



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS BLUMENAU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA, PROCESSOS E MATERIAIS
AVANÇADOS

Ana Carolina Dalila Steil

Desenvolvimento de eletrodo impresso de carbono modificado com nanofibras eletrofiadas de poli(ácido láctico) e polipirrol decoradas com nanopartículas de ouro para determinação de dopamina

Blumenau

2022

Ana Carolina Dalila Steil

Desenvolvimento de eletrodo impresso de carbono modificado com nanofibras eletrofiadas de poli(ácido láctico) e polipirrol decoradas com nanopartículas de ouro para determinação de dopamina

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Nanociência, Processos e Materiais Avançados da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nanociência, Processos e Materiais Avançados.
Orientadora: Profa. Daniela Brondani, Dra.
Coorientadora: Profa. Claudia Merlini, Dra.

Blumenau

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Steil, Ana Carolina Dalila

Desenvolvimento de eletrodo impresso de carbono modificado com nanofibras eletrofiadas de poli(ácido láctico) e polipirrol decoradas com nanopartículas de ouro para determinação de dopamina / Ana Carolina Dalila Steil ; orientador, Daniela Brondani, coorientador, Claudia Merlini, 2023.

93 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, , Programa de Pós-Graduação em , Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. . 2. nanofibras eletrofiadas. 3. sensor eletroquímico impresso. 4. dopamina. I. Brondani, Daniela. II. Merlini, Claudia. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em . IV. Título.

Ana Carolina Dalila Steil

Desenvolvimento de eletrodo impresso de carbono modificado com nanofibras eletrofiadas de poli(ácido láctico) e polipirrol decoradas com nanopartículas de ouro para determinação de dopamina

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Johnny de Nardi Martins, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Guilherme Mariz Barra, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Edson Roberto Santana, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Nanociência, Processos e Materiais Avançados

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Profa., Dra. Daniela Brondani

Orientadora

Blumenau, 2022

Aos meus pais e irmãos, com todo o amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à UFSC-Campus Blumenau, ao PPGNPMat e às agências de fomento (CAPES, FAPESC e CNPq) por possibilitarem o desenvolvimento do meu trabalho dentro de uma universidade pública e de qualidade.

Um agradecimento especial às minhas orientadoras, Profa. Dra. Daniela Brondani e Profa. Dra. Claudia Merlini, pois este trabalho com certeza não teria sido possível sem a contribuição de vocês. Todo o auxílio prestado durante esses dois anos foi fundamental para a conclusão de um projeto tão desafiador. Essas duas mulheres são dois grandes exemplos de professoras, pesquisadoras, dedicadas e comprometidas com os desafios da área acadêmica, que inspiram e motivam. Sou imensamente grata por ter tido o privilégio de trabalhar com vocês. Obrigada por terem embarcado nessa jornada comigo do início ao fim.

Agradeço também a dupla dinâmica Prof. Dr. Eduardo Zapp e Prof. Dr. Ismael Bellettini por tornarem o ambiente de laboratório divertido e alto astral, sem esquecer das discussões que trouxeram grandes contribuições para minha pesquisa. Ao Zapp, em especial, por todo ensinamento passado sobre impedância eletroquímica, por partilhar o potenciostato comigo, além das contribuições dadas durante o estágio de docência. E ao Ismael pelo carinho e preocupação, pela motivação e incentivos diários de que tudo iria dar certo. E deu mesmo. Obrigada também aos demais professores do programa que de alguma forma contribuíram para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Agradeço os membros da banca de qualificação que trouxeram discussões e contribuições importantíssimas para a delimitação do projeto. Aos membros da banca de defesa desta dissertação pela disponibilidade de avaliar a conclusão deste trabalho.

Agradeço meus colegas de laboratório e de mestrado: Thaynara, Inara, Luiza, Allan, Fernanda, Keller, Matheus, Ádria, Adriana, Márcia, Morganinha. Obrigada por todos os momentos compartilhados dentro e fora do ambiente universitário, pela ajuda prestada, pelas conversas durante a pausa do café, pela parceria na SBPMat e na SBQSul. Em especial, a minha amiga da eletroquímica, Thaynara, por ter me ensinado tudo desde minha chegada: o processo de impressão, o funcionamento dos equipamentos e a organização do laboratório. Um agradecimento especial também à Inara e à Luiza que se tornaram minhas amigas do coração.

Agradeço especialmente os meus pais, a base de toda minha vida. Agradeço o amor, a dedicação, o exemplo de caráter, o apoio e a ajuda para realizar meus sonhos. Agradeço também os meus irmãos que sempre estiveram ao meu lado quando precisei.

Um obrigada especial às minhas melhores amigas Tainá, Luiza, Yanna, Elaine, Bruna e Sara por todo apoio e motivação, por todas as conversas francas e desabafos. Obrigada por sempre estarem disponíveis nos momentos que eu mais precisei.

E, sobretudo, a Deus e aos meus protetores. Pela vida, pelos ensinamentos e por todas as oportunidades que me foram concedidas e que me permitiram chegar até aqui.

RESUMO

O uso de sensores eletroquímicos impressos se popularizou nos últimos anos, uma vez que estes dispositivos miniaturizados permitem análises rápidas e *in loco*. Os sensores podem ser produzidos por serigrafia, uma técnica de impressão simples, econômica e versátil, a qual consiste na aplicação de uma tinta condutora através de uma máscara contendo o desenho dos eletrodos. A fim de aprimorar o desempenho analítico do sensor, nanomateriais são utilizados como modificadores. As nanofibras poliméricas (NFs), em especial, possuem considerável área de superfície específica, de modo a facilitar processos de transferência de carga e permitir ligações e interações com outras substâncias em sua superfície. As propriedades das NFs podem ser alteradas de acordo com os parâmetros de solução e de processo de eletrofiação via solução. Neste sentido, NFs à base de poli(ácido láctico) (PLA) e polipirrol (PPy) foram eletrofiadas diretamente sobre eletrodos impressos à base de carbono (SPCE) produzidos em laboratório. A morfologia das NFs foi investigada de acordo com a concentração volumétrica de PLA e a tensão aplicada na eletrofiação. Análises por voltametria de pulso diferencial (DPV) com dopamina (DA) em solução tampão fosfato de sódio permitiram avaliar as propriedades dos SPCE/NFs e determinar o mais promissor. A porcentagem mássica de PPy foi investigada, sendo 10% (m/v) considerada ótima (PLA10PPy.DBSA), uma vez que aumentou a corrente de pico de oxidação (I_{pa}) da DA em duas vezes em comparação ao SPCE. Para aprimorar o desempenho eletroquímico, nanopartículas de ouro (NPs-Au) foram adsorvidas na superfície do SPCE/PLA10PPy.DBSA, o que permitiu aumentar I_{pa} da DA em quatro vezes em relação ao SPCE. Além disso, foi observado uma diminuição da resistência à transferência de carga (R_{ct}) e da separação entre os potenciais de pico (ΔE_p), indicando atividade eletrocatalítica das NPs-Au para a oxidação da DA e maior reversibilidade do processo. Como prova de conceito, o SPCE/PLA10PPy.DBSA-Au foi avaliado para a determinação de DA em amostra de urina simulada, apresentando faixa linear de trabalho entre 2,5 e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9987$), LOD de 0,69 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LOQ de 2,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O sensor desenvolvido é seletivo para DA na presença de ácido úrico e ácido ascórbico, apresenta reprodutibilidade (desvio padrão relativo de 7,13%) e estabilidade por pelo menos 6 semanas.

Palavras-chave: nanocompósito polimérico; nanofibras eletrofiadas; sensor eletroquímico impresso; dopamina.

ABSTRACT

The use of electrochemical sensors has become popular in recent years, as these miniaturized devices allow accurate on-site analyzes. The sensors can be produced by screen-printing, a simple, economical and versatile printing technique, which consists of applying a conductive ink through a mask containing the design of the electrodes. In order to improve the analytical performance of the sensor, nanomaterials are used as modifiers. Conductive nanofibers (NFs), in particular, have a considerable specific surface area, which ease charge transfer processes and allow bonding and interactions with other substances on their surface. The properties of the NFs can be changed according to the parameters of the solution and the solution electrospinning process. Therefore, NFs based on poly(lactic acid) (PLA) and polypyrrole (PPy) were directly electrospun on screen-printed carbon electrodes (SPCE) produced in laboratory. The NFs morphology was investigated according to the volumetric concentration of PLA and the voltage applied in electrospinning. Differential pulse voltammetry (DPV) analyzes with dopamine (DA) in phosphate buffer solution allowed evaluating the properties of SPCE/NFs and determining the most promising one. The mass percentage of PPy was investigated, and 10% (w/v) was considered optimal (PLA10PPy.DBSA), since it increased the DA peak oxidation current (I_{pa}) twice in comparison to SPCE. To improve the electrochemical performance, gold nanoparticles (Au-NPs) were adsorbed on the surface of PLA10PPy.DBSA/SPCE, which allowed to increase DA I_{pa} by four times compared to SPCE. In addition, a decrease in charge transfer resistance (R_{ct}) and in the separation between peak potentials (ΔE_p) was observed, indicating electrocatalytic activity of Au-NPs for DA oxidation and greater reversibility of the process. As a proof of concept, Au-PLA10PPy.DBSA/SPCE was evaluated for the determination of DA in a simulated urine sample, presenting a linear range between 2.5 and 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.9987$), LOD of 0.69 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and LOQ of 2.28 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The developed sensor is selective for DA in the presence of uric acid and ascorbic acid, it presents reproducibility (relative standard deviation of 7.13%) and stability for at least 6 weeks.

Keywords: polymeric nanocomposite; electrospun nanofibers; screen-printed electrochemical sensor; dopamine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema do funcionamento de um sensor eletroquímico.....	23
Figura 2 – Esquema representativo de uma célula eletroquímica clássica, com sistema de três eletrodos, onde o eletrodo de trabalho (WE), o contra-eletrodo (CE) e o eletrodo de referência (RE) estão imersos em um eletrólito.	24
Figura 3 – Voltamograma cíclico para uma solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ em KNO_3 . E_{pc} e E_{pa} : potenciais de pico catódico e anódico; I_{pc} e I_{pa} : correntes de pico catódico e anódico.	25
Figura 4 – Representação da aplicação de potencial em função do tempo para DPV em instrumentos digitais. A corrente é medida em S1 e S2, e calculada a diferença $i = i_{S2} - i_{S1}$. .	26
Figura 5 – Gráfico de Nyquist, indicando os diferentes valores de resistência associados a cada elemento do sistema. R_e : resistência da solução eletrolítica; R_{tc} : resistência à transferência de carga na interface; R_L : resistência limite.	27
Figura 6 – Fluxograma do processo de impressão de eletrodos por serigrafia. (1) obtenção da tinta condutora; (2) corte e colagem da máscara sobre o substrato; (3) distribuição da tinta ao longo do molde; (4) remoção da máscara; (5) recorte dos sensores impressos em unidades individuais; (6) eletrodos prontos para uso.....	29
Figura 7 – Esquema do aparato utilizado no processo de eletrofição a partir de solução polimérica: a) eletrofiador vertical e b) horizontal.....	31
Figura 8 – Estrutura química do poli(ácido láctico) (PLA).....	35
Figura 9 – Desenho esquemático simplificado de uma cadeia conjugada de um PIC, contendo ligações simples e duplas de forma alternada.....	36
Figura 10 – Estrutura química (a) poliacetileno, (b) polipirrol, (c) PEDOT e (d) polianilina .	37
Figura 11 – Processo de polimerização oxidativa para obtenção do PPy. a) Formação de um dímero e trímero de Py. b) Propagação da cadeia polimérica.	38
Figura 12 – Estrutura química do DBSA.....	39
Figura 13 – Reação de oxidação da dopamina (DA) em dopamina-o-quinona (DAQ).	41
Figura 14 – Representação dos moldes desenvolvidos para: (a) impressão de máscaras do dispositivo SPCE e (b) adesivo para delimitação da área de aplicação da amostra e fixação do eletrodo modificado.	46
Figura 15 – Fluxograma simplificado do processo de fabricação dos eletrodos impressos por serigrafia: (1) materiais que compõem a tinta de carbono (resina alquídica Acrilex®, acetona e grafite em pó); (2) obtenção da tinta condutora; (3) corte e colagem das máscaras sobre o substrato em PVC, seguido de transferência da tinta condutora para o substrato com a espátula; (4) remoção das máscaras; (5) recorte dos sensores impressos em unidades individuais; (6) unidades contendo dois eletrodos impressos (CE e P-RE) e contendo um eletrodo (WE); (7) modificação do WE com as nanofibras; (8) fixação do WE com o adesivo e sensor pronto para uso ou modificação adicional.	47
Figura 16 – Fluxograma simplificado da síntese do polipirrol por polimerização oxidativa. (1) dispersão de Py em água; (2) solução de cloreto férrico em água; (3) incorporação da solução de cloreto férrico na dispersão de Py; (4) obtenção do PPy após 6 horas de agitação magnética à temperatura ambiente; (5) filtração à vácuo e obtenção do pó de PPy.....	48

Figura 17 – Fluxograma da preparação da solução para eletrofição. (1) solubilização do PLA em DCM/DMF (3:1); (2) adição e dispersão do polipirrol; (3) transferência da solução para uma seringa; (4) posicionamento da seringa no eletrofiador.....	49
Figura 18 – Esquema do aparato para eletrofição, onde o WE é fixado em uma haste isolante e posicionado em frente ao coletor metálico de aço inoxidável revestido com uma folha de alumínio.....	50
Figura 19 – Representação esquemática do (a) eletrodo de trabalho após deposição direta das NFs e (b) SPCE modificado com NFs.....	51
Figura 20 – Fluxograma da síntese das NPs-Au: (1) preparo da solução de H _{Au} Cl ₄ em água deionizada a 100 °C; (2) preparo da solução de citrato de sódio em água deionizada (temperatura ambiente); (3) adição da solução de citrato de sódio à solução de H _{Au} Cl ₄ ; (4) obtenção da dispersão de NPs-Au após cerca de 20 minutos de reação; (5) estabilização das NPs-Au com as moléculas de citrato.....	51
Figura 21 – Imagens obtidas em microscópio ótico de luz transmitida. NFs eletrofiadas com 8% (m/v) de PLA solubilizado em DCM/DMF com as objetivas de 20x (a) e 50x (b). Flexas em vermelho indicam a formação de beads. NFs eletrofiadas com 10% (m/v) de PLA solubilizado em DCM/DMF com as objetivas de 20x (c) e 50x (d). Taxa de vazão foi mantida em 1,02 mL h ⁻¹ e tensão aplicada em 15 kV.....	57
Figura 22 – Imagens obtidas em microscópio ótico de luz transmitida. NFs eletrofiadas com 10% (m/v) de PLA solubilizado em DCM/DMF com as objetivas de 20x (c) e 50x (d). Taxa de vazão foi mantida em 1,02 mL h ⁻¹ e tensão aplicada em 20 kV.....	58
Figura 23 – Espectros obtidos por ATR-FTIR das NFs de PLA (preto) e PLA10PPy.DBSA (vermelho). As linhas tracejadas em azul referem-se às bandas características do PLA e as verdes ao PPy.....	59
Figura 24 – (a) Corrente de pico relativa (I _{pa}) e potencial de pico anódico (E _{pa}) obtidos com SPCE, SPCE/PLA, SPCE/PLA10PPy e SPCE/PLA10PPy.DBSA, por DPV (amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso de 50 ms e velocidade de varredura de 10 mV s ⁻¹), utilizando uma solução de DA a 100 μmol L ⁻¹ em solução tampão fosfato de sódio 0,2 mol L ⁻¹ (pH 7,0). (b) Representação esquemática da interface eletrodo/solução, com destaque para a dupla camada elétrica e a difusão da DA.....	61
Figura 25 – Representação esquemática proposta das principais interações intermoleculares entre a dopamina e (a) NFs PLA puro, (b) NFs PLA/PPy e (c) NFs PLA/PPy.DBSA. Os círculos em vermelho indicam interações do tipo ligação de hidrogênio, em azul do tipo íon-dipolo e em verde do tipo π-π.....	61
Figura 26 – (a) Imagem obtida por SEM da superfície do SPCE/PLA10PPy.DBSA, aplicando uma tensão de 10 kV. Magnificação de 2000x. (b) Histograma e gaussiana da distribuição de tamanho (diâmetro) das NFs, obtidos com base em cerca de 105 medidas.....	62
Figura 27 – Corrente de pico relativa (I _{pa}) e potencial de pico anódico (E _{pa}) obtidos com SPCE limpo, SPCE/PLA, SPCE/PLA5PPy.DBSA, SPCE/PLA10PPy.DBSA e SPCE/PLA15PPy.DBSA por DPV (amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso de 50 ms e velocidade de varredura de 10 mV s ⁻¹), utilizando uma solução de dopamina a 100 μmol L ⁻¹ em solução tampão fosfato de sódio 0,2 mol L ⁻¹ (pH 7,0).	63
Figura 28 – Esquema representativo proposto para a distribuição do PPy.DBSA ao longo das NFs de acordo com a proporção mássica. (a) PLA5PPy.DBSA, (b) PLA10PPy.DBSA, (c) PLA15PPy.DBSA.....	64

Figura 29 – Imagens obtidas por SEM da superfície do (a) SPCE/PLA e (c) SPCE/PLA10PPy.DBSA, aplicando uma tensão de 10 kV e magnificação de 5000x. Histogramas e gaussianas da distribuição de tamanho (diâmetro) das NFs do (b) SPCE/PLA e (d) SPCE/PLA10PPy.DBSA, obtidos com base em cerca de 105 medidas cada.....	65
Figura 30 – Corrente de pico de oxidação da dopamina (I_{pa}) e potencial de pico (E_{pa}) em função da amplitude de pulso (mV) obtidos por DPV (100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de DA em 0,2 mol L^{-1} solução tampão fosfato de sódio, pH 7,0). Parâmetros fixados: incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 10 mV s^{-1}	66
Figura 31 – Corrente de pico de oxidação da dopamina (I_{pa}) e potencial de pico (E_{pa}) em função do incremento de potencial (mV), obtida por DPV (100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina em 0,2 mol L^{-1} solução tampão fosfato de sódio, pH 7,0). Parâmetros fixados: amplitude de pulso 100 mV, tempo de pulso 50 ms e tempo de intervalo 500 ms.....	68
Figura 32 – Corrente de pico de oxidação da dopamina (I_{pa}) e potencial de pico (E_{pa}) em função da velocidade de varredura (mV s^{-1}), obtida por DPV (100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina em 0,2 mol L^{-1} solução tampão fosfato de sódio, pH 7,0). Parâmetros fixados: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV e tempo de pulso 50 ms.....	69
Figura 33 – Corrente de pico relativa (I_{pa}) e do potencial de pico (E_{pa}) para dopamina, em função do tempo de pré-condicionamento (s), obtidos por DPV (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina em 0,2 mol L^{-1} solução tampão fosfato de sódio, pH 7,0). Parâmetros fixados: potencial de pré-condicionamento -0,7 V vs. grafite, amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura de 10 mV s^{-1}	71
Figura 34 – Corrente de pico relativa (I_{pa}) e do potencial de pico (E_{pa}) para DA em função do potencial de pré-condicionamento (V), obtidos por DPV (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina em 0,2 mol L^{-1} solução tampão fosfato de sódio, pH 7,0). Parâmetros fixados: tempo de pré-condicionamento 20 s, amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura de 10 mV s^{-1}	72
Figura 35 – (a) Imagem obtida por TEM das NPs-Au, aplicando uma tensão de 100 kV. (b) Histograma e gaussiana da distribuição de tamanho (diâmetro) das NPs, obtidos com base em cerca de 106 partículas.....	73
Figura 36 – Espectro de absorvância obtido por UV-Vis da dispersão de NPs-Au diluída (50 μL em 2,5 mL de água deionizada).....	74
Figura 37 – (a) Corrente de pico relativa (I_{pa}) e potencial de pico (E_{pa}) para DA obtidos por DPV (amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso de 50 ms e velocidade de varredura de 20 mV s^{-1}), utilizando uma solução de DA a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio 0,2 mol L^{-1} (pH 7,0). Imagens obtidas por TEM, aplicando uma tensão de 100 kV, das NFs (b) PLA10PPy.DBSA (b) e (c) PLA10PPy.DBSA-Au. As flechas vermelhas indicam as NPs-Au adsorvidas na superfície das NFs.....	75
Figura 38 – (a) Gráficos de Nyquist obtidos por EIS, de 0,01 a 10 ⁵ Hz, comparando as etapas de modificação dos eletrodos. Inserido: circuito equivalente proposto para o sistema. (b) Voltamogramas cíclicos obtidos a 50 mV s^{-1} . Ambas as medidas foram realizadas com o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 5 mmol L^{-1} em KCl 0,3 mol L^{-1} . Em preto: eletrodos limpos; vermelho: eletrodos modificados com PLA puro; azul: eletrodos modificados com PLA10PPy.DBSA; verde: eletrodos modificados com PLA10PPy.DBSA-Au.....	76
Figura 39 – (a) Corrente de pico de oxidação da dopamina (I_{pa}) e o potencial de pico anódico (E_{pa}) em função do pH da solução, obtida por DPV (100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina em 0,2 mol	

L ⁻¹). (b) Voltamogramas obtidos para diferentes pHs do eletrólito suporte. Parâmetros otimizados: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 20 mV s ⁻¹	78
Figura 40 – (a) Voltamogramas obtidos com o sensor proposto em solução tampão fosfato de sódio (0,2 mol L ⁻¹ ; pH 7,0) na ausência (branco) e na presença de dopamina em diferentes concentrações (2,5 a 100 µmol L ⁻¹). (b) Curva de calibração obtida para a dopamina. Parâmetros de DPV utilizados: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 20 mV s ⁻¹	79
Figura 41 – Corrente de pico relativa (I _{pa}) obtida por DPV em função do número de semanas passadas a partir da data de fabricação dos eletrodos SPCE/PLA10PPy.DBSA-Au. As medidas foram realizadas utilizando uma solução de dopamina a 100 µmol L ⁻¹ em solução tampão fosfato de sódio 0,2 mol L ⁻¹ (pH 7,0), com os parâmetros otimizados: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso de 50 ms e velocidade de varredura de 20 mV s ⁻¹ . Barra superior e inferior (em vermelho) de variação de até 10%.	80
Figura 42 – Voltamogramas obtidos para a solução de dopamina em 0,2 mol L ⁻¹ de solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0) na presença de ácido úrico e ácido ascórbico. Concentração molar das moléculas de 100 µmol L ⁻¹ (a) e 50 µmol L ⁻¹ (b). Parâmetros de DPV otimizados: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 20 mV s ⁻¹	81
Figura 43 – (a) Voltamogramas obtidos para as concentrações de 2,5 a 50 µmol L ⁻¹ de DA em urina simulada (pH 7,0). Voltamograma em preto: urina simulada sem DA. (b) Curva de calibração por superposição de matriz obtida para DA. Parâmetros de DPV otimizados: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 20 mV s ⁻¹	83
Figura 44 – Voltamogramas obtidos para a solução de DA em urina simulada (pH 7,0) na presença de AU. Concentração molar das moléculas de 25 µmol L ⁻¹ (a) e 8,33 µmol L ⁻¹ (b). Parâmetros otimizados: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 20 mV s ⁻¹	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Efeitos dos parâmetros da solução, do processo e do ambiente na morfologia das nanofibras poliméricas obtidas por eletrofição.....	33
Tabela 2 – Composição da urina simulada, adaptada de Sarigul (2019).....	45
Tabela 3 – Parâmetros de solução e de processo otimizados para obtenção das NFs por eletrofição.	50
Tabela 4 – Parâmetros da técnica de DPV e eletrólito de suporte estudados para otimização da metodologia, visando a aplicação do sensor para detecção de DA.	55
Tabela 5 – Corrente de pico anódico (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) para cada amplitude de pulso (ΔE) avaliada, obtidos a partir dos voltamogramas da Figura 30. $n = 3$	66
Tabela 6 – Corrente de pico anódico (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) para cada incremento de potencial avaliado, obtidos a partir dos voltamogramas da Figura 31. A velocidade de varredura foi calculada de acordo com a Equação 1. $n = 3$	68
Tabela 7 – Corrente de pico anódico (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) para cada velocidade de varredura (v) avaliada, obtidos a partir dos voltamogramas da Figura 32. $n = 3$	69
Tabela 8 – Parâmetros da técnica de DPV otimizados para detecção de DA com o sensor proposto.	70
Tabela 9 – Resultados eletroquímicos obtidos a partir da EIS e CV para o par redox $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ 5 mmol L ⁻¹ em KCl 0,3 mol L ⁻¹ (Figura 38), empregando os diferentes eletrodos (limpo e modificados).....	77
Tabela 10 – Resultados da corrente (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) para DA nas soluções com diferentes concentrações do analito e potenciais interferentes. Quantificação realizada a partir da equação de regressão linear da curva de calibração (Figura 40).....	82
Tabela 11 – Resultados da corrente ($I_{pa} / \mu A$) e potencial de pico anódico (E_{pa} / V) para as amostras com diferentes concentrações de DA na presença de AU. Quantificação realizada a partir da equação de regressão linear obtida pela curva de calibração (Figura 43). ($n=2$)......	84
Tabela 12 – Comparação entre diferentes eletrodos modificados para detecção eletroquímica de dopamina.....	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido ascórbico
AU	Ácido úrico
ATR	Reflexão Total Atenuada
CE	Contra-eletrodo (do inglês, <i>counter-electrode</i>)
CV	Voltametria Cíclica (do inglês, <i>Cyclic Voltammetry</i>)
DA	Dopamina
DBSA	Ácido dodecil benzeno sulfônico (do inglês, <i>Dodecylbenzenesulfonic acid</i>)
DCM	Diclorometano
DMF	Dimetilformamida
DPV	Voltametria de Pulso Diferencial (do inglês, <i>Differential Pulse Voltammetry</i>)
E	Potencial
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
ΔE	Amplitude de pulso
E_{step}	Incremento de potencial
ΔE_p	Separação entre potenciais de pico
EIS	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (do inglês, <i>Electrochemical Impedance Spectroscopy</i>)
$FeCl_3$	Cloreto férrico
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	Cloreto férrico hexahidratado
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
I	Corrente
I_c	Corrente capacitiva
I_p	Corrente de pico
I_{pa}	Corrente de pico anódica
I_{pc}	Corrente de pico catódica
LOD	Limite de detecção (do inglês, <i>limit of detection</i>)
LOQ	Limite de quantificação (do inglês, <i>limit of quantitation</i>)
m/m	Fração massa/massa
m/v	Fração massa/volume
MM	Massa molar ponderal média

MO	Microscopia Ótica
NFs	Nanofibras
NPs	Nanopartículas
NPs-Au	Nanopartículas de ouro
P.A.	Pureza analítica
PICs	Polímeros intrinsecamente condutores
PLA	Poli(ácido láctico)
PPy	Polipirrol
PPy.DBSA	Polipirrol dopado com DBSA
Py	Pirrol
R _{ct}	Resistência à transferência de carga (do inglês, <i>charge transfer resistance</i>)
RE	Eletrodo de referência (do inglês, <i>reference electrode</i>)
SEM	Microscopia Eletrônica de Varredura (do inglês, <i>Scanning Electron Microscopy</i>)
SPE	Eletrodo impresso (do inglês <i>screen-printed electrode</i>)
SPCE	Eletrodo de carbono impresso (do inglês, <i>screen-printed carbon electrode</i>)
t_{int}	Tempo de intervalo
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão (do inglês, <i>Transmission Electron Microscopy</i>)
v	Velocidade de varredura
WE	Eletrodo de trabalho (do inglês, <i>working electrode</i>)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	OBJETIVOS.....	22
1.1.1	Objetivo geral	22
1.1.2	Objetivos específicos	22
2	REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1	SENSORES ELETROQUÍMICOS.....	23
2.1.1	Técnicas eletroquímicas de medida	24
2.1.2	Eletrodos impressos	28
2.1.3	Materiais para eletrodos impressos	29
2.2	MODIFICADORES NANOESTRUTURADOS.....	30
2.2.1	Nanofibras (NFs)	30
2.2.1.1.	<i>Eletrofiação</i>	31
2.2.1.2.	<i>Nanofibras poliméricas condutoras</i>	35
2.2.1.2.1.	Polímero isolante: matriz	35
2.2.1.2.2.	Polímero condutor: carga dispersa ou revestimento	36
2.2.2	Nanopartículas (NPs) metálicas	39
2.3	DOPAMINA (DA).....	40
2.4	EMPREGO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS MODIFICADOS PARA DETECÇÃO DE DOPAMINA.....	41
3	METODOLOGIA	44
3.1	REAGENTES, SOLUÇÕES E AMOSTRAS.....	44
3.2	PROCESSO DE FABRICAÇÃO.....	46
3.2.1	Eletrodo impresso	46
3.2.2	Síntese do polipirrol (PPy)	48
3.2.3	Nanofibras (NFs) de PLA e PLA/PPy	49
3.2.4	Nanopartículas de ouro (NPs-Au)	51
3.3	CARACTERIZAÇÃO	52
3.3.1	Morfologia e propriedades físico-químicas dos materiais modificadores 52	
3.3.1.1.	<i>Microscopia Ótica (MO)</i>	52
3.3.1.2.	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM – Scanning Electron Microscopy)</i>	52

3.3.1.3.	<i>Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM – Transmission Electron Microscopy)</i>	53
3.3.1.4.	<i>Espectroscopia de Infravermelho</i>	53
3.3.1.5.	<i>Espectroscopia no Ultravioleta-Visível (UV-Vis)</i>	53
3.3.2	Propriedades eletroquímicas	54
3.3.2.1.	<i>Voltametria de pulso diferencial (DPV – Differential Pulse Voltammetry)</i>	54
3.3.2.2.	<i>Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS – Electrochemical Impedance Spectroscopy)</i>	54
3.3.2.3.	<i>Voltametria Cíclica (CV – Cyclic Voltammetry)</i>	55
3.3.3	Otimização da metodologia e avaliação da aplicabilidade do sensor obtido	55
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1	MODIFICAÇÃO DO ELETRODO COM NANOFIBRAS DE PLA/PPy.	57
4.1.1	Avaliação dos parâmetros de eletrofição – NFs de PLA.....	57
4.1.2	Espectroscopia de Infravermelho (FTIR-ATR)	58
4.1.3	Avaliação do PPy e do PPy.DBSA como modificadores	59
4.1.4	Avaliação da porcentagem mássica de PPy.DBSA.....	62
4.1.5	Otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial	65
4.1.5.1.	<i>Amplitude de pulso</i>	65
4.1.5.2.	<i>Incremento de potencial</i>	67
4.1.5.3.	<i>Velocidade de varredura</i>	68
4.1.6	Otimização da etapa de pré-condicionamento.....	70
4.1.6.1.	<i>Tempo de pré-condicionamento</i>	70
4.1.6.2.	<i>Potencial de pré-condicionamento</i>	71
4.2	MODIFICAÇÃO COM NANOPARTÍCULAS DE OURO.....	73
4.2.1	Síntese das NPs-Au	73
4.2.1	Modificação dos eletrodos com NPs-Au	74
4.2.2	Avaliação dos eletrodos por EIS e CV	75
4.2.3	Influência do pH da solução	77
4.2.4	Curva de calibração para a DA em solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0)	78
4.2.5	Estudo de estabilidade e reprodutibilidade dos eletrodos modificados	80
4.2.6	Estudo de interferentes – ácido úrico e ácido ascórbico	81

4.2.7	Aplicabilidade do sensor obtido – Detecção de DA em fluido biológico simulado	83
5	CONCLUSÃO	86
	REFERÊNCIAS	88

1 INTRODUÇÃO

Os métodos instrumentais clássicos empregados para analisar sistemas complexos (como fluidos biológicos) se baseiam na coleta, transporte e pré-tratamento das amostras, envolvendo altos custos e longo tempo de operação. Além disso, os equipamentos utilizados são geralmente caros, dependem de uma grande infraestrutura laboratorial e de pessoal qualificado para operá-los (ARDUINI et al., 2017; SKOOG et al., 2014). Sendo assim, há mais de 50 anos, pesquisadores dedicam-se ao desenvolvimento de dispositivos portáteis e de baixo custo, de modo que as análises possam ser realizadas diretamente no local de coleta (*in loco*), com adequada precisão (BHALLA et al., 2016).

O uso de sensores químicos é um dos que mais tem chamado a atenção devido a sua facilidade de uso e versatilidade. Resumidamente, um sensor é um dispositivo capaz de responder a um estímulo externo e transformá-lo em um sinal mensurável (BHALLA et al., 2016; RONKAINEN; HALSALL; HEINEMAN, 2010). Entretanto, podem apresentar baixa sensibilidade, seletividade, reprodutibilidade e estabilidade. Ademais, em alguns casos, o custo associado aos sensores comerciais é mais um limitante da sua empregabilidade, sem mencionar as dificuldades de transladar os conhecimentos científicos obtidos dentro do ambiente acadêmico para protótipos comercialmente viáveis (BHALLA et al., 2016).

Com o intuito de diminuir os custos de fabricação, a técnica da serigrafia foi desenvolvida e consiste em aplicar uma tinta condutora sobre um substrato através de uma máscara contendo os principais componentes do sensor (CAMARGO et al., 2021; WANG et al., 1998). A serigrafia é econômica, simples e versátil, pois permite a obtenção de eletrodos impressos miniaturizados com propriedades moduladas de acordo com a composição da tinta (CAMARGO et al., 2021).

Os eletrodos impressos podem ser modificados com nanomateriais a fim de aprimorar o seu desempenho analítico, uma vez que a resposta de um eletrodo está diretamente associada à sua área eletroativa. As nanofibras (NFs) e as nanopartículas (NPs), por exemplo, são consideradas boas candidatas devido à sua elevada área de superfície específica, permitindo uma maior interação entre eletrodo e analito (BANITABA; EHRMANN, 2021; DOS SANTOS et al., 2020). De acordo com a composição desses modificadores, os processos de adsorção química e física são favorecidos, além de facilitarem a transferência de carga na interface eletrodo-solução (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; WANG et al., 2021).

As NFs podem ser obtidas por eletrofição via solução, uma técnica que permite produzir estruturas de diferentes materiais com diâmetros submicrométricos a partir da variação dos parâmetros de processamento e de solução (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; HUANG et al., 2003). Para a aplicação em sensores eletroquímicos, as NFs devem apresentar características condutoras. Neste caso, o uso de polímeros intrinsecamente condutores (PICs) tem se destacado devido à sua estabilidade química e condutividade elétrica controlável de acordo com o método de polimerização e dopante utilizados (WANG et al., 2021). O polipirrol (PPy), em especial, também é capaz de proteger os eletrodos de incrustações e interferentes (como ânions eletroativos) (MALHOTRA; CHAUBEY; SINGH, 2006; RAMANAVIČIUS; RAMANAVIČIENE; MALINAUSKAS, 2006). Porém, devido à sua estrutura rígida em função dos anéis aromáticos, baixa solubilidade em solventes orgânicos e baixa massa molar (comparado aos polímeros termoplásticos, como PLA, PEO e PA6), o PPy é dificilmente eletrofiável em sua forma pura (BAGHERZADEH et al., 2017; WANG et al., 2021).

As estratégias mais comuns para produção de NFs condutoras consistem em utilizar um polímero isolante facilmente eletrofiável como veículo ou *template* (WANG et al., 2021). No primeiro caso, o PPy é previamente polimerizado em forma de pó e inserido na solução polimérica para a obtenção de NFs compósitas. Outra opção é realizar a eletrofição das NFs com o polímero isolante puro e modificá-las com uma fina camada de PIC ou NPs metálicas (BAGHERZADEH et al., 2017; SCHNEIDER et al., 2021).

Na literatura, é possível encontrar mais de 50 tipos de polímeros que foram eletrofiados com êxito. No caso dos sensores, os polímeros devem apresentar estabilidade química, capacidade de funcionalização, além de serem preferencialmente pouco solúveis em água (HUANG et al., 2003; WANG et al., 2021). O poli(ácido láctico) (PLA) tem chamado a atenção pelo seu baixo custo, biocompatibilidade, biodegradabilidade e fácil processabilidade, além de ser proveniente de fontes naturais (JAMSHIDIAN et al., 2010). Portanto, é considerado um polímero “verde” para o desenvolvimento de sensores (GISBERT ROCA et al., 2021).

Diversos trabalhos desenvolveram compósitos condutores à base de PLA/PPy. Wan e Wen (2005) desenvolveram membranas porosas pela técnica de separação de fase, obtendo um material cuja condutividade chegou a $10^{-3} \text{ S cm}^{-1}$ (WAN; WEN, 2005). Yu et al. (2011) produziram microfibras de PLA revestidas com PPy, combinando as técnicas de eletrofição e polimerização *in situ*. Com os parâmetros otimizados, foi possível obter membranas com condutividades de até 179 S cm^{-1} (YU; DAI; LAN, 2011). Gisbert Roca et al. (2021) compararam membranas densas e eletrofiadas de PLA revestidas com PPy. O aumento da área de superfície com as NFs proporcionou uma maior deposição de PPy, resultando em um

aumento significativo da condutividade elétrica do material final (GISBERT ROCA et al., 2021). Estes trabalhos são apenas alguns exemplos indicando que compósitos à base de PLA/PPy possuem elevado potencial para aplicações em sensores nanoestruturados, dado sua condutividade elétrica e elevada área de superfície específica. Apesar disso, a aplicação de NFs em sensores eletroquímicos é recente e ainda necessita de muita pesquisa e compreensão (COSTA et al., 2012a; WANG et al., 2021).

Na literatura, é possível encontrar trabalhos que realizaram a modificação das NFs com NPs metálicas. As NPs de ouro (NPs-Au), em especial, têm sido extensivamente exploradas na aplicação de sensores eletroquímicos para detecção de dopamina (DA), graças à sua excelente condutividade e amplificação de sinal, além de facilitarem os processos de transferência de elétrons. Devido à sua elevada área de superfície específica, alinhada com elevada reatividade, as NPs-Au apresentem efeito eletrocatalítico para a oxidação da DA (LAKARD; PAVEL; LAKARD, 2021; SAJID et al., 2016).

Baseado neste contexto, esta dissertação teve como principal objetivo o desenvolvimento de um sensor impresso modificado com NFs eletrofiadas à base de PLA e PPy, sendo posteriormente modificadas com NPs-Au. A morfologia das NFs foi investigada de acordo com os parâmetros de solução e de processo. Já as propriedades eletroquímicas do sensor modificado foram determinadas em termos de sensibilidade e seletividade para a DA em solução tampão fosfato de sódio e em amostra de urina simulada.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Esta dissertação de mestrado teve como objetivo desenvolver sensores impressos modificados com nanofibras poliméricas para determinação de dopamina por voltametria de pulso diferencial em amostra biológica simulada.

1.1.2 Objetivos específicos

A fim de atingir o objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram propostos:

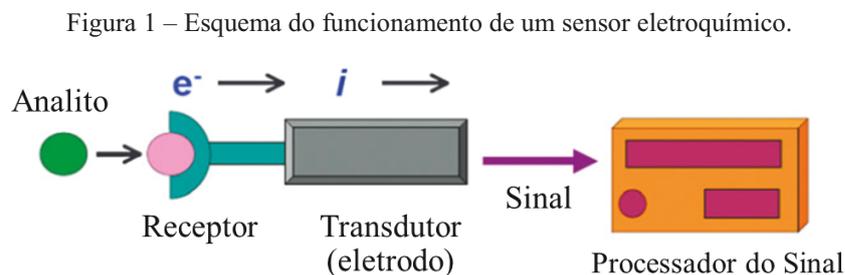
- Determinar o desenho mais adequado para o eletrodo impresso, visando sua posterior modificação;
- Produzir tinta condutora à base de carbono e aplicá-la na obtenção de eletrodos impressos;
- Selecionar a melhor estratégia para modificação do eletrodo impresso de carbono (produzido em laboratório) com as nanofibras eletrofiadas;
- Investigar a influência dos parâmetros de processo e da composição da solução polimérica de PLA (pura e modificada com PPy) na morfologia das nanofibras obtidas;
- Avaliar a influência do uso do surfactante ácido dodecil benzeno sulfônico (DBSA) no processo de síntese do PPy sobre as propriedades eletroquímicas do sensor modificado;
- Analisar as propriedades eletroquímicas do sensor modificado com as nanofibras compósitas (PLA/PPy) em função da concentração de PPy adicionado à solução e identificar a concentração ótima de PPy;
- Investigar o uso de NPs-Au sobre as nanofibras eletrofiadas de PLA/PPy e avaliar as propriedades eletroquímicas quando comparado com as nanofibras compósitas (PLA/PPy);
- Avaliar a sensibilidade e seletividade do sensor modificado para a detecção de dopamina na presença de potenciais interferentes;
- Avaliar a aplicabilidade do sensor proposto para quantificação de dopamina em amostras de urina simulada.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 SENSORES ELETROQUÍMICOS

Sensores, de modo geral, são definidos como “dispositivos que detectam e respondem a um sinal ou estímulo”, normalmente transformando essa informação em um sinal mensurável, geralmente elétrico (BHALLA et al., 2016; RONKAINEN; HALSALL; HEINEMAN, 2010). O estímulo externo pode ter diferentes origens (físicas, químicas ou bioquímicas), e é o que vai determinar o tipo de sensor utilizado (HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991). De modo geral, estes dispositivos são miniaturizados, permitindo portabilidade e aplicação *in loco*, altamente sensíveis e específicos. Os sensores químicos, em especial, foram desenvolvidos para o controle de sistemas complexos, como na detecção e monitoramento de diversos tipos de analitos nos setores agrícola, alimentício, tratamento de águas e efluentes, análises biomédicas, entre outros (BHALLA et al., 2016; RONKAINEN; HALSALL; HEINEMAN, 2010).

Dentre os tipos de sensores químicos, uma das classes que mais tem chamado a atenção devido à sua sensibilidade e confiabilidade são os sensores eletroquímicos, os quais recebem esta denominação em razão de empregarem transdutores eletroquímicos. Neste caso, são detectados os efeitos provenientes de uma reação química ou de uma resposta física entre o analito e o eletrodo, podendo ou não ser estimulados eletricamente (BHALLA et al., 2016; HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991). Um esquema do funcionamento de um sensor eletroquímico é apresentado na Figura 1.

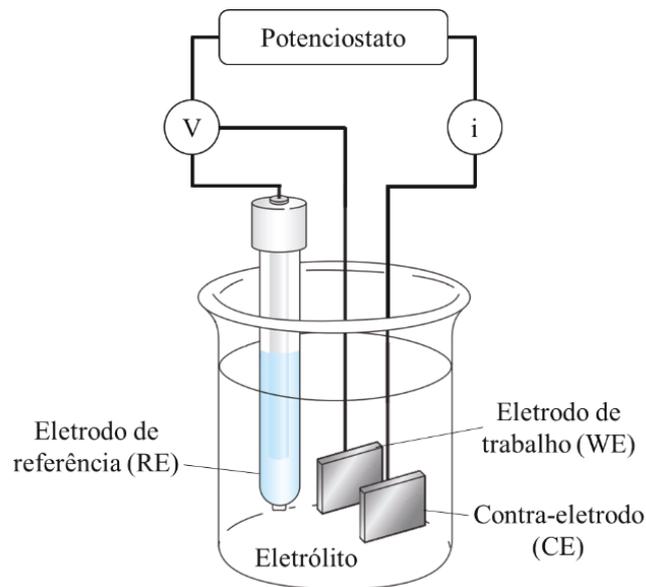


Fonte: Adaptado de Ronkainen et al. (2010).

Os sensores eletroquímicos, tal como as células eletroquímicas clássicas (Figura 2), podem operar com dois ou três eletrodos imersos dentro de um líquido condutor iônico (eletrólito). O eletrodo de trabalho (WE, do inglês *working electrode*) deve apresentar uma adequada área ativa, boa estabilidade química e larga faixa de potencial de trabalho, pois é na sua superfície que os processos envolvendo o(s) analito(s) vão ocorrer. Já o contra-eletrodo

(CE), empregado em sistemas com passagem de corrente, possui como função estabelecer uma conexão elétrica com o eletrodo de trabalho através do eletrólito, de modo a não comprometer a estabilidade e integridade do eletrodo de referência (RE, do inglês *reference electrode*), cujo potencial deve ser conhecido e mantido constante (BARD et al., 2001; CESEWSKI; JOHNSON, 2020; SKOOG et al., 2014).

Figura 2 – Esquema representativo de uma célula eletroquímica clássica, com sistema de três eletrodos, onde o eletrodo de trabalho (WE), o contra-eletrodo (CE) e o eletrodo de referência (RE) estão imersos em um eletrólito.



Fonte: Adaptado de Skoog et al. (2014).

2.1.1 Técnicas eletroquímicas de medida

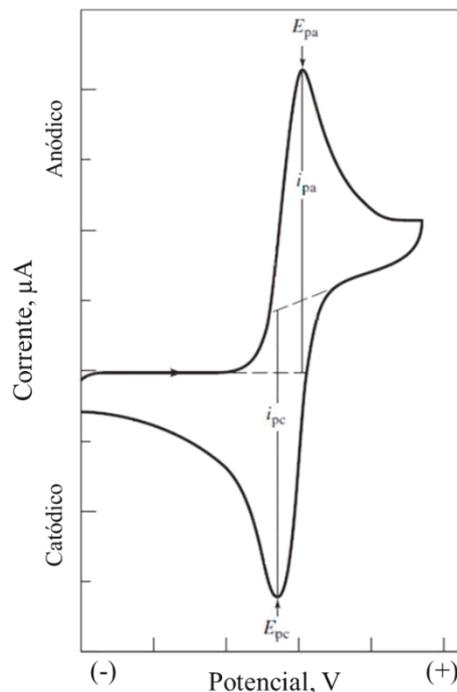
Os sensores eletroquímicos podem operar de formas diferentes, de acordo com o método eletroquímico empregado (HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991; THÉVENOT et al., 2001):

- a. Amperométrico/voltamétrico: consiste em medir a corrente gerada a partir de uma reação de oxirredução que pode ser controlada pela aplicação de potencial elétrico (fixo ou varredura);
- b. Potenciométrico: neste caso não há fluxo de corrente (método estático). Portanto, mede-se a diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho (detector) e o de referência;
- c. Condutimétrico: acompanha a mudança da condutividade do eletrólito, uma vez que se altera devido à produção ou ao consumo de espécies iônicas.

Os sensores que utilizam técnicas voltamétricas são muito interessantes pois a corrente é medida em função da área eletroativa do eletrodo, indicando a transferência de elétrons que ocorre entre esta e o analito. A corrente gerada numa reação redox pode então ser correlacionada à concentração de espécies em solução analisada (amostra). Neste caso, os sensores eletroquímicos servem não apenas para identificar as espécies envolvidas na reação, mas também para quantificá-las (CESEWSKI; JOHNSON, 2020; SKOOG et al., 2014).

Dentre as técnicas voltamétricas existentes, a voltametria cíclica (CV) é muito utilizada para os estudos iniciais do comportamento eletroquímico de sistemas complexos, sendo útil na detecção de contaminantes químicos e biológicos (CESEWSKI; JOHNSON, 2020). Consiste em aplicar um potencial elétrico em função do tempo nas direções direta e reversa em ciclos parciais. A corrente elétrica é medida em função do potencial aplicado, obtendo-se um voltamograma (corrente *versus* potencial, Figura 3), a partir do qual são observados os potenciais de pico catódico e anódico (E_{pc} e E_{pa}) e as correntes de pico catódica e anódica (I_{pc} e I_{pa}) (BARD et al., 2001; SKOOG et al., 2014).

Figura 3 – Voltamograma cíclico para uma solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ em KNO_3 .
 E_{pc} e E_{pa} : potenciais de pico catódico e anódico; I_{pc} e I_{pa} : correntes de pico catódico e anódico.



Fonte: Adaptado de Skoog et al. (2014).

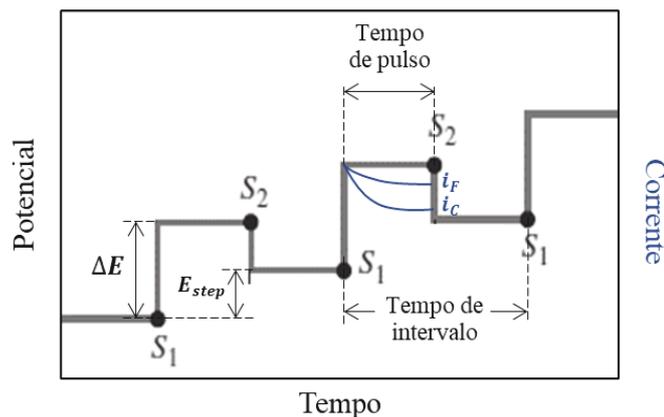
Além disso, a CV também permite avaliar o desempenho do sensor eletroquímico frente às modificações químicas e estruturais. Processos de oxirredução que ocorrem na superfície do eletrodo de trabalho podem ser avaliados, quanto à reversibilidade, pelas correntes

de pico de uma sonda redox em função da velocidade de varredura, razão das correntes de pico anódico e catódico (I_{pa}/I_{pc}) e separação entre potenciais de pico ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$). À medida que ΔE_p diminui, mais reversível torna-se o processo redox, indicando um sistema termodinamicamente mais favorecido. Outro indicativo do melhor desempenho do sensor eletroquímico está relacionado à intensidade de corrente, a qual aumenta com o aumento da transferência de elétron, ou seja, é dependente da cinética do processo (BARD et al., 2001; KOYUN et al., 2017).

Outras técnicas que devem ser destacadas são as voltametrias pulsadas, como a voltametria de pulso diferencial (DPV), que possui como principal vantagem a alta sensibilidade, sendo muito empregada na determinação de íons metálicos e neurotransmissores (LAKARD; PAVEL; LAKARD, 2021). A DPV consiste em aplicar pulsos de baixa amplitude (ΔE entre 10 e 100 mV) em forma de escada de potencial (E_{step}). Cada pulso é aplicado por um determinado tempo, chamado de tempo de pulso, dentro de um tempo de intervalo, como indica a representação da Figura 4 (BARD et al., 2001). O tempo de intervalo (t_{int}) e o incremento de potencial (E_{step}) influenciam na velocidade de varredura (v) da medida, e esta pode ser calculada a partir da Equação 1:

$$v \text{ (mV s}^{-1}\text{)} = \frac{E_{step} \text{ (mV)}}{t_{int} \text{ (s)}} \quad (\text{Equação 1})$$

Figura 4 – Representação da aplicação de potencial em função do tempo para DPV em instrumentos digitais. A corrente é medida em S1 e S2, e calculada a diferença $i = i_{S2} - i_{S1}$.



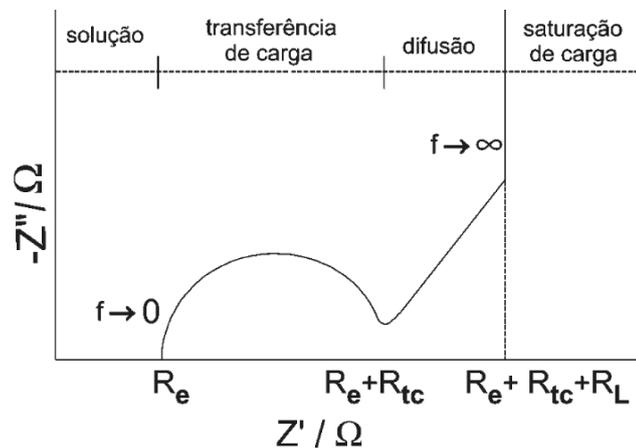
Fonte: Adaptado de Skoog et al. (2014).

A corrente resultante é medida antes (S1) e após (S2) a aplicação de cada pulso, sendo subtraídas posteriormente ($i = i_{S2} - i_{S1}$), a fim de minimizar a contribuição da corrente capacitiva (i_C) que diminui exponencialmente, pois esta não depende da concentração do analito (SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003), permitindo a obtenção de voltamogramas bem definidos e,

geralmente, simétricos. Isto torna-se uma vantagem especialmente quando o analito está presente em uma amostra complexa com possíveis interferentes. Os picos de oxidação e redução de cada molécula, pelo fato de serem bem definidos, podem ser distinguidos com mais facilidade pela DPV (LAKARD; PAVEL; LAKARD, 2021).

Além das técnicas voltamétricas, a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) pode ser utilizada para estudar as propriedades intrínsecas de um material, assim como processos específicos que ocorrem na superfície de um eletrodo (CESEWSKI; JOHNSON, 2020). Deste modo, permite acompanhar as mudanças que ocorrem na interface eletrodo-solução, como a resistência à transferência de carga (R_{tc}), bem como avaliar os efeitos de transporte de massa. A EIS é uma técnica que trabalha no domínio da frequência, e consiste em aplicar um potencial alternado com baixa amplitude, cuja corrente de sinal senoidal é medida. Quanto à representação gráfica, esta pode ser gerada de duas formas principais. O gráfico de Nyquist relaciona a parte imaginária da impedância ($-Z''$) em função da parte real (Z'), conforme indica a Figura 5. Já o gráfico de Bode relaciona o ângulo de fase em função da frequência (BARD et al., 2001; CARVALHO; ANDRADE; BUENO, 2006).

Figura 5 – Gráfico de Nyquist, indicando os diferentes valores de resistência associados a cada elemento do sistema. R_e : resistência da solução eletrolítica; R_{tc} : resistência à transferência de carga na interface; R_L : resistência limite.



Fonte: Adaptado de Carvalho et al. (2006).

Tipicamente, as reações redox que ocorrem na interface eletrodo-solução referentes ao(s) analito(s) são empregadas para estudos eletroquímicos e determinações analíticas diretas. No caso dos analitos não serem eletroativos, pode-se fazer uso de uma sonda redox, que permite a realização de determinações indiretas. Devido à sua alta reversibilidade e picos bem definidos, o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ tem sido amplamente investigado como uma sonda padrão em estudos eletroquímicos e aplicações quantitativas em diversos sensores. Além disso, permite a

investigação do eletrodo desenvolvido e/ou modificado, e a comparação com demais trabalhos (CESEWSKI; JOHNSON, 2020).

2.1.2 Eletrodos impressos

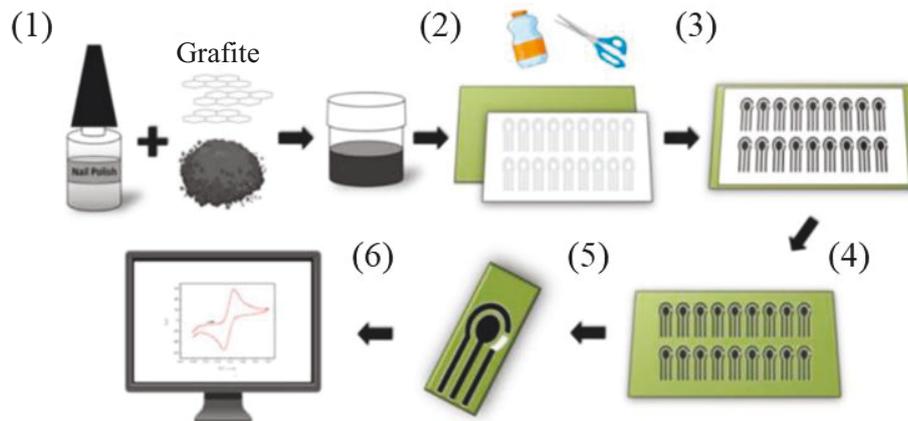
Os sensores eletroquímicos impressos podem ser produzidos por diferentes técnicas e materiais. Dentre as técnicas mais econômicas e que permitem a produção em larga escala, destaca-se a impressão por serigrafia (ARDUINI et al., 2017). Além do baixo custo, esta técnica não gera muito desperdício de matéria-prima e é versátil, possibilitando o desenvolvimento de dispositivos miniaturizados, portáteis e, em alguns casos, flexíveis e com transparência ótica (CAMARGO et al., 2021). Basicamente, o processo consiste em aplicar uma tinta condutora através de uma máscara sobre um suporte plano (cerâmico, polimérico ou vítreo). A máscara contém o gabarito/molde de todos os eletrodos (WE, CE e RE) e, por meio de um único movimento, a tinta é transferida para o substrato. Após a cura adequada da tinta, obtém-se o eletrodo impresso (SPE, do inglês *screen-printed electrode*) (WANG et al., 1998).

A tinta é constituída por três elementos principais: partículas condutoras, agente ligante e solvente. Além disso, pode levar alguns aditivos para melhorar a dispersão das partículas ou a adesão sobre o substrato. Para a impressão do eletrodo de trabalho e contra-eletrodo, podem ser utilizadas partículas metálicas (platina, ouro, prata ou cobre) ou, mais comumente, materiais à base de carbono, como o grafite, o grafeno e os nanotubos de carbono. Já o pseudo-eletrodo de referência, este pode ser impresso com uma tinta de prata ou de prata/cloreto de prata. De acordo com a composição e as condições de cura, o sensor impresso poderá apresentar desempenho eletroquímico diferente (CAMARGO et al., 2021; WANG et al., 1998).

Tendo em vista o desenvolvimento desta tecnologia no decorrer dos anos, é possível encontrar tintas condutoras comerciais, em geral importadas. Entretanto, o alto custo associado levou os pesquisadores a desenvolverem suas próprias tintas em laboratório. Além de serem fáceis de produzir, podem ser formuladas de acordo com a aplicação desejada. No caso da escolha das partículas condutoras, os materiais à base de carbono apresentam maiores vantagens sobre as demais, pois apresentam custo relativamente baixo (em especial, o grafite) e possibilitam a obtenção de sensores com amplas janelas de potencial e com baixa corrente de fundo. Ademais, são mais estáveis e menos susceptíveis a processos de oxidação, quando comparados aos metais. Outra característica interessante é a biocompatibilidade que as tintas de carbono apresentam, em especial para sensores vestíveis que entram em contato direto com

a pele humana (CAMARGO et al., 2021; DE OLIVEIRA et al., 2020; WANG et al., 1998). A Figura 6 apresenta um fluxograma do procedimento de impressão de eletrodos à base de carbono, cuja tinta foi produzida em laboratório.

Figura 6 – Fluxograma do processo de impressão de eletrodos por serigrafia. (1) obtenção da tinta condutora; (2) corte e colagem da máscara sobre o substrato; (3) distribuição da tinta ao longo do molde; (4) remoção da máscara; (5) recorte dos sensores impressos em unidades individuais; (6) eletrodos prontos para uso.



Fonte: Adaptado de Camargo et al. (2021).

Os eletrodos impressos são frequentemente empregados no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. Pelo fato de serem miniaturizados e portáteis, podem ser utilizados de forma remota e pelo próprio usuário. Sendo assim, não necessitam de um laboratório para realizar a análise da amostra coletada, cujas técnicas clássicas usualmente empregadas são invasivas e morosas. Estes dispositivos são considerados sistemas de análise de baixo custo e, em geral, podem ser utilizados sem a necessidade de preparação das amostras (CESEWSKI; JOHNSON, 2020; THÉVENOT et al., 2001).

2.1.3 Materiais para eletrodos impressos

Os materiais que compõem os eletrodos devem apresentar boas propriedades elétricas e estabilidade química, a fim de que não participem de modo indesejado das reações que ocorrem no sistema de análise. Para os sensores eletroquímicos, os eletrodos de trabalho são geralmente construídos de metais inertes, como platina e ouro, ou de carbono. Também podem ser encontrados eletrodos à base de semicondutores (em especial, silício), polímeros condutores (por exemplo, polianilina e polipirrol) e compósitos. No caso dos sensores, em especial quando utilizados em contato com tecidos vivos ou fluidos corporais, o material deve apresentar

propriedades biocompatíveis e bioestáveis. Além disso, devem apresentar preferencialmente elevada área ativa, uma vez que este fator influencia diretamente na resposta do dispositivo de detecção (CESEWSKI; JOHNSON, 2020; THÉVENOT et al., 2001).

Sabendo que a sensibilidade do dispositivo está associada a área de superfície do eletrodo de trabalho, os materiais nanoestruturados (nanopartículas, nanotubos, nanofios ou nanofibras) têm despertado o interesse de pesquisadores (ARDUINI et al., 2017). Isso se dá pelo fato de que suas dimensões estão na ordem do nanômetro (sendo 1 nm igual a 10^{-9} m), permitindo a otimização da área ativa do eletrodo. Além disso, o uso de nanoestruturas facilita a transferência de elétrons entre o analito e o eletrodo, e, conseqüentemente, aumenta a intensidade da corrente resultante (CESEWSKI; JOHNSON, 2020).

Dentre as diferentes nanoestruturas disponíveis, as nanofibras são consideradas boas candidatas para sensores ultrasensíveis, já que possuem razão área-volume elevada, permitindo uma maior sensibilidade e resposta rápida quando comparadas a sensores planares (HUANG et al., 2003). Portanto, devido às suas características morfológicas, é uma das formas de nanomaterial mais investigadas no momento. As nanofibras apresentam grande área de superfície, considerável razão de aspecto e flexibilidade, permitindo os processos de transferência de carga (a depender da sua composição) e favorecendo os processos de adsorção química e física (BAGHERZADEH et al., 2017; BHARDWAJ; KUNDU, 2010; WANG et al., 2021).

2.2 MODIFICADORES NANOESTRUTURADOS

2.2.1 Nanofibras (NFs)

Geralmente, as propriedades das nanofibras mudam significativamente quando comparadas às microfibras (diâmetro entre 10 e 100 μm) devido aos seus diâmetros reduzidos (em geral, entre 300 e 800 nm). Por exemplo, a razão área-volume das NFs pode ser até 10^3 vezes maior do que a das microfibras, apresentando maior flexibilidade e facilidade de funcionalização de superfície (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; HUANG et al., 2003).

Diferentes abordagens podem ser utilizadas para a fabricação de nanofibras, como eletrofiação (*melt* ou *solution electrospinning*), fiação a sopro (*melt* ou *solution blowspinning*), por separação de fase ou através de gabaritos (*template synthesis*). Porém, o método mais utilizado industrialmente é a eletrofiação via solução, por ser a técnica mais versátil e capaz de produzir fibras submicrométricas de diferentes materiais (metálicos, cerâmicos ou poliméricos).

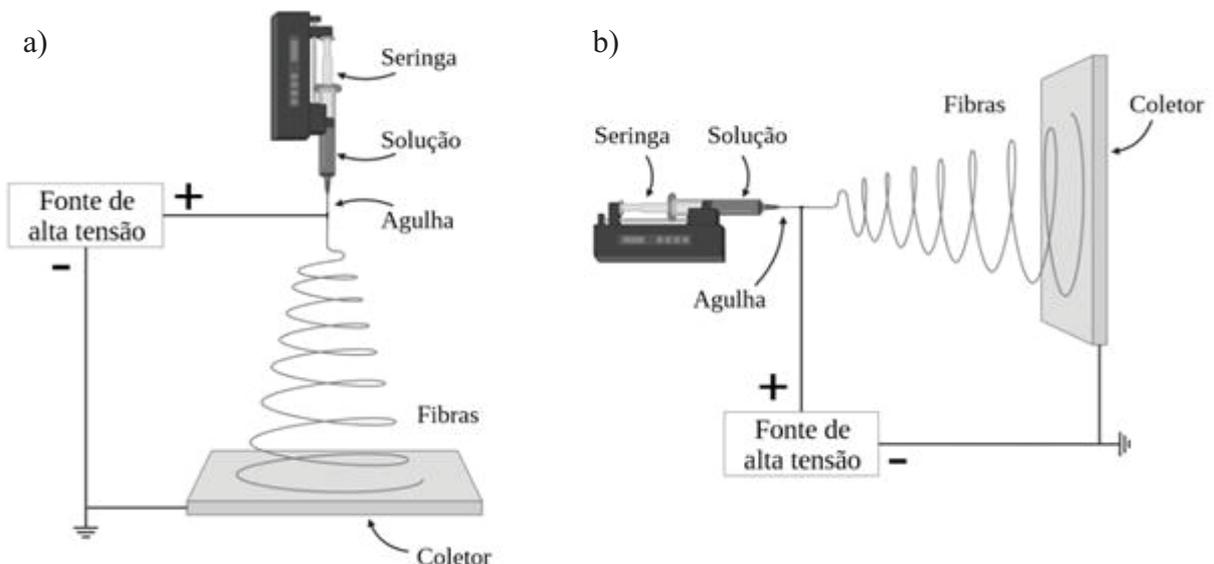
Esta técnica permite a produção de fibras contínuas, cuja morfologia e funcionalidades podem ser ajustadas conforme a aplicação (AFSHARI, 2017; HUANG et al., 2003).

2.2.1.1. Eletrofiiação

Apesar do termo “*electrospinning*” ser recente, a técnica foi fundamentada há cerca de 80 anos, quando um experimento permitiu a formação de finos filamentos a partir da aplicação de forças eletrostáticas em uma solução polimérica. De forma resumida, o processo consistiu em aplicar uma diferença de potencial entre um eletrodo imerso dentro da solução e um coletor metálico, provocando a ejeção de um jato de solução através de um pequeno buraco. A distância entre este e o coletor permitiu a evaporação do solvente e a formação de fibras sólidas sobre o coletor. Entretanto, somente na década de 80 que o processo recebeu maior atenção, provavelmente devido ao interesse crescente no campo da nanotecnologia. Além disso, trata-se de uma técnica que permite a fabricação de uma grande variedade de fibras poliméricas, cujos diâmetros estão na faixa submicrométrica (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; COSTA et al., 2012a; HUANG et al., 2003).

A eletrofiiação necessita de três componentes fundamentais: uma fonte de alta tensão, um tubo capilar conectado a um reservatório e um coletor metálico (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). A Figura 7 apresenta um desenho esquemático do aparato utilizado no processo.

Figura 7 – Esquema do aparato utilizado no processo de eletrofiiação a partir de solução polimérica: a) eletrofiador vertical e b) horizontal.



Fonte: Autora. Criado em BioRender.com.

Na ponta do capilar (geralmente uma agulha metálica), uma gota é formada devido à tensão superficial do líquido. Ao aplicar uma alta diferença de potencial entre a ponta da agulha e o coletor, o acúmulo de cargas na superfície do líquido gera uma força oposta à tensão superficial, provocando a formação do cone de Taylor. A partir do momento em que a força do campo elétrico é superior à tensão superficial, ocorre a ejeção do fluido carregado, cuja instabilidade provoca o estiramento das NFs. Este processo permite a redução na área da secção transversal, a qual pode variar de 10 nm até centenas de micrômetros. No caso de NFs poliméricas, a orientação das cadeias na direção longitudinal da fibra pode aumentar a cristalinidade (COSTA et al., 2012a; HUANG et al., 2003).

As NFs podem ser fabricadas com diferentes materiais, desde que estes possam ser solubilizados ou fundidos, o que determina o tipo de processo a ser empregado. Uma atenção especial será dada às técnicas de fabricação de nanofibras poliméricas, uma vez que apresentam maior interesse ao tema de estudo. A eletrofiação a partir da fusão (*melt electrospinning*) é principalmente utilizada para polímeros termoplásticos e, como o próprio nome indica, consiste em aquecer o polímero até o ponto de fusão, a fim de que a viscosidade seja a menor possível para não interferir significativamente na formação das NFs e facilitar o estiramento das mesmas. Este processo é preferido em alguns casos, em especial quando a toxicidade dos solventes orgânicos (utilizados para solubilizar os polímeros) pode comprometer a aplicação do produto final (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; NAYAK; PADHYE; ARNOLD, 2017). Entretanto, esse inconveniente por ser eliminado com longos tempos de secagem após a eletrofiação, de modo a extrair completamente o solvente das NFs (GISBERT ROCA et al., 2021; YU; DAI; LAN, 2011; ZHAO et al., 2019).

Sendo assim, a eletrofiação via solução (*solution electrospinning*) é preferida, pois não necessita de aquecimento, permitindo a fabricação de nanofibras em temperatura ambiente. Trata-se de uma técnica versátil, uma vez que pode ser utilizada para qualquer tipo de polímero termoplástico desde que o solvente seja adequado (HUANG et al., 2003). O solvente, por sua vez, deve apresentar boa volatilidade para evaporar antes da deposição das nanofibras sobre o coletor. Esta técnica consiste em solubilizar o polímero (nesta etapa, pode haver aquecimento para acelerar o processo), cuja solução é, em seguida, transferida para a seringa que será posicionada no equipamento de eletrofiação. Devido à alta resistividade elétrica das soluções poliméricas, fator limitante que afeta significativamente a qualidade das fibras obtidas, dezenas de quilovolts (kV) são necessários para produzi-las (COSTA et al., 2012a; SALAS, 2017).

A partir destas informações, abaixo são destacados os parâmetros que interferem na eletrofiação via solução polimérica. A Tabela 1 apresenta os efeitos destes parâmetros na morfologia das nanofibras (BHARDWAJ; KUNDU, 2010).

- a. Parâmetros do polímero e da solução: estão ligados às propriedades do polímero/solução como massa molar, viscosidade, concentração, condutividade elétrica, polaridade e tensão superficial do solvente;
- b. Parâmetros do processo: relacionados às condições de eletrofiação, como tensão aplicada, distância ponta da agulha e coletor, tipo de coletor, diâmetro da ponta da seringa e taxa de alimentação;
- c. Parâmetros do ambiente: umidade e temperatura.

Tabela 1 – Efeitos dos parâmetros da solução, do processo e do ambiente na morfologia das nanofibras poliméricas obtidas por eletrofiação.

Parâmetros	Efeito na morfologia das fibras	
Solução	Viscosidade	Baixa: formação de <i>beads</i> (aglomerados de polímero) Alta: diâmetro maior, desaparecimento de <i>beads</i>
	Concentração do polímero	Aumenta o diâmetro com o aumento da concentração
	Massa molar	Redução de <i>beads</i> com o aumento da massa molar
	Condutividade	Diminui o diâmetro com o aumento da condutividade
	Tensão superficial	Sem conclusões sobre a morfologia, mas o aumento da tensão resulta em maior instabilidade do jato
Processo	Tensão aplicada	Diminui o diâmetro com o aumento da tensão
	Distância agulha-coletor	Evaporação incompleta do solvente para distâncias muito próximas, ocorrendo junção das fibras Formação de <i>beads</i> para distâncias muito grandes
	Taxa de vazão	Diminui o diâmetro com a diminuição da taxa de vazão; formação de <i>beads</i> para taxas muito altas
Ambiente	Umidade	Alta: fibras com poros circulares, reduz evaporação do solvente
	Temperatura	Diminui o diâmetro com o aumento da temperatura

Fonte: Adaptado de Bhardwaj e Kundu (2010).

Os polímeros termoplásticos usualmente empregados na eletrofiação são isolantes eletricamente. Porém, como mencionado anteriormente, os materiais utilizados em sensores devem apresentar boas propriedades condutoras. Portanto, este requisito precisa ser levado em consideração no desenvolvimento de NFs para esta finalidade (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). A fim de conferir condutividade elétrica a estas nanoestruturas, diferentes abordagens são possíveis. Uma delas baseia-se na utilização de polímeros intrinsecamente condutores (PICs),

os quais são facilmente sintetizados e apresentam condutividade controlável de acordo com o estado dopado (BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014). Porém, os PICs apresentam baixa solubilidade em solventes comuns e são difíceis de eletrofiar devido ao seu baixo peso molecular (GRANATO et al., 2009). Ademais, apresentam estrutura rígida em função dos anéis aromáticos, impossibilitando a formação de fibras contínuas e flexíveis (BAGHERZADEH et al., 2017; WANG et al., 2021).

Uma alternativa para solucionar este problema é utilizar um polímero isolante facilmente eletrofiável como veículo, a fim de facilitar o processamento, e incluir nanopartículas condutoras na solução como carga (BAGHERZADEH et al., 2017; GRANATO et al., 2009). Estas nanocargas, além de fornecerem as propriedades elétricas necessárias, também podem auxiliar no processo de eletrofiação em si, uma vez que aumentam a condutividade iônica da solução (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). Estudos mostram que o aumento da densidade de carga favorece um maior alongamento das nanofibras submetidas ao campo elétrico. Como resultado, tem-se fibras com diâmetros menores e livres de *beads* (BAGHERZADEH et al., 2017; HUANG et al., 2003). A principal dificuldade encontrada neste método está relacionada à dispersão das nanocargas se adicionadas em altas quantidades. De modo geral, as nanopartículas apresentam alta energia de superfície, levando à formação de aglomerados de partículas. Como consequência, o processo torna-se dificultoso, uma vez que causa instabilidade no jato da solução polimérica (MERLINI, 2014).

Outra abordagem possível consiste em produzir nanofibras isolantes e recobri-las com um material condutor em uma segunda etapa de processamento. O recobrimento pode ser realizado por diferentes métodos, como polimerização *in situ*, deposição química em solução ou a vapor, e deposição *layer-by-layer* (LbL) (MERLINI, 2014). Além disso, é possível também adicionar o agente oxidante na solução para eletrofiação, e posteriormente colocar as nanofibras obtidas em contato com o monômero em solução ou em fase vapor (WANG et al., 2021). Dentre as diversas metodologias, a mais utilizada é a polimerização oxidativa *in situ*, na qual as nanofibras eletrofiadas são impregnadas com o monômero precursor do polímero condutor e, em seguida, colocadas em contato com o agente oxidante para iniciar a polimerização (MERLINI, 2014).

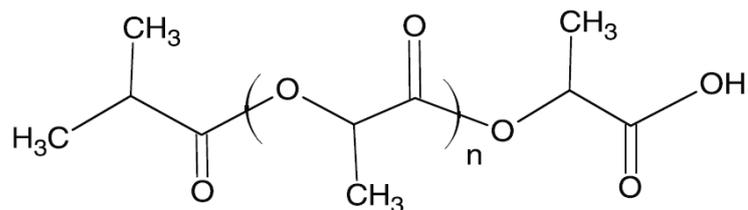
2.2.1.2. Nanofibras poliméricas condutoras

2.2.1.2.1. Polímero isolante: matriz

Segundo HUANG et al. (2003), foram encontrados na literatura mais de 50 polímeros capazes de serem eletrofiados via solução, obtendo-se fibras ultrafinas de diâmetros entre 3 nm e 1 μm . A grande maioria destes polímeros foram dissolvidos em solventes pelo fato de ser uma técnica mais simples e direta. Dentre os materiais facilmente eletrofiáveis via solução, podem ser citados o poli(álcool vinílico) (PVA), poli(óxido de etileno) (PEO), poli(ácido láctico) (PLA), quitosana (Qui), poliamida-6 (PA6), poli(ϵ -caprolactona) (PCL) e poli(vinilpirrolidona) (PVP) (COSTA et al., 2012b; HUANG et al., 2003). A escolha do polímero em si dependerá da aplicação e das propriedades necessárias. No caso dos sensores, o material deve apresentar estabilidade química, capacidade de funcionalização, além de ser pouco solúvel em água (HUANG et al., 2003; WANG et al., 2021).

O PLA (Figura 8) é um polímero termoplástico que pode ser encontrado na forma semicristalina ou amorfa, dependendo da pureza da cadeia polimérica. Facilmente processado por diferentes técnicas, inclusive por eletrofiação, tem sido muito visado pelo mercado atual que procura a substituição de polímeros derivados do petróleo por polímeros “verdes”, e em especial por apresentar custo baixo (HENTON et al., 2005). Além de ser produzido a partir de um processo de fermentação natural, o PLA é biodegradável e produz resíduos de baixa toxicidade (FONTANA-ESCARTIN et al., 2021; GISBERT ROCA et al., 2021). Portanto, pode ser facilmente descartado ou reciclado através de um processo de hidrólise a alta temperatura que transforma o PLA para seu estado primário de ácido láctico, sendo purificado e polimerizado posteriormente (HENTON et al., 2005; JAMSHIDIAN et al., 2010).

Figura 8 – Estrutura química do poli(ácido láctico) (PLA).



Fonte: Jamshidian et al. (2010).

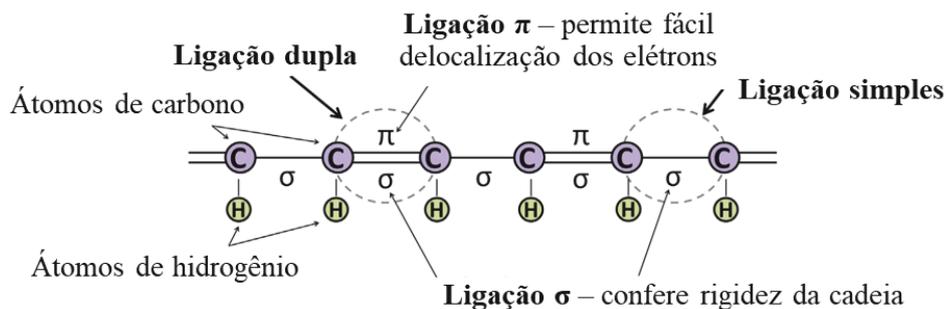
A temperatura de fusão do PLA é entre 150 e 200 $^{\circ}\text{C}$, o que permite que ele seja utilizado em diversas aplicações comerciais (GISBERT ROCA et al., 2021). Ademais, o PLA

tem sido muito explorado para a formação de nanocompósitos, sendo utilizado como matriz polimérica biocompatível e biodegradável para embalagens de alimentos, aplicações biomédicas e tecidos para cultura celular (JAMSHIDIAN et al., 2010). No que consiste as nanofibras eletrofiadas de PLA, estas são frequentemente obtidas a partir da solução do PLA em solventes orgânicos, como dimetilformamida (DMF), diclorometano (DCM) e dicloroetano (DCE). Para a aplicação em sensores, geralmente as fibras são formadas com um PLA de alta massa molar ($MM = 150.000 \text{ g mol}^{-1}$) em uma baixa concentração (5-12% em massa). Segundo a literatura, diversos materiais já foram incorporados em nanofibras de PLA, conforme a aplicação final desejada (GISBERT ROCA et al., 2021; HUANG et al., 2003; WAN; WEN, 2005; YU; DAI; LAN, 2011).

2.2.1.2.2. Polímero condutor: carga dispersa ou revestimento

Polímeros intrinsecamente condutores (PICs) podem ser utilizados tanto como fase dispersa ou como um revestimento a fim de melhorar a condutividade das NFs (WANG et al., 2021). Esta classe de polímeros é a única que possui propriedades elétricas e óticas comparáveis aos metais e semicondutores inorgânicos, ao mesmo tempo que apresentam fácil síntese (GUO; GLAVAS; ALBERTSSON, 2013). São polímeros com ligações π conjugadas e sua estrutura é formada por ligações simples e duplas de forma alternada ao longo da cadeia polimérica, conforme apresenta o desenho esquemático da Figura 9. O fato de haver elétrons π deslocalizados permite que eles se movam livremente, construindo um caminho condutor. Além disso, o dopante utilizado durante o processo de síntese irá influenciar nas características condutoras do polímero obtido, que se apresenta na sua forma oxidada (BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014).

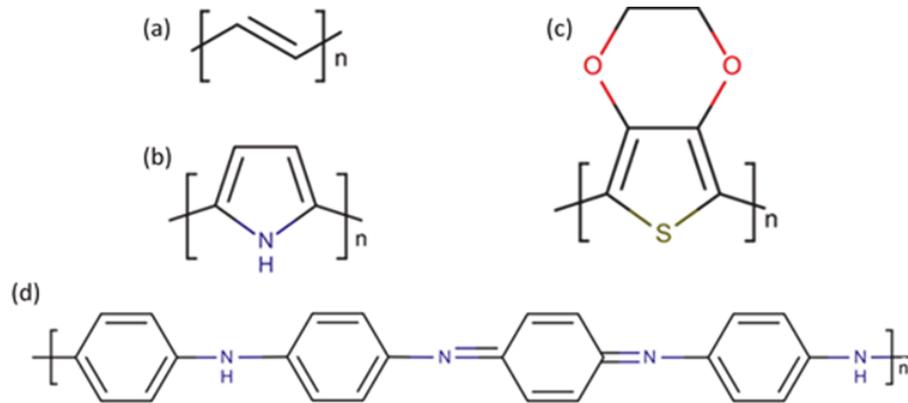
Figura 9 – Desenho esquemático simplificado de uma cadeia conjugada de um PIC, contendo ligações simples e duplas de forma alternada.



Fonte: Adaptado de Balint et al. (2014).

Dentre os PICs mais utilizados para sensores, destacam-se o poliacetileno, a polianilina (PANi), o polipirrol (PPy) e o poli(3,4-etileno dioxitiofeno) (PEDOT), cujas estruturas químicas são apresentadas na Figura 10 (NEZAKATI et al., 2018).

Figura 10 – Estrutura química (a) poliacetileno, (b) polipirrol, (c) PEDOT e (d) polianilina



Fonte: Adaptado de Nezakati et al. (2018).

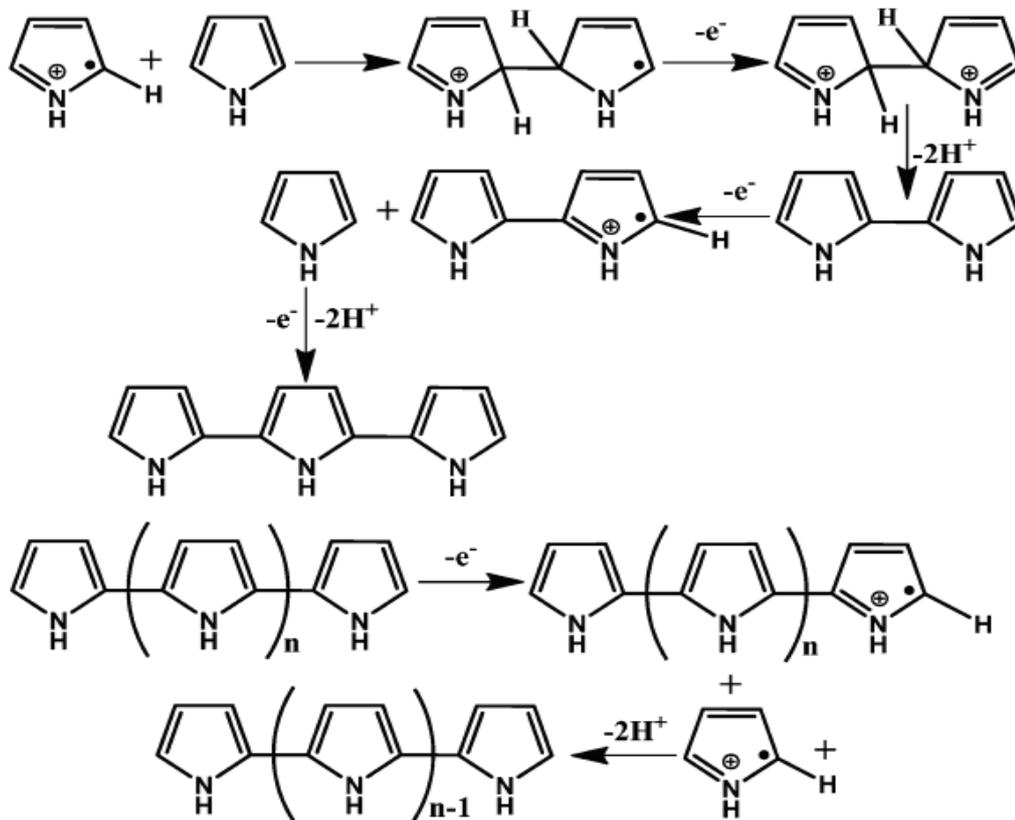
A PANi e o PPy são os polímeros condutores mais utilizados quando a biocompatibilidade é um requisito da aplicação, em especial para biossensores nos quais biomoléculas são imobilizadas (GUIMARD; GOMEZ; SCHMIDT, 2007; MALHOTRA; CHAUBEY; SINGH, 2006). Entretanto, no caso da PANi, existem diferentes estados oxidativos que influenciam diretamente nas ligações conjugadas do material e, conseqüentemente, nas suas características condutoras. Somente o sal de esmeraldina, formada a partir de um processo de polimerização oxidativa na presença de um ácido forte, é eletricamente condutora (BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014; HANSEN, 2017; NEZAKATI et al., 2018). Ou seja, o pH do meio influencia na condutividade da PANi. Sendo assim, o filme pode tornar-se eletro-inativo em pH neutro, o qual é comumente necessário para a detecção de bioanalitos, e muitas vezes desencorajando o uso da PANi em sensores (RAMANAVIČIUS; RAMANAVIČIENE; MALINAUSKAS, 2006).

Por outro lado, o PPy apresenta alta condutividade elétrica, baixo potencial de oxidação, além de estabilidade química a longo prazo. Portanto, apresenta diversas aplicações potenciais como sensores de gás, baterias poliméricas, células fotovoltaicas, dispositivos eletrônicos vestíveis, entre outros (WANG et al., 2021). Além disso, o polipirrol tem sido considerado como o material da próxima geração de dispositivos sensores eletroquímicos (JAIN; JADON; PAWAIYA, 2017), uma vez que é capaz de proteger os eletrodos de incrustações e interferentes (como ânions eletroativos), e servir como mediador redox capaz de

transferir elétrons de biorreceptores (enzimas) para o eletrodo de trabalho (RAMANAVIČIUS; RAMANAVIČIENE; MALINAUSKAS, 2006). Ainda, as propriedades do PPy podem ser aprimoradas através da combinação com nanomateriais orgânicos ou inorgânicos de modo a criar nanocompósitos condutores (JAIN; JADON; PAWAIYA, 2017).

O PPy pode ser facilmente sintetizado por métodos eletroquímicos ou químicos (polimerização oxidativa) (GISBERT ROCA et al., 2021; KAUSAITE-MINKSTIMIENE et al., 2015). A polimerização por métodos químicos é frequentemente preferida, pois é simples e não precisa de nenhum equipamento especial para realizá-la, permitindo uma fácil produção em larga escala (KAUSAITE-MINKSTIMIENE et al., 2015). Neste caso, um oxidante químico (como o FeCl_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ou H_2O_2) é utilizado para promover a oxidação do monômero pirrol (Py), dando início ao processo de polimerização a partir do radical formado (GISBERT ROCA et al., 2021). Em seguida, o cátion radical reage com um monômero neutro, sofrendo oxidação e deprotonação na sequência, dando origem a um “bipirrol”. Este processo se repete, promovendo o crescimento da cadeia polimérica (KAUSAITE-MINKSTIMIENE et al., 2015). A Figura 11 apresenta o processo de síntese do PPy por polimerização oxidativa.

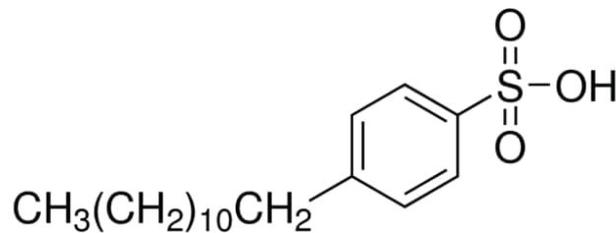
Figura 11 – Processo de polimerização oxidativa para obtenção do PPy. a) Formação de um dímero e trímero de Py. b) Propagação da cadeia polimérica.



Fonte: Adaptado de Kausaite-Minkstimiene et al. (2015).

Outros reagentes podem ser utilizados na síntese oxidativa, como surfactantes ou ácidos protônicos. Estes compostos, além de promoverem um aumento da solubilidade do PPy em solventes orgânicos, atuam como dopantes uma vez que formam um complexo com a estrutura do PPy (MERLINI, 2014; WANG et al., 2021). O ácido dodecil benzeno sulfônico (DBSA), cuja estrutura é apresentada na Figura 12, é um exemplo de ácido protônico que tem sido muito empregado na síntese oxidativa de polímeros condutores.

Figura 12 – Estrutura química do DBSA.



Fonte: Sigma-Aldrich.

Dentre as diferentes formas de incorporar o PPy em nanofibras, a mais simples é realizando a síntese deste PIC previamente e inserindo como nanocarga na solução com o polímero matriz para eletrofição. Dependendo dos parâmetros de síntese, é possível atingir tamanhos de partícula na ordem nanométrica (de 50 a 100 nm) (KAUSAITE-MINKSTIMIENE et al., 2015). Outra alternativa é fazer a polimerização do PPy na superfície das nanofibras. Diversas metodologias são empregadas, sendo a polimerização oxidativa *in situ* a mais comumente encontrada na literatura. Neste caso, as NFs são eletrofiadas apenas com o polímero isolante. Em seguida, ocorre a impregnação com o Py, seguido da adição do agente oxidante (MERLINI, 2014). Outra abordagem consiste em, por exemplo, inserir o agente oxidante na solução polimérica que será eletrofiada. Neste caso, o FeCl_3 , é geralmente utilizado, por ser considerado o oxidante mais eficiente para polimerização do Py (NAIR; NATARAJAN; KIM, 2005). Em seguida, as NFs obtidas são colocadas em contato com o monômero, seja em meio líquido ou em fase vapor, para promover a polimerização do pirrol na superfície das nanoestruturas (GRANATO et al., 2009; SAPOUNTZI; CHATEAUX; LAGARDE, 2020; WANG et al., 2021).

2.2.2 Nanopartículas (NPs) metálicas

Pelo fato de apresentarem uma excelente condutividade, amplificação de sinal e facilitar as transferências de elétrons entre o eletrodo/analito, as NPs metálicas, em especial à

base de ouro, têm sido amplamente empregadas no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. As suas propriedades eletrocatalíticas são superiores em comparação ao mesmo material em tamanho macro, devido à elevada área de superfície específica e reatividade, resultando em um aumento da área eletroativa do sensor. No caso da dopamina, as NPs-Au possuem um efeito de eletrooxidação, capaz de resultar em sensores com ampla faixa linear de trabalho e baixos LODs (AGUNLOYE et al., 2018; LAKARD; PAVEL; LAKARD, 2021; SAJID et al., 2016).

As NPs-Au é um dos nanomateriais mais reportados na literatura e podem ser sintetizadas de diversas formas, sendo a redução química a mais utilizada. Esta consiste em utilizar um precursor (ácido cloroáurico, HAuCl_4), um agente redutor para reduzir os íons de ouro Au^{3+} em Au^0 , além de um agente estabilizante (como citrato trissódico) para evitar a aglomeração das nanopartículas e controlar o crescimento das mesmas. Em alguns casos, a mesma substância pode agir como agente redutor e estabilizante na síntese, como no método de Turkevich, que emprega íon citrato para este fim (DARUICH DE SOUZA; RIBEIRO NOGUEIRA; ROSTELATO, 2019; SAJID et al., 2016).

De modo geral, o processo de formação e crescimento das NPs-Au pelo método de Turkevich ocorre em quatro etapas, e é fortemente influenciado pelo pH na qual a síntese é conduzida. Na primeira, devido à elevada velocidade de redução, ocorre um aumento rápido das partículas (de 1 a 2 nm de diâmetro) em solução. Em seguida, a velocidade de redução diminui, fazendo com que as partículas menos estáveis coalesçam. Quando as partículas atingem um tamanho de aproximadamente 2,5 nm, a terceira etapa é iniciada e é caracterizada pelo aumento do diâmetro das NPs através da difusão dos átomos de ouro em solução. Por fim, a quarta etapa ocorre quando as partículas atingem um raio de 4 a 5 nm, levando a uma redução da taxa de crescimento das NPs. Cerca de 70 a 80% do sal de ouro remanescente é rapidamente reduzido (AGUNLOYE et al., 2018; DARUICH DE SOUZA; RIBEIRO NOGUEIRA; ROSTELATO, 2019).

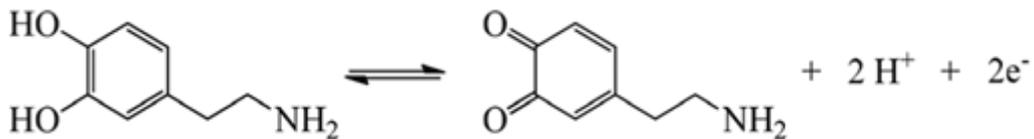
2.3 DOPAMINA (DA)

A dopamina (DA) é um neurotransmissor do tipo catecolamina e possui fundamental importância na manutenção dos sistemas cardiovascular e nervoso central, estando associado ao controle motor, cognição, sistema de recompensa e reforço. Quando em baixos níveis no corpo, pode levar a diversas doenças neurológicas, como mal de Parkinson, doença de

Alzheimer, estresse e depressão. Além disso, baixos níveis de DA também estão associados à falta de energia e motivação, além de dificuldade de concentração e de completar tarefas no dia a dia. Dessa forma, o uso de dispositivos altamente sensíveis é necessário para auxiliar no diagnóstico dessas doenças (HANNAH et al., 2020; LAKARD; PAVEL; LAKARD, 2021).

Os sensores eletroquímicos têm sido empregados na detecção da DA por meio da sua reação de oxidação, passando de DA para dopamina-o-quinona (DAQ) e liberando dois elétrons e dois prótons hidrogênio (LAKARD; PAVEL; LAKARD, 2021), como pode ser visto na Figura 13.

Figura 13 – Reação de oxidação da dopamina (DA) em dopamina-o-quinona (DAQ).



Fonte: Adaptado de Kalinke et al. (2020).

Apesar das vantagens associadas à simplicidade de uso e ao custo dos sensores eletroquímicos, que são inferiores às técnicas de análises clássicas, os sensores de modo geral apresentam baixa sensibilidade e seletividade. Os fluidos biológicos (como urina e plasma sanguíneo) são complexos, pois possuem diversas moléculas em sua composição, incluindo outros neurotransmissores e possíveis interferentes (como ácido úrico, AU, e ácido ascórbico, AA) que apresentam potenciais de oxidação próximos ao da DA (LAKARD; PAVEL; LAKARD, 2021; SAJID et al., 2016). Além disso, os produtos da oxidação desses possíveis interferentes, bem como da DA, podem se acumular na superfície do WE e acarretar no envenenamento do sensor eletroquímico. Assim, o uso de modificadores nanoestruturados tem sido uma excelente alternativa e podem resultar em atividade eletrocatalítica aprimorada, seletividade do analito e aumento da cinética de difusão (SAJID et al., 2016).

2.4 EMPREGO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS MODIFICADOS PARA DETECÇÃO DE DOPAMINA

Diferentes materiais têm sido desenvolvidos a fim de aprimorar a sensibilidade e a seletividade de sensores eletroquímicos. Sabe-se que o aumento da área de superfície do sensor pode aumentar consideravelmente a área eletroativa disponível para interagir com o analito, podendo assim aumentar o sinal analítico gerado pelo sensor (LAKARD; PAVEL; LAKARD,

2021). Por isso, a elevada área de superfície específica das NFs e das NPs tem chamado a atenção de pesquisadores para potenciais aplicações nesta área (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; WANG et al., 2021). Os diversos artigos de revisão que são encontrados na literatura indicam que estes modificadores apresentam propriedades eletroquímicas superiores, levando a limites de detecção bastante baixos, além de alta sensibilidade e reprodutibilidade (LAKARD; PAVEL; LAKARD, 2021; KENRY; LIM, 2017; WANG et al., 2021).

É possível encontrar na literatura uma certa variedade de membranas produzidas por eletrofição de polímeros condutores ou à base de compósitos com aplicação em sensoriamento (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; DOS SANTOS et al., 2020). Apesar disso, há muitas lacunas a serem exploradas. No caso da detecção eletroquímica da dopamina, ainda são necessários esforços para solucionar os obstáculos em termos de limite de detecção, custo-benefício do sensor desenvolvido e facilidade de fabricação, uma vez que eletrodos modificados geralmente apresentam muitas etapas complexas (HANNAH et al., 2020).

Huang et al. (2008) modificaram um eletrodo de pasta de carbono com NFs compósitas à base de carbono (CNF) com NPs de paládio (Pd) para detecção simultânea de DA, AU e AA por DPV. As NFs foram eletrofiadas com poliácridonitrila (PAN) e posteriormente tratadas termicamente para serem transformadas em carbono, formando assim a CNF. Os resultados indicaram que o sensor apresentou atividade eletrocatalítica para os analitos e foi capaz de separar os respectivos picos de oxidação. Para a DA, o sensor apresentou faixa linear de detecção entre 0,5 e 160 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LOD de 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (HUANG et al., 2008).

Ping et al. (2012) desenvolveram uma tinta condutora à base de grafeno para a produção de eletrodos impressos (SPGNE, do inglês *screen-printed graphene electrode*). O eletrodo foi avaliado quanto à detecção de DA, AU e AA simultaneamente, apresentando faixa linear de detecção entre 0,5 e 2000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LOD de 0,12 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a DA. O SPGNE apresentou elevada reprodutibilidade, seletividade e estabilidade para as moléculas (PING et al., 2012).

Hannah et al. (2020) desenvolveram eletrodos de filme fino de carbono (TFCE, do inglês *thin film carbon electrode*) flexíveis capazes de detectar a DA por CV e DPV, e compararam com o SPCE comercial. O TFCE apresentou desempenho eletroquímico superior. Além de correntes de fundo reduzidas em relação ao SPCE, o TFCE foi capaz de detectar DA em concentrações de 50 pmol L^{-1} e mostrou-se seletivo para a DA na presença de AA (HANNAH et al., 2020).

O grupo de Koyun et al. (2017) modificou um eletrodo de carbono com NFs de PPy, depositadas por eletropolimerização, a fim de detectar a DA. O sensor apresentou grande área

eletroativa (determinada pela equação de Randles-Sevcik) e alta seletividade para a DA. Um estudo da influência do pH da solução foi realizado por DPV, cuja corrente de pico máxima foi obtida em pH 4. Além disso, uma curva de calibração foi obtida, apresentando um limite de detecção de 7 nmol L^{-1} (KOYUN et al., 2017).

Kalinke et al. (2020) desenvolveram sensores à base de PLA/grafeno fabricados por impressão 3D. O grupo avaliou a influência de diferentes processos de ativação do filme (polimento, tratamento eletroquímico e químico) sobre as propriedades eletroquímicas do sensor. O melhor resultado foi obtido com a ativação química usando solução de NaOH que permitiu a exposição das estruturas de grafeno. Em seguida, o sensor foi tratado eletroquimicamente, aumentando significativamente a área de superfície e a transferência de elétrons. A aplicabilidade do sensor foi avaliada para a detecção de DA, resultando em um LOD de $2,17 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ pela técnica DPV. Além disso, mostrou-se seletivo para DA na presença de AU e AA (KALINKE et al., 2020).

Fontana-Escartin et al. (2021) também produziram modificadores à base de PLA por impressão 3D, sendo posteriormente revestido com PEDOT. Duas metodologias foram avaliadas: (i) polimerização química do PEDOT em solvente orgânico diretamente sobre o PLA, (ii) ativação da superfície do PLA com solução de NaOH antes da polimerização, e a polimerização do filme condutor em água. Foi observado que a ativação com NaOH aumentou a rugosidade do PLA impresso, levando a um aumento da área de superfície específica e, conseqüentemente, um aumento da quantidade de material condutor polimerizado. Dessa forma, o desempenho eletroquímico para o filme ativado com NaOH foi significativamente maior, cujo LOD foi de $181 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ contra $604 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para o PLA não ativado. O sensor modificado também mostrou-se seletivo para DA na presença de AU e AA (FONTANA-ESCARTIN et al., 2021).

Gisbert Roca et al. (2021) recentemente compararam membranas densas e eletrofiadas de PLA revestidas com PPy em termos de condutividade elétrica e propriedades físico-químicas. Foi observado que, devido à maior área de superfície das nanofibras, uma maior concentração de PPy foi depositada, sendo confirmada pelas análises termogravimétricas. Sendo assim, houve um aumento significativo da condutividade elétrica do material, obtendo-se valores de $0,05 \text{ S cm}^{-1}$ e $0,20 \text{ S cm}^{-1}$, dependendo da direção do plano (perpendicular ou sobre o plano). Além disso, foi observado que para altas concentrações de PPy (a partir de 23% em massa), ocorre a formação de um revestimento contínuo e homogêneo (GISBERT ROCA et al., 2021).

3 METODOLOGIA

Neste capítulo são apresentados brevemente os materiais escolhidos para a obtenção das nanofibras eletrofiadas e o desenvolvimento do sensor eletroquímico, bem como os métodos de fabricação e caracterização.

3.1 REAGENTES, SOLUÇÕES E AMOSTRAS

Os reagentes utilizados nos experimentos foram de grau analítico, sem purificação adicional, exceto o monômero Py que passou por um processo de destilação e foi armazenado à temperatura de 4 °C. Para o preparo das soluções aquosas, foi empregada água purificada (deionizador ou sistema de osmose reversa).

Para o preparo das tintas condutoras, foram empregados: resina alquídica (verniz vitral Acrilex®), acetona (como solvente) e grafite em pó de alta área superficial ($\sim 175 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) (*Surface Enhanced Flake Graphite* – SEFG, Grau 3725, Asbury Carbons).

Para a síntese química das nanopartículas de PPy, foi empregado Py (Sigma-Aldrich, 99%) com massa molar de $67,09 \text{ g mol}^{-1}$, previamente destilado sob vácuo e armazenado em frasco âmbar em atmosfera de N_2 a 4 °C. Como agente oxidante, foi utilizado o cloreto férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (Vetec), com massa molar de $270,33 \text{ g mol}^{-1}$. O DBSA (Sigma-Aldrich $\geq 95\%$), com massa molar de $326,49 \text{ g mol}^{-1}$, foi utilizado como surfactante e dopante.

Para a obtenção das nanofibras eletrofiadas foram utilizados: PLLA em pellets da NatureWorks™ fornecido pela 3DLAB; diclorometano (DCM, Vetec); dimetilformamida (DMF, Vetec) e o PPy ou PPy.DBSA sintetizado em laboratório. O processo de eletrofiação foi realizado em um eletrofiador desenvolvido pela empresa SpinTec.

As nanopartículas de ouro (NPs-Au) foram sintetizadas a partir de ácido cloroáurico trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich, $\text{MM} = 393,83 \text{ g mol}^{-1}$), como precursor, e citrato de sódio dihidratado (Sigma-Aldrich, $\text{MM} = 294,10 \text{ g mol}^{-1}$), como agente redutor e estabilizante.

A caracterização eletroquímica dos eletrodos impressos (limpos e modificados) foi realizada com uma solução de dopamina (DA, Fluka, $\text{MM} = 198,68 \text{ g mol}^{-1}$) $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0). A solução tampão foi preparada com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaH_2PO_4 e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de Na_2HPO_4 (ambos da Sigma-Aldrich), ajustando o pH com NaOH conforme necessário.

Para as análises de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) e voltametria cíclica (CV), foi utilizada uma solução de $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ KCl (eletrólito de suporte), contendo uma mistura equimolar de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$, que é um par redox amplamente utilizado em estudos de investigação e caracterização de sistemas eletroquímicos.

Para o estudo de pH, foram realizadas 5 soluções tampão: tampão fosfato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) preparado com H_3PO_4 e NaH_2PO_4 (ajustando o pH com H_3PO_4 ou NaOH); para o tampão acetato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0; 5,0) foi usado CH_3COOH e NaCH_3COO (ajustando o pH com CH_3COOH ou NaOH); por fim, para o tampão fosfato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,0; 7,0) foi usado NaH_2PO_4 e Na_2HPO_4 (ajustando o pH com H_3PO_4 ou NaOH).

Para detecção e quantificação de DA por voltametria de pulso diferencial (DPV), foram utilizadas concentrações de DA de $2,5$ a $100,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0). O estudo de interferentes em solução tampão foi realizado com ácido úrico (Sigma-Aldrich, $\text{MM} = 168,76 \text{ g mol}^{-1}$) e ácido ascórbico (Sigma-Aldrich, $\text{MM} = 176,12 \text{ g mol}^{-1}$).

A aplicabilidade do sensor foi avaliada em amostra biológica simulada (urina), seguindo o protocolo adaptado de Sarigul (2019). A Tabela 2 apresenta os compostos utilizados e suas respectivas concentrações. As medidas eletroquímicas por DPV foram realizadas com soluções preparadas no mesmo dia.

Tabela 2 – Composição da urina simulada, adaptada de Sarigul (2019).

Composto	Concentração molar (mmol L^{-1})
Na_2SO_4	11,965
Citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	2,450
Creatinina ($\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$)	7,791
Ureia ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$)	249,750
KCl	30,953
NaCl	30,053
CaCl_2	1,663
NH_4Cl	23,667
$\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,19
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4,389
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	18,667
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4,667

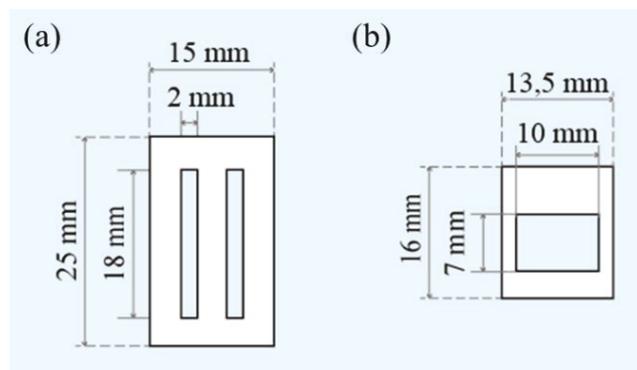
3.2 PROCESSO DE FABRICAÇÃO

3.2.1 Eletrodo impresso

Neste trabalho, a tinta condutora à base de carbono foi produzida em laboratório, devido ao seu baixo custo e facilidade, conforme demonstrado em trabalhos anteriores (CAMARGO et al., 2021; MALVESSI, 2022). A tinta de carbono foi previamente otimizada pelo grupo de pesquisa no qual o trabalho está inserido, obtendo-se uma formulação composta por 50% (m/m) de resina alquídica Acrilex® e 50% (m/m) de grafite em pó. O volume de acetona varia de 0,7 a 3,0 mL, conforme necessário para alcançar a viscosidade ideal para a mistura da tinta e processo de impressão. Esta variação ocorre principalmente em função das condições ambientes, como temperatura e umidade relativa do ar.

Para impressão das tintas por serigrafia e obtenção dos eletrodos impressos, máscaras em folha adesiva foram desenvolvidas de acordo com protótipos encontrados na literatura (LI; WANG; XU, 2007) e compatíveis com os adaptadores da DropSens®. Foi utilizado o *software* Adobe Illustrator® 2022 (versão 26.4.1) para criação dos modelos para corte do adesivo vinílico e obtenção das máscaras de impressão (Figura 14-a). Também foram produzidos adesivos para a delimitação do local de aplicação da amostra/solução, os quais também serviram para fixação do eletrodo modificado (Figura 14-b).

Figura 14 – Representação dos moldes desenvolvidos para: (a) impressão de máscaras do dispositivo SPCE e (b) adesivo para delimitação da área de aplicação da amostra e fixação do eletrodo modificado.

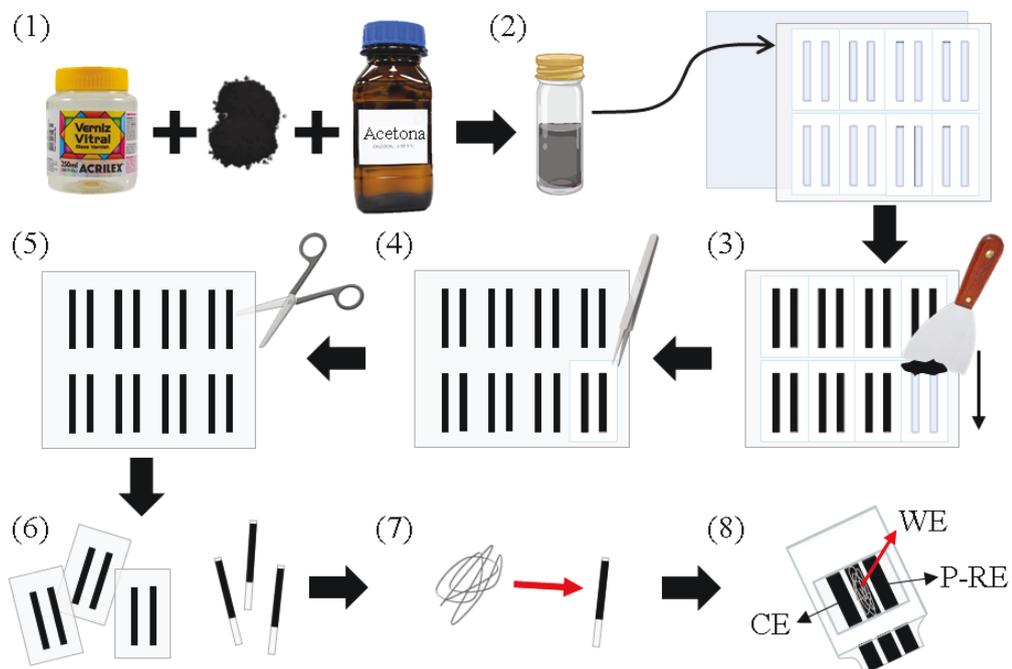


Fonte: Autora.

Para a produção da tinta, a resina alquídica e o grafite em pó foram inicialmente pesados em uma balança de alta precisão e inseridos dentro de um frasco tubular (flaconete) de vidro (Figura 15). Em seguida, a acetona foi gotejada dentro do flaconete até atingir a

viscosidade ideal, que em seguida foi fechado. A mistura dos componentes foi realizada em um vórtex por cerca de 1 min e então fixado sobre um agitador magnético para homogeneização por pelo menos 90 minutos. Finalmente, o flaconete foi submetido à banho ultrassônico por 15 min, obtendo-se uma tinta de carbono homogênea ao final.

Figura 15 – Fluxograma simplificado do processo de fabricação dos eletrodos impressos por serigrafia: (1) materiais que compõem a tinta de carbono (resina alquídica Acrilex®, acetona e grafite em pó); (2) obtenção da tinta condutora; (3) corte e colagem das máscaras sobre o substrato em PVC, seguido de transferência da tinta condutora para o substrato com a espátula; (4) remoção das máscaras; (5) recorte dos sensores impressos em unidades individuais; (6) unidades contendo dois eletrodos impressos (CE e P-RE) e contendo um eletrodo (WE); (7) modificação do WE com as nanofibras; (8) fixação do WE com o adesivo e sensor pronto para uso ou modificação adicional.



Fonte: Autora. Imagem da resina Acrilex® obtida no Google Imagens e fluxograma criado em BioRender.com.

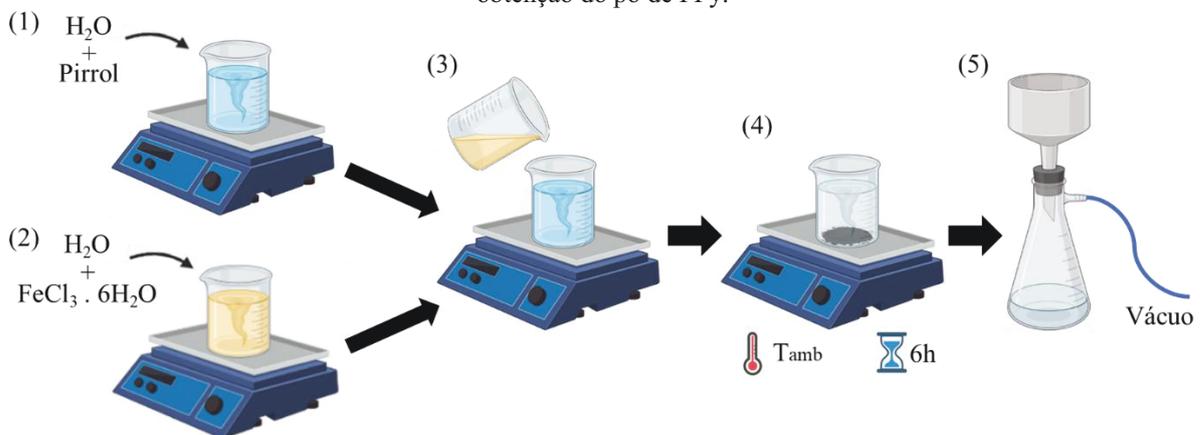
Como substrato para impressão dos eletrodos, foram utilizadas folhas de poli(cloreto de vinila) (PVC), material facilmente encontrado no comércio, estável e maleável. As folhas foram cortadas em tiras, higienizadas com etanol e fixadas sobre uma bancada plana (Figura 15-2). Em seguida, uma pequena quantidade de tinta de carbono foi aplicada sobre a máscara e, em um único movimento, a tinta foi espalhada com o auxílio de uma espátula metálica (Figura 15-3). Após cerca de 20 minutos, tempo necessário para evaporação parcial do solvente, a máscara foi retirada e os eletrodos impressos foram deixados sobre a bancada para secar por cerca de 12 horas (Figura 15-4). Após secagem, os eletrodos foram recortados em unidades individuais (Figura 15-5 e 6). O WE foi modificado com as NFs (Figura 15-7) e fixado entre o eletrodo pseudo-referência (P-RE) e o CE com um adesivo (Figura 15-8), estando pronto para

uso e/ou posterior modificação com NPs-Au. A Figura 15 apresenta um fluxograma geral do processo de impressão dos eletrodos de carbono.

3.2.2 Síntese do polipirrol (PPy)

A síntese do PPy foi realizada via polimerização oxidativa, conforme descrito por Merlini (2014). Inicialmente, 2,0 g de Py foram dispersos em 0,05 L de água deionizada (Figura 16-1), atingindo uma concentração de $0,3 \text{ mol L}^{-1}$. Em outro recipiente, 16,2 g do agente oxidante ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) foi solubilizado em 0,05 L de água deionizada (Figura 16-2). Foi utilizado o cloreto férrico pelo fato de ser considerado o mais eficiente para a polimerização oxidativa do pirrol (NAIR; NATARAJAN; KIM, 2005). Após 10 minutos de homogeneização, a solução de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ foi incorporada cuidadosamente à dispersão de Py (Figura 16-3), atingindo uma razão molar entre agente oxidante/monômero de 2/1. A síntese foi procedida à temperatura ambiente (aproximadamente $25 \text{ }^\circ\text{C}$) sob agitação magnética constante por 6 horas (Figura 16-4). Ao final da síntese, foi obtida uma dispersão de partículas de PPy, a qual foi filtrada à vácuo (Figura 16-5) e lavada com água deionizada, a fim de extrair resíduos e subprodutos da reação. O pó de PPy obtido permaneceu em um dessecador à vácuo à temperatura ambiente até secagem completa (cerca de 1 semana), seguido de moagem em um almofariz e peneirados em malha 200 *mesh*.

Figura 16 – Fluxograma simplificado da síntese do polipirrol por polimerização oxidativa. (1) dispersão de Py em água; (2) solução de cloreto férrico em água; (3) incorporação da solução de cloreto férrico na dispersão de Py; (4) obtenção do PPy após 6 horas de agitação magnética à temperatura ambiente; (5) filtração à vácuo e obtenção do pó de PPy.



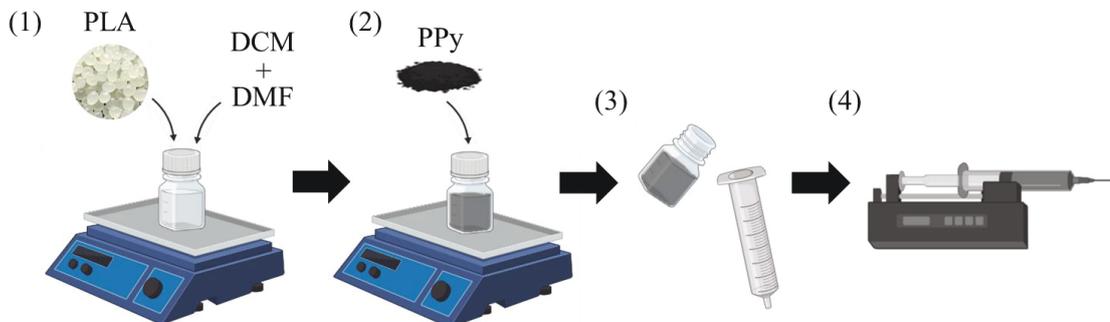
Fonte: Autora, criado em BioRender.com. Adaptado de Merlini (2014).

A fim de obter uma resposta eletroquímica mais aprimorada, o polipirrol também foi sintetizado na presença do surfactante DBSA como agente dopante, conforme descrito por Merlini (2014). O procedimento é bastante similar ao descrito anteriormente para a síntese oxidativa simples (sem dopante). Neste caso, 1,88 g do DBSA foram dispersos em água deionizada na primeira etapa do procedimento. Em seguida, o monômero Py (2,0 g) foi adicionado à dispersão de DBSA (Figura 16-1). Após homogeneização, a solução de cloreto férrico (16,2 g em 0,05 L – Figura 16-2) foi incorporada à dispersão de Py e DBSA (Figura 16-3), obtendo-se a razão molar entre agente oxidante/monômero de 2/1 e entre monômero/surfactante de 5/1. Após 6 horas de síntese sob agitação magnética à temperatura ambiente (Figura 16-4), a dispersão de PPy.DBSA foi filtrada à vácuo (Figura 16-5) e lavada com água deionizada. O pó obtido permaneceu em um dessecador à vácuo à temperatura ambiente até secagem completa (cerca de 1 semana), seguido de moagem em um almofariz e peneiradas em malha 200 *mesh*.

3.2.3 Nanofibras (NFs) de PLA e PLA/PPy

Utilizando a técnica de eletrofiação a partir de solução polimérica, as NFs foram depositadas diretamente sobre o eletrodo de trabalho impresso (WE). O PLA foi utilizado como polímero matriz devido à fácil processabilidade, não toxicidade e biodegradabilidade, permitindo o desenvolvimento de dispositivos de menor impacto ambiental (GISBERT ROCA et al., 2021). *Pellets* de PLA foram solubilizados em DCM e DMF (proporção 3:1), sob agitação magnética a 35 °C por 16 horas (Figura 17-1), obtendo-se uma solução com 10% (m/v) de PLA.

Figura 17 – Fluxograma da preparação da solução para eletrofiação. (1) solubilização do PLA em DCM/DMF (3:1); (2) adição e dispersão do polipirrol; (3) transferência da solução para uma seringa; (4) posicionamento da seringa no eletrofiador.



Fonte: Autora. Criado em BioRender.com.

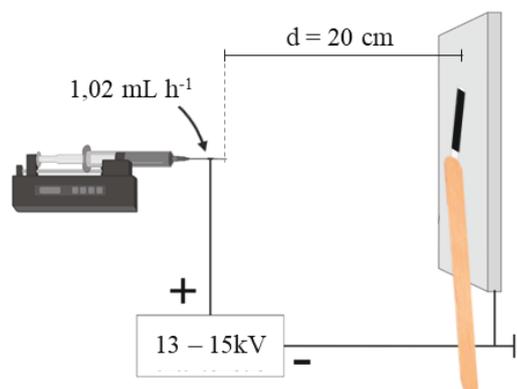
A fim de conferir as propriedades elétricas para as NFs compósitas, foi adicionado o PPy na solução polimérica (Figura 17-2) e disperso por agitação magnética seguida de banho ultrassônico por 2 horas. A concentração de polipirrol adicionado à solução polimérica foi investigada, variando de 2,5 a 15% em massa em relação ao PLA. Por fim, a solução de PLA/PPy foi transferida para uma seringa de 5 mL (Figura 17-3) conectada a uma agulha de 0,80 mm de diâmetro interno e posicionada no eletrofiador (Figura 17-4).

Os parâmetros de solução e de processo estão apresentados na Tabela 3. Para a produção das NFs, foi utilizado um eletrofiador horizontal (SpinTec, representado na Figura 18), cuja taxa de vazão é controlada por um sistema elétrico e foi mantida em $1,02 \text{ mL h}^{-1}$. A distância agulha-coletor (d) foi fixada em 20 cm.

Tabela 3 – Parâmetros de solução e de processo otimizados para obtenção das NFs por eletrofição.

Parâmetros		Faixa de variação
Solução	Concentração PLA	8 e 10% m/v
	Concentração PPy ou PPy.DBSA	0 a 15% m/m
Processo	Tensão aplicada	10 a 15 kV

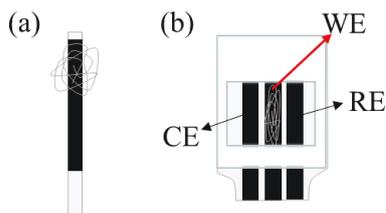
Figura 18 – Esquema do aparato para eletrofição, onde o WE é fixado em uma haste isolante e posicionado em frente ao coletor metálico de aço inoxidável revestido com uma folha de alumínio.



Fonte: Autora. Criado em BioRender.com.

As NFs foram coletadas pelo WE com o auxílio de uma haste isolante, no qual o eletrodo estava fixado. A haste foi posicionada entre a agulha metálica e o coletor de aço inoxidável revestido por uma folha de alumínio de modo a ancorar as NFs no WE. As NFs excedentes foram armazenadas em saco plástico para caracterizações posteriores. Em seguida, o eletrodo modificado foi cuidadosamente fixado entre o RE e o (CE) com auxílio de um adesivo (Figura 19).

Figura 19 – Representação esquemática do (a) eletrodo de trabalho após deposição direta das NFs e (b) SPCE modificado com NFs.

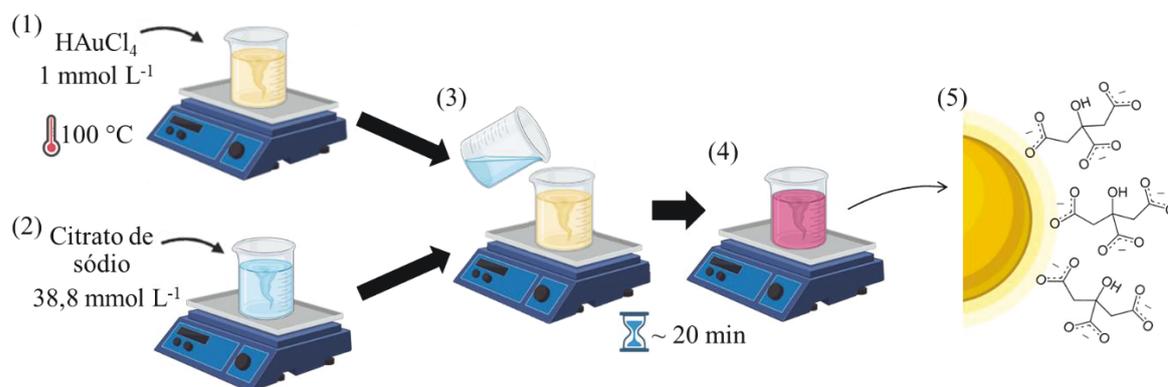


Fonte: Autora.

3.2.4 Nanopartículas de ouro (NPs-Au)

As NPs-Au foram sintetizadas seguindo a metodologia de Ma et al. (2018) e Zou et al. (2021). Primeiramente, uma solução (25 mL) de HAuCl_4 $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foi preparada em água deionizada e aquecida até o ponto de ebulição (Figura 20-1). Em outro béquer, 31,41 mg de citrato de sódio foram solubilizados em 2,2 mL de água deionizada (Figura 20-2), obtendo-se uma solução de concentração igual a $38,8 \text{ mmol L}^{-1}$. A proporção volumétrica entre as soluções de agente redutor/precursor na síntese foi de 1/10. Após 10 minutos de homogeneização, a solução de citrato de sódio foi rapidamente incorporada à solução de HAuCl_4 à temperatura de ebulição (Figura 20-3). A síntese foi procedida sob agitação magnética constante por cerca de 20 min, sendo mantida a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ durante este período.

Figura 20 – Fluxograma da síntese das NPs-Au: (1) preparo da solução de HAuCl_4 em água deionizada a $100 \text{ }^\circ\text{C}$; (2) preparo da solução de citrato de sódio em água deionizada (temperatura ambiente); (3) adição da solução de citrato de sódio à solução de HAuCl_4 ; (4) obtenção da dispersão de NPs-Au após cerca de 20 minutos de reação; (5) estabilização das NPs-Au com as moléculas de citrato.



Fonte: Autora. Criado em BioRender.com.

Ao final da síntese, foi obtida uma dispersão de NPs-Au de coloração vermelha (Figura 20-4), cuja concentração molar foi estimada através da Lei de Lambert-Beer (Equação 2), a

qual relaciona a absorvância (A) medida por espectroscopia de UV-Vis com a concentração da substância (M , mol L⁻¹) através do coeficiente de absorvidade molar (ϵ , L mol⁻¹ cm⁻¹).

$$A = \epsilon \cdot M \cdot l \quad (\text{Equação 2})$$

onde l é o caminho óptico do feixe de luz (cm).

3.3 CARACTERIZAÇÃO

3.3.1 Morfologia e propriedades físico-químicas dos materiais modificadores

3.3.1.1. *Microscopia Ótica (MO)*

De forma preliminar, as NFs foram analisadas com um microscópio ótico a fim de verificar a formação de fibras contínuas e possíveis defeitos (como aglomerados de polímero, denominado de *beads*, ou aglomerados de PPy). Dessa forma, foram coletadas cuidadosamente durante o processo de eletrofiação com uma lâmina de vidro e observadas no microscópio ótico de luz transmitida ZAISS (AxioLab.A1) localizado no Laboratório de Microscopia e Análise Estrutural da UFSC – Campus Blumenau.

3.3.1.2. *Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM – Scanning Electron Microscopy)*

Para avaliar a morfologia das NFs e da superfície dos eletrodos modificados, foram obtidas imagens por SEM. A partir das micrografias, foi possível observar orientação, defeitos (*beads*) e formação de fibras contínuas, bem como obter o diâmetro médio das NFs. A partir destas informações, foi possível otimizar os parâmetros de processo e de solução. As imagens foram obtidas com um microscópio TESCAM VEAGA3, modelo Philips30, com fonte de elétrons de tungstênio e detector de elétrons secundários. As amostras foram fixadas no porta amostra com fita de carbono e recobertas com ouro, e tensões de 10 kV foram aplicadas. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Materiais (LabMat) da UFSC – Campus Florianópolis.

3.3.1.3. *Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM – Transmission Electron Microscopy)*

Foi utilizado o TEM para avaliar a morfologia das NFs e das NPs-Au. A partir das imagens, foi possível observar a distribuição das NPs-Au sobre as NFs e obter o diâmetro médio das NPs-Au. As imagens do TEM foram obtidas com um microscópio JEM-1011 TEM, aplicando tensões entre 100 kV, no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC – Campus Florianópolis.

3.3.1.4. *Espectroscopia de Infravermelho*

Quanto à análise química, os espectros obtidos via Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) permitiram a identificação de grupamentos moleculares específicos das NFs. Sendo assim, foi possível determinar as possíveis interações intermoleculares entre os elementos que compõem as NFs.

Os espectros foram obtidos com o Espectrofotômetro FTIR Perkin Elmer Frontier localizado no Laboratório de Análises Térmicas e Espectroscopia da UFSC – Campus Blumenau. Utilizando a técnica de Refletância Total Atenuada (ATR), os espectros foram obtidos na faixa de número de onda de 4000 a 450 cm^{-1} , com resolução 4 cm^{-1} e com média de 16 varreduras.

3.3.1.5. *Espectroscopia no Ultravioleta-Visível (UV-Vis)*

Esta técnica foi utilizada para verificar preliminarmente se a dispersão de NPs-Au foi bem-sucedida e compará-la com as referências. Sendo assim, o espectro obtido permitiu pressupor a faixa de tamanho das partículas e estimar aproximadamente a concentração molar de NPs-Au, utilizando a Lei de Lambert-Beer (Equação 2). A análise foi procedida na faixa de comprimento de onda de 300 a 800 nm no equipamento UV-1800 da Shimadzu, localizado no Laboratório de Química Analítica e Físico-Química da UFSC – Blumenau.

3.3.2 Propriedades eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas no potenciostato Autolab PGSTAT204, com módulo analisador de resposta de frequência (FRA32M), gerenciado pelo software NOVA 2.0. Todos os estudos eletroquímicos foram feitos no Laboratório de Química Analítica e Físico-Química da UFSC – Blumenau.

Destaca-se que, tendo em vista que os sensores impressos possuíam um pseudo-RE de tinta de carbono, todos os potenciais (E, em volts) medidos ao longo deste trabalho foram *versus* carbono/grafite.

3.3.2.1. Voltametria de pulso diferencial (DPV – Differential Pulse Voltammetry)

Dentre os métodos eletroanalíticos dinâmicos, a DPV foi empregada inicialmente para comparar os diferentes eletrodos modificados, já que se trata de uma técnica mais sensível e capaz de diminuir a corrente capacitiva. Deste modo, é possível avaliar alterações sutis no sistema, como por exemplo a concentração de PPy.DBSA adicionado às NFs compósitas. Para os estudos iniciais por DPV, foi utilizada uma solução contendo $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0). A otimização dos parâmetros da técnica foi realizada com uma solução preparada nestas mesmas concentrações no dia de obtenção das medidas. Já para os estudos de pH, foram utilizadas soluções tampões variando o pH de 3,0 a 7,0 (descritas na Seção 3.1), mantendo a concentração de dopamina em $100 \mu\text{mol L}^{-1}$. Ademais, foi realizado um estudo de interferentes para detecção seletiva da DA na presença de ácido úrico (AU) e ácido ascórbico (AA) em duas concentrações ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $50 \mu\text{mol L}^{-1}$). Por fim, a curva de calibração para dopamina, contendo 10 concentrações diferentes, foi obtida em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0) e, posteriormente, em amostra de urina simulada (Tabela 2).

3.3.2.2. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS – Electrochemical Impedance Spectroscopy)

A EIS foi empregada para avaliar o comportamento dos eletrodos quanto aos fenômenos que ocorrem na interface eletrodo/solução. A partir dos gráficos de Nyquist, a resistência à transferência de carga (Rct) dos eletrodos foi medida em cada etapa de

modificação. As medidas foram obtidas de 0,01 a 10^5 Hz, aplicando uma amplitude de 10 mV. Neste estudo, foi utilizada uma solução contendo o par redox ferri/ferrocianeto ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 5 mmol L⁻¹) em KCl (0,3 mol L⁻¹).

3.3.2.3. Voltametria Cíclica (CV – Cyclic Voltammetry)

A CV foi empregada para complementar os estudos eletroquímicos. Neste caso, também foi utilizada uma solução contendo o par redox ferri/ferrocianeto ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 5 mmol L⁻¹) em KCl (0,3 mol L⁻¹) para obtenção dos voltamogramas cíclicos, cujas correntes e potenciais de pico foram analisados e correlacionados com as impedâncias, a fim de investigar as modificações na superfície do eletrodo de trabalho. A partir dos resultados obtidos, foi possível definir o sensor mais promissor em termos de reversibilidade.

3.3.3 Otimização da metodologia e avaliação da aplicabilidade do sensor obtido

Para avaliação de aplicabilidade dos sensores desenvolvidos neste trabalho, foi utilizada a espécie de interesse DA. As medidas eletroquímicas foram realizadas com a técnica DPV para investigação preliminar, construção da curva de calibração e aplicação, por se tratar de uma técnica de maior sensibilidade, comparado a técnicas não pulsadas.

Para isso, inicialmente realizou-se a otimização da metodologia, investigando-se os parâmetros da DPV, como amplitude de pulso, incremento de potencial e velocidade de varredura, bem como o pH do eletrólito de suporte, cujos valores estudados encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4 – Parâmetros da técnica de DPV e eletrólito de suporte estudados para otimização da metodologia, visando a aplicação do sensor para detecção de DA.

Parâmetro	Faixa de estudo
Amplitude de pulso (ΔE)	10 a 125 mV
Incremento de potencial (E_{step})	1 a 10 mV
Tempo de pulso	50 ms
Intervalo de pulso	100 a 1000 ms
Velocidade de varredura (ν)	5 a 50 mV s ⁻¹
pH do eletrólito de suporte	3,0 a 7,0

Após definição dos parâmetros ótimos, foi construída uma curva de calibração a partir de soluções com 10 diferentes concentrações de DA, em 0,2 mol L⁻¹ de solução tampão fosfato de sódio (em triplicata, n = 3). Em seguida, o limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*) e o limite de quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantitation*) do sensor foi calculado de acordo com as Equações 3 e 4:

$$LOD = 3S_b/m \quad (\text{Equação 3})$$

$$LOQ = 10S_b/m \quad (\text{Equação 4})$$

onde S_b é o desvio padrão do coeficiente linear e m é o coeficiente angular da regressão linear da curva de calibração.

Em seguida, foi avaliada a detecção seletiva e quantificação da dopamina na presença de interferentes (AU e AA), a partir da equação da curva de calibração, pelo método de padrão externo.

Em um segundo momento, foi avaliada a quantificação de DA em amostra de urina simulada, pelo método de superposição de matriz, devido à complexidade da amostra. Neste caso, a curva foi construída com 7 concentrações de dopamina (em triplicata, n = 3) e o LOD e LOQ também foram calculados de acordo com as Equações 3 e 4.

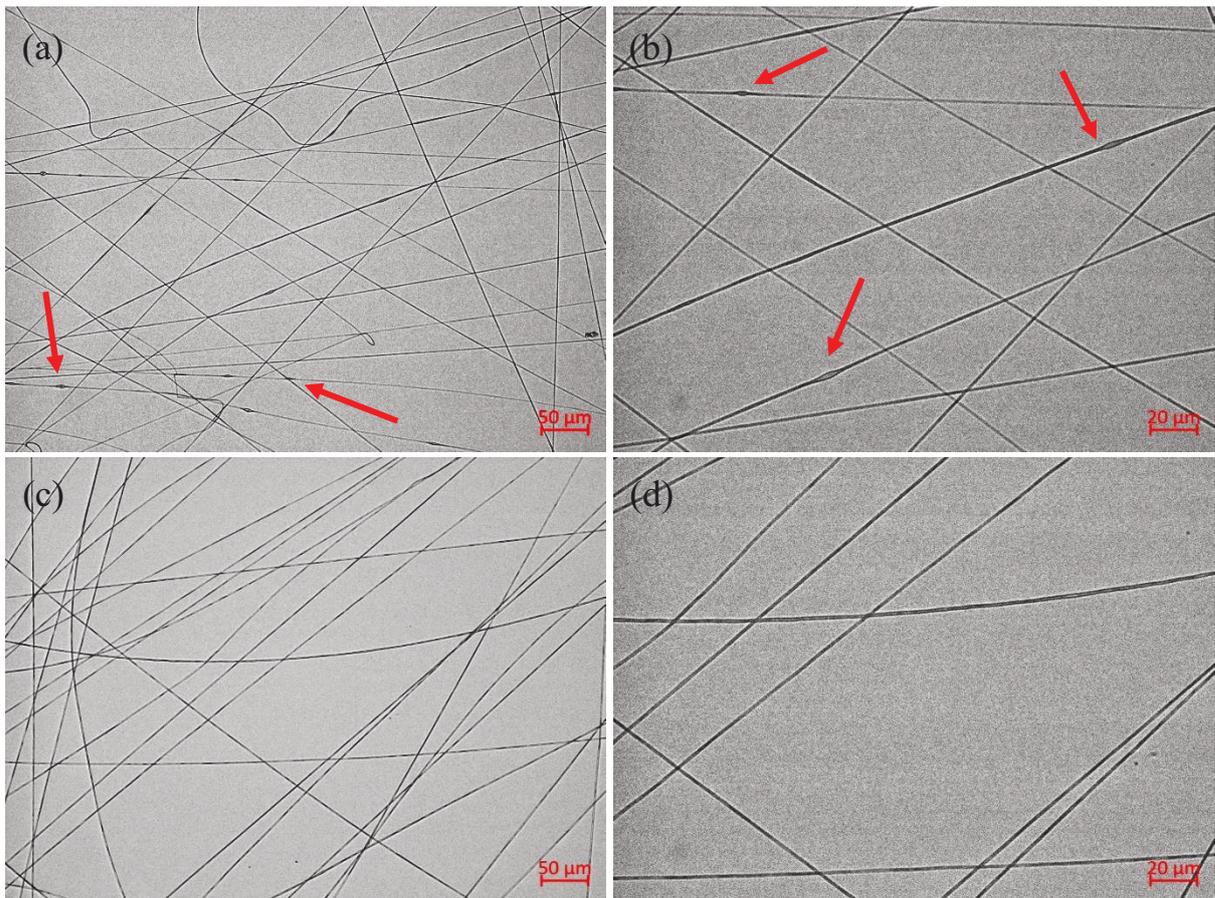
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 MODIFICAÇÃO DO ELETRODO COM NANOFIBRAS DE PLA/PPy

4.1.1 Avaliação dos parâmetros de eletrofição – NFs de PLA

A fim de produzir NFs contínuas e uniformes, primeiramente, foi realizado um estudo preliminar da concentração mássica de PLA solubilizado, mantendo-se a taxa de vazão constante em $1,02 \text{ mL h}^{-1}$, distância agulha-coletor de 15 cm e tensão aplicada em 15 kV. As NFs foram avaliadas por microscopia ótica e podem ser observadas na Figura 21.

Figura 21 – Imagens obtidas em microscópio ótico de luz transmitida. NFs eletrofiadas com 8% (m/v) de PLA solubilizado em DCM/DMF com as objetivas de 20x (a) e 50x (b). Flexas em vermelho indicam a formação de *beads*. NFs eletrofiadas com 10% (m/v) de PLA solubilizado em DCM/DMF com as objetivas de 20x (c) e 50x (d). Taxa de vazão foi mantida em $1,02 \text{ mL h}^{-1}$ e tensão aplicada em 15 kV.

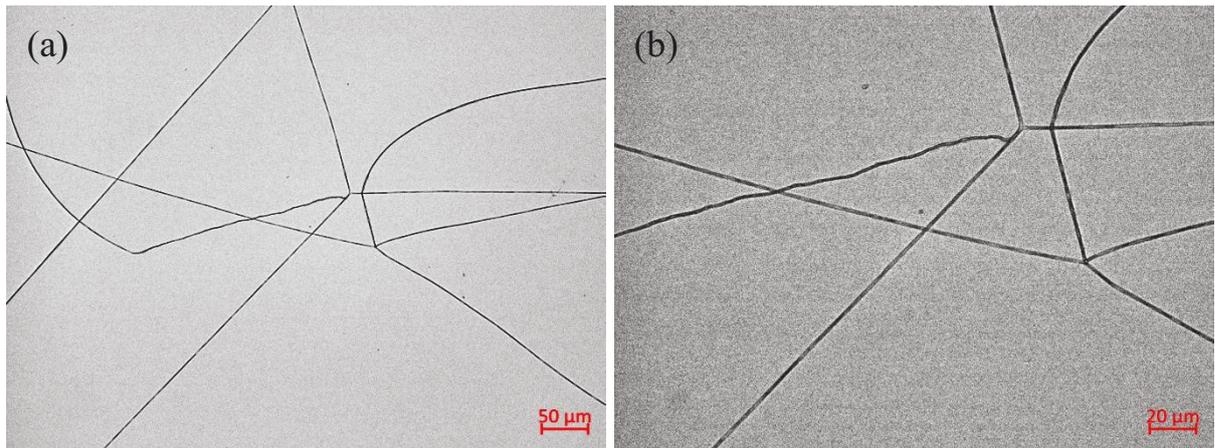


É possível observar que as NFs produzidas com 8% (m/v) de PLA apresentam a formação de aglomerados poliméricos (*beads*) ao longo das NFs (Figura 21-a e b), enquanto as NFs produzidas com 10% (m/v) de PLA estão livres de defeitos (Figura 21-c e d). Isso ocorre

pois a viscosidade da solução está relacionada à concentração de polímero (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). Em baixas concentrações, a viscosidade da solução é menor, uma vez que as cadeias poliméricas apresentam baixo grau de emaranhamento. Conseqüentemente, o jato polimérico torna-se instável, levando à formação de *beads* (MERLINI, 2014). Sendo assim, a concentração de 10% (m/v) foi considerada ótima, uma vez que permitiu a formação de NFs contínuas e livres de *beads*, e foi empregada durante todo o trabalho.

Em seguida, foi avaliada influência da tensão aplicada durante o processo de eletrofição, mantendo-se a taxa de vazão constante em $1,02 \text{ mL h}^{-1}$ e distância agulha-coletor de 15 cm. A Figura 22 apresenta as imagens obtidas por MO das NFs eletrofiadas obtidas sob tensão aplicada em 20 kV.

Figura 22 – Imagens obtidas em microscópio ótico de luz transmitida. NFs eletrofiadas com 10% (m/v) de PLA solubilizado em DCM/DMF com as objetivas de 20x (c) e 50x (d). Taxa de vazão foi mantida em $1,02 \text{ mL h}^{-1}$ e tensão aplicada em 20 kV.



Comparando estes resultados com as NFs eletrofiadas com a mesma concentração mássica de PLA (Figura 21-c e d), o aumento de tensão de 15 para 20 kV causou muita instabilidade no jato polimérico, gerando NFs descontínuas. Além disso, ocorreu a solidificação da solução na ponta da agulha devido ao aumento da taxa de evaporação do solvente dado a alta tensão aplicada. Sendo assim, sob condições otimizadas, as NFs de 10% (m/v) de PLA foram eletrofiadas com 15 kV.

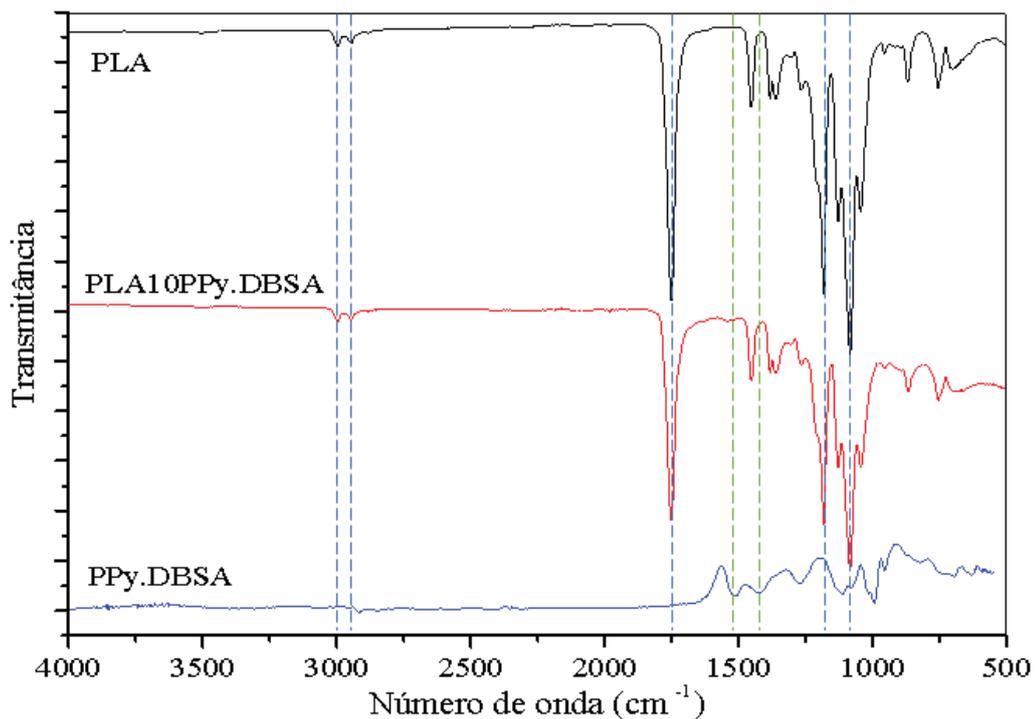
4.1.2 Espectroscopia de Infravermelho (FTIR-ATR)

O FTIR foi utilizado a fim de verificar e comparar os grupamentos moleculares das NFs de PLA e PLA10PPy.DBSA. A Figura 23 apresenta os espectros obtidos. É possível

constatar que não há muita diferença entre os espectros, uma vez que a concentração de polipirrol adicionado às NFs é baixa e o mesmo encontra-se bem disperso e distribuído ao longo do PLA. A diminuição de intensidade da transmitância do PLA10PPy.DBSA ocorre pelo fato das NFs apresentarem um tom acinzentado devido às partículas de polipirrol serem pretas.

Através do espectro, é possível identificar as bandas características do PLA, como o estiramento dos grupos metila em 2995 cm^{-1} e 2944 cm^{-1} . As bandas em 1752 cm^{-1} , 1181 cm^{-1} e 1084 cm^{-1} são correspondentes aos estiramentos das ligações C=O, C-O-C e C-O respectivamente. Devido à baixa concentração de PPy.DBSA adicionada às NFs, as bandas características do polipirrol não ficaram muito evidentes. Entretanto, é possível constatar uma leve manifestação das vibrações fundamentais do anel aromático do PPy em 1532 cm^{-1} (GISBERT ROCA et al., 2021).

Figura 23 – Espectros obtidos por ATR-FTIR das NFs de PLA (preto) e PLA10PPy.DBSA (vermelho). As linhas tracejadas em azul referem-se às bandas características do PLA e as verdes ao PPy.



4.1.3 Avaliação do PPy e do PPy.DBSA como modificadores

Como descrito na Seção 3.2.2, o PPy e o PPy.DBSA foram produzidos por meio da síntese oxidativa do monômero Py utilizando o cloreto férrico como agente oxidante, na presença ou não do surfactante DBSA como dopante.

A fim de avaliar a influência da dopagem do PPy sobre a resposta eletroquímica do sensor modificado para determinação da dopamina, NFs produzidas a partir de 10% (m/v) de PLA contendo 10% (m/m) de PPy ou PPy.DBSA foram depositadas diretamente sobre eletrodos de trabalho impressos. Durante o processo de eletrofiação das NFs compósitas, foi necessário ajustar a tensão aplicada, uma vez que o PPy alterou a condutividade iônica da solução (MERLINI, 2014), o que permite um maior fluxo de cargas pela solução, levando à formação de jatos múltiplos e instáveis com 15 kV. A tensão então foi diminuída para 13 kV, a qual foi suficiente para formar NFs contínuas e sem *beads*.

Os eletrodos modificados foram avaliados a partir da corrente de pico anódico de DA obtida por DPV (em triplicata, $n = 3$), utilizando uma alíquota de 70 μL da solução de dopamina ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0). Foi escolhido trabalhar em pH neutro uma vez que o objetivo do trabalho é posteriormente aplicar os sensores em amostras biológicas, como soro sanguíneo e/ou urina que apresenta pH entre 4,5 e 8,0 (SARIGUL; KORKMAZ; KURULTAK, 2019). Além disso, em soluções alcalinas (pHs elevados), ocorre a polimerização da DA (LAKSHMINARAYANAN; MADHAVI; SIM, 2018). As medidas voltamétricas foram realizadas na faixa de potencial de $-1,0$ a $+1,0 \text{ V}$, utilizando os seguintes parâmetros: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso de 50 ms e velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} .

A Figura 24-a apresenta a corrente de pico relativa ($I_{pa} / \%$) em relação à corrente mais alta obtida e o potencial de pico anódico (E_{pa} / V) para eletrodos limpos (SPCE), modificados com NFs de PLA puro (SPCE/PLA), e contendo 10% (m/m) de PPy não dopado (SPCE/PLA10PPy) e dopado (SPCE/PLA10PPy.DBSA). A partir do gráfico, é possível constatar que a corrente mais alta obtida para DA foi empregando o eletrodo modificado com PLA10PPy.DBSA, o qual representou um ganho de resposta de cerca de 100% em relação ao SPCE e ao PLA (ou seja, dobrou a resposta), e 52,6% em relação ao PLA10PPy. Isso mostra que as NFs compósitas de fato favorecem o processo de oxidação da DA que ocorre na superfície do eletrodo modificado, provavelmente devido ao aumento da área eletroativa. Além disso, o DBSA presente nas NFs com PPy dopado formam interações intermoleculares mais fortes com a DA, do tipo íon-dipolo e $\pi-\pi$ (Figura 25). Já as NFs de PLA puro apresentam principalmente interações do tipo ligação de hidrogênio, e o PLA/PPy, além das ligações de hidrogênio, também apresentam principalmente interações do tipo $\pi-\pi$ (STEJSKAL, 2020).

Figura 24 – (a) Corrente de pico relativa (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) obtidos com SPCE, SPCE/PLA, SPCE/PLA10PPy e SPCE/PLA10PPy.DBSA, por DPV (amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso de 50 ms e velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹), utilizando uma solução de DA a 100 μmol L⁻¹ em solução tampão fosfato de sódio 0,2 mol L⁻¹ (pH 7,0). (b) Representação esquemática da interface eletrodo/solução, com destaque para a dupla camada elétrica e a difusão da DA.

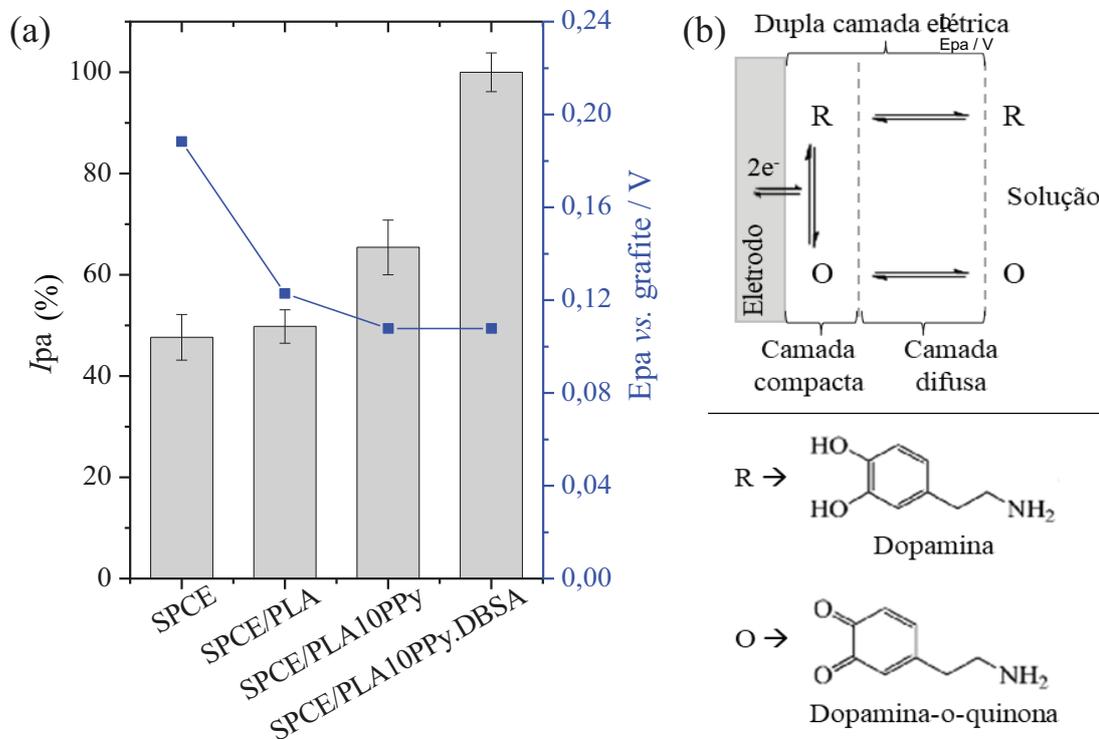
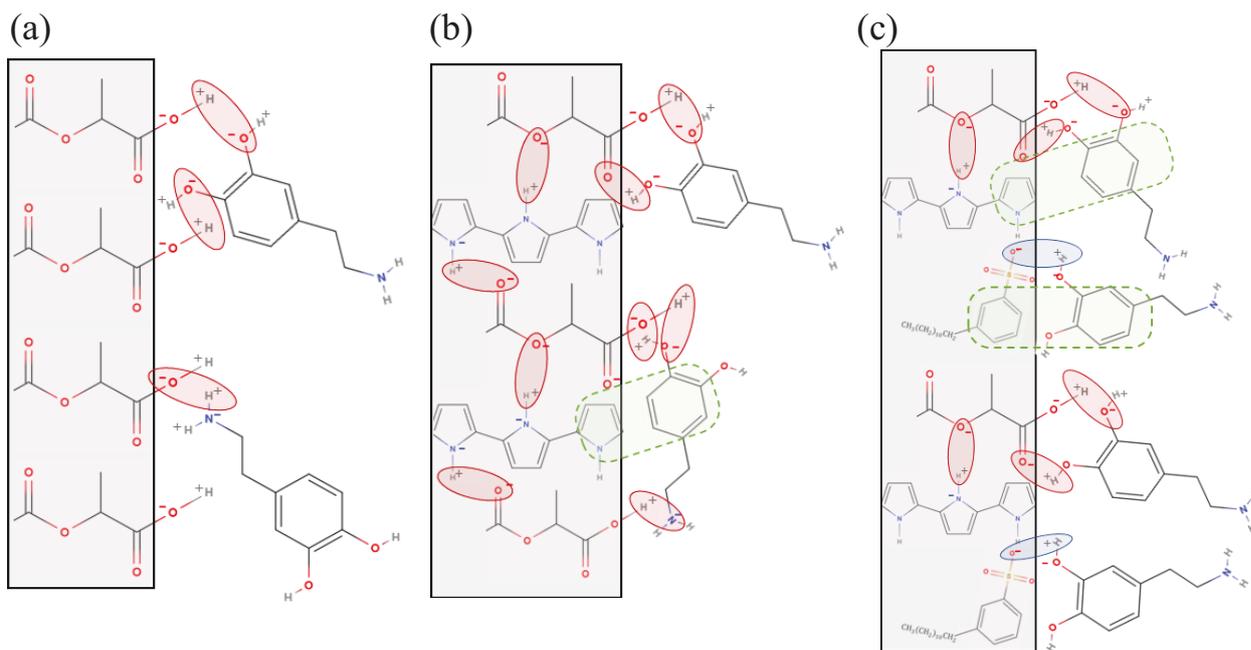


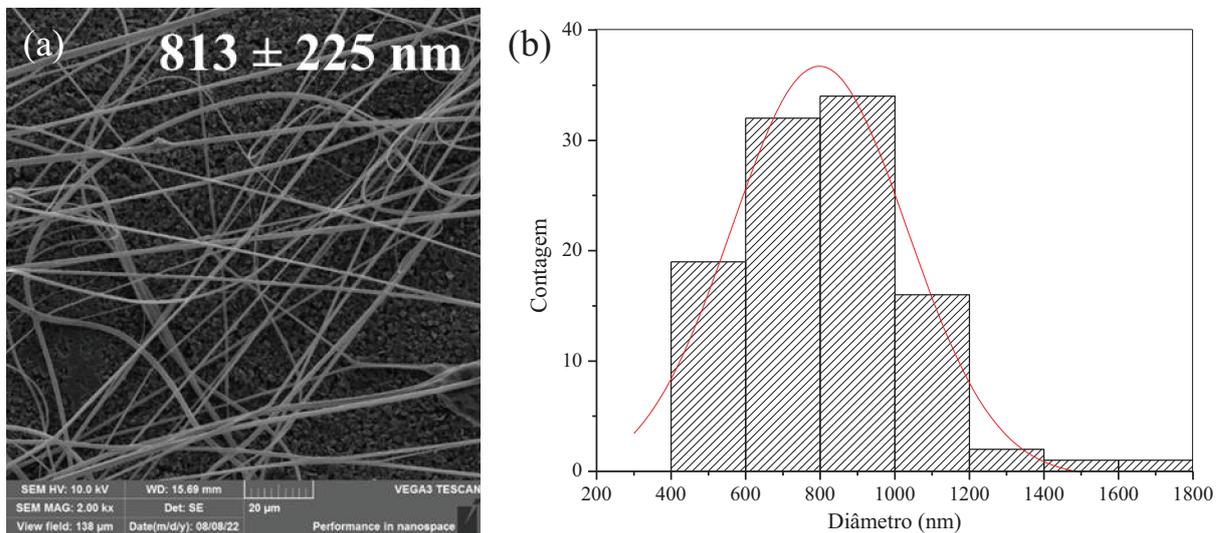
Figura 25 – Representação esquemática proposta das principais interações intermoleculares entre a dopamina e (a) NFs PLA puro, (b) NFs PLA/PPy e (c) NFs PLA/PPy.DBSA. Os círculos em vermelho indicam interações do tipo ligação de hidrogênio, em azul do tipo íon-dipolo e em verde do tipo π - π .



Fonte: Autora. Criado em MolView.com e BioRender.com.

Através da Figura 24, também é possível notar que as NFs diminuíram o potencial de oxidação da DA nas condições avaliadas, em especial após a adição de PPy na composição, indicando que o material desenvolvido favorece termodinamicamente a reação. Isso pode ocorrer pelo fato de que as NFs formam uma manta permeável (Figura 26), permitindo que a solução transpasse a mesma por capilaridade. Devido às interações entre as moléculas de DA e as NFs (Figura 25), ocorre um aumento da área de contato eletrodo/analito na dupla camada elétrica (Figura 24-b). Quando ocorre a polarização do eletrodo, a transferência de elétrons eletrodo/analito é facilitada. Isso é possível uma vez que as NFs possuem PPy em sua composição, pois, como pode ser observado no gráfico da Figura 24-a, as NFs de PLA puro não contribuem com o aumento da corrente por ser um polímero isolante, embora não bloqueiam as áreas eletroativas do SPCE. Já o PPy, como apresentado na Seção 2.2.1.2.2, é um polímero conjugado que foi sintetizado com FeCl_3 , um forte agente oxidante, cujos ânions Cl^- atuam como dopantes, tornando o PPy condutor (MERLINI, 2014; NAIR; NATARAJAN; KIM, 2005). A partir deste resultado, a pesquisa prosseguiu utilizando o PPy.DBSA na composição das NFs.

Figura 26 – (a) Imagem obtida por SEM da superfície do SPCE/PLA10PPy.DBSA, aplicando uma tensão de 10 kV. Magnificação de 2000x. (b) Histograma e gaussiana da distribuição de tamanho (diâmetro) das NFs, obtidos com base em cerca de 105 medidas.



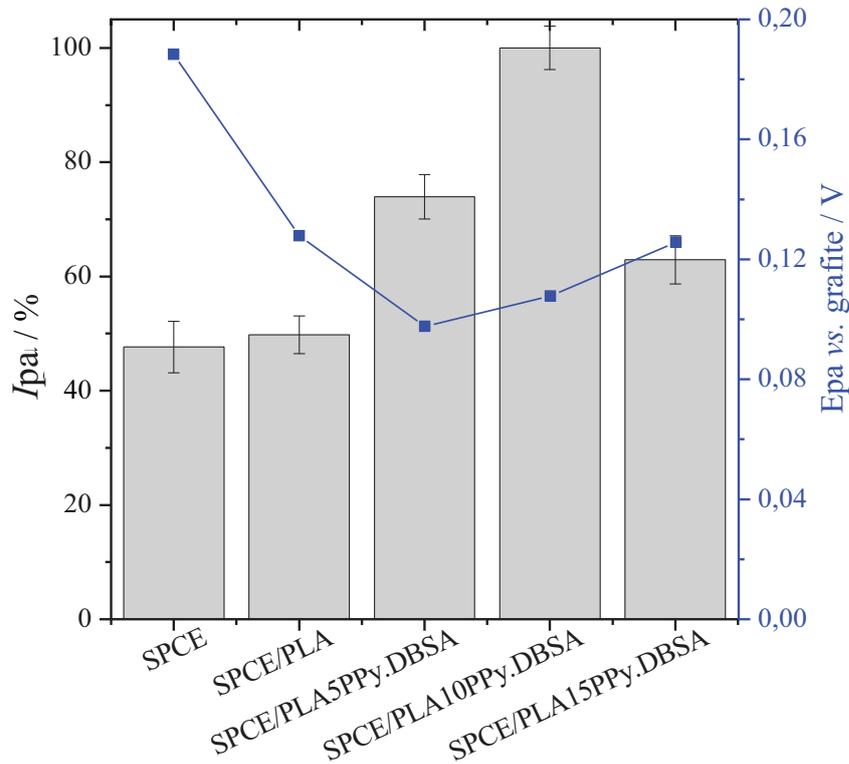
4.1.4 Avaliação da porcentagem mássica de PPy.DBSA

Inicialmente, foi avaliada a porcentagem mássica de PPy.DBSA adicionada à solução de PLA para modificação dos eletrodos com as NFs condutoras a fim de encontrar a quantidade

considerada ótima deste modificador. O estudo foi realizado por DPV em triplicata ($n = 3$) utilizando uma alíquota de 70 μL da solução de dopamina ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0). A Figura 27 apresenta a corrente de pico relativa ($I_{pa} / \%$) em relação à corrente mais alta obtida e o potencial de pico anódico (E_{pa} / V), neste caso para o eletrodo modificado com as NFs de PLA contendo 10% (m/m) de PPy.DBSA (SPCE/PLA10PPy.DBSA).

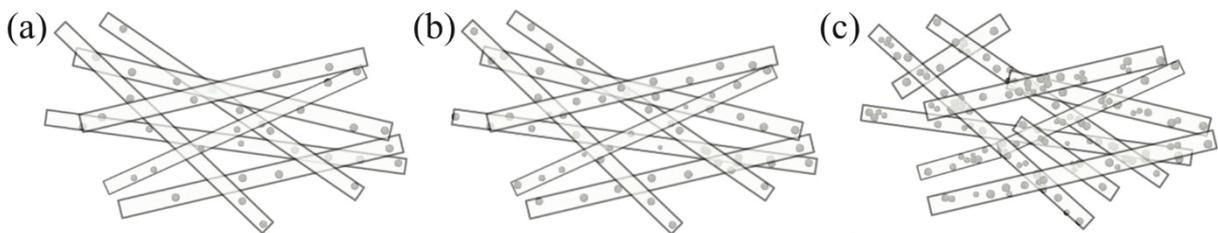
É possível observar no gráfico que os eletrodos modificados com NFs de PLA puro (SPCE/PLA) não foram impactados significativamente no valor da corrente de pico quando comparados aos eletrodos limpos (SPCE), uma vez que ambos apresentam valores similares de $I_{pa} (\%)$. Apesar do PLA ser um polímero isolante, como explicado anteriormente, a manta nanofibrosa formada na superfície do WE possui alto nível de permeabilidade que permite o contato entre as áreas eletroativas do eletrodo e a solução, além das interações que podem ocorrer entre as moléculas de dopamina e os componentes das fibras. Além disso, é possível observar que ocorreu uma diminuição do E_{pa} em relação ao SPCE, indicando um processo termodinamicamente mais favorecido.

Figura 27 – Corrente de pico relativa (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) obtidos com SPCE limpo, SPCE/PLA, SPCE/PLA5PPy.DBSA, SPCE/PLA10PPy.DBSA e SPCE/PLA15PPy.DBSA por DPV (amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso de 50 ms e velocidade de varredura de 10 mV s^{-1}), utilizando uma solução de dopamina a $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0).



Já os eletrodos modificados com NFs de PLA contendo 5% (m/m) de PPy.DBSA (SPCE/PLA5PPy.DBSA), 10% (m/m) de PPy.DBSA (SPCE/PLA10PPy.DBSA) e 15% (m/m) de PPy.DBSA (SPCE/PLA15PPy.DBSA) apresentaram um aumento de 55%, 100% e 32% nas correntes de pico para DA, comparando-se aos SPCE, respectivamente. Propõem-se que esta diferença está relacionada principalmente à distribuição do PPy.DBSA ao longo das nanofibras de PLA dada a quantidade adicionada, como indica a ilustração da Figura 28. No caso do PLA5PPy.DBSA (Figura 28-a), embora tenha uma contribuição na condutividade do material, trata-se de uma baixa quantidade, sendo que provavelmente as partículas de PPy encontram-se disponíveis em poucas regiões das NFs, diferentemente do PLA10PPy.DBSA (Figura 28-b), cujas cargas possivelmente encontram-se bem distribuídas ao longo de todas as NFs. Por outro lado, sugere-se que em alta porcentagem mássica de PPy, como no PLA15PPy.DBSA (Figura 28-c), ocorram aglomerados, possivelmente devido às interações entre as partículas de PPy.DBSA tornarem-se mais importante que as interações entre a matriz de PLA e as cargas de PPy.DBSA. Esta dificuldade de dispersão faz com que o processo de eletrofiação seja mais laborioso, uma vez que é necessário um tempo maior de dispersão em banho ultrassônico. Além disso, o aumento da viscosidade da solução acarretou o entupimento da agulha, que precisou ser limpa constantemente, impedindo a eletrofiação contínua e adequada. Deste modo, a porcentagem de 10% (m/m) de PPy.DBSA foi considerada ótima, e os demais estudos foram realizados com este material.

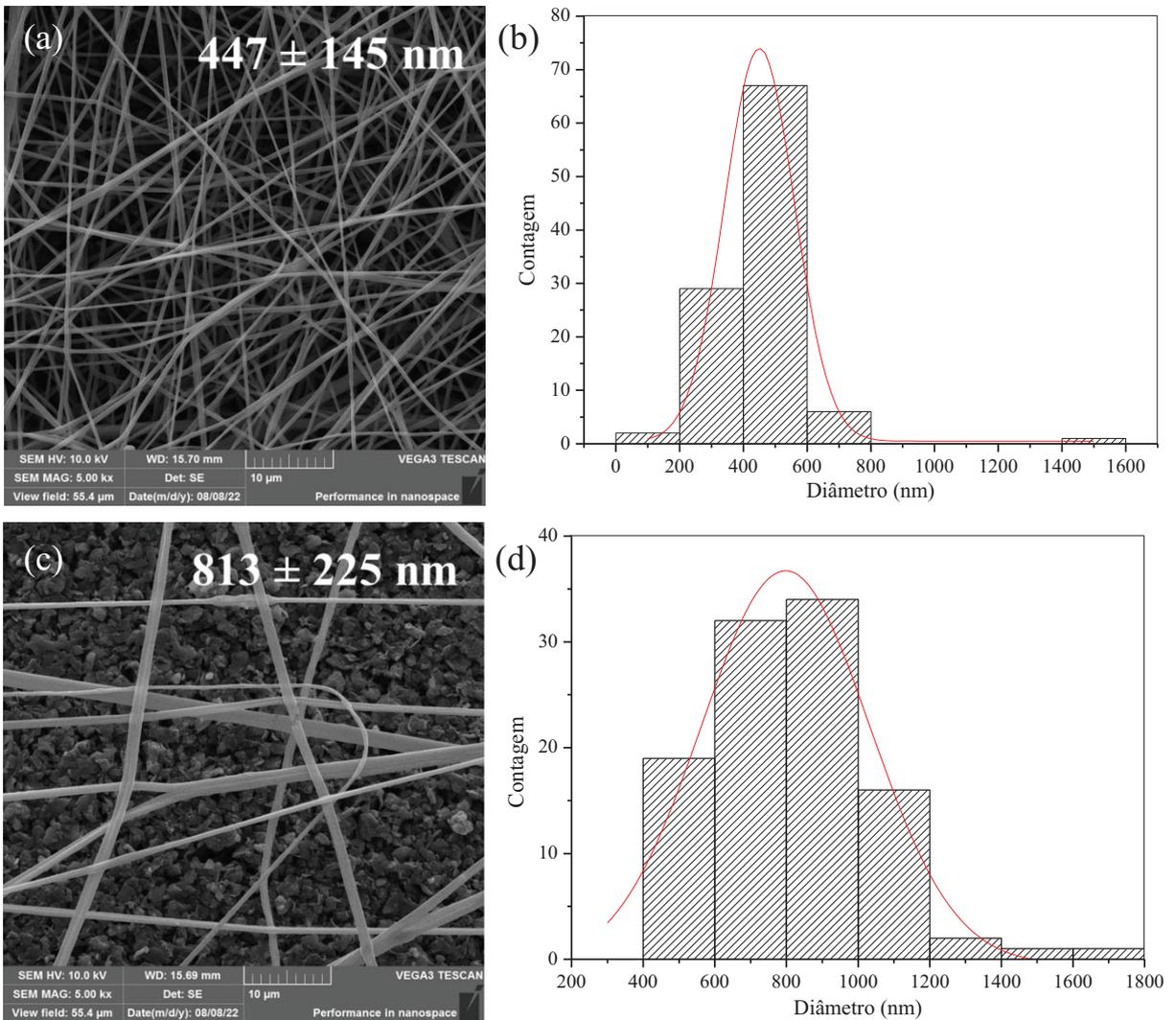
Figura 28 – Esquema representativo proposto para a distribuição do PPy.DBSA ao longo das NFs de acordo com a proporção mássica. (a) PLA5PPy.DBSA, (b) PLA10PPy.DBSA, (c) PLA15PPy.DBSA.



Fonte: Adaptado de Merlini (2014). Criado em BioRender.com.

Sabendo que a adição de PPy.DBSA altera a viscosidade da solução polimérica, uma vez que as nanopartículas podem dificultar o estiramento das cadeias de PLA (BHARDWAJ; KUNDU, 2010), foi observado um aumento no diâmetro das NFs, como mostram as imagens obtidas por SEM (Figura 29). As NFs de PLA apresentaram diâmetro médio de 447 ± 145 nm (Figura 29-a), enquanto as NF contendo 10% (m/m) de PPy apresentaram diâmetro médio de 813 ± 225 nm (Figura 29-c).

Figura 29 – Imagens obtidas por SEM da superfície do (a) SPCE/PLA e (c) SPCE/PLA10PPy.DBSA, aplicando uma tensão de 10 kV e magnificação de 5000x. Histogramas e gaussianas da distribuição de tamanho (diâmetro) das NFs do (b) SPCE/PLA e (d) SPCE/PLA10PPy.DBSA, obtidos com base em cerca de 105 medidas cada.



4.1.5 Otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial

Com o intuito de desenvolver um método de análise otimizado para determinação da dopamina, foi realizado um estudo para avaliar a influência dos parâmetros da técnica de DPV, como: amplitude de pulso, incremento de potencial e velocidade de varredura.

4.1.5.1. Amplitude de pulso

A amplitude de pulso, por ser um parâmetro voltamétrico que impacta significativamente na medida, uma vez que está diretamente relacionado à corrente obtida e à

forma do voltamograma, foi o primeiro parâmetro a ser avaliado. Medidas foram obtidas em triplicata ($n = 3$) variando a amplitude de pulso de 10 a 125 mV, mantendo fixos o incremento de potencial, o tempo de pulso e a velocidade de varredura. Foi utilizado uma alíquota de 70 μL da solução de dopamina ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) em solução tampão fosfato de sódio ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0). A Figura 30 apresenta o gráfico da corrente de pico relativa ($I_{pa} / \%$) e o potencial de pico anódico (E_{pa} / V) em função da amplitude (mV) e os respectivos voltamogramas, e a Tabela 5 apresenta os respectivos valores de corrente de pico e desvio padrão obtidos, para cada amplitude estudada.

Figura 30 – Corrente de pico de oxidação da dopamina (I_{pa}) e potencial de pico (E_{pa}) em função da amplitude de pulso (mV) obtidos por DPV ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DA em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ solução tampão fosfato de sódio, pH 7,0). Parâmetros fixados: incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 10 mV s^{-1} .

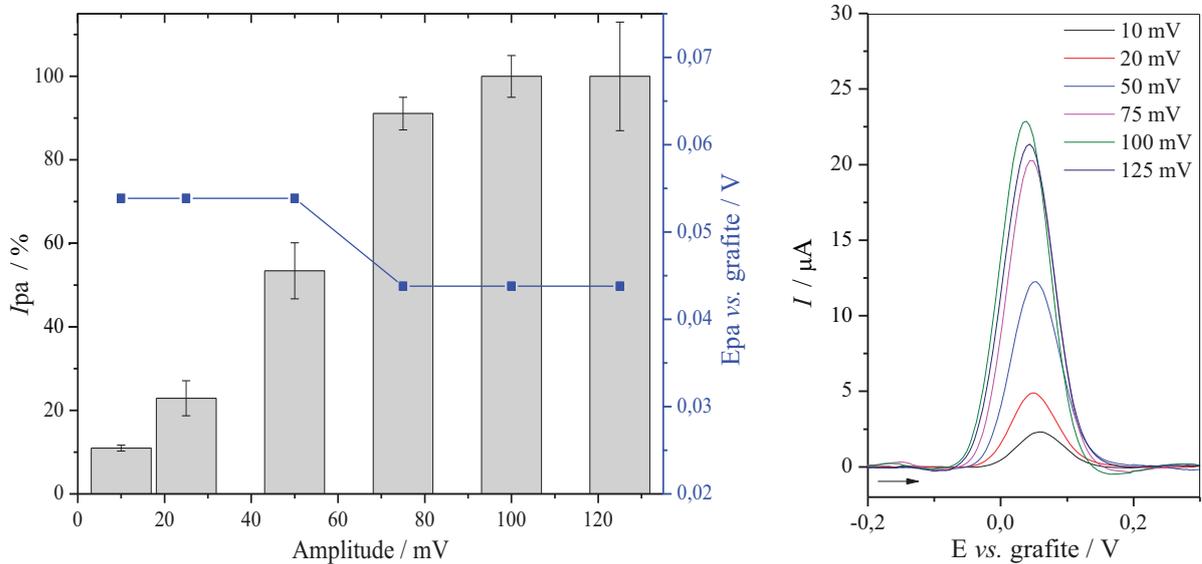


Tabela 5 – Corrente de pico anódico (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) para cada amplitude de pulso (ΔE) avaliada, obtidos a partir dos voltamogramas da Figura 30. $n = 3$.

ΔE (mV)	I_{pa} (μA)	E_{pa} (V)
10	$2,318 \pm 0,156$	0,059
25	$4,841 \pm 0,885$	0,054
50	$11,285 \pm 1,431$	0,054
75	$19,237 \pm 0,832$	0,044
100	$21,117 \pm 1,475$	0,054
125	$21,348 \pm 2,794$	0,044

A amplitude (ΔE) está diretamente relacionada com a corrente de pico (i_p) por meio da Equação 5:

$$I_p = \frac{z F A D^{1/2} C}{\sqrt{\pi t}} \left(\frac{1 - \sigma}{1 + \sigma} \right) \quad (\text{Equação 5})$$

onde I_p é a corrente de pico (μA), z é o número de elétrons envolvidos na reação, F é a constante de Faraday ($96,5 \text{ kC mol}^{-1}$), A é a área do eletrodo, D é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$), C é a concentração do analito (mmol L^{-1}), t é o tempo de pulso e $\sigma = \exp(nF\Delta E/2RT)$, sendo ΔE a amplitude de pulso (BARD et al., 2001).

Normalmente, baixas amplitudes (10 a 100 mV) são aplicadas nas medidas de DPV. Acima de 100 mV, a resolução do voltamograma é reduzida, uma vez que a largura à meia altura do pico aumenta com o aumento da amplitude (BARD et al., 2001), e não há aumento significativo na intensidade de corrente medida. Isto pode ser observado ao comparar os resultados das medidas obtidas com uma amplitude de pulso de 100 e 125 mV, cujos valores de I_{pa} foram similares, mas o desvio padrão para 125 mV foi consideravelmente maior. Sendo assim, a amplitude de pulso de 100 mV foi considerada a ótima e por isso foi selecionada para continuidade dos estudos.

4.1.5.2. Incremento de potencial

Em seguida, o incremento de potencial (E_{step}) foi o segundo parâmetro a ser avaliado. De modo geral, o incremento traz maior resolução para o voltamograma, entretanto pode tornar a medida morosa, pois influencia na velocidade de varredura (v , Equação 1). Assim, medidas foram obtidas variando o incremento de 1 a 10 mV, mantendo fixos a amplitude de pulso, o tempo de pulso e o tempo de intervalo. Foi utilizado uma alíquota de 70 μL da solução de dopamina ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) em solução tampão fosfato de sódio ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0). A Figura 31 apresenta o gráfico da corrente de pico relativa ($I_{pa} / \%$) e o potencial de pico anódico (E_{pa} / V) em função do incremento (mV) e os respectivos voltamogramas, e a Tabela 6 apresenta os respectivos valores de corrente de pico e desvio padrão para cada incremento avaliado.

Figura 31 – Corrente de pico de oxidação da dopamina (I_{pa}) e potencial de pico (E_{pa}) em função do incremento de potencial (mV), obtida por DPV ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ solução tampão fosfato de sódio, pH 7,0). Parâmetros fixados: amplitude de pulso 100 mV, tempo de pulso 50 ms e tempo de intervalo 500 ms.

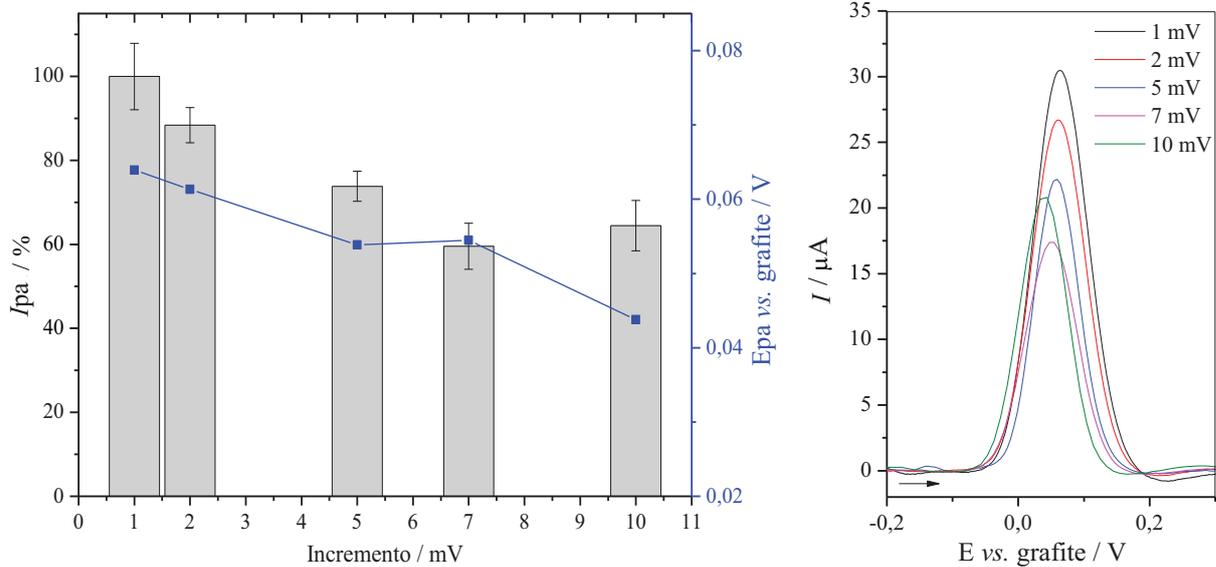


Tabela 6 – Corrente de pico anódico (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) para cada incremento de potencial avaliado, obtidos a partir dos voltamogramas da Figura 31. A velocidade de varredura foi calculada de acordo com a Equação 1. $n = 3$.

E_{step} (mV)	v (mV s^{-1})	I_{pa} (μA)	E_{pa} (V)
1	2	$29,399 \pm 2,335$	0,064
2	4	$25,994 \pm 1,227$	0,061
5	10	$21,712 \pm 1,065$	0,059
7	14	$17,509 \pm 1,606$	0,055
10	20	$18,945 \pm 1,786$	0,044

Apesar dos incrementos mais baixos (1 e 2 mV) fornecerem sinais de corrente de pico maiores, a medida se tornou morosa e apresentou um desvio padrão relativamente mais alto. Já os incrementos maiores (7 e 10 mV), além do maior valor de desvio padrão, houve uma queda significativa da intensidade de corrente medida, o que pode prejudicar na determinação de dopamina em concentrações menores e, conseqüentemente, no LOD do sensor. Assim, o valor de incremento considerado mais adequado foi o de 5 mV que apresentou uma boa resposta eletroquímica com desvio padrão inferior aos demais.

4.1.5.3. Velocidade de varredura

Por último, a velocidade de varredura foi avaliada de 5 a 50 mV s^{-1} , alterando o tempo de intervalo entre os pulsos (t_{int} , Equação 1) e mantendo fixos a amplitude de pulso, o

incremento de potencial e o tempo de pulso. As medidas foram realizadas utilizando uma alíquota de 70 μL da solução de dopamina ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) em solução tampão fosfato de sódio ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0). A Figura 32 apresenta o gráfico da corrente de pico relativa ($I_{pa} / \%$) e o potencial de pico anódico (E_{pa} / V) em função da velocidade de varredura (mV s^{-1}) e os respectivos voltamogramas, e a Tabela 7 apresenta os respectivos valores de corrente de pico e desvio padrão obtido para cada velocidade de varredura avaliada.

Figura 32 – Corrente de pico de oxidação da dopamina (I_{pa}) e potencial de pico (E_{pa}) em função da velocidade de varredura (mV s^{-1}), obtida por DPV ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ solução tampão fosfato de sódio, pH 7,0). Parâmetros fixados: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV e tempo de pulso 50 ms.

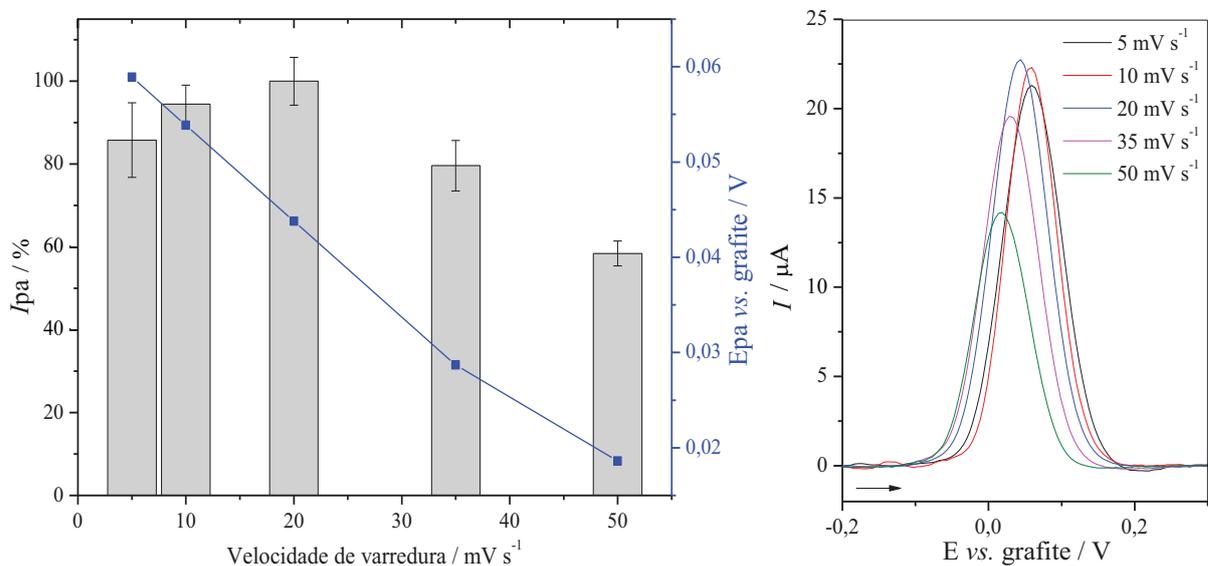


Tabela 7 – Corrente de pico anódico (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) para cada velocidade de varredura (v) avaliada, obtidos a partir dos voltamogramas da Figura 32. $n = 3$.

v (mV s^{-1})	t_{int} (ms)	I_{pa} (μA)	E_{pa} (V)
5	1000	$19,722 \pm 2,298$	0,059
10	500	$21,712 \pm 1,065$	0,059
20	250	$22,988 \pm 1,337$	0,044
35	143	$18,302 \pm 1,407$	0,024
50	100	$13,461 \pm 0,721$	0,019

Este tempo de intervalo irá influenciar na corrente capacitiva presente no processo, pois ocorre uma pré-eletrólise do analito durante o tempo de intervalo, uma vez que um potencial E de base é aplicado antes de aplicar o primeiro pulso ($E + \Delta E$). Esse período de pré-eletrólise é cerca de 20 a 100 vezes maior que o tempo de pulso, criando uma camada de difusão

a qual o pulso irá modificar apenas uma pequena parte (BARD et al., 2001). Como pode ser observado na Tabela 7, a melhor resposta eletroquímica foi para a velocidade de 20 mV s⁻¹, a qual apresentou a intensidade de corrente mais elevada com um desvio padrão satisfatório, e permitiu uma leitura relativamente rápida. Assim, o valor ótimo para a velocidade de varredura foi de 20 mV s⁻¹.

Com base nos estudos de parâmetros realizados, a Tabela 8 apresenta um resumo dos parâmetros otimizados da técnica DPV que foram utilizados para o restante do trabalho.

Tabela 8 – Parâmetros da técnica de DPV otimizados para detecção de DA com o sensor proposto.

Parâmetro	Otimizado
Amplitude de pulso (ΔE)	100 mV
Incremento de potencial (E_{step})	5 mV
Tempo de pulso	50 ms
Velocidade de varredura (v)	20 mV s ⁻¹

4.1.6 Otimização da etapa de pré-condicionamento

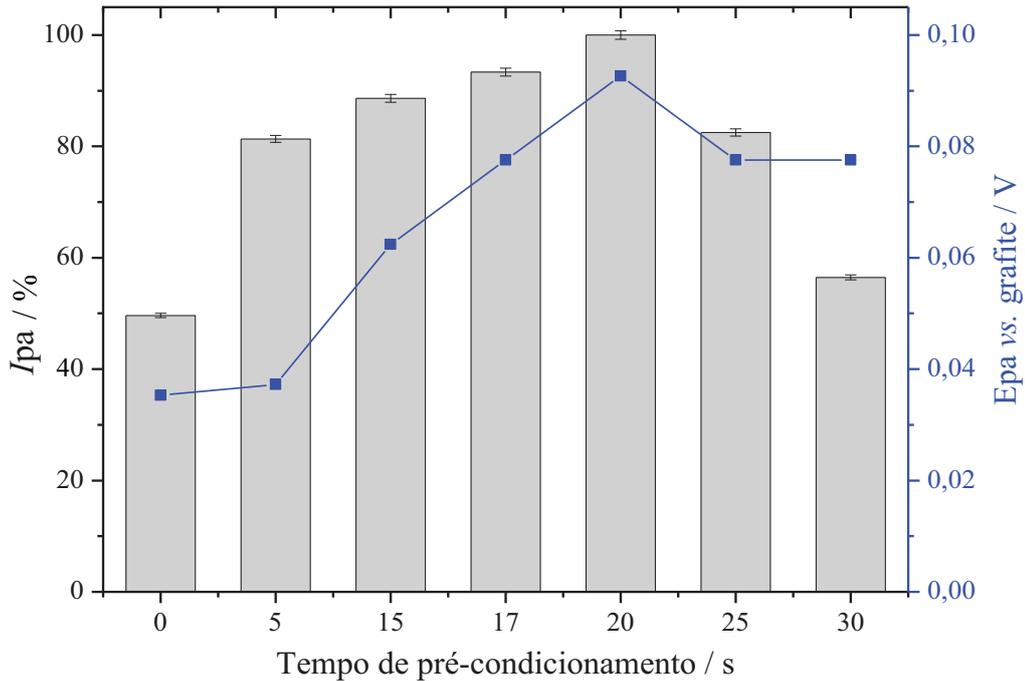
A adição de uma etapa de pré-condicionamento antes de iniciar as medidas eletroquímicas pode aprimorar significativamente a resposta do sensor. O pré-condicionamento consiste basicamente em aplicar um potencial fixo por um determinado período de tempo, a fim de polarizar o eletrodo e torná-lo mais condutor (TROIANI, 2007). Dessa forma, foi realizado um estudo de pré-condicionamento para os eletrodos modificados com PLA10PPy.DBSA. Estes estudos foram realizados com uma concentração de DA mais baixa (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) que nos estudos de parâmetros da técnica DPV (100 $\mu\text{mol L}^{-1}$), a fim de evitar saturação da superfície do eletrodo.

4.1.6.1. Tempo de pré-condicionamento

Primeiramente, foi avaliado o tempo de aplicação do potencial fixo, variando entre 5 e 35 segundos. O potencial pré-selecionado foi de -0,7 V vs. grafite, baseado em um estudo realizado por Troiani (2007). As medidas foram realizadas em triplicata ($n = 3$) com uma alíquota de 70 μL de dopamina (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em solução tampão fosfato de sódio (0,2 mol L⁻¹, pH 7,0), utilizando os seguintes parâmetros da técnica: amplitude de pulso 100 mV, incremento

de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 10 mV s⁻¹. A Figura 33 apresenta o gráfico da corrente de pico relativa ($I_{pa} / \%$) em relação à corrente mais alta obtida e o potencial de pico anódico (E_{pa} / V) em função do tempo de pré-condicionamento (s).

Figura 33 – Corrente de pico relativa (I_{pa}) e do potencial de pico (E_{pa}) para dopamina, em função do tempo de pré-condicionamento (s), obtidos por DPV (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina em 0,2 mol L⁻¹ solução tampão fosfato de sódio, pH 7,0). Parâmetros fixados: potencial de pré-condicionamento -0,7 V vs. grafite, amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹.



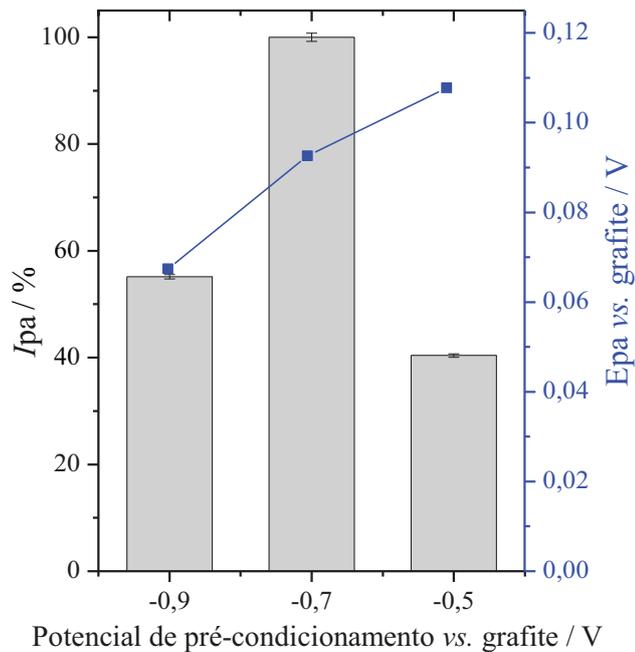
Como pode ser observado, a resposta do sensor modificado dobra ao ser aplicado um potencial de pré-condicionamento (-0,7 V vs. grafite) por 20 s, indicando que há uma melhora na cinética do processo de oxidação da DA. Em contrapartida, o potencial pico é deslocado para regiões mais positivas, caracterizando um processo termodinamicamente menos favorável.

4.1.6.2. Potencial de pré-condicionamento

Em seguida, foi avaliado o potencial utilizado para realizar o pré-condicionamento. Foram selecionados 3 potenciais: -0,9, -0,7 e -0,5 V vs. grafite. As medidas foram realizadas em triplicata ($n = 3$) com uma alíquota de 70 μL da solução de dopamina (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em tampão fosfato de sódio (0,2 mol L⁻¹, pH 7,0), utilizando os parâmetros: incremento de potencial 5 mV, amplitude de pulso 100 mV, tempo de pulso 50 ms, velocidade de varredura 10 mV s⁻¹ e tempo de pré-condicionamento 20 segundos. A Figura 34 apresenta o gráfico da

corrente de pico relativa ($I_{pa} / \%$) e o potencial de pico anódico (E_{pa} / V) em relação à corrente mais alta obtida em função do potencial de pré-condicionamento (V).

Figura 34 – Corrente de pico relativa (I_{pa}) e do potencial de pico (E_{pa}) para DA em função do potencial de pré-condicionamento (V), obtidos por DPV ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ solução tampão fosfato de sódio, pH 7,0). Parâmetros fixados: tempo de pré-condicionamento 20 s, amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} .



É possível observar que o potencial de pré-condicionamento ideal, neste caso, é de $-0,7 \text{ V}$, uma vez que fornece a intensidade de corrente mais elevada em relação aos potenciais avaliados. Este resultado, juntamente com a Figura 33, mostra que é possível aprimorar o desempenho eletroquímico (em termos de I_{pa}) do sensor modificado com PPy sem a necessidade de realizar uma superoxidação do polímero condutor como comumente é realizado (KOYUN et al., 2017; TROIANI, 2007).

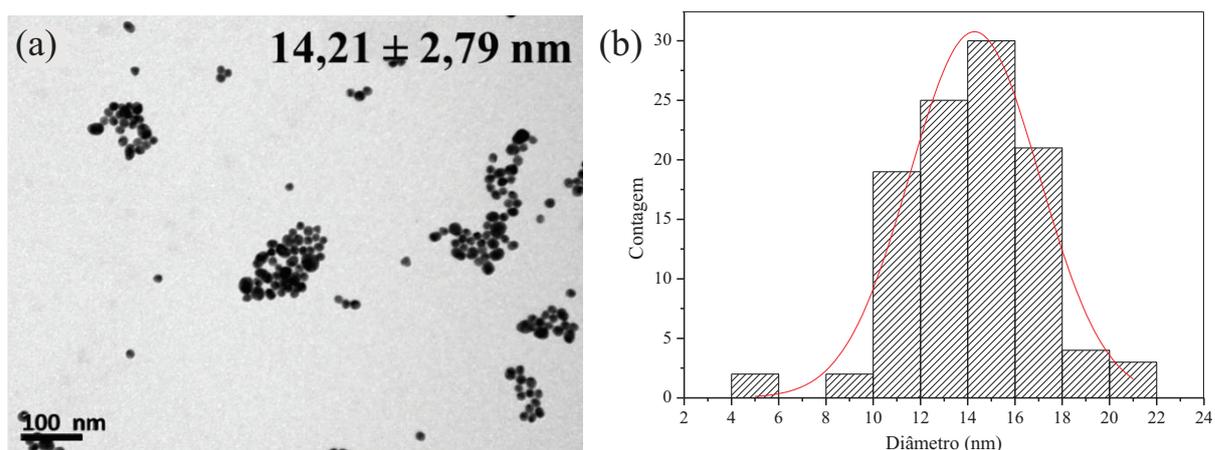
Entretanto, a solução de DA empregada nestes estudos ainda apresentava uma concentração relativamente alta de analito ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$), uma vez que a faixa de concentração de DA presente na urina de indivíduos saudáveis fica entre $0,3$ a $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (STECKL; RAY, 2018). Mesmo assim, o sinal de corrente medido foi considerado baixo (aproximadamente $1 \mu\text{A}$), além de ter ocorrido o deslocamento do E_{pa} para regiões mais positivas, indicando um processo termodinamicamente menos favorável. Por essas razões, foi avaliada a modificação do SPCE/PLA10PPy.DBSA com NPs-Au como alternativa para aprimorar o desempenho do sensor, cujos resultados são discutidos na seção seguinte.

4.2 MODIFICAÇÃO COM NANOPARTÍCULAS DE OURO

4.2.1 Síntese das NPs-Au

Como descrito na Seção 3.2.4, as NPs-Au foram sintetizadas em laboratório utilizando o ácido cloroáurico como precursor e o citrato de sódio como agente redutor. A síntese foi realizada à 100 °C por 20 min, obtendo-se uma dispersão de nanopartículas de coloração vermelha, a qual foi analisada por TEM e espectrofotometria UV-Vis. É possível observar na Figura 35-a que as NPs obtidas exibem formato aproximadamente esférico. O diâmetro médio das nanopartículas foi estimado com auxílio do *software* ImageJ, com base em um total de cerca de 106 partículas analisadas, considerando o formato esférico.

Figura 35 – (a) Imagem obtida por TEM das NPs-Au, aplicando uma tensão de 100 kV. (b) Histograma e gaussiana da distribuição de tamanho (diâmetro) das NPs, obtidos com base em cerca de 106 partículas.

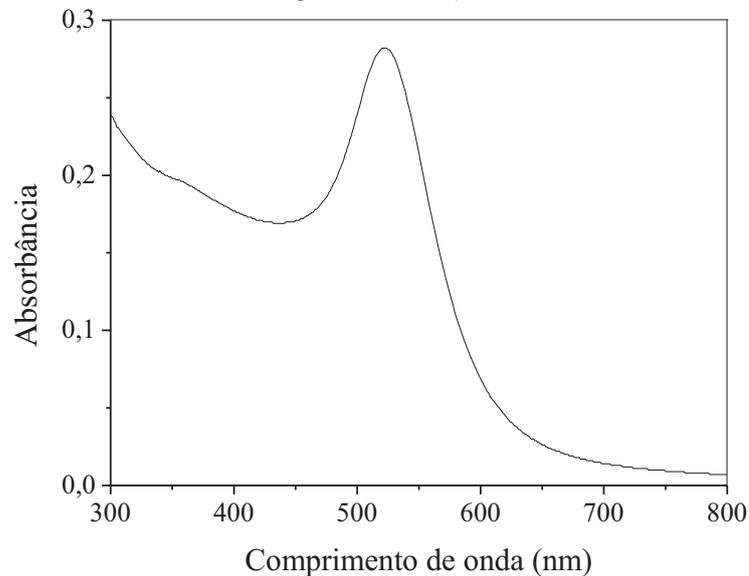


O histograma (Figura 35-b) indica que as NPs-Au sintetizadas apresentam um diâmetro de partícula majoritariamente entre 10 e 18 nm, resultando em um diâmetro médio de $14,21 \pm 2,79 \text{ nm}$, próximo ao valor indicado na literatura para o mesmo procedimento de síntese (MA et al., 2018; ZOU et al., 2021).

Em seguida, a dispersão de NPs-Au foi diluída (50 μL em 2,5 mL de água deionizada) e analisada por espectrofotometria UV-Vis, apresentando uma banda bem definida e de intensidade máxima em 522 nm (Figura 36), característica de NPs-Au com diâmetro médio de partícula próximo a 13 nm. A concentração molar foi estimada por meio da Lei de Lambert-Beer (Equação 2), utilizando o coeficiente de absorvidade molar $\epsilon = 2,7 \times 10^8 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (MA et al., 2018; ZOU et al., 2021). Para a dispersão diluída, foi estimada uma concentração

de $0,36 \text{ nmol L}^{-1}$. Utilizando a relação de diluição $M_1 V_1 = M_2 V_2$, tem-se que a concentração da dispersão de NPs-Au foi $18,32 \text{ nmol L}^{-1}$.

Figura 36 – Espectro de absorvância obtido por UV-Vis da dispersão de NPs-Au diluída (50 μL em 2,5 mL de água deionizada).



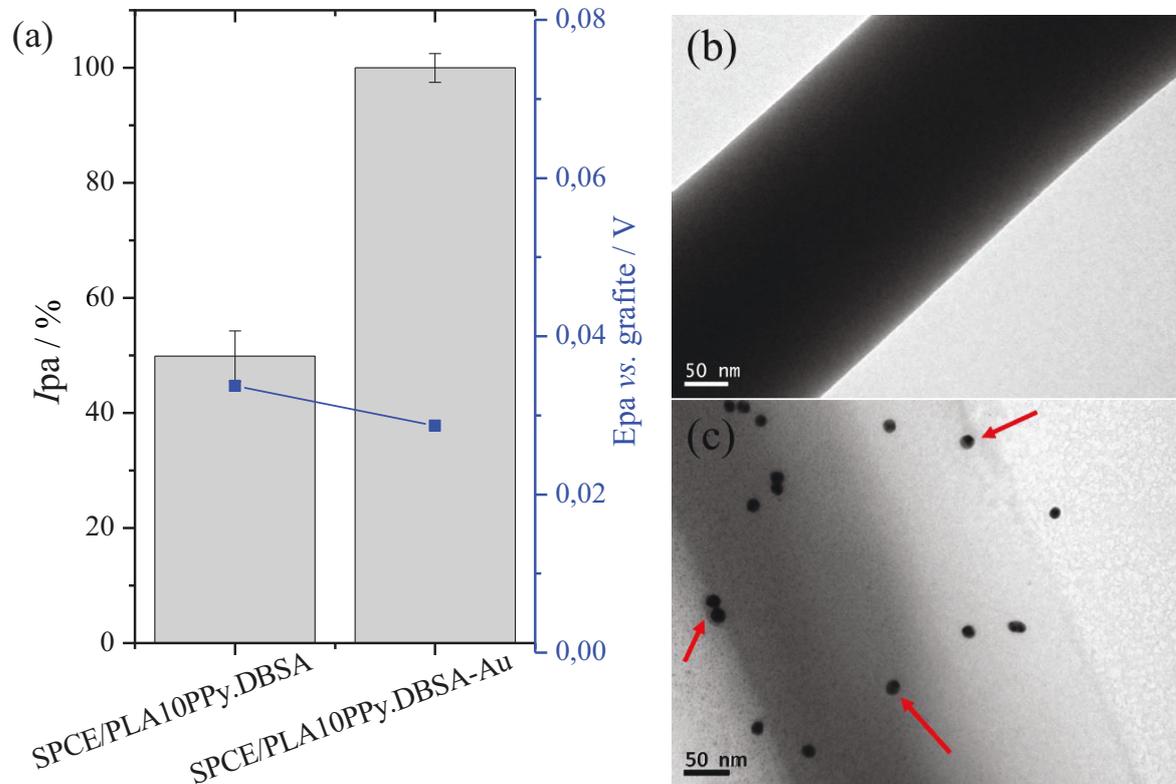
4.2.1 Modificação dos eletrodos com NPs-Au

A fim de aprimorar a resposta eletroquímica do sensor, uma alíquota (6 μL) da dispersão de NPs-Au foi utilizada para modificação das NFs de PLA10PPy.DBSA por gotejamento (*drop casting*). Para avaliar esta modificação, foram realizadas medidas por DPV (parâmetros otimizados, Tabela 8), com uma alíquota de 70 μL da solução de dopamina ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0), empregando os sensores SPCE/PLA10PPy.DBSA sem e com adição do filme de NPs-Au. A Figura 37-a apresenta a corrente de pico relativa ($I_{pa} / \%$) em relação à corrente mais alta obtida e o potencial de pico (E_{pa} / V) para DA, comparando-se os eletrodos modificados.

A partir do gráfico, é possível constatar que a corrente mais alta obtida foi para os eletrodos com NPs-Au, indicando um ganho de resposta de cerca de 100% (dobro) em relação ao eletrodo modificado somente com PLA10PPy.DBSA. Além da maior condutividade das nanopartículas metálicas, o ouro em especial possui uma característica catalítica para a reação de oxidação da dopamina, favorecendo este processo e, por conseguinte, aumentando significativamente o sinal de corrente medido para uma mesma concentração (LAKARD; PAVEL; LAKARD, 2021).

Figura 37 – (a) Corrente de pico relativa (I_{pa}) e potencial de pico (E_{pa}) para DA obtidos por DPV (amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso de 50 ms e velocidade de varredura de 20 mV s⁻¹), utilizando uma solução de DA a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio 0,2 mol L⁻¹ (pH 7,0).

Imagens obtidas por TEM, aplicando uma tensão de 100 kV, das NFs (b) PLA10PPy.DBSA (b) e (c) PLA10PPy.DBSA-Au. As flechas vermelhas indicam as NPs-Au adsorvidas na superfície das NFs.

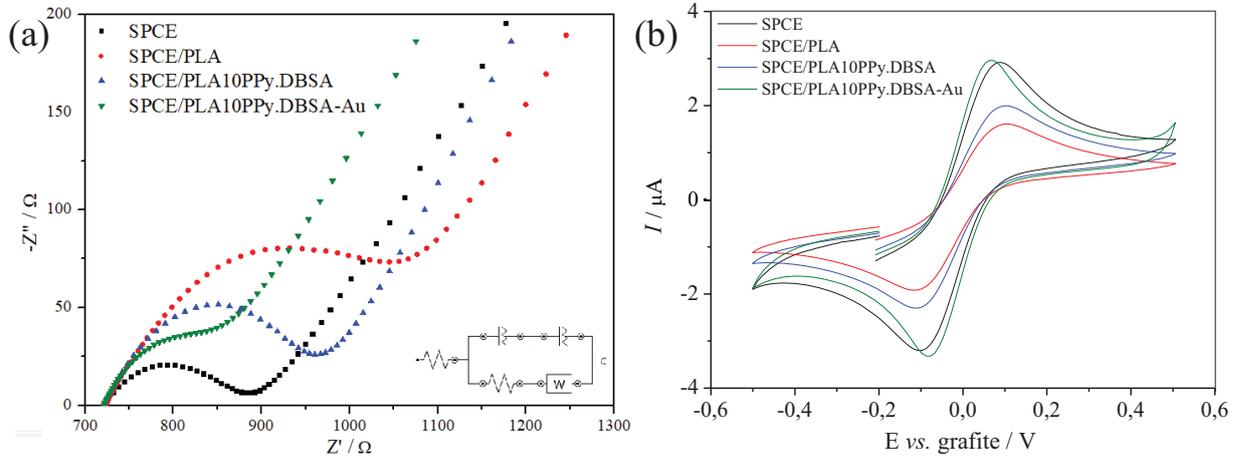


Adicionalmente, as NFs usadas na construção destes dois sensores foram analisadas por TEM. Na Figura 37-b pode-se observar uma região de uma NF de PLA10PPy.DBSA e na Figura 37-c uma NF modificada com as NPs-Au (PLA10PPy.DBSA-Au), indicando boa dispersão destas partículas adsorvidas sobre a fibra.

4.2.2 Avaliação dos eletrodos por EIS e CV

Para melhor compreensão dos sensores em estudo, foram realizadas medidas por EIS e CV dos eletrodos limpos e modificados, utilizando uma solução com o par redox ferri/ferrocianeto ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 5 mmol L⁻¹) em KCl (0,3 mol L⁻¹). A Figura 38 apresenta os gráficos de Nyquist e os voltamogramas cíclicos para os eletrodos limpo (SPCE) e modificado com NFs de PLA (SPCE/PLA), PLA10PPy.DBSA (SPCE/PLA10PPy.DBSA) e PLA10PPy.DBSA-Au (SPCE/PLA10PPy.DBSA-Au).

Figura 38 – (a) Gráficos de Nyquist obtidos por EIS, de 0,01 a 10^5 Hz, comparando as etapas de modificação dos eletrodos. Inserido: circuito equivalente proposto para o sistema. (b) Voltamogramas cíclicos obtidos a 50 mV s^{-1} . Ambas as medidas foram realizadas com o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 5 mmol L^{-1} em $\text{KCl } 0,3 \text{ mol L}^{-1}$. Em preto: eletrodos limpos; vermelho: eletrodos modificados com PLA puro; azul: eletrodos modificados com PLA10PPy.DBSA; verde: eletrodos modificados com PLA10PPy.DBSA-Au.



A partir da Figura 38-a, é possível observar um aumento significativo do semicírculo, referente à resistência à transferência de carga (R_{ct} / Ω), para os eletrodos modificados com PLA puro (323Ω) em relação ao eletrodo limpo (159Ω). Este resultado já era esperado, uma vez que se trata de um polímero isolante, podendo causar assim um certo bloqueio das áreas eletroativas do WE. Por outro lado, ao adicionar o PPy.DBSA às NFs, uma diminuição do R_{ct} é observada (237Ω) em relação ao PLA puro. Isso ocorre provavelmente devido à condutividade que este polímero introduz à composição, facilitando os processos de transferência de carga eletrodo/solução. Por último, propõem-se que as NPs-Au sobre as NFs aprimoram consideravelmente a condutividade do eletrodo modificado, favorecendo os processos redox, tendo em vista a diminuição significativa do valor de R_{ct} (117Ω). Sugere-se que essa melhora considerável no desempenho eletroquímico do sensor esteja associada ao aumento da área de superfície específica, favorecendo as interações eletrodo/analito.

A Figura 38-b apresenta os voltamogramas cíclicos dos diferentes eletrodos, cujos resultados corroboram com a análise por EIS. No caso da modificação do SPCE com as NFs de PLA e PLA10PPy.DBSA, foi observado um aumento do R_{ct} que, nos voltamogramas cíclicos, pode ser identificado pelo aumento do ΔE_p e pela diminuição das correntes I_{pa} e I_{pc} . Ao modificar a superfície das NFs com as NPs-Au, ocorre uma diminuição do ΔE_p e um aumento das correntes I_{pa} e I_{pc} , caracterizando a diminuição do R_{ct} no gráfico de Nyquist. A Tabela 9 apresenta os principais resultados eletroquímicos obtidos por EIS e CV para os diferentes eletrodos.

Tabela 9 – Resultados eletroquímicos obtidos a partir da EIS e CV para o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 5 mmol L⁻¹ em KCl 0,3 mol L⁻¹ (Figura 38), empregando os diferentes eletrodos (limpo e modificados).

Eletrodo	Rct (Ω)	Correntes (μA)		I _{pa} /I _{pc}	Potenciais (V)		ΔE _p (V)
		I _{pa}	I _{pc}		E _{pa}	E _{pc}	
SPCE	159	3,122	-2,860	1,09	0,09	-0,10	0,19
SPCE/PLA	323	1,781	-1,719	1,04	0,10	-0,11	0,21
SPCE/PLA10PPy.DBSA	237	2,174	-2,092	1,04	0,10	-0,11	0,21
SPCE/PLA10PPy.DBSA-Au	117	3,127	-2,995	1,04	0,07	-0,08	0,15

A partir da Tabela 9, é possível observar que o desempenho do sensor eletroquímico é reduzido quando modificado com as NFs de PLA puro, tendo em vista a diminuição das correntes de pico (I_{pa} e I_{pc}) e o aumento de ΔE_p . Já a adição de 10% (m/m) de PPy.DBSA aumenta cerca de 21,5% as intensidades das correntes de pico em relação ao PLA puro, mantendo o mesmo ΔE_p . Contudo, o melhor desempenho eletroquímico é apresentado pelo SPCE/PLA10PPy.DBSA-Au. Apesar das intensidades das correntes de pico serem similares ao SPCE, o sistema é termodinamicamente mais favorecido, uma vez que a modificação com as NFs e as NPs-Au promoveram a diminuição do ΔE_p e uma razão I_{pa}/I_{pc} mais próxima de 1,0, indicando melhor reversibilidade dos processos redox.

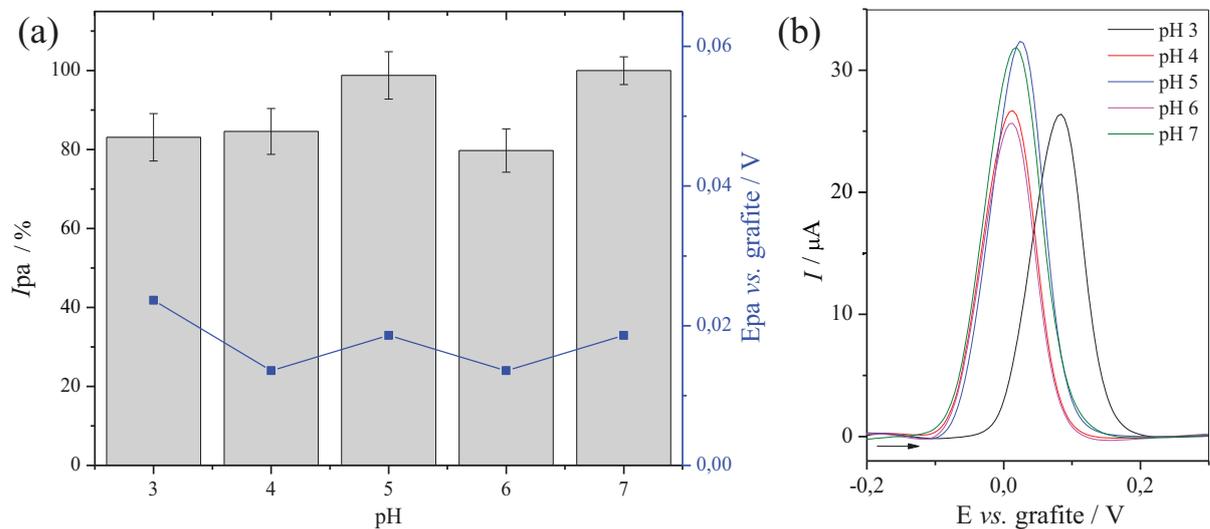
É importante ressaltar que os altos valores de ΔE_p observados nos diferentes eletrodos são atribuídos à alta resistência à transferência de carga das tintas feitas em laboratório e estão de acordo com os resultados de estudos publicados anteriormente (ARAÚJO et al., 2020; FREITAS et al., 2021). No entanto, esse comportamento não interfere na aplicação proposta em termos de desempenho do dispositivo descartável ou resolução de sinal (PEREIRA; SANTANA; SPINELLI., 2022). Dessa forma, os estudos subsequentes (pH do eletrólito de suporte, curva de calibração e aplicabilidade do sensor) foram realizados com eletrodos modificados com PLA10PPy.DBSA-Au.

4.2.3 Influência do pH da solução

O potencial hidrogeniônico (pH) da solução é um fator que pode interferir na resposta eletroquímica, uma vez que pode alterar o mecanismo de oxidação da dopamina por protonação ou deprotonação. A DA possui três valores de pKa, sendo o primeiro 8,71 (fenol), o segundo

10,90 (amina) e o terceiro 13,68 (fenol). Deste modo, foram realizadas medidas por DPV de $-0,5$ a $+0,5$ V utilizando uma alíquota de $70 \mu\text{L}$ da solução de dopamina ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) em diferentes eletrólitos suporte e valores de pH (conforme descrito na Seção 3.1): solução tampão fosfato de sódio (pH 0,3; 0,6 e 7,0) e solução tampão acetato de sódio (pH 4,0 e 5,0). As medidas foram obtidas com os parâmetros otimizados (Tabela 8). A Figura 39 apresenta o gráfico da corrente de pico relativa ($I_{pa} / \%$) e o potencial de pico anódico (E_{pa} / V) em função do pH, e os respectivos voltamogramas.

Figura 39 – (a) Corrente de pico de oxidação da dopamina (I_{pa}) e o potencial de pico anódico (E_{pa}) em função do pH da solução, obtida por DPV ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$). (b) Voltamogramas obtidos para diferentes pHs do eletrólito suporte. Parâmetros otimizados: amplitude de pulso 100 mV , incremento de potencial 5 mV , tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 20 mV s^{-1} .



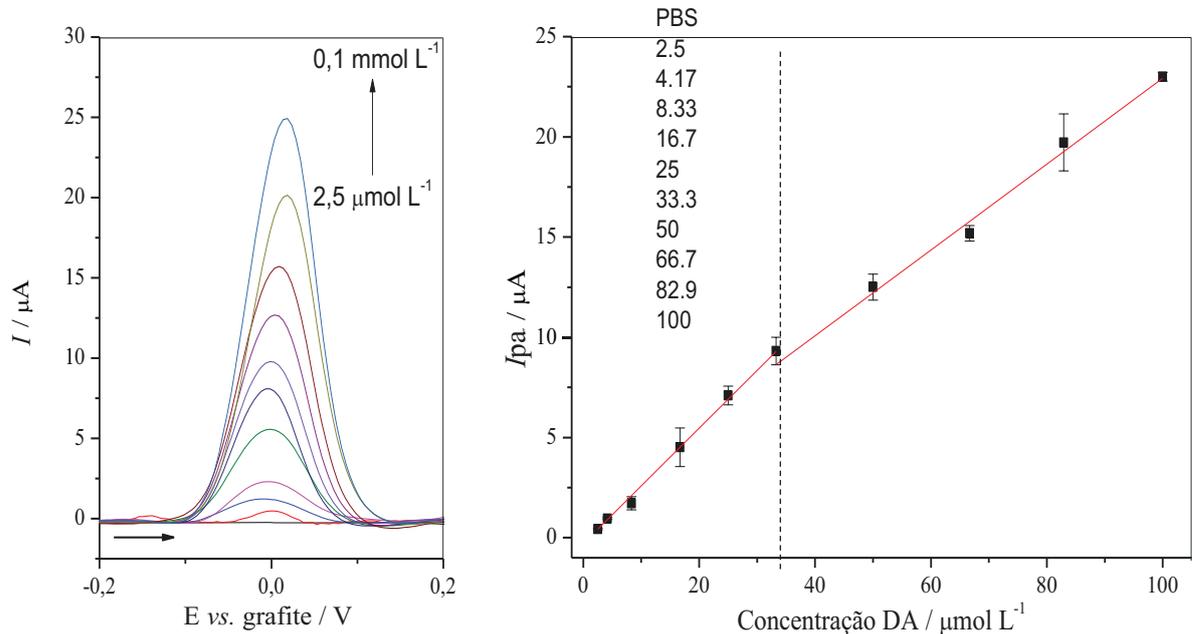
A partir do gráfico, é possível constatar que a corrente de pico de oxidação da dopamina não variou significativamente para a faixa de pH selecionada, o que é uma vantagem tendo em vista que o objetivo do trabalho é aplicar o sensor para detecção de DA em fluidos biológicos, como o plasma sanguíneo (pH próximo de 7,0) e a urina, que apresenta pH entre 4,5 a 8,0 (SARIGUL; KORKMAZ; KURULTAK, 2019). De todo modo, a maior intensidade de corrente de pico foi observada para os pHs 5,0 e 7,0, sendo que o pH 7,0 foi escolhido para continuidade ao trabalho por ser um pH próximo ao de muitas amostras biológicas.

4.2.4 Curva de calibração para a DA em solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0)

O próximo passo foi construir uma curva de calibração para a dopamina a fim de avaliar o desempenho analítico do sensor frente ao analito e determinar o LOD e o LOQ. Foram preparadas 10 soluções de concentrações diferentes de DA ($2,5$ a $100 \mu\text{mol L}^{-1}$) a partir de

diluições por partes, em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0). As medidas foram realizadas por DPV de $-0,5$ a $+0,5 \text{ V}$, utilizando uma alíquota de $70 \mu\text{L}$ de cada solução, com os parâmetros voltamétricos otimizados (Tabela 8). A Figura 40 apresenta os voltamogramas obtidos para as diferentes concentrações e o respectivo gráfico da curva de calibração ($[\text{DA}]$ vs. I_{pa}).

Figura 40 – (a) Voltamogramas obtidos com o sensor proposto em solução tampão fosfato de sódio ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$; pH 7,0) na ausência (branco) e na presença de dopamina em diferentes concentrações ($2,5$ a $100 \mu\text{mol L}^{-1}$). (b) Curva de calibração obtida para a dopamina. Parâmetros de DPV utilizados: amplitude de pulso 100 mV , incremento de potencial 5 mV , tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 20 mV s^{-1} .

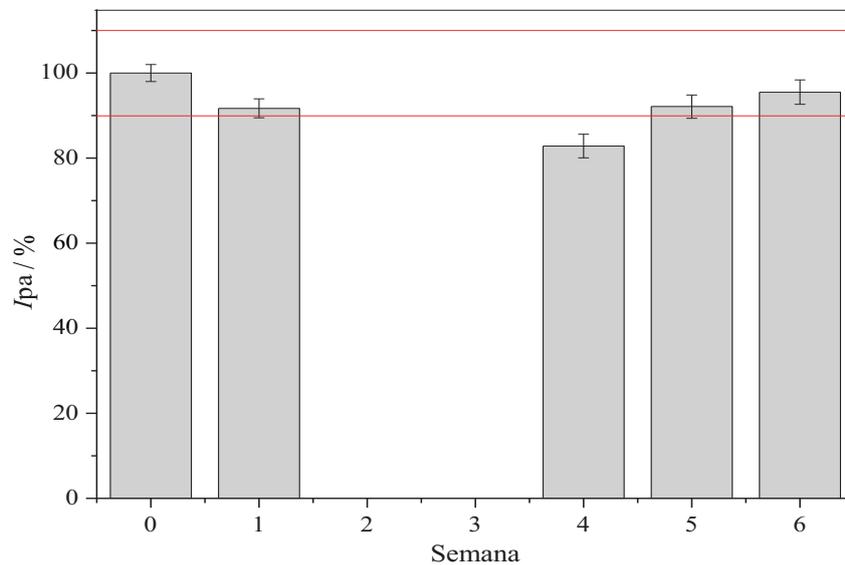


Como pode ser observado, a curva de calibração apresenta duas regiões lineares: entre $2,5$ e $33,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9947$), e $33,3$ e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9928$). Este comportamento é comum em alguns sensores eletroquímicos, visto que pode ocorrer saturação/competição nas áreas eletroativas em concentrações mais altas de analito. Para obter o LOD e o LOQ do sensor (Equações 3 e 4), foi utilizada a equação da curva da primeira região linear: $I_{\text{pa}}(\mu\text{A}) = -0,2942(\pm 0,0420) + 0,2881(\pm 0,0105) * M_{\text{DA}}(\mu\text{mol L}^{-1})$, resultando em um limite de detecção e de quantificação de $0,44 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $1,47 \mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente, comparável a outros trabalhos cujo material modificador é similar ao desenvolvido neste trabalho (KALINKE et al., 2020; LAKARD; PAVEL; LAKARD, 2021). Já a equação da segunda região linear é $I_{\text{pa}}(\mu\text{A}) = 1,5091(\pm 0,7961) + 0,2141(\pm 0,0091) * M_{\text{DA}}(\mu\text{mol L}^{-1})$.

4.2.5 Estudo de estabilidade e reprodutibilidade dos eletrodos modificados

Com o intuito de avaliar a estabilidade dos eletrodos ao longo do tempo, 35 eletrodos SPCE/PLA10PPy.DBSA-Au foram preparados no mesmo dia para serem avaliados durante 6 semanas. A Figura 41 apresenta o gráfico da corrente de pico relativa ($I_{pa} / \%$) em função do número de semanas passadas a partir da data de fabricação dos eletrodos.

Figura 41 – Corrente de pico relativa (I_{pa}) obtida por DPV em função do número de semanas passadas a partir da data de fabricação dos eletrodos SPCE/PLA10PPy.DBSA-Au. As medidas foram realizadas utilizando uma solução de dopamina a $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), com os parâmetros otimizados: amplitude de pulso 100 mV , incremento de potencial 5 mV , tempo de pulso de 50 ms e velocidade de varredura de 20 mV s^{-1} . Barra superior e inferior (em vermelho) de variação de até 10%.



Como pode ser observado, o sensor se manteve estável por 6 semanas, apresentando uma redução inferior a 10% na intensidade das correntes de pico na semana 6 em relação ao dia de fabricação (semana 0). Quanto aos resultados da semana 4, a diferença de resposta foi mais significativa (decaiu em cerca de 17%). Isso pode ter ocorrido por conta de outros fatores que não estão relacionados necessariamente à estabilidade do sensor desenvolvido, como instabilidade da rede elétrica e/ou problema de contato entre o sensor e o adaptador utilizado para obtenção das medidas.

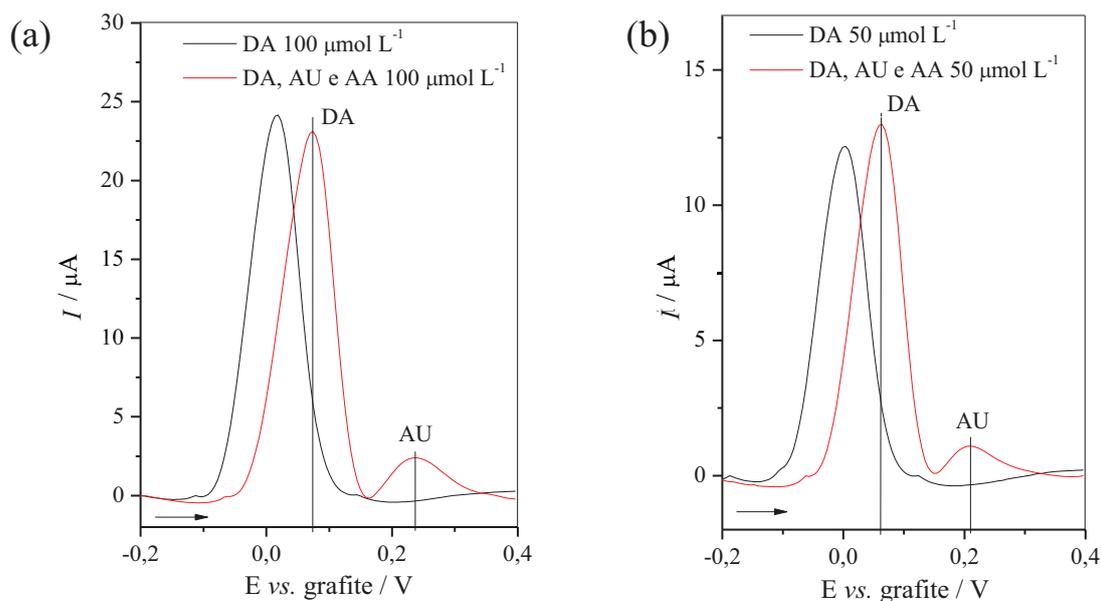
Quanto à reprodutibilidade dos sensores, foram avaliados 20 eletrodos de 5 lotes de impressão diferentes. Foi realizada apenas uma medida por eletrodo, uma vez que ocorre a impregnação da dopamina na superfície do WE, resultando em um envenenamento do sensor. Obteve-se uma média de I_{pa} igual a $21,74 \pm 1,55 \mu\text{A}$, com desvio padrão relativo (DPR) de 7,13%. Isto mostra que, apesar dos eletrodos serem descartáveis (apenas uma medida) e o

processo de produção ser manual, foi possível desenvolver uma metodologia capaz de fabricar dispositivos reprodutíveis.

4.2.6 Estudo de interferentes – ácido úrico e ácido ascórbico

Sabendo que o objetivo do trabalho é desenvolver um sensor eletroquímico para detecção de dopamina em fluidos biológicos (como urina e plasma sanguíneo), foi realizado um estudo de interferentes com dois compostos comumente presentes na urina e que apresentam o potencial de oxidação próximo ao do analito: ácido úrico (AU) e ácido ascórbico (AA) (KALINKE et al., 2020; SAJID et al., 2016). As medidas foram realizadas utilizando uma alíquota de 70 μL de amostras preparadas com solução tampão fosfato de sódio 0,2 mol L^{-1} (pH 7,0) contendo DA, AU e AA nas mesmas concentrações molares (50 ou 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Para comparação, também foi avaliada a solução de DA (50 ou 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em 0,2 mol L^{-1} de solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0) sem a presença dos dois potenciais interferentes. A análise por DPV foi feita de $-0,5$ a $+0,5$ V, nas condições otimizadas. A Figura 42 apresenta os voltamogramas obtidos nas 2 concentrações investigadas.

Figura 42 – Voltamogramas obtidos para a solução de dopamina em 0,2 mol L^{-1} de solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0) na presença de ácido úrico e ácido ascórbico. Concentração molar das moléculas de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a) e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (b). Parâmetros de DPV otimizados: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 20 mV s^{-1} .



Como pode ser observado nos voltamogramas da Figura 42, o pico de resposta para DA e AU aparecem suficientemente separados ($E_{paDA} = 0,07 \pm 0,01$ V, $E_{paAU} = 0,22 \pm 0,02$ V), e o AA não é detectado pelo sensor na concentração investigada e nas condições

empregadas neste estudo. Pode-se concluir que o AU e o AA não interferiram significativamente na detecção e quantificação da DA, uma vez que os valores de corrente de pico (I_{pa} / μA) para DA são muito próximos, resultando em um erro inferior a 5% entre as amostras sem e com os potenciais interferentes (Tabela 10). Além disso, é possível observar a separação de pico de 150 mV entre os picos de oxidação da DA e do AU, demonstrando que o sensor apresenta seletividade para a DA. Entretanto, pode-se ver um pequeno deslocamento do E_{pa} da DA de cerca de 0,06 V para regiões mais positivas, indicando que pode estar havendo um leve efeito interferente, mas que não está afetando as medidas de corrente de pico, nas condições estudadas.

Além disso, aproveitou-se os voltamogramas obtidos neste estudo para avaliar também o efeito destes potenciais interferentes sobre a exatidão da quantificação da DA nas soluções contendo AU e AA. Para isso, utilizou-se a equação da reta da segunda faixa linear da curva de calibração (padrão externo – Figura 40). A Tabela 10 apresenta resultados da quantificação da dopamina sem e com a presença de potenciais interferentes, bem como a porcentagens de recuperação.

Tabela 10 – Resultados da corrente (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) para DA nas amostras com diferentes concentrações do analito, na ausência e na presença de potenciais interferentes. Quantificação realizada a partir da equação da curva de calibração (Figura 40) e porcentagens de recuperação da DA nas amostras estudadas.

Amostra	I_{pa} / μA	E_{pa} / V	M_{DA} adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	M_{DA} encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	24,165	0,019	100	105,07	105,07
2	23,256	0,074	100	101,57	101,57
3	12,065	0,004	50	49,30	98,60
4	12,929	0,064	50	51,82	103,64

Amostra 1: DA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$; 2: DA, AU e AA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$; 3: DA 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$; 4: DA, AU e AA 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$; todas em solução tampão fosfato de sódio (0,2 mol L^{-1} , pH 7,0).
Recuperação = (valor encontrado / valor adicionado) x 100%.

Os resultados apresentados na Tabela 10 demonstraram a exatidão do sensor proposto, uma vez que as porcentagens de recuperação de DA nas amostras (na ausência e presença de interferentes) foram próximas a 100%. Além disso, é possível notar que o sensor é sensível e seletivo para a DA na presença de interferentes nas diferentes concentrações (amostra 2 e 4).

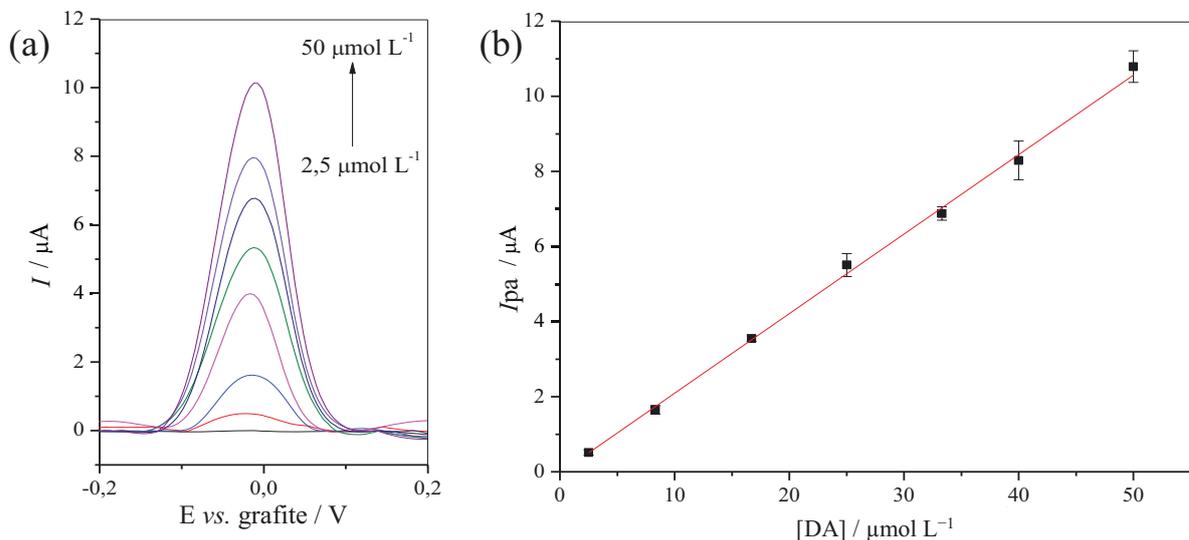
4.2.7 Aplicabilidade do sensor obtido – Detecção de DA em fluido biológico simulado

Com o intuito de avaliar a aplicabilidade do sensor em uma amostra mais complexa e próxima do fluido biológico real, foi realizado um estudo em urina simulada. A solução foi produzida de acordo com a composição descrita na Tabela 2 (Seção 3.1), na qual foram adicionadas concentrações específicas de DA. Contudo, devido ao efeito de matriz gerado pelos compostos presentes na urina simulada, foi necessário construir uma nova curva de calibração para ser empregada na quantificação de DA nesta amostra.

A curva de calibração foi construída pelo método de superposição de matriz (*matrix-matched*), que consiste na adição do padrão do analito em diversas concentrações em uma matriz similar à da amostra, isenta do analito. Este método é usado para compensar o efeito da matriz e/ou de possíveis interferentes, fornecendo uma melhor correspondência com a composição da amostra (RIBANI et al., 2004).

Deste modo, uma curva de calibração sobre matriz simulada foi construída com 7 concentrações diferentes de DA (2,5 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$), preparadas a partir de diluições por partes, em urina simulada (pH 7,0) a uma temperatura de aproximadamente 37 °C. As medidas foram realizadas por DPV de -0,5 a +0,5 V utilizando uma alíquota de 70 μL da solução, sob as condições previamente otimizadas (Tabela 8). A Figura 43 apresenta os voltamogramas obtidos para as diferentes concentrações de DA (a) e a respectiva curva de calibração ([DA] vs. I_{pa}) por superposição de matriz (b).

Figura 43 – (a) Voltamogramas obtidos para as concentrações de 2,5 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de DA em urina simulada (pH 7,0). Voltamograma em preto: urina simulada sem DA. (b) Curva de calibração por superposição de matriz obtida para DA. Parâmetros de DPV otimizados: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 20 mV s^{-1} .



Como pode ser observado, a curva de calibração apresentou uma região linear de 2,5 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9987$), resultando na equação da reta: $I_{pa}(\mu\text{A}) = -0,0247(\pm 0,0484) + 0,2119(\pm 0,0032) * M_{DA}(\mu\text{mol L}^{-1})$. O LOD foi calculado a partir da Equação 3, resultando em um valor de 0,69 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o qual se encontra dentro da faixa de concentração (de 0,3 a 3,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de DA presente na urina de indivíduos saudáveis (STECKL; RAY, 2018). Além disso, este resultado é comparável a outros trabalhos (KALINKE et al., 2020; LAKARD; PAVEL; LAKARD, 2021). Quanto ao LOQ (Equação 4), foi obtido o valor de 2,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Em seguida, foi avaliada a detecção seletiva da DA na presença de AU na amostra de urina simulada. Foram adicionadas concentrações iguais de DA e AU, e a corrente de pico medida foi relacionada à concentração do analito a partir da equação da curva de calibração. Os resultados podem ser vistos nos voltamogramas da Figura 44 e na Tabela 11.

Figura 44 – Voltamogramas obtidos para a solução de DA em urina simulada (pH 7,0) na presença de AU. Concentração molar das moléculas de 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a) e 8,33 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (b). Parâmetros otimizados: amplitude de pulso 100 mV, incremento de potencial 5 mV, tempo de pulso 50 ms e velocidade de varredura 20 mV s^{-1} .

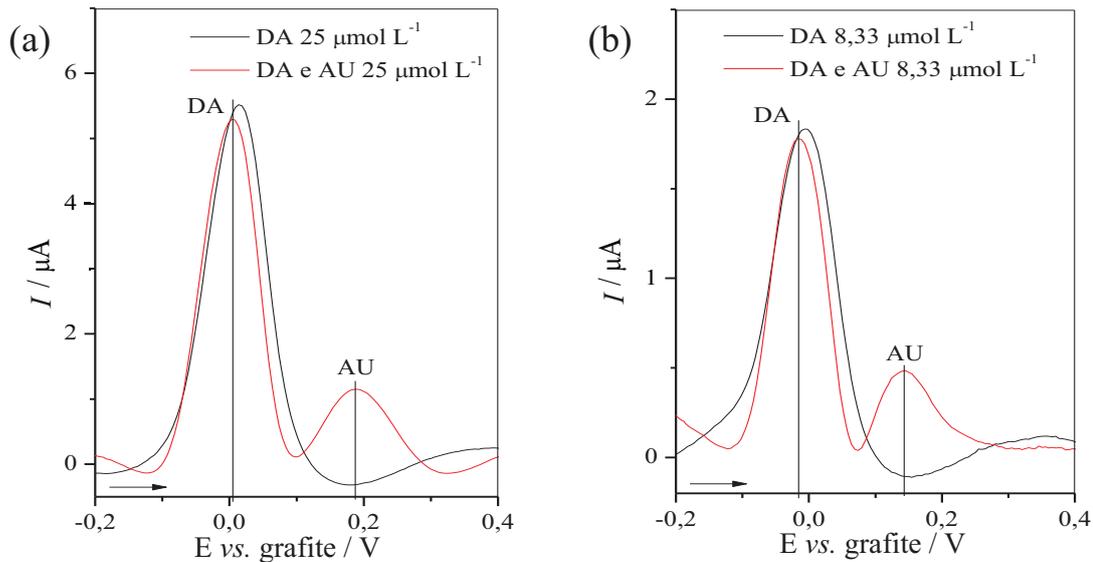


Tabela 11 – Resultados da corrente ($I_{pa} / \mu\text{A}$) e potencial de pico anódico (E_{pa} / V) para as amostras de urina simulada com diferentes concentrações de DA e AU. Quantificação realizada a partir da equação da curva de calibração (Figura 43) e porcentagens de recuperação da DA nas amostras estudadas. ($n=2$).

Amostra	$I_{pa} / \mu\text{A}$	E_{pa} / V	M_{DA} adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	M_{DA} encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	$5,51 \pm 0,31$	0,014	25,0	26,1	104,40
2	$5,65 \pm 0,24$	0,009	25,0	26,2	104,80
3	$1,65 \pm 0,12$	-0,007	8,33	8,01	96,16
4	$1,70 \pm 0,04$	-0,017	8,33	8,14	97,72

Amostras de urina simulada (pH 7,0) contendo (1): DA 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$; (2): DA e AU 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$; (3): DA 8,33 $\mu\text{mol L}^{-1}$; (4): DA e AU 8,33 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Recuperação = (valor encontrado / valor adicionado) x 100%.

Como pode ser observado, o AU não interferiu na detecção e quantificação de DA em urina simulada, nas condições estudadas. Além dos valores de corrente de pico (I_{pa}) para DA serem próximos, as porcentagens de recuperação foram próximas a 100% (Tabela 11). Esse resultado indica a exatidão do sensor proposto em uma amostra complexa. Além disso, assim como observado para as amostras em solução tampão fosfato de sódio (Figura 42), também foi possível observar a separação entre os picos de oxidação da DA e do AU, demonstrando que o sensor é seletivo para a DA em urina simulada.

O sensor SPCE/PLA10PPy.DBSA-Au desenvolvido neste trabalho apresenta LOD e seletividade para a DA comparáveis a demais trabalhos publicados na literatura, como apresentado na Tabela 12.

Tabela 12 – Comparação entre diferentes eletrodos modificados para detecção eletroquímica de dopamina.

Eletrodo	Técnica	Faixa linear de trabalho ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
SPCE/PLA10PPy.DBSA-Au	DPV	2,5 – 50	0,69	Este trabalho
PLA/G _{NaOH-30} -EC	DPV	a. 7,0 – 100 b. 100 – 1000	2,17	(KALINKE et al., 2020)
SPE/PLA-PEDOT _{NaOH}	DPV	100 – 1000	181	(FONTANA-ESCARTIN et al., 2021)
EC/PPy	DPV	1 – 1000	0,007	(KOYUN et al., 2017)
SPGNE	DPV	0,5 – 2000	0,12	(PING et al., 2012)
CPE/CNF-Pd	DPV	0,5 – 160	0,20	(HUANG et al., 2008)

PLA/G_{NaOH-30}-EC: PLA modificado com grafeno, ativado com NaOH por 30 min seguido de tratamento eletroquímico; PLA-PEDOT_{NaOH}: PLA revestido com PEDOT, ativado com NaOH por 30 min; EC: eletrodo de carbono; SPGNE: eletrodo de grafeno; CPE/CNF-Pd: eletrodo de pasta de carbono modificado com NFs de carbono e paládio.

5 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi possível desenvolver um material nanoestruturado para ser empregado como modificador em sensores eletroquímicos para detecção de dopamina. Primeiramente, foi observado que os parâmetros de solução (concentração de polímero e viscosidade) e de processo (tensão aplicada) influenciam na morfologia das nanofibras eletrofiadas. Além disso, verificou-se que a dopagem do PPy com o surfactante DBSA durante a síntese permitiu a obtenção de um material mais condutor e eletroquimicamente mais ativo.

Os estudos por voltametria de pulso diferencial (DPV) possibilitaram identificar a porcentagem mássica ótima de PPy.DBSA a ser adicionada à solução de PLA. As NFs eletrofiadas com 10% (m/v) de PLA contendo 10% (m/m) de PPy.DBSA mostraram-se contínuas e livre de defeitos. Além disso, resultaram em um aumento do sinal de corrente de pico de oxidação (I_{pa}) de DA de cerca de duas vezes em relação ao SPCE. Sugere-se que o melhor desempenho do SPCE/PLA10PPy.DBSA esteja associado ao aumento das interações entre o analito (DA) e o eletrodo modificado devido ao aumento da área de superfície específica. Ademais, o melhor desempenho do PPy dopado em relação ao PPy puro é provavelmente devido à presença do surfactante DBSA nas NFs. Além de favorecer a dispersão do PPy ao longo das NFs, o DBSA cria interações do tipo íon-dipolo e π - π com as moléculas de DA.

Com o intuito de se obter um dispositivo com maior sensibilidade, foi realizada uma modificação posterior com NPs-Au. Além das nanopartículas apresentarem excelente condutividade, sendo observada na diminuição do Rct das medidas obtidas por EIS, a atividade electrocatalítica das NPs-Au para a oxidação da DA permitiu um aumento do sinal de I_{pa} de cerca de quatro vezes em relação ao SPCE. Além disso, os voltamogramas cíclicos mostraram que o eletrodo SPCE/PLA10PPy.DBSA-Au apresentou maior reversibilidade (processo redox é termodinamicamente mais favorecido) uma vez que a variação de potencial de pico (ΔE_p) diminuiu em relação aos outros eletrodos.

Após otimização dos parâmetros voltamétricos da técnica DPV, os estudos realizados com os eletrodos SPCE/PLA10PPy.DBSA-Au para a determinação de DA em solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0) apresentaram duas faixas lineares (entre 2,5 e 33,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e 33,3 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$), com LOD de 0,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LOQ de 1,47 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Quanto à quantificação de DA em amostra de urina simulada (pH 7,0), também foi observada ampla faixa linear de trabalho (entre 2,5 e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$), cujos LOD (0,69 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e LOQ (2,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$) se encontram dentro da faixa de concentração de DA presente na urina de indivíduos saudáveis.

Os sensores modificados apresentaram seletividade para a DA na presença de ácido úrico e ácido ascórbico, tanto em solução tampão fosfato de sódio quanto em amostra de urina simulada. Além disso, apesar de possuir muitas etapas manuais, o processo de fabricação e obtenção dos eletrodos mostrou-se reprodutível, e os sensores permaneceram estáveis por pelo menos 6 semanas.

Sugestões para trabalhos futuros:

- Investigar o uso de PPy como revestimento sobre as nanofibras eletrofiadas e avaliar as alterações das propriedades elétricas e eletroquímicas quando comparado com as NFs compósitas (PLA/PPy);
- Avaliar a inclusão de NPs-Au na solução de PLA antes de realização a eletrofição, de modo a obter NFs compósitas (PLA/Au);
- Avaliar o uso de enzimas (como a lacase) para aprimorar a sensibilidade do sensor para detecção de DA;
- Avaliar a potencialidade do sensor obtido para a detecção e quantificação de espécies de interesse ambiental (íons metálicos tóxicos – Cd(II), Pb(II), Cu(II) e/ou Cr(VI)).

REFERÊNCIAS

- AFSHARI, M. Introduction. In: AFSHARI, M. **Electrospun Nanofibers**, Richmond: Woodhead Publishing Series In Textiles, 2017. Cap. 1. p. 1-8.
- AGUNLOYE, E. et al. A model for the formation of gold nanoparticles in the citrate synthesis method. **Chemical Engineering Science**, v. 191, p. 318–331, 2018.
- ARAUJO, D. A. G. et al. A lab-made screen-printed electrode as a platform to study the effect of the size and functionalization of carbon nanotubes on the voltammetric determination of caffeic acid. **Microchemical Journal**, v. 158, p. 1–9, 2020.
- ARDUINI, F. et al. How cutting-edge technologies impact the design of electrochemical (bio)sensors for environmental analysis. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 959, p. 15–42, 2017.
- BAGHERZADEH, R. et al. Electrospun conductive nanofibers for electronics. In: AFSHARI, M. **Electrospun Nanofibers**, Tehran: Woodhead Publishing Series In Textiles, 2017. Cap. 18. p. 467–519.
- BALINT, R.; CASSIDY, N. J.; CARTMELL, S. H. Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 6, p. 2341–2353, 2014.
- BANITABA, S. N.; EHRMANN, A. Application of electrospun nanofibers for fabrication of versatile and highly efficient electrochemical devices: A review. **Polymers**, v. 13, n. 11, 2021.
- BARD, A. J. et al. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. New York: John Wiley & Sons, 2001.
- BHALLA, N. et al. Introduction to biosensors. **Essays in Biochemistry**, v. 60, n. 1, p. 1–8, 2016.
- BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 3, p. 325–347, 2010.
- CAMARGO, J. R. et al. Development of conductive inks for electrochemical sensors and biosensors. **Microchemical Journal**, v. 164, 105998, 2021.
- CARVALHO, L. A. DE; ANDRADE, A. R. DE; BUENO, P. R. Espectroscopia de impedância eletroquímica aplicada ao estudo das reações heterogêneas em ânodos dimensionalmente estáveis. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 796–804, 2006.
- CESEWSKI, E.; JOHNSON, B. N. Electrochemical biosensors for pathogen detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 159, 112214, p. 112–214, 2020.
- COSTA, R. G. F. et al. Eletrofiação de polímeros em solução. Parte I: Fundamentação teórica. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 170–177, 2012a.
- COSTA, R. G. F. et al. Eletrofiação de polímeros em solução. Parte II: Aplicações e Perspectivas. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 178–185, 2012b.
- DARUICH DE SOUZA, C.; RIBEIRO NOGUEIRA, B.; ROSTELATO, M. E. C. M. Review of the methodologies used in the synthesis gold nanoparticles by chemical reduction. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 798, p. 714–740, 2019.
- DE OLIVEIRA, G. C. M. et al. A new disposable electrochemical sensor on medical adhesive tape. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 24, n. 10, p. 2271–2278, 2020.
- DOS SANTOS, D. M. et al. Advances in Functional Polymer Nanofibers: From Spinning

Fabrication Techniques to Recent Biomedical Applications. **ACS applied materials & interfaces**, v. 12, n. 41, p. 45673–45701, 2020.

FONTANA-ESCARTIN, A. et al. Manufactured Flexible Electrodes for Dopamine Detection: Integration of Conducting Polymer in 3D-Printed Polylactic Acid. **Advanced Engineering Materials**, v. 23, n. 6, 2100002, 2021.

FREITAS, R. C. et al. Electrochemical determination of melatonin using disposable self-adhesive inked paper electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 897, 115550, 2021.

GISBERT ROCA, F. et al. Solid Polymer Electrolytes Based on Polylactic Acid Nanofiber Mats Coated with Polypyrrole. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 306, n. 2, 2000584, 2021.

GRANATO, F. et al. Composite polyamide 6/polypyrrole conductive nanofibers. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 30, n. 6, p. 453–458, 2009.

GUIMARD, N. K.; GOMEZ, N.; SCHMIDT, C. E. Conducting polymers in biomedical engineering. **Progress in Polymer Science**, v. 32, n. 8–9, p. 876–921, 2007.

GUO, B.; GLAVAS, L.; ALBERTSSON, A. C. Biodegradable and electrically conducting polymers for biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 9, p. 1263–1286, 2013.

HANNAH, S. et al. Low-cost, thin-film, mass-manufacturable carbon electrodes for detection of the neurotransmitter dopamine. **Bioelectrochemistry**, v. 133, 107480, 2020.

HANSEN, Betina. **Polianilina para aplicação em biossensores amperométricos de glicose**. 2017. 130 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

HENTON, D. E. et al. Polylactic Acid Technology. In: MOHANTY, A. K.; MISRA, M.; DRZAL, L. T. **Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites**. New York: Taylor & Francis Group, 2005. Cap. 16. p. 527–578.

HUANG, J. et al. Simultaneous electrochemical determination of dopamine, uric acid and ascorbic acid using palladium nanoparticle-loaded carbon nanofibers modified electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24, n. 4, p. 632–637, 2008.

HUANG, Z.-M. et al. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. **Composites Science and Technology**, v. 63, n. 15, p. 2223–2253, 2003.

HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical Sensors: Definitions and Classification. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 1247–1250, 1991.

JAIN, R.; JADON, N.; PAWAIYA, A. Polypyrrole based next generation electrochemical sensors and biosensors: A review. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 363–373, 2017.

JAMSHIDIAN, M. et al. Poly-Lactic Acid: Production, applications, nanocomposites, and release studies. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 5, p. 552–571, 2010.

KALINKE, C. et al. Comparison of activation processes for 3D printed PLA-graphene electrodes: Electrochemical properties and application for sensing of dopamine. **Analyst**, v. 145, n. 4, p. 1207–1218, 2020.

- KAUSAITE-MINKSTIMIENE, A. et al. Evaluation of chemical synthesis of polypyrrole particles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 483, p. 224–231, 2015.
- KENRY; LIM, C. T. Nanofiber technology: current status and emerging developments. **Progress in Polymer Science**, v. 70, p. 1–17, 2017.
- KOYUN, O. et al. Highly sensitive electrochemical determination of dopamine with an overoxidized polypyrrole nanofiber pencil graphite electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 12, n. 7, p. 6428–6444, 2017.
- LAKARD, S.; PAVEL, I. A.; LAKARD, B. Electrochemical biosensing of dopamine neurotransmitter: A review. **Biosensors**, v. 11, n. 6, 2021.
- LAKSHMINARAYANAN, R.; MADHAVI, S.; SIM, C. P. C. Oxidative Polymerization of Dopamine: A High-Definition Multifunctional Coatings for Electrospun Nanofibers - An Overview. In: YENISETTI, S. C. **Dopamine - Health and Disease**. Singapore: IntechOpen, 2018. Cap. 6.
- LI, G.; WANG, Y.; XU, H. A hydrogen peroxide sensor prepared by electropolymerization of pyrrole based on screen-printed carbon paste electrodes. **Sensors**, v. 7, n. 3, p. 239–250, 2007.
- MA, Q. et al. Colorimetric aptasensors for determination of tobramycin in milk and chicken eggs based on DNA and gold nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 249, p. 98–103, 2018.
- MALHOTRA, B. D.; CHAUBEY, A.; SINGH, S. P. Prospects of conducting polymers in biosensors. **Analytica Chimica Acta**, v. 578, n. 1, p. 59–74, 2006.
- MALVESSI, Gabriele Smanhotto. **Desenvolvimento de tintas condutoras à base de nanomateriais de carbono e construção de eletrodos impressos descartáveis para análise simultânea de bisfenol A, catecol e 4-nitrofenol em águas**. 2022. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Nanociência, Processos e Materiais Avançados, Universidade Federal de Santa Catarina, Blumenau, 2022.
- MERLINI, Claudia. **Desenvolvimento de Membranas Eletrofiadas de Poli (Fluoreto de Vinilideno) com Polipirrol para Aplicação em Sensores de Compressão**. 2014. 171 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.
- NAIR, S.; NATARAJAN, S.; KIM, S. H. Fabrication of electrically conducting polypyrrole-poly(ethylene oxide) composite nanofibers. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 26, n. 20, p. 1599–1603, 2005.
- NAYAK, R.; PADHYE, R.; ARNOLD, L. Melt-electrospinning of nanofibers. In: AFSHARI, M. **Electrospun Nanofibers**, Melbourne: Woodhead Publishing Series In Textiles, 2017. Cap. 2. p. 11–40.
- NEZAKATI, T. et al. Conductive Polymers: Opportunities and Challenges in Biomedical Applications. **Chemical Reviews**, v. 118, n. 14, p. 6766–6843, 2018.
- PEREIRA, D. F.; SANTANA, E. R.; SPINELLI, A. Electrochemical paper-based analytical devices containing magnetite nanoparticles for the determination of vitamins B₂ and B₆. **Microchemical Journal**, v. 179, 107588, 2022.
- PING, J. et al. Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid using high-performance screen-printed graphene electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 34, n. 1, p. 70–76, 2012.

- RAMANAVIČIUS, A.; RAMANAVIČIENE, A.; MALINAUSKAS, A. Electrochemical sensors based on conducting polymer-polypyrrole. **Electrochimica Acta**, v. 51, n. 27, p. 6025–6037, 2006.
- RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.
- RONKAINEN, N. J.; HALSALL, H. B.; HEINEMAN, W. R. Electrochemical biosensors. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 5, p. 1747–1763, 2010.
- SAJID, M. et al. Chemically modified electrodes for electrochemical detection of dopamine in the presence of uric acid and ascorbic acid: A review. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 15–29, 2016.
- SALAS, C. Solution electrospinning of nanofibers. In: AFSHARI, M. **Electrospun Nanofibers**, Raleigh: Woodhead Publishing Series In Textiles, 2017. Cap. 4. p. 73–108.
- SAPOUNTZI, E.; CHATEAUX, J.-F.; LAGARDE, F. Combining Electrospinning and Vapor-Phase Polymerization for the Production of Polyacrylonitrile/ Polypyrrole Core-Shell Nanofibers and Glucose Biosensor Application. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, 678, 2020.
- SARIGUL, N.; KORKMAZ, F.; KURULTAK, İ. A New Artificial Urine Protocol to Better Imitate Human Urine. **Scientific Reports**, v. 9, 20159, 2019.
- SCHNEIDER, R. et al. Tailoring the Surface Properties of Micro/Nanofibers Using 0D, 1D, 2D, and 3D Nanostructures: A Review on Post-Modification Methods. **Advanced Materials Interfaces**, v. 8, n. 13, 2100430, 2021.
- SKOOG, D. A. et al. **Fundamentals of Analytical Chemistry**. Belmont: Cengage Learning, 2014.
- SOUZA, D. DE; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de Onda Quadrada. Primeira Parte: Aspectos Teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81–89, 2003.
- STECKL, A. J.; RAY, P. Stress Biomarkers in Biological Fluids and Their Point-of-Use Detection. **ACS Sensors**, v. 3, n. 10, p. 2025–2044, 2018.
- STEJSKAL, J. Interaction of conducting polymers, polyaniline and polypyrrole, with organic dyes: polymer morphology control, dye adsorption and photocatalytic decomposition. **Chemical Papers**, v. 74, p. 1–54, 2020.
- THÉVENOT, D. R. et al. Electrochemical biosensors: Recommended definitions and classification. **Biosensors and Bioelectronics**, n. 16, p. 121–131, 2001.
- TROIANI, Estela de Pieri. **Desenvolvimento de Eletrodo Modificado com Filme de Poli(1-Aminoantraceno) para Determinação de Dopamina em Formulação Farmacêutica**. 2007. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.
- WAN, Y.; WEN, D. Preparation and characterization of porous conducting poly(DL-lactide) composite membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 246, n. 2, p. 193–201, 2005.
- WANG, J. et al. Performance of screen-printed carbon electrodes fabricated from different carbon inks. **Electrochimica Acta**, v. 43, n. 23, p. 3459–3465, jul. 1998.
- WANG, X.-X. et al. Conductive polymer ultrafine fibers via electrospinning: Preparation, physical properties and applications. **Progress in Materials Science**, v. 115, 100704, 2021.
- YU, Q. Z.; DAI, Z. W.; LAN, P. Fabrication of high conductivity dual multi-porous poly (l-

lactic acid)/polypyrrole composite micro/nanofiber film. **Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology**, v. 176, n. 12, p. 913–920, 2011.

ZHAO, Y. et al. Capturing cancer cells using hyaluronic acid-immobilized electrospun random or aligned PLA nanofibers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 583, 123978, 2019.

ZOU, L. et al. Smartphone-assisted colorimetric sensing of enzyme-substrate system using pH-responsive gold nanoparticle assembly. **Analytica Chimica Acta**, v. 1178, p. 338804, 2021.