 2019.

EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. COMMISSION REGULATION (EU) No 37/2010. **Official Journal of the European Union** n. L 15/1 , 2010.

FARIA, Lucas V. *et al.* Square-wave voltammetry determination of ciprofloxacin in pharmaceutical formulations and milk using a reduced graphene oxide sensor. **Journal of the Brazilian Chemical Society** v. 30, n. 9, p. 1947–1954 , 2019.

FENG, Guanqun; HUANG, Haining; CHEN, Yinguang. *Effects of emerging pollutants on the occurrence and transfer of antibiotic resistance genes: A review.* **Journal of Hazardous Materials**. v. 420 , 126602, 2021

FOTOUHI, Lida; ALAHYARI, Mahnaz. Electrochemical behavior and analytical

application of ciprofloxacin using a multi-walled nanotube composite film-glassy carbon electrode. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 81, p. 110–114 , 2010.

FUH, M. Determination of sulphonated azo dyes in food by ion-pair liquid chromatography with photodiode array and electrospray mass spectrometry detection. **Talanta** v. 56, n. 4, p. 663–671 , 2002.

GARCIA, M A *et al.* Determination of enrofloxacin and its primary metabolite, ciprofloxacin, in pig tissues. Application to residue studies. **Biomedical Chromatography** v. 19, n. 1, p. 27–31 , 2005.

GHOREISHI, Sayed Mehdi; BEHPOUR, Mohsen; GOLESTANEH, Mahshid. Simultaneous determination of Sunset yellow and Tartrazine in soft drinks using gold nanoparticles carbon paste electrode. **Food Chemistry** v. 132, n. 1, p. 637–641 , 2012.

GODOY, Mariel; SÁNCHEZ, Julio. Antibiotics as Emerging Pollutants in Water and Its Treatment. In: KOKKARACHEDU, V.; KANIKIREDDY, V.; SADIKU, E.R. **Antibiotic Materials in Healthcare**. 1. ed. Londres: Academic Press, 2020. p. 221–230.

GÖKÇE, Gültekin *et al.* Aptamer-modified pencil graphite electrodes for the impedimetric determination of ochratoxin A. **Food Control** v. 115 , 2020.

GUSTAVO GONZÁLEZ, A.; ÁNGELES HERRADOR, M. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. **TrAC Trends in Analytical Chemistry** v. 26, n. 3, p. 227–238 , mar. 2007.

HOOPER; C., D. Mechanisms of quinolone action and bacterial killing. **Quinolone Antimicrobial Agents** p. 53–75 , 1993.

HORWITZ, William. Evaluation of Analytical Methods Used for Regulation. **Journal of AOAC INTERNATIONAL** v. 65, n. 3, p. 525–530 , 1982.

HSIA, Yingfen *et al.* Use of the WHO Access, Watch, and Reserve classification to define patterns of hospital antibiotic use (AWaRe): an analysis of paediatric survey data from 56 countries. **The Lancet Global Health** v. 7, n. 7 , 2019.

HUTCHINGS, Matthew I; TRUMAN, Andrew W; WILKINSON, Barrie. Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology** v. 51, p. 72–80 , 2019.

INAM, A.; BRYDSON, R.; EDMONDS, D. V. Raman spectroscopy study of the crystallinity of graphite formed in an experimental free-machining steel. **Materials Characterization** v. 163, p. 110264 , 2020.

JAFARI-ARVARI, Hasan; SAEI-DEHKORDI, S. Siavash; FARHADIAN, Sadegh. Evaluation of interactions between food colorant, tartrazine, and Apo-transferrin using spectroscopic analysis and docking simulation. **Journal of Molecular Liquids** v. 339, p. 116715 , 2021.

JAMPASA, Sakda *et al.* Electrochemically reduced graphene oxide-modified screen-printed carbon electrodes for a simple and highly sensitive electrochemical detection of synthetic colorants in beverages. **Talanta** v. 160, p. 113–124 , 2016.

Ji, Xiaoba *et al.* Oxygenated edge plane sites slow the electron transfer of the ferro-/ferricyanide redox couple at graphite electrodes. **ChemPhysChem** v. 7, n. 6, 2006.

KARIUKI, James; ERVIN, Emily; OLAFSON, Carly. Development of a Novel, Low-Cost, Disposable Wooden Pencil Graphite Electrode for Use in the Determination of Antioxidants and Other Biological Compounds. **Sensors** v. 15, p. 18887–18900, 2015.1888718900.

KAUR, Amandeep *et al.* Synthesis of highly fluorescent carbon dots from spices for determination of sunset yellow in beverages. **Microchemical Journal** v. 170, p. 106720, 2021.

KIM, Jayoung *et al.* *Advanced Materials for Printed Wearable Electrochemical Devices: A Review*. **Advanced Electronic Materials**. v. 2, 1600260, 2017

KOLOZOF, Penthesilia-Amalia *et al.* In-situ tailoring of the electrocatalytic properties of screen-printed graphite electrodes with sparked generated molybdenum nanoparticles for the simultaneous voltammetric determination of sunset yellow and tartrazine. **Sensors and Actuators B: Chemical** v. 304, p. 127268, . 2020.

LI, Junhua *et al.* Morphology-controlled electrochemical sensing properties of CuS crystals for tartrazine and sunset yellow. **Sensors and Actuators B: Chemical** v. 288, p. 552–563, 2019.

LI, Meng *et al.* Recent developments and applications of screen-printed electrodes in environmental assays—A review. **Analytica Chimica Acta** v. 734, p. 31–44, 2012.

LI, Qi; LIU, Wei; ZHU, Xiashi. Green Choline Amino Acid Ionic Liquid Aqueous Two-Phase Extraction Coupled with HPLC for Analysis Sunset Yellow in Beverages. **Food Analytical Methods** v. 12, n. 11, p. 2527–2534, 2019.

LISBOA, Thalles Pedrosa *et al.* Development of paper devices with conductive inks for sulfanilamide electrochemical determination in milk, synthetic urine, and environmental and pharmaceutical samples. **Journal of Solid State Electrochemistry** v. 25, n. 8–9, p. 2301–2308, 2021.

LIU, Feng-Jie *et al.* Dispersive solid-phase microextraction and capillary electrophoresis separation of food colorants in beverages using diamino moiety functionalized silica nanoparticles as both extractant and pseudostationary phase. **Talanta** v. 132, p. 366–372, 2015.

LOLO, M *et al.* Study of Enrofloxacin Depletion in the Eggs of Laying Hens Using Diphasic Dialysis Extraction/Purification and Determinative HPLC-MS Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 53, n. 8, p. 2849–2852, 2005.

LUBERT, Karl Heinz; KALCHER, Kurt. History of electroanalytical methods. **Electroanalysis** v. 22, n. 17–18, p. 1937–1946, 2010.

MALARD, L. M. *et al.* Raman spectroscopy in graphene. **Physics Reports** v. 473, n. 5–6, p. 51–87, 1 abr. 2009.

MARAZUELA, M.D; MORENO-BONDI, M.C. Multiresidue determination of

fluoroquinolones in milk by column liquid chromatography with fluorescence and ultraviolet absorbance detection. **Journal of Chromatography A** v. 1034, n. 1–2, p. 25–32, 2004.

MARTIN SANTOS, Anderson *et al.* Simultaneous determination of paracetamol and ciprofloxacin in biological fluid samples using a glassy carbon electrode modified with graphene oxide and nickel oxide nanoparticles. **Talanta**, v. 174, p. 610–618, 2017.

MAŠEK, J. A simple microcoulometric arrangement for polarographic purposes using the three-electrode system. **Journal of Electroanalytical Chemistry (1959)** v. 1, n. 5, p. 416–421, 1960.

MICHALSKA, Katarzyna; PAJCHEL, Genowefa; TYSKI, Stefan. Determination of ciprofloxacin and its impurities by capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography A** v. 1051, n. 1–2, p. 267–272, 2004.4822841065.

MOCAK, J. *et al.* A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: Application to voltammetric and stripping techniques (Technical Report). **Pure and Applied Chemistry** v. 69, n. 2, p. 297–328, 1997.

MONK, Paul. **Fundamentals of Electro-Analytical Chemistry**. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2001. 384 p.

MONTES, Rodrigo H.O. *et al.* Fast determination of ciprofloxacin by batch injection analysis with amperometric detection and capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. **Electroanalysis** v. 26, n. 2, p. 432–438, 2014.

OH, Jung Min; CHOW, Kwok Fan. Recent developments in electrochemical paper-based analytical devices. **Analytical Methods** v. 7, n. 19, p. 7951–7960, 2015.

OZER, Tugba; MCMAHON, Catherine; HENRY, Charles S. Advances in Paper-Based Analytical Devices. **Annual Review of Analytical Chemistry** v. 13, p. 85–109, 2020.

PANDEY, Annu *et al.* Review—Pencil Graphite Electrode: An Emerging Sensing Material. **Journal of The Electrochemical Society** v. 167, p. 37501, 1 jan. 2020.

PIÑERO, María Ysabel *et al.* Easy sample treatment for the determination of enrofloxacin and ciprofloxacin residues in raw bovine milk by capillary electrophoresis. **Electrophoresis** v. 33, n. 19–20, p. 2978–2986, 2012.

POLLAP, Aleksandra *et al.* Electrochemical sensing of ciprofloxacin and paracetamol in environmental water using titanium sol based sensor. **Journal of Electroanalytical Chemistry** v. 878, 2020.

QIU, Xinlan *et al.* An enhanced electrochemical platform based on graphene oxide and multi-walled carbon nanotubes nanocomposite for sensitive determination of Sunset Yellow and Tartrazine. **Food Chemistry** v. 190, p. 889–895, 2016.

RADIČOVÁ, Monika *et al.* Heavily Boron Doped Diamond Electrodes for Ultra Sensitive Determination of Ciprofloxacin in Human Urine. **Electroanalysis** , 2017.

RANA, Azeem; BAIG, Nadeem; SALEH, Tawfik A. *Electrochemically pretreated carbon electrodes and their electroanalytical applications – A review*. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. v. 183, p. 313–332 , 2019

RANI, Reetu *et al.* Copper Based Organic Framework Modified Electrode for Selective and Sensitive Detection of Ciprofloxacin. **Electroanalysis** v. 32, n. 11 , 2020.

REDDY, Kasarla Ramakrushna; BRAHMAN, Pradeep Kumar; SURESH, Lakkavarapu. Fabrication of high performance disposable screen printed electrochemical sensor for ciprofloxacin sensing in biological samples. **Measurement: Journal of the International Measurement Confederation** v. 127, p. 175–186, 2018.

REICH, Stephanie; THOMSEN, Christian. *Raman spectroscopy of graphite* **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**. [S.l.]: Royal Society , 2004

SCHNEIDER, Marilyn J; DONOGHUE, Dan J. Multiresidue Determination of Fluoroquinolones in Eggs. **Journal of AOAC INTERNATIONAL** v. 83, n. 6, p. 1306–1312 , 2019.

SCHOPENHAUER, Arthur. **Parerga and Paralipomena Short Philosophical Essays**. New York: Cambridge University Press, 2014. 520 p.

SIGURDSON, Gregory T.; TANG, Peipei; GIUSTI, M. Mónica. Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. **Annual Review of Food Science and Technology** v. 8, n. December 2016, p. 261–280 , 2017.

SINGH, Parminder; GANDHI, Neeraj. Milk Preservatives and Adulterants: Processing, Regulatory and Safety Issues. **Food Reviews International** v. 31, n. 3 , 2015.

SUKUL, Premasis; SPITELLER, Michael. Fluoroquinolone Antibiotics in the Environment. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. New York: Springer, New York, NY, 2007. p. 131–162.

SURESH, Raghav Raghavender *et al.* *Fabrication of screen-printed electrodes: opportunities and challenges*. **Journal of Materials Science** v. 56, p. 8951–9006 , 2021

SURYA, Sandeep G. *et al.* A chitosan gold nanoparticles molecularly imprinted polymer based ciprofloxacin sensor. **RSC Advances** v. 10, n. 22 , 2020.

ŠVANCARA, Ivan *et al.* *Carbon paste electrodes in facts, numbers, and notes: A review on the occasion of the 50-years jubilee of carbon paste in electrochemistry and electroanalysis*. **Electroanalysis** v. 21, n. 1, p. 7–28 , 2009

TALLMAN, Dennis E; PETERSEN, Steven L. Composite Electrodes for Electroanalysis : Principles and Applications. **Electroanalysis** v. 2, p. 499–510 , 1990.

TANG, Qingfa *et al.* Simultaneous determination of fluoroquinolone antibiotic residues in milk sample by solid-phase extraction - Liquid chromatography-tandem mass

spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 57, n. 11, p. 4535–4539, 2009.

TORRINHA, Álvaro *et al.* *Biosensing based on pencil graphite electrodes*. **Talanta** v. 120, p. 235–247, 2018.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. FDA warns about increased risk of ruptures or tears in the aorta blood vessel with fluoroquinolone antibiotics in certain patients. **Drug and Safety Communications** p. 1–4, 2018.

USHER, M. J.; KEATING, D. A. Analogies between Systems. **Sensors and Transducers**. London: Macmillan Education UK, 1996. p. 12–20.

USLU, Bengi; OZKAN, Sibel A. *Electroanalytical application of carbon based electrodes to the pharmaceuticals*. **Analytical Letters** v. 4, n. 5, 2007.

VAN HOOFF, N. *et al.* Validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the quantification of eight quinolones in bovine muscle, milk and aquacultured products. **Analytica Chimica Acta** v. 529, n. 1-2 SPEC. ISS., p. 265–272, 2005.

WANG, Joseph. **Analytical Electrochemistry**. Third Edit ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2006. 272 p.

WONG, Ademar; SANTOS, Anderson Martin; FATIBELLO-FILHO, Orlando. Simultaneous determination of paracetamol and levofloxacin using a glassy carbon electrode modified with carbon black, silver nanoparticles and PEDOT:PSS film. **Sensors and Actuators, B: Chemical** v. 255, p. 2264–2273, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *No Title WHO releases the 2019 AWaRe Classification Antibiotics*. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/01-10-2019-who-releases-the-2019-aware-classification-antibiotics>. Acesso em: 6 abr. 2022.

WU, Jen-Han; LEE, Hui-Ling. Determination of sunset yellow and tartrazine in drinks using screen-printed carbon electrodes modified with reduced graphene oxide and NiBTC frameworks. **Microchemical Journal** v. 158, p. 105133, 2020.

YAMJALA, Karthik; NAINAR, Meyyanathan Subramania; RAMISETTI, Nageswara Rao. Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry – A review. **Food Chemistry** v. 192, p. 813–824, 2016.

ZOTOU, Anastasia; MILTIADOU, Niki. Sensitive LC determination of ciprofloxacin in pharmaceutical preparations and biological fluids with fluorescence detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** v. 28, n. 3–4, p. 559–568, 2002.

ZOUGHFI, Sheida *et al.* Detection of tartrazine in fake saffron containing products by a sensitive optical nanosensor. **Food Chemistry** v. 350, p. 129197, 2021.

APÊNDICE A – Artigos publicados

- ALVES, Guilherme Figueira *et al.* Disposable Pencil Graphite Electrode for Ciprofloxacin Determination in Pharmaceutical Formulations by Square Wave Voltammetry. **Electroanalysis**, 33, n. 2, 543–549, 2020.
- ALVES, Guilherme Figueira *et al.* A portable and affordable paper electrochemical platform for the simultaneous detection of sunset yellow and tartrazine in food beverages and desserts. **Microchemical Journal**, p. 107799, 2022.
- ALVES, Guilherme Figueira *et al.* Simple and fast batch injection analysis method for monitoring diuron herbicide residues in juice and tap water samples using reduced graphene oxide sensor. **Journal of Food Composition and Analysis**, 106, 104284, 2022.
- LISBOA, Thalles Pedrosa *et al.* 3D-printed electrode an affordable sensor for sulfanilamide monitoring in breast milk, synthetic urine, and pharmaceutical formulation samples, **Talanta**, 247, 123610, 2022.
- DE SOUZA, Cassiano Cunha *et al.* Low-cost paper-based electrochemical sensor for the detection of ciprofloxacin in honey and milk samples. **Journal of Food Composition and Analysis**, 112, 104700, 2022.
- LIMA, Nerilson M. *et al.* Mass spectrometry applied to diagnosis, prognosis, and therapeutic targets identification for the novel coronavirus SARS-CoV-2: A review. **Analytica Chimica Acta**, 339385, 2021.
- LISBOA, Thalles Pedrosa *et al.* Development of paper devices with conductive inks for sulfanilamide electrochemical determination in milk, synthetic urine, and environmental and pharmaceutical samples. **Journal of Solid State Electrochemistry**, 25, 2301, 2021.
- VINÍCIUS DE FARIA, Lucas *et al.* Adsorptive stripping voltammetric determination of chloramphenicol residues in milk samples using reduced graphene oxide sensor. **Analytical Methods**, 13 (47), 5711, 2021.
- DE FARIA, Lucas Vinícius *et al.* Electrochemical methods for the determination of antibiotic residues in milk: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, 1173, 338569, 2021.
- DE FARIA, Lucas Vinícius *et al.* Electrochemical Study of Different Sensors for Simple and fast Quantification of Ciprofloxacin in Pharmaceutical Formulations and Bovine Milk. **Electroanalysis**, 32 (10), 2266, 2020.

APÊNDICE B – Artigos e capítulos de livro aceitos, em revisão ou submetidos

ALVES, Guilherme Figueira; LISBOA, Thalles Pedrosa; MATOS, Renato Camargo. Organic-Inorganic Hybrid Nanomaterials in Biosensing Application. In: AZAD, Uday Pratap; CHANDRA, Pranjai (Orgs.). Handbook of Nanobioelectrochemistry -Application in Devices and Biomolecular Sensing. [S.l.]: **Springer Singapore**, [S.d.]. Aceito.

ALVES, Guilherme Figueira et al. Electrochemical exfoliation of graphite from pencil lead to graphene sheets: a feasible and cost-effective strategy to improve ciprofloxacin sensing. **Em revisão.**

LISBOA, Thalles Pedrosa et al. 3D-printed electrode based on carbon black/polylactic acid filament modified with reduced graphene oxide used to sensitive levofloxacin monitoring. **Submetido.**

FERNANDES, Bruno Luiz Mendes; ALVES, Guilherme Figueira, LISBOA, Thalles Pedrosa; LOWINSOHN, Denise. A new eco-friendly strategy for chromium determination in stainless steels: electrodisolution followed by voltametric detection. **Submetido.**

APÊNDICE C – Participação em eventos científicos

ALVES; Guilherme Figueira et al. Simple and fast batch injection analysis method for monitoring diuron herbicide residues in juice and tap water samples using reduced graphene oxide sensor. 45^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (RASBQ), 2022, Maceió – AL.

"I Fronteiras em eletroquímica e eletroanalítica: avanços realizados por jovens cientistas", realizado online nos dias 16, 17, 24 e 25 de junho de 2020;

“I Workshop do PPG Química - UFJF”, realizado online nos dias 3 e 4 de novembro de 2020.