



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

GUINTHER SCHLÖSSER SCHMITZ

**SENSOR ELETROQUÍMICO RATIOMÉTRICO À BASE DE HETEROJUNÇÃO
0D/1D/2D DE NANOMATERIAIS APLICADO NA DETERMINAÇÃO
DE L-TIROSINA**

Florianópolis
2024

Guinther Schlösser Schmitz

**SENSOR ELETROQUÍMICO RATIOMÉTRICO À BASE DE HETEROJUNÇÃO
0D/1D/2D DE NANOMATERIAIS APLICADO NA DETERMINAÇÃO
DE L-TIROSINA**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Bacharelado em Química do Centro de Ciências Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Edson Roberto Santana

Coorientador: Prof. Dr. João Paulo Winiarski

Coordenadora: Profa. Dra. Iolanda Cruz Vieira

Florianópolis
2024

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.
Dados inseridos pelo próprio autor.

Schlösser Schmitz, Guinther

Sensor eletroquímico ratiométrico à base de heterojunção 0D/1D/2D de nanomateriais aplicado na determinação de L-tirosina / Guinther Schlösser Schmitz ; orientador, Edson Roberto Santana, coorientador, João Paulo Winiarski, 2024.

71 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Graduação em Química - Bacharelado, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Química - Bacharelado. 2. L-tirosina. 3. g-C₃N₄. 4. MXene. 5. Sensor ratiométrico. I. Santana, Edson Roberto. II. Winiarski, João Paulo. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Química - Bacharelado. IV. Título.

Guinther Schlösser Schmitz

**Sensor eletroquímico ratiométrico à base de heterojunção 0D/1D/2D
de nanomateriais aplicado na determinação de L-tirosina**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharel em Química e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação de Química.

Florianópolis, 04 de dezembro de 2024.



Prof. Dr. Luis Henrique da Silveira Lacerda
Sub-Coordenador do Curso de Graduação em Química

Banca examinadora



Prof. Dr. Edson Roberto Santana
Orientador



Prof. Dr. Almir Spinelli
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Dr. Diego Galvan
Universidade Federal de Santa Catarina

*A todos aqueles que me desenvolveram
como ser pensante, e despertaram em
mim o interesse pela ciência.*

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço aos meus pais, Waldenir e Olívia, por tudo o que abdicaram em suas vidas para me conceder melhores condições de estudo, além de todo apoio incondicional que sempre proporcionaram. Vocês têm um filho graduado!

Pai, todas as maneiras que você encontrou de me auxiliar em minha jornada acadêmica, mesmo sendo, como você mesmo diz, alguém chucro em relação ao conhecimento, me ensinaram que não é preciso muito para impactar grandemente a vida de alguém.

Mãe, em todos os momentos turbulentos de minha vida, você foi que me trouxe paz e calma, se aqui estou, é graças a você que sempre me manteve seguindo em frente e não deixando desistir daquilo que sempre almejei.

Ao meu irmão, Gunard, por toda parceria e companheirismo ao longo de toda a jornada da vida. Você tornou os meus dias mais leves.

A toda minha família, em especial as minhas tias Dilma, Zelir e Delir, que me auxiliaram imensamente ao longo do processo de escolarização básica. Vocês foram fundamentais para o meu desenvolvimento.

A Dilma, você foi minha segunda mãe em grande parte da vida, grande parte da minha formação como pessoa passa por você, e por isso serei eternamente grato.

Exalto meu amor e gratidão a minha namorada Giovanna, que sempre me manteve focado no objetivo e não me permitiu desviar por conta de coisas superficiais. Você foi muito importante ao longo desta jornada, e é um imenso prazer compartilhar estes momentos com você.

Ao Edinho, obrigado por ser o orientador que vai além da bancada e torna uma situação complexa em algo trivial. Seus ensinamentos permanecerão por toda a vida, da mesma forma que a gratidão por ter me iniciado no mundo científico.

Ao João, obrigado por todo o conhecimento que você nunca se negou a compartilhar, e a todos os puxões de orelhas que me fizeram ser um profissional melhor.

À Profa. Iolanda e ao Prof. Almir, gratidão pelas orientações e incentivos. Vocês são um norte do que almejo me tornar como profissional!

A todos os amigos do Laboratório de Biossensores (LaBios): Lucas, Larissa, Dudu, Thomaz, Nath, Marie, Eloisa, Luan, Diogo e a todos os demais que já passaram por este laboratório, saibam que trabalhar neste ambiente é uma experiência fantástica por conta de vocês!

À Dra. Juliana Dreyer, faço um agradecimento especial pelo suporte nas análises de microscopia eletrônica e espectroscopia de fluorescência, e à Dra. Michele Enders, pelos estudos de difração de raios X.

A todos os amigos que passaram pela minha vida ao longo de toda a trajetória acadêmica, do ensino básico até o superior, um grande agradecimento por todos os momentos compartilhados.

Ao Laboratório de Nanomateriais e Cerâmicas Avançadas (NaCA) do Instituto de Física de São Carlos (IFSC, USP) pelo suporte nas análises de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X.

À Universidade Federal de Santa Catarina, em especial, ao Departamento de Química e sua Central de Análises, ao Grupo de Estudos em Materiais Poliméricos (Polimat), Laboratório de Polímeros e Surfactantes (Polissol), ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) e ao Laboratório Interdisciplinar de Desenvolvimento de Nanotecnologia (LINDEN) pelo suporte e contribuições no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – processos 166754/2020-0, 166705/2020-9 e 310746/2021-3), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) pelo suporte financeiro.

*“Tudo o que fazemos, no fim das contas,
é aprender sobre nós mesmos ao aprender
sobre o mundo”.*

Carl Sagan

RESUMO

Um sensor eletroquímico ratiométrico para a determinação do aminoácido L-tirosina foi desenvolvido através da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com uma heterojunção 0D/1D/2D de nanomateriais condutores. Para isso, foi utilizado uma heteroestrutura formada por nitreto de carbono grafítico (g-C₃N₄), carbeto de metal de transição (Ti₃C₂T_x), este também denominado como MXene, e nanopartículas de prata (Ag NPs) sintetizadas utilizando o próprio Ti₃C₂T_x como agente redutor. Análises espectroscópicas indicaram a reação de oxidação dos átomos de Ti^{III} para Ti^{IV} na estrutura do Ti₃C₂T_x como responsável pelo processo de redução das Ag NPs, em um processo denominado *self-reduction*. Imagens de microscopia mostraram as Ag NPs (nanomaterial 0D) com diâmetro médio de 3,90 ± 0,96 nm ancoradas nos nanofios de Ti₃C₂T_x (1D) e ambos interagindo com as nanofolhas de g-C₃N₄ (2D), formando uma heterojunção 0D/1D/2D. Estudos de potencial zeta indicaram maior estabilidade das Ag NPs ao serem sintetizadas na dispersão de Ti₃C₂T_x em solução tampão fosfato pH 5,0. Através de estudos do comportamento eletroquímico por voltametria cíclica em solução tampão fosfato (pH 5,0), registrou-se um pico de oxidação em +0,24 V vs. Ag/AgCl, KCl_(sat), referente a oxidação das Ag NPs presentes na heteroestrutura imobilizada na superfície do sensor, e um segundo pico em +0,82 V vs. Ag/AgCl, KCl_(sat) referente a oxidação da L-tirosina. Esta heteroestrutura proporcionou maiores intensidades de corrente para a análise da L-tirosina, em comparação com o eletrodo de carbono vítreo não modificado. Além disso, o pico de oxidação das Ag NPs foi adotado como uma referência interna para minimizar possíveis erros de preparo do sensor. Estes estudos contribuíram para a realização de um estudo univariado do pH e da composição do eletrólito de suporte e da síntese das Ag NPs, visando o aumento na sua intensidade de corrente de oxidação, como também da L-tirosina. Além do mais, foi constatada a difusão como etapa determinante do processo de oxidação da L-tirosina sobre o sensor, o qual envolve a transferência de dois mols de prótons e dois mols de elétrons por mol de L-tirosina. A voltametria de pulso diferencial, técnica de aplicação de pulsos de potencial que forneceu uma maior magnitude nos picos de oxidação, tendo seus parâmetros de velocidade de varredura, tempo e amplitude de pulso otimizados por estudo univariado, foi selecionada para a construção da curva de calibração para a L-tirosina. A curva de calibração foi construída na faixa de concentração de 1,0 a 170 μmol L⁻¹ com limites de detecção e quantificação de 0,38 e 1,16 μmol L⁻¹, respectivamente, atingindo detectabilidade condizente com os níveis de L-tirosina em matrizes de suor reportadas na literatura.

Palavras-chave: L-tirosina, g-C₃N₄, MXene, Sensor ratiométrico.

ABSTRACT

A ratiometric electrochemical sensor for the determination of the amino acid L-tyrosine was developed by modifying the surface of a glassy carbon electrode with a 0D/1D/2D heterojunction of conductive nanomaterials. For this purpose, a heterostructure formed by graphitic carbon nitride (g-C₃N₄), transition metal carbide (Ti₃C₂T_x), also known as MXene, and silver nanoparticles (Ag NPs) synthesized using Ti₃C₂T_x itself as a reducing agent was used. Spectroscopic analyses indicated the oxidation reaction of Ti^{III} atoms to Ti^{IV} in the Ti₃C₂T_x structure as responsible for the reduction process of Ag NPs, in a process called self-reduction. Microscopy images showed Ag NPs (0D nanomaterial) with an average diameter of 3.90 ± 0.96 nm anchored in Ti₃C₂T_x nanowires (1D) and both interacting with g-C₃N₄ nanosheets (2D), forming a 0D/1D/2D heterojunction. Zeta potential studies indicated greater stability of Ag NPs when synthesized in Ti₃C₂T_x dispersion in phosphate buffer solution pH 5.0. Through studies of electrochemical behavior by cyclic voltammetry in phosphate buffer solution (pH 5.0), an oxidation peak at +0.24 V *vs.* Ag/AgCl, KCl_(sat), referring to the oxidation of Ag NPs present in the heterostructure immobilized on the sensor surface, and a second peak at +0.82 V *vs.* Ag/AgCl, KCl_(sat) referring to the oxidation of L-tyrosine. This heterostructure provided higher current intensities for the analysis of L-tyrosine, compared to the unmodified glassy carbon electrode. In addition, the oxidation peak of Ag NPs was adopted as an internal reference to minimize possible errors in sensor preparation. These studies contributed to the realization of a univariate study of the pH and composition of the supporting electrolyte and the synthesis of Ag NPs, aiming at increasing their oxidation current intensity, as well as that of L-tyrosine. Furthermore, diffusion was found to be a determining step in the oxidation process of L-tyrosine on the sensor, which involved the transfer of two moles of protons and two moles of electrons per mole of L-tyrosine. Differential pulse voltammetry, a technique of applying potential pulses that provided a higher magnitude in the oxidation peaks, with its scan speed, time and pulse amplitude parameters optimized by univariate study, was selected to construct the calibration curve for L-tyrosine. The calibration curve was constructed in the concentration range of 1.0 to 170 μmol L⁻¹ with detection and quantification limits of 0.38 and 1.16 μmol L⁻¹, respectively, achieving detectability consistent with the levels of L-tyrosine in sweat matrices reported in the literature.

Keywords: L-tyrosine, g-C₃N₄, MXene, Ratiometric sensor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da L-tirosina.....	21
Figura 2. Estrutura química do nitreto de carbono grafitico, g-C ₃ N ₄	24
Figura 3. (a) Representação do processo de síntese do MXene a partir da fase MAX com posterior processo de esfoliação. (b) Representação gráfica da composição da fase MAX....	26
Figura 4. Esquema da síntese e aplicação do MXene@AgNCs/NH ₂ -MWCNTs sobre um GCE, com posterior análise de carbedazim. Inserido: voltamograma de pulso diferencial obtido para análise do carbedazim (CBZ) com o sinal constante da referência interna de AgNCs.....	29
Figura 5. Espectros UV-vis registrados para 1,0 mL de dispersão de Ti ₃ C ₂ T _x (espectro x) ou Ag NP-Ti ₃ C ₂ T _x (espectros a até j) em 2,0 mL de água ultrapura: (A) Espectros UV-vis referentes as sínteses de Ag NP-Ti ₃ C ₂ T _x contendo (a) 5, (b) 10, (c) 15, (d) 20, (e) 25 e (f) 50 µL; e em (B) utilizando (g) 75, (h) 100, (i) 150 e (j) 200 µL de AgNO ₃ 0,05 mol L ⁻¹ . Em (C), comparação entre os espectros UV-vis das sínteses contendo 50 e 75 µL de solução AgNO ₃ 0,05 mol L ⁻¹ e somente Ti ₃ C ₂ T _x	35
Figura 6. Voltamogramas cíclicos em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,0) utilizando o Ag NP-Ti ₃ C ₂ T _x /GCE preparado a partir de diferentes alíquotas de solução AgNO ₃ 0,05 mol L ⁻¹ , sendo em (A) (a) 5, (b) 10, (c) 15, (d) 20, (e) 25 e (f) 50 µL; e em (B) (g) 75, (h) 100, (i) 150 e (j) 200 µL. Em (C), destaque para a comparação entre as sínteses de Ag NPs utilizando 50 e 75 µL de solução AgNO ₃ 0,05 mol L ⁻¹ . $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	37
Figura 7. Potencial zeta vs. pH da dispersão de Ti ₃ C ₂ T _x , sendo: (a) Ti ₃ C ₂ T _x e (b) Ag NP-Ti ₃ C ₂ T _x	38
Figura 8. (A) Espectros de fluorescência para dispersões de g-C ₃ N ₄ em água ultrapura em diferentes concentrações: a-h: 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,10; 0,15; 0,20; e 0,40 mg mL ⁻¹ . (B) Gráfico de intensidade de banda a 448 nm vs. concentração de g-C ₃ N ₄	39
Figura 9. Imagem das dispersões de (a) Ti ₃ C ₂ T _x e (b) Ag NP-Ti ₃ C ₂ T _x	40
Figura 10. (A) Espectros UV-vis de (a) branco em água ultrapura, (b) Ti ₃ C ₂ T _x , (c) g-C ₃ N ₄ , (d) Ag NP-Ti ₃ C ₂ T _x e (e) Ag NP-Ti ₃ C ₂ T _x -g-C ₃ N ₄ . (B) ampliação do espectro (b) na região de 400 nm até 200 nm, (C) ampliação do espectro (b) na região de 900 nm até 550 nm, (D) ampliação do espectro (d) na região de 500 nm até 250 nm e (E) ampliação do espectro (e) na região de 450 nm até 250 nm.....	41
Figura 11. Difratoograma de raios X obtido para a heteroestrutura Ag NP-Ti ₃ C ₂ T _x -g-C ₃ N ₄ com sinais referentes aos planos cristalográficos do (a) Ti ₃ C ₂ T _x , (b) g-C ₃ N ₄ e (c) Ag NPs.	42

Figura 12. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão para (A) $Ti_3C_2T_x$, (B) $g-C_3N_4$, (C) Ag NP- $Ti_3C_2T_x$, com histograma de distribuição de tamanho de nanopartículas de TiO_2 (subproduto), e (D) Ag NP- $Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4$, com histograma de distribuição de tamanho das Ag NPs.	43
Figura 13. Espectros de fluorescência referentes a 150 μ L das dispersões de (a) $g-C_3N_4$, (b) Ag NP- $Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4$, (c) Ag NP- $Ti_3C_2T_x$ e (d) $Ti_3C_2T_x$ em 1,0 mL de água ultrapura.	44
Figura 14. (A) Espectro Survey para a heteroestrutura Ag NP- $Ti_3C_2T_x$ e espectros de alta resolução para os orbitais (B) 2p do titânio, (C) 3d da prata, (D) 1s do carbono, (E) 1s do oxigênio e (F) 1s do flúor.	45
Figura 15. (A) Espectros ATR-FTIR e ampliações nas regiões de (B) 4000 a 3000 e (C) 2000 a 1400 cm^{-1} para (a) $Ti_3C_2T_x$ e (b) Ag NP- $Ti_3C_2T_x$. (D) Espectros ATR-FTIR para: (a) $g-C_3N_4$ e (b) Ag NP- $Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4$	48
Figura 16. (A) Voltamogramas cíclicos e (B) ampliação da região de potencial de 0,6 a 1,2 V (a) na ausência (sobre o GCE) e (b) na presença de L-tirosina 25,0 μ mol L^{-1} em solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,0): (b) GCE, (c) $g-C_3N_4/GCE$, (d) $Ti_3C_2T_x/GCE$, (e) Ag NP- $Ti_3C_2T_x/GCE$ e (f) Ag NP- $Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4/GCE$. $v = 50$ mV s^{-1}	50
Figura 17. (A) Voltamogramas cíclicos para L-tirosina 25,0 μ mol L^{-1} sobre o Ag NP- $Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4/GCE$ em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 5,0) em diferentes velocidades de variação de potencial: (a) 10, (b) 25, (c) 50, (d) 75 e (e) 100 mV s^{-1} . (B) Relação entre $\log I_{pa}$ vs. $\log v$ (eixo a) e E_{po} vs. $\log v$ (eixo b).	51
Figura 18. (A) Voltamogramas cíclicos para L-tirosina 25,0 μ mol L^{-1} empregando o Ag NP- $Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4/GCE$ em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} em diferentes valores de pH: (a) 2,0; (b) 3,0; (c) 4,0; (d) 5,0; (e) 6,0 e (f) 7,0; $v = 50,0$ mV s^{-1} . Em (B) variação de I_{pa} (eixo a) e de E_{po} (eixo b) em função do pH.	52
Figura 19. Representação gráfica da reação de oxidação da L-tirosina sobre a superfície do sensor Ag NP- $Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4/GCE$	54
Figura 20. (A) Voltamogramas cíclicos para L-tirosina 25,0 μ mol L^{-1} empregando o Ag NP- $Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4/GCE$ em diferentes soluções tampão no valor de pH 5,0: (a) B-R, (b) McIlvaine, (c) fosfato de sódio e (d) acetato de sódio. (B) Gráfico de barras de corrente de oxidação da L-tirosina e das Ag NP em função da composição do eletrólito de suporte.	55
Figura 21. Voltamogramas para L-tirosina 10,0 μ mol L^{-1} sobre o Ag NP- $Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4/GCE$ em solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,0) em diferentes velocidades de varredura: (A) $v = 50,0$ mV s^{-1} , (B) $v = 100$ mV s^{-1} obtidos com diferentes técnicas eletroanalíticas: DPV, SWV,	

CV e LSV. Gráfico de barras de I_{pa} vs. ν para (C) L-tirosina (analito) e (D) Ag NPs (referência interna). 56

Figura 22. Voltamogramas de pulso diferencial para L-tirosina $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0) em diferentes valores de ν : a-j = 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mV s^{-1} , mantendo fixo $E_{pulso} = 50,0 \text{ mV}$ e $t_{pulso} = 5,0 \text{ ms}$, com ampliação na região de +0,5 a +1,2 V. (B) I_{pa} vs. ν para L-tirosina. (C) Voltamogramas variando t_{pulso} : a-f = 3, 6, 9, 12, 15 e 18 ms, mantendo fixo $\nu = 70 \text{ mV s}^{-1}$ e $E_{pulso} = 50,0 \text{ mV}$. (D) I_{pa} vs. t_{pulso} para L-tirosina. (E) Voltamogramas variando E_{pulso} : a-k = 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 e 110 mV, mantendo fixo $\nu = 70 \text{ mV s}^{-1}$ e $t_{pulso} = 6,0 \text{ ms}$ (F) I_{pa} vs. E_{pulso} para L-tirosina e Ag NPs. 57

Figura 23. (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0) contendo diferentes concentrações de L-tirosina sobre o Ag NP-Ti₃C₂T_x-GCE: a-j: branco, 1,0; 2,0; 5,0; 9,9; 19,60, 47,6; 90,1 e $170 \mu\text{mol L}^{-1}$. Inserido: ampliação da região de potencial de +0,5 a +0,9 V. Parâmetros: $\nu = 70 \text{ mV s}^{-1}$, $t_{pulso} = 6 \text{ ms}$ e $E_{pulso} = 80 \text{ mV}$. (B) Curva de calibração para a L-tirosina com racionalização de sinal ($I_{L\text{-tirosina}}/I_{\text{Ag NPs}}$ vs. [L-tirosina]) e (C) Curva de calibração sem racionalização para a L-tirosina. 59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atribuições das energias de ligação para Ag NP-Ti ₃ C ₂ T _x obtidas com os espectros de alta resolução de XPS.....	47
Tabela 2. Parâmetros experimentais otimizados para a construção da curva de calibração para a L-tirosina.....	58
Tabela 3. Visão geral de sensores reportados na literatura para a determinação de L-tirosina.	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A – Absorbância

Ag NPs – Nanopartículas de prata

ATR FT-IR (do inglês, *attenuated total reflectance Fourier transform infrared*) – espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflectância total atenuada

B-R – Solução tampão Britton-Robinson ($\text{H}_3\text{BO}_3/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_3\text{PO}_4$)

CV (do inglês, *cyclic voltammetry*) – voltametria cíclica

D – Coeficiente de difusão

DPV (do inglês, *differential pulse voltammetry*) – voltametria de pulso diferencial

E – Energia potencial elétrica

ELISA (do inglês, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) – ensaio de imunoabsorção enzimática

E^o – Potencial padrão

E_{po} – Potencial de oxidação

E_{pulso} – Amplitude de pulso de potencial

F – Constante de Faraday

g-C₃N₄ – nitreto de carbono grafítico

GCE (do inglês *glassy carbon electrode*) – eletrodo de carbono vítreo

I – Corrente

I_{Ag NPs} – Corrente de oxidação das nanopartículas de prata

I_{L-tirosina} – Corrente de oxidação da L-tirosina

I_{pa} – Corrente de pico anódica

k^o – Constante de velocidade

LOD (do inglês, *limit of detection*) – Limite de detecção

LOQ (do inglês, *limit of quantification*) – Limite de quantificação

LSV (do inglês, *linear sweep voltammetry*) – voltametria de varredura linear

PCR (do inglês, *polymerase chain reaction*) – exame de reação em cadeia da polimerase

R – Constante universal dos gases

R² – Coeficiente de determinação

RSD (do inglês, *relative deviation standard*) – desvio padrão relativo

SCE (do inglês, *saturated calomel electrode*) – eletrodo de calomelano saturado

SPCE (do inglês, *screen-printed carbon electrode*) – eletrodo impresso de carbono

SPE (do inglês, *screen-printed electrode*) – eletrodo impresso

SWV (do inglês, *square wave voltammetry*) – voltametria de onda quadrada

T – Temperatura absoluta

TEM (do inglês, *transmission electron microscopy*) – microscopia eletrônica de transmissão

Ti₃C₂T_x – Carbetos de titânio (MXene)

t_{pulso} – Tempo de duração do pulso

XPS (do inglês, *X-ray photoelectron spectroscopy*) – espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X

XRD (do inglês, *X-ray diffraction*) – difração de raios X

z – Número de elétrons

α – Coeficiente de transferência de elétrons

λ – Comprimento de onda

$\bar{\nu}$ – Número de onda

v – Velocidade de varredura de potencial

ζ – Potencial zeta

SUMÁRIO

1. JUSTIFICATIVA	18
2. REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 Pandemia de COVID-19	19
2.2 Biomarcadores	19
2.3 Suor como matriz de análise	20
2.4 L-tirosina	20
2.5. Nanomateriais aplicados na construção de sensores eletroquímicos	22
2.5.1 <i>Heterojunções</i>	23
2.5.2 <i>Nitreto de carbono grafítico, g-C₃N₄</i>	24
2.5.3 <i>Carbetos de metais de transição</i>	25
5.5.3.1 <i>Self-reduction</i>	27
2.5 Sensores ratiométricos	28
3. OBJETIVOS	30
3.1 Objetivo geral	30
3.2 Objetivos específicos	30
4. PARTE EXPERIMENTAL	31
4.1 Reagentes e soluções	31
4.2. Síntese dos nanomateriais Ti₃C₂T_x, Ag NPs e g-C₃N₄	31
4.3 Caracterizações dos nanomateriais	32
4.4 Construção do sensor eletroquímico	33
4.5 Medidas eletroquímicas e otimização do método analítico para L-tirosina	33
4.6 Segurança em laboratório e tratamento de resíduos	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 Otimização do preparo da heteroestrutura Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄	35
5.1.1 <i>Otimização da quantidade de AgNO₃</i>	35
5.1.2 <i>Otimização do pH da dispersão de Ti₃C₂T_x</i>	37
5.1.3 <i>Otimização da concentração de g-C₃N₄ no preparo da heteroestrutura Ag NP-Ti₃C₂T_x- g-C₃N₄</i>	38
5.2 Caracterizações espectroscópicas, morfológicas e composicionais da dispersão de Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄	39
5.2.1 <i>Análise visual da formação das Ag NPs</i>	39
5.2.2 <i>Caracterização por espectroscopia UV-Vis</i>	40
5.2.3 <i>Caracterizações estruturais por DRX</i>	41

5.2.4 Caracterizações morfológicas por TEM.....	42
5.2.5 Caracterizações espectroscópicas por fluorescência	44
5.2.6 Caracterizações espectroscópicas por XPS.....	44
5.2.7 Caracterizações espectroscópicas por ATR-FTIR.....	47
5.3 Comportamento eletroquímico da L-tirosina sobre o sensor ratiométrico Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE	49
5.3.1 Estudo da velocidade de varredura	51
5.3.2 Estudo do pH do eletrólito de suporte	52
5.3.3 Influência da composição do eletrólito de suporte	54
5.4. Seleção da técnica de aplicação de potencial	55
5.4.1 Estudo univariado dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial.....	57
5.5 Construção da curva de calibração para a L-tirosina.....	58
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	62
7. REFERÊNCIAS	63

1. JUSTIFICATIVA

A pandemia de COVID-19 trouxe revoluções em diversos eixos da sociedade, especialmente ao zelo a saúde dos indivíduos que passaram pelo isolamento social, com grande atenção direcionada à saúde mental. Aumentos significativos em casos de depressão, ansiedade e estresse ocorreram durante este período. Assim, a busca por novos métodos e ferramentas de diagnósticos para distúrbios mentais cada vez mais rápidos e acessíveis se faz de extrema relevância, assim como a procura por amostragens não invasivas ao corpo humano.

O monitoramento de biomarcadores para potenciais diagnósticos pode ser uma alternativa para o desenvolvimento de abordagens não invasivas. Um biomarcador é uma substância que pode ser encontrada em fluídos corporais, e que uma variação em sua concentração pode ser utilizada como uma forma de diagnóstico de certa doença. Como exemplo, a L-tirosina, um aminoácido presente no suor, e que vem sendo estudada como um potencial biomarcador para quadros de depressão. Análises de fluídos, como o ensaio imunoenzimático e o exame de reação em cadeia da polimerase, podem ser empregados para detectar anormalidades nos níveis de certos biomarcadores. No entanto, essas abordagens são invasivas, além de possuírem alto custo operacional e necessitarem profissionais altamente capacitados. Dessa forma, surge a necessidade de se explorar matrizes de biomarcadores que agridadam menos o corpo para ser obtidos, e sejam mais simples de serem coletadas.

Um dos problemas ao se trabalhar com matrizes alternativas ao sangue é a baixa concentração de marcadores, necessitando de ferramentas com alta sensibilidade. Visando obter um método analítico que possua a sensibilidade apropriada, os métodos eletroanalíticos se mostram promissores. O desenvolvimento de sensores, explorando materiais zero dimensionais (0D), unidimensionais (1D) e bidimensionais (2D), concede características desejáveis, tais como alta condutividade elétrica e grande área superficial, o que proporciona um aumento das respostas eletroquímicas. Além disso, atributos extras dos materiais podem ser explorados na construção do sensor, como propriedades de *self reduction* para síntese de nanomateriais, e a utilização de sinais de referência interna para aprimorar dados de precisão e exatidão fornecidos pelo sensor ratiométrico.

Assim, propõe-se o desenvolvimento de um sensor eletroquímico à base de uma heterojunção entre nanopartículas de prata, carbeto de titânio bidimensional ($Ti_3C_2T_x$) e nitreto de carbono grafítico (g- C_3N_4) para aplicação na determinação de L-tirosina.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Pandemia de COVID-19

Os anos de pandemia de COVID-19 impactaram a sociedade em diversos eixos, tais como a economia e a tecnologia [1], e principalmente aos cuidados com a saúde dos indivíduos que passaram pelo período de isolamento social [2], com destaque a saúde mental [3–5]. Aumentos significativos em casos de depressão, ansiedade, e estresse ocorreram durante esta fase [5]. A busca por novos métodos de diagnósticos para distúrbios mentais é de extrema relevância, assim como a procura por uma abordagem não invasiva ao corpo humano. Este procedimento pode ser realizado através do monitoramento de biomarcadores [6].

2.2 Biomarcadores

Biomarcadores podem ser definidos como “uma substância que pode ser encontrada em fluidos corporais e cuja presença ou variação na sua concentração influencia ou prediz a incidência ou resultado de uma doença”. Diversas condições de saúde estão diretamente relacionadas a variações do teor dessas espécies no corpo humano, tais como diabetes, fibrose cística, estresse, câncer e inflamações [7,8].

Nesse sentido, são reportados diagnósticos baseados no monitoramento de biomarcadores, como o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA, do inglês, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), o exame de reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês, *polymerase chain reaction*), a citometria de fluxo, a espectrometria de massa, os radioimunoensaios e a imuno-histoquímica [7]. Por mais que esses métodos sejam consolidados, eles requerem abordagens invasivas ao corpo humano para obtenção da amostra biológica, além de possuírem alto custo operacional e necessitarem de profissionais altamente capacitados para operação [9,10].

Por mais que as matrizes sanguíneas sejam as que contém o maiores teores de biomarcadores e serem as mais comumente utilizadas em métodos convencionais, outros fluidos corporais, como suor, saliva, lágrimas e urina, surgem como potenciais substituintes de fonte de biomarcadores [11].

2.3 Suor como matriz de análise

O suor humano se destaca como uma fonte alternativa não invasiva de marcadores biológicos, sendo rico em informações fisiológicas, e possibilitando um monitoramento contínuo, com uma eficaz coleta de dados [12]. Esta matriz possui diversos componentes que podem atuar como potenciais biomarcadores, os quais refletem nas condições de saúde do indivíduo, onde se destacam oligonucleotídeos (microRNA), metabólitos (glicose, lactato, creatinina, ácido úrico), hormônios (cortisol, adrenalina), proteínas (interleucinas, citocinas), aminoácidos (L-tirosina, serina) e eletrólitos (K^+ , Ca^{2+} , Cl^-) [7,13–16].

Embora o suor contenha uma grande variedade de marcadores, o teor dessas moléculas é inferior em comparação com matrizes sanguíneas [17]. Mesmo assim, diversos são os trabalhos que utilizam o suor como fonte de marcadores biológicos, principalmente explorando a possibilidade de um monitoramento contínuo [7,9,10,13,15,18]. Neste sentido, Zhang *et al.* [19] desenvolveram um sensor vestível para a determinação de íons Cu^{2+} no suor humano, como forma de controle para algumas doenças graves, como a doença de Menkes, a doença de Wilson, o mal de Alzheimer e até mesmo danos ao fígado ou aos rins por exposição prolongada ao Cu^{2+} , no qual o dispositivo foi operado por meio de um *smartphone*. Similarmente, Zhenying *et al.* [20] propuseram um sensor vestível para o monitoramento simultâneo do pH e de L-tirosina também em suor humano. Estes estudos mostram que a análise de biomarcadores em suor ainda é emergente, possuindo necessidades consideráveis para o desenvolvimento de novos sensores com aprimorada sensibilidade e precisão.

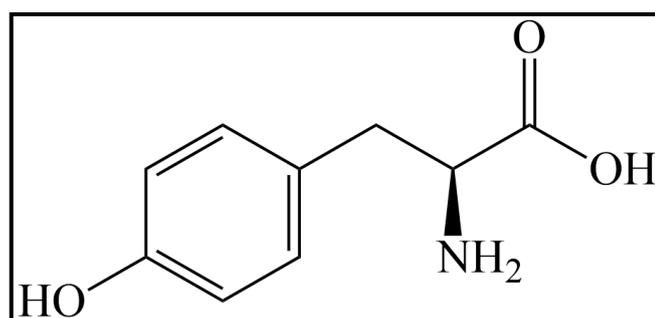
2.4 L-tirosina

A L-tirosina (ácido (2S)-2-amino-3-(4-hidroxifenil)-propanoico, Figura 1) é um aminoácido não essencial, que além de ser um elemento de síntese proteica, é precursora do pigmento melanina e de algumas catecolaminas, as quais são de suma importância no funcionamento do sistema neurológico [21].

Devido a sua importância na rota sintética de diversas moléculas fundamentais ao organismo, são reportados diversos problemas de saúde em decorrência de alterações nos seus níveis normais no organismo, como hipocondria, albinismo, mal de Parkinson, doenças hepáticas, distúrbios neuropsiquiátricos, alimentares e depressão. Especialmente para este último, estudos consideram a L-tirosina como um potencial biomarcador para um indicativo deste transtorno [22,23]. Os níveis baixos de L-tirosina podem ser um indicativo de quadro

depressivo, devido ao papel dessa substância como precursor de neurotransmissores essenciais para o funcionamento adequado do cérebro, como a dopamina, noradrenalina e adrenalina. Esses neurotransmissores estão diretamente relacionados ao controle do humor, motivação, atenção e emoções, e sua disfunção está associada a distúrbios psiquiátricos, como a depressão [8].

Figura 1. Estrutura química da L-tirosina.



Zhang et al. [22] constataram, por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas, níveis mais baixos de L-tirosina em amostras de urina de pacientes deprimidas pós-parto. Similarmente, Liu et al. [24] também registraram teores mais baixos de L-tirosina em pacientes com depressão, através de análises em amostras de seus soros sanguíneos. Por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, Xie et al. [25] analisaram L-tirosina em amostras de urina de pacientes em depressão vítimas de acidente vascular cerebral. Dados de cromatografia líquida com detecção por fluorescência obtidos por Sa et al. [26], também indicaram níveis baixos de L-tirosina ($54,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) em soro sanguíneo nos indivíduos depressivos quando comparado a indivíduos saudáveis ($63,7 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Além de métodos cromatográficos, o uso de métodos eletroquímicos para detectar e quantificar L-tirosina também é reportado [27,28]. Dentre as características que os destacam, podem ser mencionadas a portabilidade e miniaturização dos equipamentos, o que permite monitoramentos contínuos e *in loco*, além do baixo custo, alta frequência analítica, fácil operação, e sensibilidade apropriada para análises em matrizes, como o suor [29]. Uma prática recorrente para aprimorar a sensibilidade de um método eletroquímico é a utilização de nanomateriais imobilizados nos eletrodos de trabalho, aprimorando seu desempenho analítico, através de propriedades como o aumento da área eletroativa, da condutividade elétrica do sensor e/ou permitindo novas possibilidades de interação com o analito [30].

Dong et al. [23] desenvolveram um sensor eletroquímico a partir da modificação de um eletrodo de carbono vítreo (do inglês, *glassy carbon electrode* – GCE) com pontos quânticos de grafeno e β -ciclodextrina, para a determinação de L-tirosina em amostras de soro sanguíneo de indivíduos saudáveis e de pacientes com depressão. Os dados mostraram níveis mais baixos de L-tirosina no soro sanguíneo dos 9 pacientes com depressão (32,45 a 64,55 $\mu\text{mol L}^{-1}$, média de 47,91 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em relação a dos 10 indivíduos saudáveis (41,75 a 95,67 $\mu\text{mol L}^{-1}$, média de 58,13 $\mu\text{mol L}^{-1}$), o que foi consistente com relatos anteriores de que deficiências de L-tirosina em humanos pode ser associado à um quadro depressivo.

No que diz respeito a análises de L-tirosina em suor, Yang et al. [31] desenvolveram um sensor vestível de cinco camadas utilizando uma máquina de corte a laser de CO_2 . O sistema flexível incluiu sensores multiplexados gravados em substratos de poli(imida) e PET, separados por esparadrapo. O sensor permitiu além do monitoramento contínuo de L-tirosina, obter dados do teor de ácido úrico e sinais vitais (temperatura e frequência cardíaca). Os limites de detecção obtidos por voltametria de pulso diferencial (do inglês, *differential pulse voltammetry* - DPV) foram de 0,74 e 3,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o ácido úrico e a L-tirosina, respectivamente. Níveis mais elevados de ambos os compostos foram observados no suor de indivíduos que mantinham uma dieta rica em proteínas.

2.5. Nanomateriais aplicados na construção de sensores eletroquímicos

O uso de nanomateriais na construção de sensores eletroquímicos é uma prática que visa a melhoria da sensibilidade destas importantes ferramentas analíticas, podendo se encontrar diversos trabalhos na literatura que utilizam dessa estratégia [32]. Neste campo, a utilização de arquiteturas compostas por nanoestruturas de materiais semicondutores e metais vem se mostrando uma abordagem promissora [33].

A fim de proporcionar um aumento de área eletroativa do sensor para ampliar os sítios ativos aptos para a ocorrência de reações redox, a utilização de materiais nanoestruturados zero dimensionais (0D), unidimensionais (1D) e bidimensionais (2D), apresenta uma grande vantagem quando comparado a suas formas tridimensionais (3D) correspondentes, devido a suas grandes áreas superficiais [34]. Dentre os materiais nanoestruturados, os 2D possuem características que tem atraído grande interesse de pesquisa para aplicações em áreas como (opto)eletrônica, armazenamento de energia e detecção eletroquímica, tais como sua grande

relação superfície-volume e propriedades elétricas ajustáveis [35]. Esse conjunto de propriedade faz com que os materiais 2D sejam ideais para o sensoriamento químico [36].

Considerando que reações redox em substratos modificados possuem papel fundamental em métodos eletroquímicos, faz-se promissor explorar heterojunções, com destaque as que envolvem materiais de dimensionalidade reduzida, para construção de novos sensores eletroquímicos [36,37].

2.5.1 Heterojunções

Uma heterojunção pode ser definida como a interface entre materiais semicondutores com diferentes *band-gap*, o que resulta no alinhamento das estruturas de bandas dos materiais [38]. No geral, as heterojunções podem ser divididas em quatro categorias: semicondutor-semicondutor, semicondutor-metal, semicondutor-material carbonáceo e de grupo misto [39].

Utilizar heterojunções, além de propiciar vantagens intrínsecas de cada um dos materiais envolvidos, fornece propriedades extras provenientes da interação entre os mesmos. Dentre as novas propriedades geradas podem ser citadas a exposição e aumento de sítios ativos para as reações redox, aprimoramento na atividade eletrocatalítica da reação e/ou no processo de transferência de carga entre o eletrodo e a solução, devido aos efeitos sinérgicos entre os materiais. Por fim, ainda pode-se destacar um aumento na área superficial específica do sensor por meio da construção de estruturas porosas ou multiníveis [40].

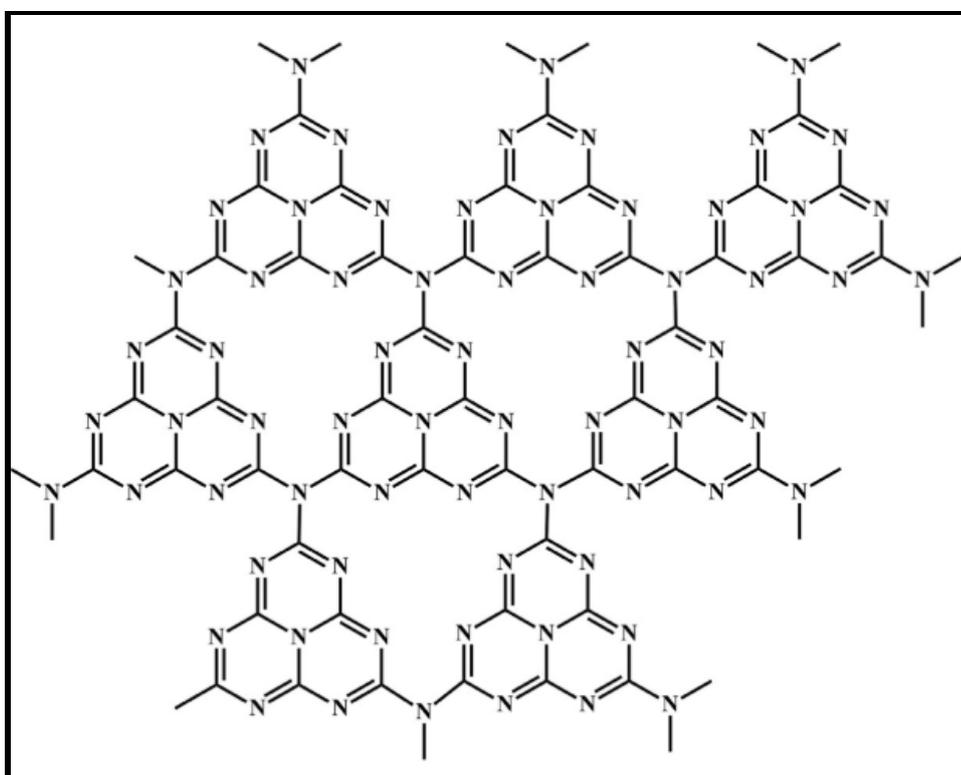
Neste campo, Maheshwaran et al. [41] utilizaram uma heterojunção 2D/0D a partir de uma heteroestrutura de carbeto de titânio e alumínio (Ti_3AlC_2) e ortovanadato de samário ($SmVO_4$) para a construção de um sensor eletroquímico para sulfatiazol. Através de microscopia eletrônica, os autores obtiveram informações da morfologia irregular em camadas 2D do Ti_3AlC_2 , onde ficaram ancoradas as nanopartículas esféricas 0D de $SmVO_4$ com diâmetro médio de 40 nm, formando assim uma heterojunção 2D/0D. Sobre um GCE, a heteroestrutura proporcionou uma maior área eletroativa e efeito eletrocatalítico ao sensor para a determinação de sulfatiazol em amostras de água de rio e urina.

Assim, explorar nanomateriais de diferentes dimensionalidades e suas potenciais novas arquiteturas baseadas em heterojunções se mostra uma abordagem promissora para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos de alta sensibilidade [42,43].

2.5.2 Nitreto de carbono grafítico, $g-C_3N_4$

O nitreto de carbono grafítico ($g-C_3N_4$, Figura 2) é um material bidimensional semelhante ao grafeno, tanto em sua estrutura quanto em suas propriedades eletrônicas, podendo ser resumido como um grafeno substituído com nitrogênios [44,45]. É um material que apresenta elevada área superficial, não toxicidade, além de outras propriedades optoeletrônicas, como estruturas de banda apropriadas, absorção de luz visível e *band gap* de 2,7 eV [44,46–48].

Figura 2. Estrutura química do nitreto de carbono grafítico, $g-C_3N_4$.



Fonte: Extraído de Sanjeev *et al.*, 2022 [44]. Copyright 2024, Elsevier.

Quando comparado aos materiais com propriedades semelhantes, como o óxido de grafeno, o $g-C_3N_4$ se destaca pela possibilidade de obtenção através de uma rota sintética mais simples [44,49]. São reportadas diversas sínteses, todas a partir de uma reação de pirólise, utilizando precursores ricos em nitrogênio, como: ureia [50], tiourea [51], melamina [52] e cianamida [53], resultando em uma estrutura de folhas empilhadas, denominado de $g-C_3N_4$ *bulk* [47].

Posteriormente, o g-C₃N₄ pode ser esfoliado, resultando em um material em nanofolhas, o qual apresenta propriedades que o tornam mais atrativo para o desenvolvimento de sensores comparado a sua forma *bulk*. Uma dessas propriedades é o aumento em sua área superficial, que conseqüentemente amplifica a área eletroativa de um sensor eletroquímico, o que favorece mais sítios ativos para reações redox [47,54]. Diversos processos de esfoliação podem ser utilizados, como por exemplo, a ultrassonificação [55], corrosão por oxidação termal [56] ou processos químicos [57].

Nesse sentido, Zhang et al. [58] desenvolveram um sensor a base de g-C₃N₄, dióxido de manganês e óxido de zinco para a detecção de metronidazol em amostras de mel. Nahdi et al. [59] construíram um sensor baseado em g-C₃N₄, trióxido de tungstênio e cobre para a detecção de levofloxacin. Bouali et al. [60] propuseram um sensor fabricado com g-C₃N₄ e Cr₂AlC para a determinação de cabotegravir, princípio ativo antirretroviral da classe dos inibidores da HIV integrase, em amostras farmacêuticas e biológicas. Os três trabalhos mencionam o aprimoramento do desempenho dos sensores com a imobilização do g-C₃N₄.

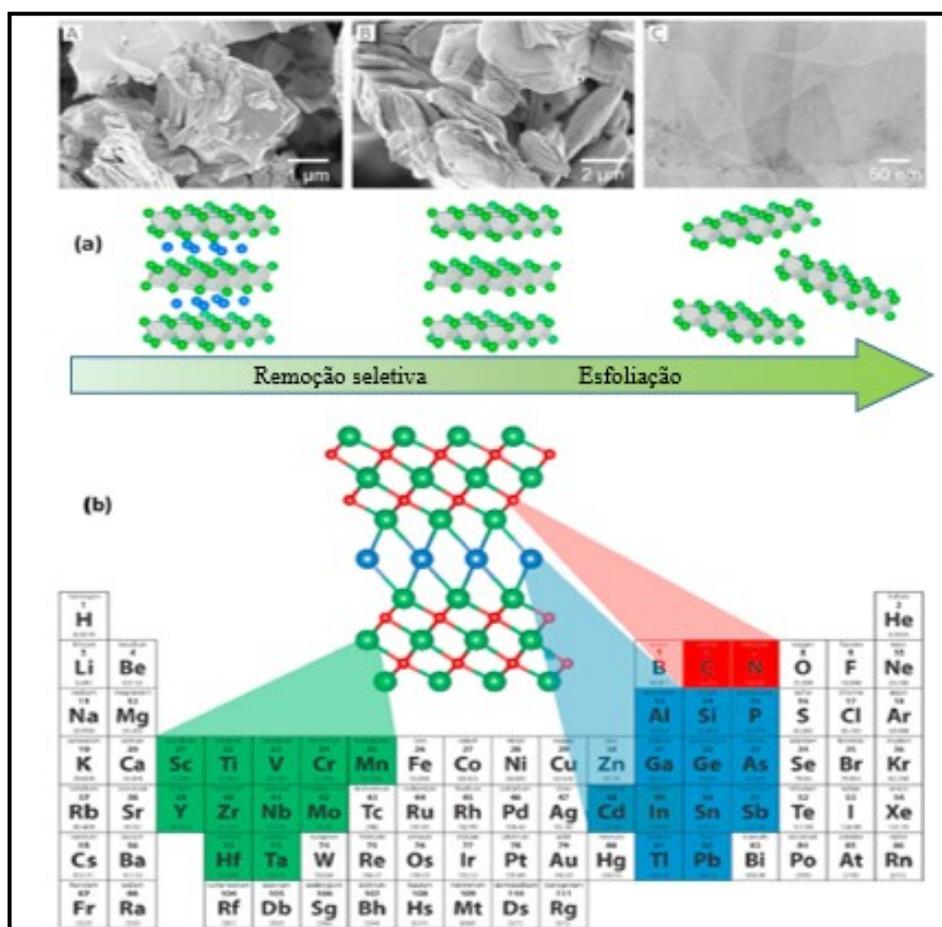
Outra propriedade do g-C₃N₄ que é dada pela estrutura do material, é o fato de possuir sítios coordenadores uniformes de nitrogênio, os quais podem fornecer locais de coordenação com metais, permitindo a formação de heterojunções [61]. Ao se explorar essa propriedade, pode-se estudar a formação de novas arquiteturas para sensores, formando heterojunções com outros nanomateriais, como o carbeto de titânio bidimensional (Ti₃C₂T_x).

2.5.3 Carbetos de metais de transição

Em 2011, Gogotsi et al. [62] descobriram uma nova classe de materiais denominados MXenes. Trata-se de materiais compostos de carbetos, nitretos e carbonitretos de metais de transição [63]. Esses materiais vêm recebendo enfoque na pesquisa científica na área de eletroquímica, principalmente devido a suas propriedades, como alta estabilidade química, condutividade elétrica, grande abundância de grupos funcionais em sua superfície, facilidade de síntese com alto rendimento em meio aquoso, além de possuir uma natureza não-tóxica [64].

A síntese dos MXenes ocorre a partir de uma fase MAX, um acrônimo onde **M** refere-se a um metal dos grupos 3 a 7 da tabela periódica (Sc, Ti, V, Cr, Mn, Y, Zr, Nb, Mo, Hf ou Ta), **A** são elementos do grupo 13 ou 14, e **X** representa carbono e/ou nitrogênio. Removendo a camada A da fase MAX, obtém-se os MXenes, com uma fórmula geral M_{n+1}X_nT_x, com n entre 1 e 3, e T_x referindo-se às terminações -O, -OH e/ou -F, dependendo do processo de síntese adotado [65]. A Figura 3 apresenta um esquema da estrutura da fase MAX e dos MXene.

Figura 3. (a) Representação do processo de síntese do MXene a partir da fase MAX com posterior processo de esfoliação. (b) Representação gráfica da composição da fase MAX.



Fonte: Adaptado de Ronchi et al., 2019 [66]. Copyright 2024, Elsevier.

Dentre as diversas moléculas pertencentes a família dos MXene, os mais explorados na literatura são os carbeto de titânio ($Ti_3C_2T_x$), os quais são obtidos a partir da fase MAX carbeto de titânio e alumínio (Ti_3AlC_2) [67]. Comparando o $Ti_3C_2T_x$ com outros materiais 2D, como o grafeno, esse apresenta características, tais como superfícies hidrofílicas e grande condutividade ($\sim 6000-8000 \text{ S cm}^{-1}$) que o torna altamente promissor em aplicações nas áreas de armazenamento de energia, dessalinização de água, catálise, blindagem contra interferência magnética, filmes condutores, entre outras [68].

Esses materiais ainda são potenciais agentes redutores em rotas sintéticas de nanopartículas metálicas, visto sua propriedade de *self-reduction*. Com esta vantagem, os MXene podem exercer a função de agente redutor e agente estabilizador para as nanopartículas, assim atuando tanto no processo de síntese, quanto na estabilização do produto obtido, não sendo necessário a adição de agentes redutores tóxicos e nocivos [69].

5.5.3.1 *Self-reduction*

Classicamente, uma síntese de nanopartículas metálicas por vias químicas envolve um sal precursor, o qual é reduzido através da ação de um agente redutor, com a presença de um agente estabilizante [70]. Por mais que este seja o método mais simples para se obter nanopartículas metálicas, existem inconvenientes, principalmente relacionados à toxicidade dos agentes redutores utilizados, e presença de impurezas no meio [71]. Assim, torna-se relevante a busca por rotas que mantenham a simplicidade dos métodos químicos, mas que evitem a necessidade de agentes redutores tóxicos. Uma destas alternativas é o uso do $Ti_3C_2T_x$ (MXenes), que devido aos seus átomos de Ti [Ti^{II} e Ti^{III}] pode atuar como agente redutor (processo de *self-reduction*) em algumas reações químicas [72]. Além disso, a extensa área de superfície do $Ti_3C_2T_x$ com estrutura em camadas oferece pontos de ancoragem para as nanopartículas, contando também com grupos funcionais na superfície e nas bordas (incluindo $-O$, $-OH$ e $-F$) que contribuem para um processo de estabilização [73].

Utilizando a propriedade de *self-reduction* dos $Ti_3C_2T_x$, Li et al. [74] desenvolveram um biossensor à base de $Ti_3C_2T_x$, nanopartículas de ouro (Au NPs) e imunoglobulina G para a triagem de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina. Para a síntese de Au NPs, o ácido tetracloroáurico ($0,1 \text{ nmol L}^{-1}$) foi vagarosamente adicionado a uma suspensão aquosa de $Ti_3C_2T_x$, a qual foi constantemente agitada por 20 minutos. Por fim, o produto obtido foi lavado diversas vezes, e resuspenso em água bidestilada. Foi obtido assim Au NPs com diâmetro médio de $60,76 \pm 9,41 \text{ nm}$, utilizando o $Ti_3C_2T_x$ como agente redutor. Os autores atribuíram a oxidação dos átomos de Ti^{II} a Ti^{IV} no $Ti_3C_2T_x$ como responsável pela redução a Au NPs.

Similarmente, Wang et al. [72] arquitetaram nanopartículas bimetálicas de ouro e paládio para o desenvolvimento de um sensor flexível para determinação simultânea de ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico. Zhao et al. [75] prepararam nanopartículas bimetálicas de ouro e paládio, aplicadas em um biossensor para detecção de pesticidas organofosforados. Zhen et al. [73] sintetizaram nanopartículas de níquel e aplicaram na absorção de ondas eletromagnéticas ajustáveis. Assim, esta propriedade de *self-reduction* dos $Ti_3C_2T_x$ para síntese de nanopartículas metálicas e sua aplicação na produção de sensores mais sensíveis, se mostra uma estratégia promissora.

2.5 Sensores ratiométricos

Atualmente, a ampla maioria dos sensores eletroquímicos reportados na literatura são baseados apenas nos sinais de oxidação e/ou redução do analito. No entanto, estes sinais podem ser facilmente afetados por condições externas, como em decorrência do equipamento utilizado e condições ambientais no momento do experimento. Estas dependências impõem limites na validação dos dados gerados pelos sensores, principalmente em questões de repetibilidade e reprodutibilidade [76–78].

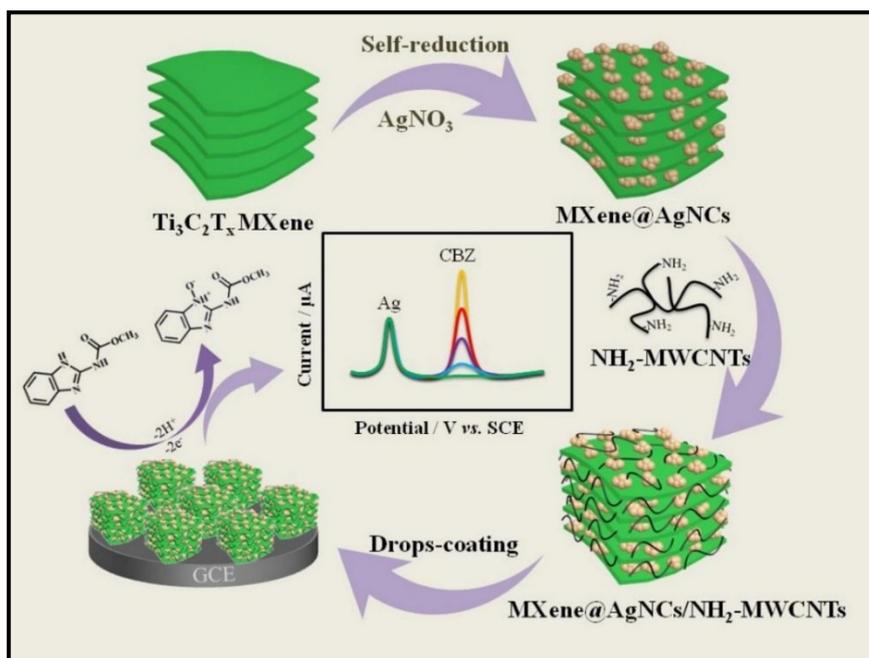
Como uma alternativa a estas limitações, os sensores ratiométricos se baseiam na coleta e racionalização entre sinais eletroquímicos referenciais do sistema de análise com os sinais fornecidos pelo analito, ou seja, utilizar de uma proporção entre sinal do analito e sinal de uma referência interna para determinar a concentração da espécie de interesse. Esses sinais também são afetados similarmente pelo ambiente externo, porém a razão entre ambos se mantém, podendo eliminar em certo grau a interferência de fatores externos, fornecendo resultados com maior precisão [78].

Conforme discutido no artigo de revisão elaborado por Yang et al. [79], a estratégia ratiométrica ainda é emergente no campo de sensores eletroquímicos. O artigo compila diversos trabalhos com diferentes abordagens visando sensores ratiométricos, e descreve que a ampla maioria deles foram propostos a partir do ano de 2015. A revisão de Madhu et al. [80] publicado em 2023, além de mostrar o quanto sensores eletroquímicos se aproveitam da racionalização de sinais, enfatiza o monitoramento em tempo real de analitos, e a necessidade de maiores avanços neste campo. Similarmente, Liu et al. [81] discutiram sobre a utilização de sensores ratiométricos implantáveis para pesquisas cerebrais *in vivo*. Estes trabalhos defendem uma melhor precisão dos dados obtidos usando a racionalização de sinais.

Em nosso grupo de pesquisa, Monteiro et al. [82] desenvolveram um sensor eletroquímico ratiométrico à base de pasta de carbono, que utilizou o sinal voltamétrico de um análogo do azul da Prússia, incorporado a pasta, como sinal de referência interna para a determinação de butralina, um pesticida utilizado para evitar o surgimento de pestes em cultivos agrícolas. Nos ensaios de repetibilidade, o sensor forneceu um desvio padrão relativo (do inglês, *relative deviation standard* – RSD) para as respostas de corrente de redução da butralina de 8,0%. No entanto, a razão de correntes (analito/referência interna) permaneceu quase inalterada (RSD = 1,5%), o que indicou que a estratégia de detecção ratiométrica minimizou os desvios entre os vários ensaios, e aprimorou a precisão dos dados.

Também aplicando esta estratégia, Zhong et al. [83] utilizaram a propriedade de *self-reduction* e de agente estabilizante do $Ti_3C_2T_x$ para a síntese de nanoaglomerados de prata (do inglês, *Ag nanoclusters* - AgNCs), conforme é representado na Figura 4. A síntese foi realizada gotejando solução de $AgNO_3$ diretamente em uma dispersão de $Ti_3C_2T_x$. Com isso, os íons Ag^+ foram reduzidos, e a dispersão foi misturada com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizados com grupos amina. Por DPV, os AgNCs apresentam um pico bem definido na região de +0,12 V vs. eletrodo de calomelano saturado (do inglês, *saturated calomel electrode* – SCE), o que possibilitou o uso desse sinal para o desenvolvimento de um sensor ratiométrico sobre um GCE. Usufruindo da razão entre a corrente obtida para o carbedazim (analito) com o sinal referente a oxidação dos AgNCs, o sensor construído apresentou dados sensíveis e com adequada precisão.

Figura 4. Esquema da síntese e aplicação do MXene@AgNCs/ NH_2 -MWCNTs sobre um GCE, com posterior análise de carbedazim. Inserido: voltamograma de pulso diferencial obtido para análise do carbedazim (CBZ) com o sinal constante da referência interna de AgNCs.



Fonte: Extraído de Zhong et al., 2021 [83]. Copyright 2024, Elsevier.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver um novo sensor eletroquímico ratiométrico através da modificação de um eletrodo de carbono vítreo com uma heterojunção 0D/1D/2D constituída por carbeto de titânio ($Ti_3C_2T_x$), nanopartículas de prata (Ag NPs) e nitreto de carbono grafítico ($g-C_3N_4$) para a determinação do aminoácido L-tirosina.

3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar o $Ti_3C_2T_x$ (MXene) a partir do seu precursor Ti_3AlC_2 (fase MAX);
- Sintetizar o $g-C_3N_4$ a partir do seu precursor melamina;
- Sintetizar Ag NPs utilizando o $Ti_3C_2T_x$ como agente redutor e estabilizante;
- Realizar a caracterização dos materiais obtidos pelas técnicas de difração de raios X, espectroscopia na região do infravermelho e UV-visível, de fluorescência, de fotoelétrons de raios X, microscopia eletrônica de transmissão e potencial zeta;
- Modificar a superfície de um eletrodo de carbono vítreo com $Ti_3C_2T_x$, $g-C_3N_4$ e Ag NPs;
- Avaliar a possibilidade da construção de um sensor ratiométrico para determinação de L-tirosina (analito) com base no sinal voltamétrico de Ag NPs (referência interna);
- Estudar o comportamento eletroquímico da L-tirosina sobre os sensores desenvolvidos;
- Otimizar o método eletroanalítico para a determinação de L-tirosina, através das condições experimentais como, valor de pH, natureza do eletrólito de suporte, técnica voltamétrica e parâmetros da técnica;
- Construir a curva de calibração para a L-tirosina;
- Determinar a faixa linear, limites de detecção e quantificação para a L-tirosina;

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Reagentes e soluções

Para o preparo das soluções, foi utilizada água ultrapura obtida de um sistema Milli-Q (Merck, EUA; resistividade 18,0 M Ω cm) e reagentes de grau analítico. Para sintetizar o Ti₃C₂T_x foi utilizado o precursor Ti₃AlC₂ como fase MAX (Merck, 95%) e HF (Synth, 48%). Precursores melamina (Merck, 99%) e sulfato de amônio (Merck, 99%) foram utilizados para a síntese do g-C₃N₄ e solução de AgNO₃ (Neon, 99,9%) como precursor das Ag NPs. As soluções tampão fosfato de sódio (NaH₂PO₄/Na₂HPO₄), acetato de sódio (CH₃COOH/CH₃COONa), McIlvaine (ácido cítrico/Na₂HPO₄) e Britton-Robinson (H₃BO₃/CH₃COOH/H₃PO₄) foram testadas como eletrólitos de suporte. Soluções estoque de L-tirosina (Merck, $\geq 99\%$) foram preparadas em água ultrapura na concentração de 5,0 mmol L⁻¹. Soluções de menor concentração foram preparadas mediante diluição.

4.2. Síntese dos nanomateriais Ti₃C₂T_x, Ag NPs e g-C₃N₄

A síntese do Ti₃C₂T_x (MXene) foi realizada conforme a literatura [67], na qual em béquer de plástico, 12,0 mL de HF concentrado e 8,0 mL de água ultrapura foram adicionados a 1,0 g de Ti₃AlC₂ sob agitação por 5 h. Posteriormente, a suspensão foi lavada e agitada manualmente com 120 mL de água ultrapura, seguida de centrifugação por 5 min em 3500 rpm, até a correção do pH entre 5-6, sendo reservado o sobrenadante (dispersão de coloração verde escuro), para posterior síntese das Ag NPs. A escolha desta faixa de pH deve-se ao fato de condições ácidas alteram o equilíbrio eletrostático e enfraquecem as forças de repulsão, levando à instabilidade da dispersão e à automontagem ordenada das nanofolhas de Ti₃C₂T_x.

As Ag NPs foram sintetizadas a partir da adição de alíquotas (5,0 a 200 μ L) de solução de AgNO₃ 0,05 mol L⁻¹ em 1,0 mL da dispersão de Ti₃C₂T_x, contendo 0,05 mL de solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹. Este procedimento usou a propriedade de *self-reduction* do Ti₃C₂T_x para reduzir os íons Ag⁺ para Ag⁰, formando as nanopartículas Ag NP-Ti₃C₂T_x, as quais também foram estabilizadas pelo Ti₃C₂T_x, que em meio básico tem sua morfologia alterada para uma estrutura de nanofios reticulados [84]. A quantidade de AgNO₃ foi otimizada de modo a proporcionar as maiores intensidades de corrente tanto para as Ag NPs quanto para a L-tirosina nos estudos de voltametria cíclica (do inglês, *cyclic voltammetry* – CV).

A síntese do g-C₃N₄ foi realizada a partir da mistura de 5,0 g de melamina e 5,0 g de sulfato de amônio em um almofariz de ágata e transferidos para um cadinho para calcinação a 600 °C por 2 h em forno mufla com uma rampa de aquecimento de 2 °C min⁻¹, obtendo as nanofolhas de g-C₃N₄ [85]. Posteriormente, para obtenção de uma suspensão de nanofolhas de g-C₃N₄, foram pesados 2,0 mg do g-C₃N₄ em um tubo falcon, no qual foi adicionado 1,0 mL de água ultrapura e submetido a um banho ultrassônico por 30 min.

A heteroestrutura de Ag NP-Ti₃C₂T_x/g-C₃N₄ foi obtida ao se misturar volumes otimizados de Ag NP-Ti₃C₂T_x e de nanofolhas de g-C₃N₄, sendo submetidos a 30 min de banho ultrassônico, a fim da formação de uma heterojunção entre os materiais.

4.3 Caracterizações dos nanomateriais

As caracterizações morfológicas dos materiais sintetizados foram realizadas por microscopia eletrônica de transmissão (do inglês, *transmission electron microscopy* – TEM) usando um microscópio JEM-1011 (JEOL, Japão) operando em uma tensão de aceleração de 100 kV. Estas análises foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC. Posteriormente, o diâmetro médio das Ag NPs foi estimado contabilizando aleatoriamente ao menos 100 partículas, através do *software* ImageJ (National Institutes of Health, EUA).

As análises espectroscópicas no UV-vis foram realizadas em um espectrofotômetro UV-1800 (Shimadzu, Japão) em cubeta de quartzo, com caminho óptico de 1,0 cm. As caracterizações de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR, do inglês, *Fourier-transform infrared spectroscopy*) foram realizadas em um espectrofotômetro infravermelho Alpha (Bruker, Alemanha) no modo de transmissão, utilizando um equipamento com refletância total atenuada (ATR, do inglês, *attenuated total reflectance*) na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC.

Os espectros de fluorescência foram obtidos em um espectrofluorímetro F4500 (Hitachi, Japão), equipado com termostato, usando cubeta de quartzo de 1 cm de caminho. Os experimentos foram realizados em atmosfera aerada, a 25 °C com abertura de fenda (slit) de emissão e excitação de 5,0 nm. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Polímeros e Surfactantes (POLISSOL) localizado no Departamento de Química da UFSC.

O potencial zeta das Ag NPs foram determinados utilizando um Zetasizer Nano Series modelo ZS (Malvern Instruments, Reino Unido), operando em 173°. O potencial zeta foi avaliado por anemometria laser-doppler operando em 4,0 mW utilizando uma célula

eletroforética DTS1070, onde se estabeleceu um potencial de ± 150 mV. Estas análises foram realizadas no Grupo de Estudos em Materiais Poliméricos (POLIMAT) localizado no Departamento de Química da UFSC.

As análises de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (do inglês, *X-ray photoelectron spectroscopy* – XPS) foram realizadas no Laboratório de Nanomateriais e Cerâmicas Avançadas (NaCA) localizado no Instituto de Física de São Carlos (IFSC, USP) utilizando espectrômetro de raios X ESCA+ (Scienta-Omicron, Suécia) equipado com monocromador, fonte de raios X Al K α ($h\nu = 1486,6$ eV).

Os ensaios de difração de raios X (do inglês, *X-ray diffraction* – XRD) foram realizados em um difratômetro multiuso MiniFlex600 (Rigaku, Japão) em geometria de Bragg-Brentano, equipado com uma fonte de Cu K α ($\lambda = 0,15418$ nm) a 40 kV e 30 mA varrendo de 5 a 90° usando uma taxa de 5 °/minuto. Estas análises foram realizadas no Laboratório Interdisciplinar de Desenvolvimento de Nanotecnologia (LINDEN) localizado no Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da UFSC.

4.4 Construção do sensor eletroquímico

Um GCE com área geométrica de $0,07$ cm² foi previamente polido com alumina ($0,05$ μ m) em feltro por 2 min. Em seguida, para remover quaisquer resíduos de alumina e contaminantes de sua superfície, o GCE foi deixado por 90 s em banho ultrassônico com água ultrapura.

A modificação da superfície do GCE foi realizada pelo método *drop coating*, gotejando uma alíquota de $2,0$ μ L de suspensão de AgNP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄ na superfície do eletrodo. O sensor Ag NP-Ti₃C₂T_x/g-C₃N₄/GCE foi levado à uma estufa ($T = 45$ °C) para secagem e formação do filme em sua superfície. Foi utilizado um filme por medida. Após isso, a superfície do GCE foi mecanicamente limpa e um novo filme foi preparado por *drop coating*.

4.5 Medidas eletroquímicas e otimização do método analítico para L-tirosina

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato PGSTAT101 (Metrohm Autolab B.V., Holanda), utilizando o *software* Nova (versão 1.11). Um conjunto de três eletrodos foi empregado para a realização das medidas, sendo eles, o AgNP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE como eletrodo de trabalho, um contra-eletrodo de platina e um eletrodo de referência

de Ag/AgCl, KCl saturado. Os eletrodos foram dispostos em uma cela eletroquímica com capacidade de 15,0 mL para os ensaios.

O comportamento eletroquímico da L-tirosina foi estudado por CV sobre o sensor Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE e em suas diferentes etapas de modificação. O eletrodo que apresentou os picos de corrente mais intensos e definidos, tanto para a L-tirosina quanto para as Ag NPs foi selecionado, bem como o que não apresentou sinais interferentes. O sinal voltamétrico de oxidação das Ag NPs foi selecionado como referência interna para a construção de um sensor ratiométrico, sendo utilizado juntamente com o sinal da L-tirosina para obter uma proporção entre eles (divisão da corrente de oxidação da L-tirosina pela corrente de oxidação das Ag NPs).

Também por CV, foram selecionadas as melhores condições do eletrólito de suporte (composição da solução tampão e pH) e estudado a reação eletroquímica da L-tirosina através da variação da velocidade de varredura. Foram otimizados os parâmetros da DPV (velocidade de varredura, amplitude de pulso e tempo de pulso) afim de aprimorar as intensidades de correntes de oxidação da L-tirosina. Dessa forma, foram construídas curvas de calibração para a obtenção da faixa linear, limites de detecção e quantificação, assim como a sensibilidade do novo sensor proposto.

4.6 Segurança em laboratório e tratamento de resíduos

Os resíduos aquosos gerados durante a síntese do Ti₃C₂T_x foram devidamente neutralizados e armazenados. Os resíduos sólidos provenientes do material, classificados como halogenados, foram armazenados de maneira separada. Um cuidado especial foi dedicado aos resíduos de ácido fluorídrico (HF), os quais foram diluídos de forma controlada em água e imediatamente neutralizados com carbonato de cálcio (CaCO₃). Em seguida, foi adicionado cloreto de cálcio (CaCl₂) para precipitação do fluoreto e/ou carbonato, sendo posteriormente armazenados em frascos plásticos. As Ag NPs foram transferidas para outro recipiente destinado a resíduos, dada a necessidade de um tratamento específico devido ao seu tamanho, que facilita a difusão em solos e recursos hídricos, além da dificuldade de remoção por meio de filtrações convencionais.

Os demais resíduos aquosos provenientes de soluções tampão, e resíduos sólidos, como papéis, ponteiros, feltro, luvas, entre outros foram coletados por uma empresa contratada pela universidade, para serem devidamente tratados e incinerados.

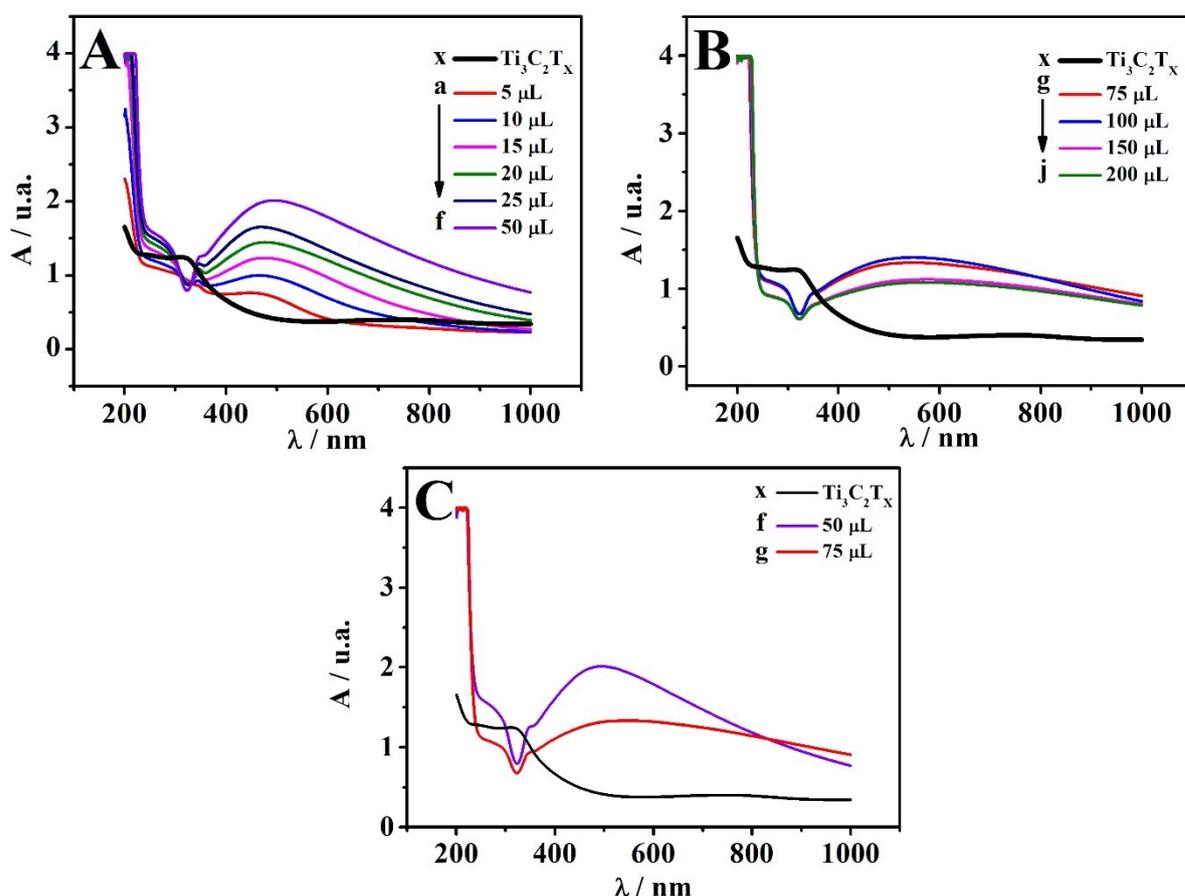
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Otimização do preparo da heteroestrutura Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄

5.1.1 Otimização da quantidade de AgNO₃

Com objetivo de otimizar a quantidade de AgNO₃ utilizada na obtenção das Ag NPs, foram realizadas diferentes sínteses através de adições de 5,0 a 200 µL de solução de AgNO₃ 0,05 mol L⁻¹ a 1,0 mL da dispersão do Ti₃C₂T_x. Os espectros UV-vis (Fig. 5) para cada síntese foram registrados adicionando uma alíquota de 1,0 mL de cada síntese de Ag NP-Ti₃C₂T_x (ou somente do Ti₃C₂T_x) em uma cubeta de quartzo, juntamente com 2,0 mL de água ultrapura.

Figura 5. Espectros UV-vis registrados para 1,0 mL de dispersão de Ti₃C₂T_x (espectro x) ou Ag NP-Ti₃C₂T_x (espectros a até j) em 2,0 mL de água ultrapura: (A) Espectros UV-vis referentes as sínteses de Ag NP-Ti₃C₂T_x contendo (a) 5, (b) 10, (c) 15, (d) 20, (e) 25 e (f) 50 µL; e em (B) utilizando (g) 75, (h) 100, (i) 150 e (j) 200 µL de AgNO₃ 0,05 mol L⁻¹. Em (C), comparação entre os espectros UV-vis das sínteses contendo 50 e 75 µL de solução AgNO₃ 0,05 mol L⁻¹ e somente Ti₃C₂T_x.



A síntese de Ag NPs utilizando $Ti_3C_2T_x$ como agente redutor (*self-reduction*) e estabilizante foi confirmada com base na banda registrada em 480 nm, característica do processo de ressonância plasmônica de superfície de Ag NPs [86]. Esta banda foi registrada nos espectros contendo Ag NP- $Ti_3C_2T_x$ (Fig. 5A e 5B, espectros a até j) e não registrada no espectro contendo apenas o $Ti_3C_2T_x$ (Fig. 5A e 5B, espectro x). Também foi observado um aumento na intensidade desta banda até a condição de síntese com um volume de 50 μ L de $AgNO_3$ 0,05 mol L^{-1} (Fig. 5A - espectro f e Fig. 5C).

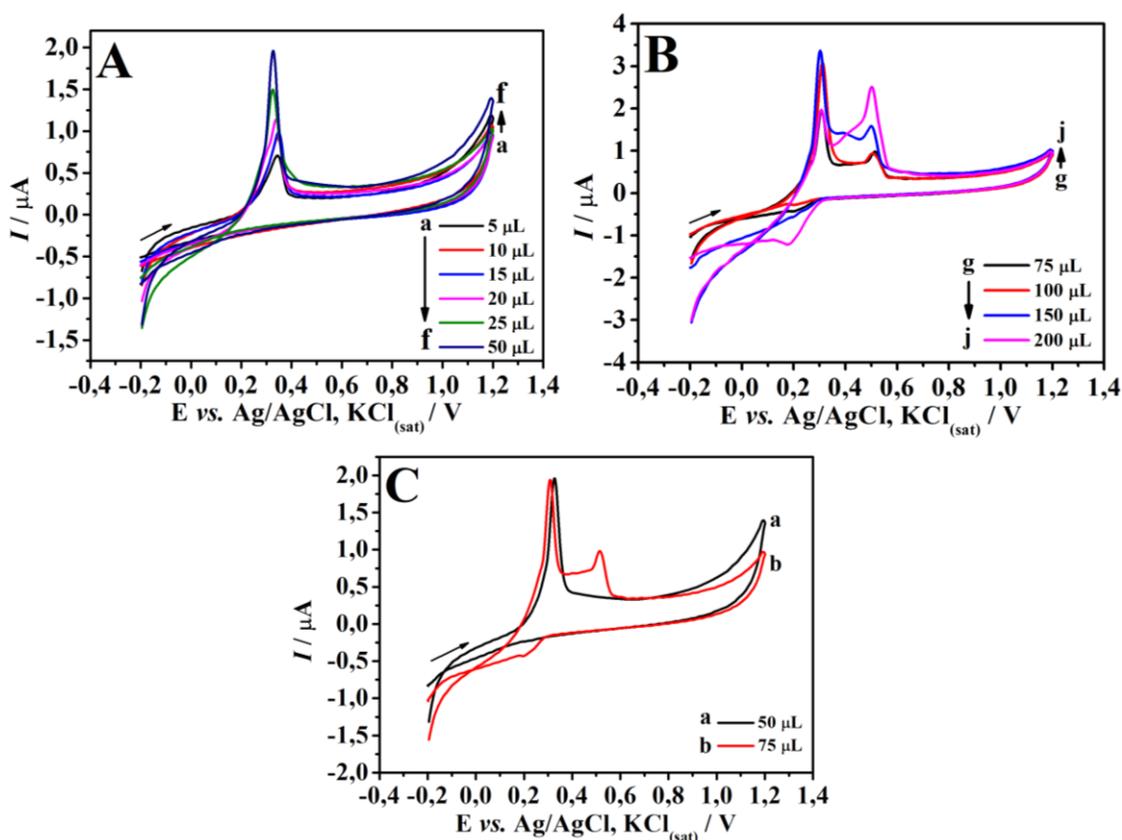
Ademais, a banda em 735 nm nos espectros do $Ti_3C_2T_x$ (Fig. 5A-C, espectros x) foi associada a uma transição envolvendo os orbitais dz^2 dos átomos de Ti [87], e o seu desaparecimento nos demais espectros foi um indicativo de que o Ti deste material atuou como agente redutor na síntese das Ag NPs, visto que o Ti^{III} é o estado de oxidação majoritário para este material [88], o qual apresenta configuração d^1 . Em caso de oxidação para Ti^{IV} , este passa a apresentar configuração d^0 , o que explica o desaparecimento da banda em 735 nm. Por fim, o aparecimento de uma banda em 345 nm nos espectros de Ag NP- $Ti_3C_2T_x$ (espectros a até j), a qual foi atribuída a formação de TiO_2 , onde o Ti apresenta estado de oxidação 4+ [89], ocorre devido ao meio aquoso, que naturalmente favorece a oxidação do Ti, mas pode se intensificar com ação de agente redutor para a síntese das Ag NPs.

A variação de 5,0 a 200 μ L nas alíquotas de $AgNO_3$ 0,05 mol L^{-1} adicionada a dispersão de $Ti_3C_2T_x$ para a síntese das Ag NPs também foi avaliada por CV. Os voltamogramas cíclicos (Fig. 6A) apresentaram um pico de oxidação em +0,31 V vs. Ag/AgCl, $KCl_{(sat)}$, decorrente da oxidação das Ag NPs [83], com aumento nas intensidades de corrente de pico a medida em que se adicionou mais $AgNO_3$ durante a síntese até a condição de 50 μ L de $AgNO_3$ 0,05 mol L^{-1} (Fig. 6A - curva f, e em destaque na Fig. 6C). A partir do uso de 75 μ L de $AgNO_3$ 0,05 mol L^{-1} (Fig. 6B - curva g, e em destaque na Fig. 6C), registrou-se um segundo pico de oxidação em +0,5 V vs. Ag/AgCl, $KCl_{(sat)}$, referente a oxidação irreversível do $Ti_3C_2T_x$, atribuído a protonação/desprotonação dos grupos funcionais de superfície, com mudanças subsequentes no estado de oxidação do Ti [90]. Além disso, na varredura no sentido de redução, foi registrado um sinal em +0,19 V vs. Ag/AgCl, $KCl_{(sat)}$, atribuído a redução dos íons Ag^+ em excesso na dispersão Ag NP- $Ti_3C_2T_x$, os quais não foram reduzidos previamente durante a síntese das Ag NPs [91].

A partir destes dados, o volume de 50 μ L de $AgNO_3$ 0,05 mol L^{-1} para cada 1,0 mL de dispersão de $Ti_3C_2T_x$ foi selecionado para a síntese das Ag NPs utilizada no preparo do Ag NP- $Ti_3C_2T_x$ /GCE, por conta deste volume fornecer as maiores respostas de corrente para a oxidação

das Ag NPs, além de não apresentar picos extras no voltamograma.

Figura 6. Voltamogramas cíclicos em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,0) utilizando o Ag NP-Ti₃C₂T_x/GCE preparado a partir de diferentes alíquotas de solução AgNO₃ 0,05 mol L⁻¹, sendo em (A) (a) 5, (b) 10, (c) 15, (d) 20, (e) 25 e (f) 50 μL; e em (B) (g) 75, (h) 100, (i) 150 e (j) 200 μL. Em (C), destaque para a comparação entre as sínteses de Ag NPs utilizando 50 e 75 μL de solução AgNO₃ 0,05 mol L⁻¹. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

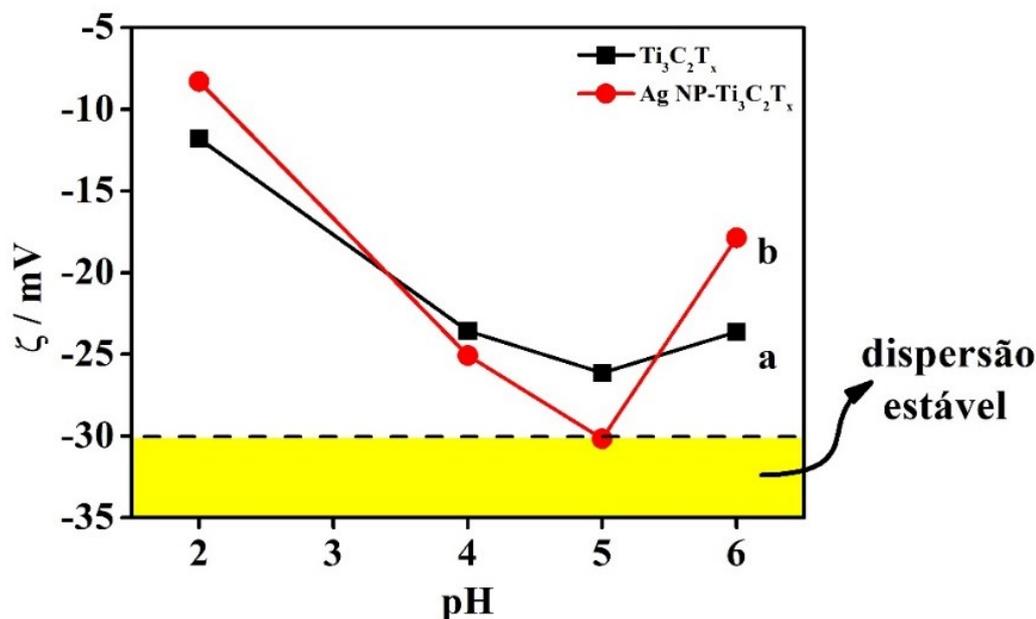


5.1.2 Otimização do pH da dispersão de Ti₃C₂T_x

A estabilidade das Ag NPs foi avaliada por medidas de potencial zeta (ζ) em diferentes valores de pH da dispersão de Ti₃C₂T_x (Fig. 7). Esta análise é fundamental, pois as nanopartículas, ao entrarem em contato com o solvente, adquirem carga elétrica em suas superfícies, o que resulta na geração de forças atrativas e/ou repulsivas entre elas. Assim, um sistema coloidal será estável se nanopartículas estiverem altamente carregadas, seja positivamente ou negativamente, para não se aglomerarem. No entanto, se as partículas não apresentarem carga elevada em suas superfícies, as forças de atração podem predominar, fazendo com que se aglomerem [92]. Portanto, obter uma dispersão coloidal estável significa eliminar as forças atrativas de Van der Waals entre as partículas do sistema [93]. Em termos

gerais, um sistema coloidal pode ser considerado estável se o potencial ζ possuir valores maiores que +30 mV ou menores que -30 mV [94].

Figura 7. Potencial zeta vs. pH da dispersão de $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$, sendo: (a) $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ e (b) Ag NP- $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$.



Como destacado na Figura 7, o sistema que apresentou maior estabilização foi o preparado em dispersão de $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ em pH 5,0, apresentando um potencial ζ de +30,17 mV. Desta forma, esta condição de pH foi selecionada para ser utilizada na síntese das Ag NPs nos estudos seguintes.

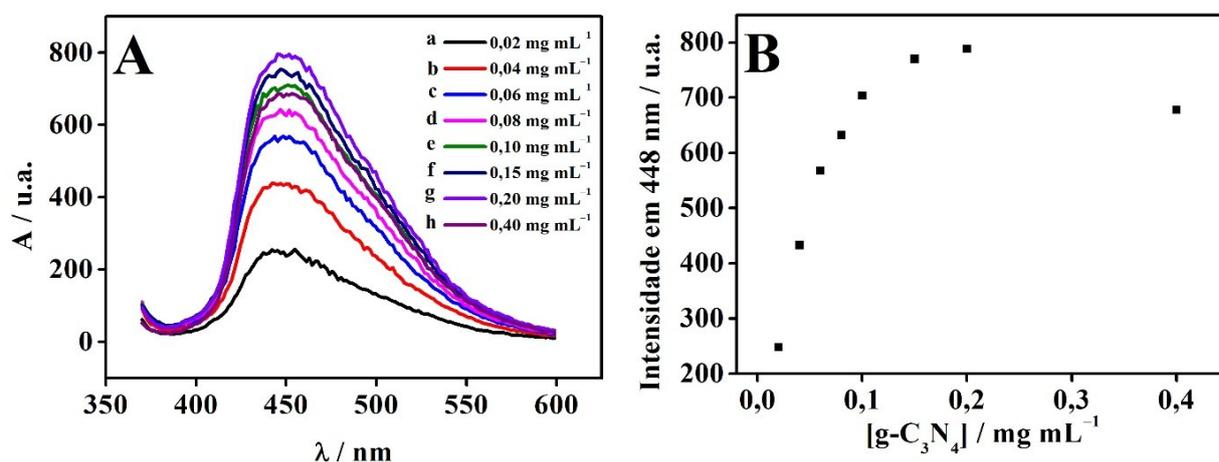
5.1.3 Otimização da concentração de $g\text{-C}_3\text{N}_4$ no preparo da heteroestrutura Ag NP- $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ - $g\text{-C}_3\text{N}_4$

Espectros de fluorescência para diferentes concentrações da dispersão de $g\text{-C}_3\text{N}_4$ (Fig. 8A) foram realizados para verificar sua agregação em solução. Isso ocorre porque, a partir de uma determinada concentração de espécies, o efeito de autoagregação reduz a relaxação radiativa, gerando efeitos de autoabsorção e do filtro interno [95].

Neste estudo, as intensidades de fluorescência aumentaram conforme a concentração de $g\text{-C}_3\text{N}_4$ foi elevada até $0,15 \text{ mg mL}^{-1}$ (Fig. 8B). Após esta condição, houve um decréscimo nas intensidades, o que foi relacionado a um estado agregado (*bulk*) do $g\text{-C}_3\text{N}_4$, aumentando o tamanho de suas partículas e reduzindo sua área superficial [96]. Visto que o uso de materiais com elevada área superficial é desejável para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos, a

concentração de $0,15 \text{ mg mL}^{-1}$ de $\text{g-C}_3\text{N}_4$ foi selecionada como concentração otimizada para a o preparo da heteroestrutura $\text{Ag NP-Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x\text{-g-C}_3\text{N}_4$.

Figura 8. (A) Espectros de fluorescência para dispersões de $\text{g-C}_3\text{N}_4$ em água ultrapura em diferentes concentrações: a-h: 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,10; 0,15; 0,20; e $0,40 \text{ mg mL}^{-1}$. (B) Gráfico de intensidade de banda a 448 nm vs. concentração de $\text{g-C}_3\text{N}_4$.

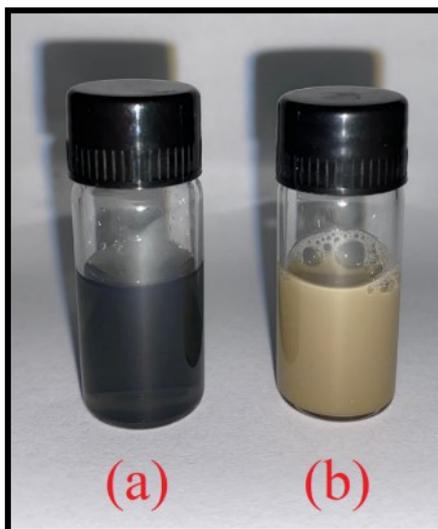


5.2 Caracterizações espectroscópicas, morfológicas e composicionais da dispersão de $\text{Ag NP-Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x\text{-g-C}_3\text{N}_4$

5.2.1 Análise visual da formação das Ag NPs

Após a centrifugação da dispersão de $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$, seu sobrenadante constituído por nanofolhas foi utilizado para a síntese das Ag NPs pelo processo de *self-reduction*. A mudança de coloração da dispersão de nanofolhas de $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ de verde escuro (Fig. 9A) para marrom claro (Fig. 9B) indicou a formação das Ag NPs . Este fenômeno ocorreu devido à presença das Ag NPs , que naturalmente se apresentam em dispersão amarela [97], mas com a coloração verde escura dos $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$, resultou em uma coloração marrom claro.

Figura 9. Imagem das dispersões de (a) $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ e (b) Ag NP- $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$.



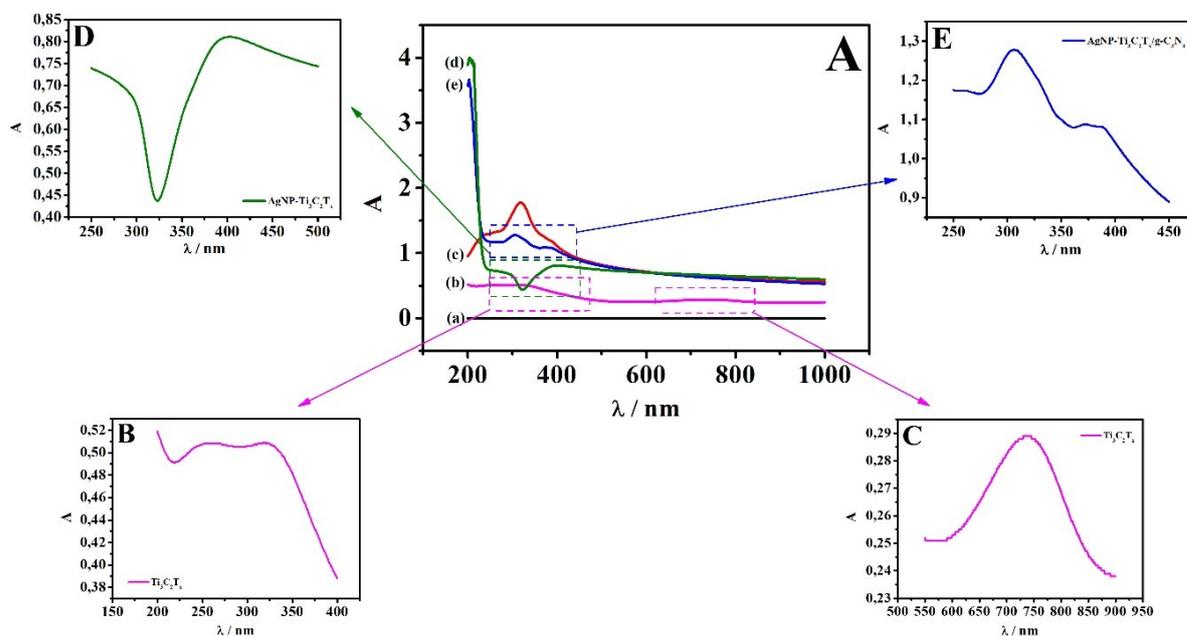
5.2.2 Caracterização por espectroscopia UV-Vis

Com o preparo das dispersões de $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$, Ag NP- $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ e Ag NP- $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ -g- C_3N_4 foram realizadas caracterizações por espectroscopia UV-vis (Fig. 10A). O espectro UV-vis para o $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ (Fig. 10A - espectro b) apresentou duas bandas características na região de 200 a 1000 nm. A banda localizada na região de 325 nm (Fig. 10B) foi atribuída a presença de TiO_2 , gerado pela oxidação do $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ em virtude do meio aquoso [98]. Enquanto que a banda em 735 nm (Fig. 10C) foi atribuída a transição interbanda, envolvendo os orbitais dz^2 do Ti com os orbitais p do carbono [87].

O espectro referente ao g- C_3N_4 (Fig. 10A - espectro c) se mostrou bastante característico [99], sendo registrada uma intensa banda em 320 nm, típico de um material semicondutor, proveniente da transferência de carga dos orbitais HOMO dos átomos de nitrogênio (orbitais $2p$), para os orbitais LUMO dos átomos de carbono (orbitais $2p$) [100]. Além disso, duas outras bandas de menores intensidades, uma em 390 nm, atribuída a transições $n \rightarrow \pi^*$, referente a transferência eletrônica do orbital não ligante do nitrogênio para um orbital anti-ligante aromático, e outra na região de 240 nm atribuída a transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel aromático [100].

Após a síntese das Ag NPs, o espectro do Ag NP- $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ (Fig. 10A, espectro d) não apresentou as bandas características do espectro do $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ puro (Fig. 10A, espectro b). Em compensação, foi constatada a presença de uma nova banda na região de 400 nm, característica das Ag NPs [101]. Esta alteração foi um indício de que a síntese das Ag NP ocorreu usando o $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ como agente redutor.

Figura 10. (A) Espectros UV-vis de (a) branco em água ultrapura, (b) $Ti_3C_2T_x$, (c) $g-C_3N_4$, (d) $Ag\ NP-Ti_3C_2T_x$ e (e) $Ag\ NP-Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4$. (B) ampliação do espectro (b) na região de 400 nm até 200 nm, (C) ampliação do espectro (b) na região de 900 nm até 550 nm, (D) ampliação do espectro (d) na região de 500 nm até 250 nm e (E) ampliação do espectro (e) na região de 450 nm até 250 nm.



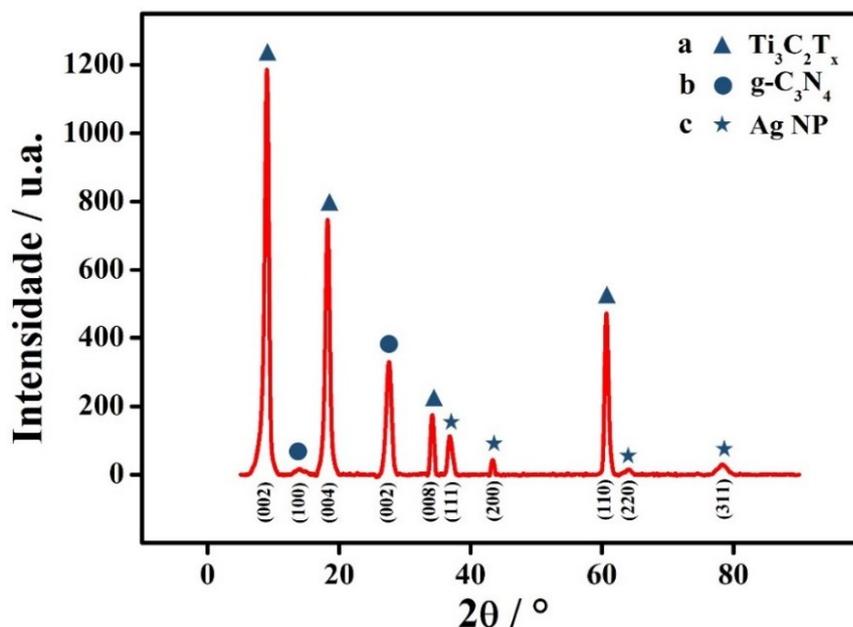
Por fim, no espectro referente ao $Ag\ NP-Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4$ (Fig. 10A - espectro e) foi constatado a presença de duas bandas. A primeira na região de 390 nm, atribuída a sobreposição das bandas das $Ag\ NPs$ com uma das bandas menos intensas do $g-C_3N_4$, e a segunda, na região de 320 nm, já atribuída anteriormente ao $g-C_3N_4$ (Fig. 10E).

5.2.3 Caracterizações estruturais por DRX

Um difratograma de raios X (Fig. 11) foi realizado para a caracterização estrutural do $Ag\ NP-Ti_3C_2T_x-g-C_3N_4$. Os picos relacionados aos planos cristalográficos do $Ti_3C_2T_x$ (picos a) observados em $9,01^\circ$, $18,25^\circ$, $34,19^\circ$ e $60,69^\circ$, foram correspondentes aos planos (002), (006), (008) e (110), respectivamente [102,103]. Os sinais do $g-C_3N_4$ (picos b) se apresentaram em $13,90^\circ$, sendo atribuído ao plano (002) e representando as unidades tristriazina, e em $27,60^\circ$, sendo atribuído ao plano (100) e representando o empilhamento entre camadas dos segmentos aromáticos (JCPDS nº 87-1526) [104]. Para as $Ag\ NPs$ (picos c), quatro sinais foram obtidos,

em $38,84^\circ$, $43,40^\circ$, $64,08^\circ$ e $78,18^\circ$, sendo referidos aos planos (111), (200), (220) e (311), respectivamente [105].

Figura 11. Difratoograma de raios X obtido para a heteroestrutura Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄ com sinais referentes aos planos cristalográficos do (a) Ti₃C₂T_x, (b) g-C₃N₄ e (c) Ag NPs.



5.2.4 Caracterizações morfológicas por TEM

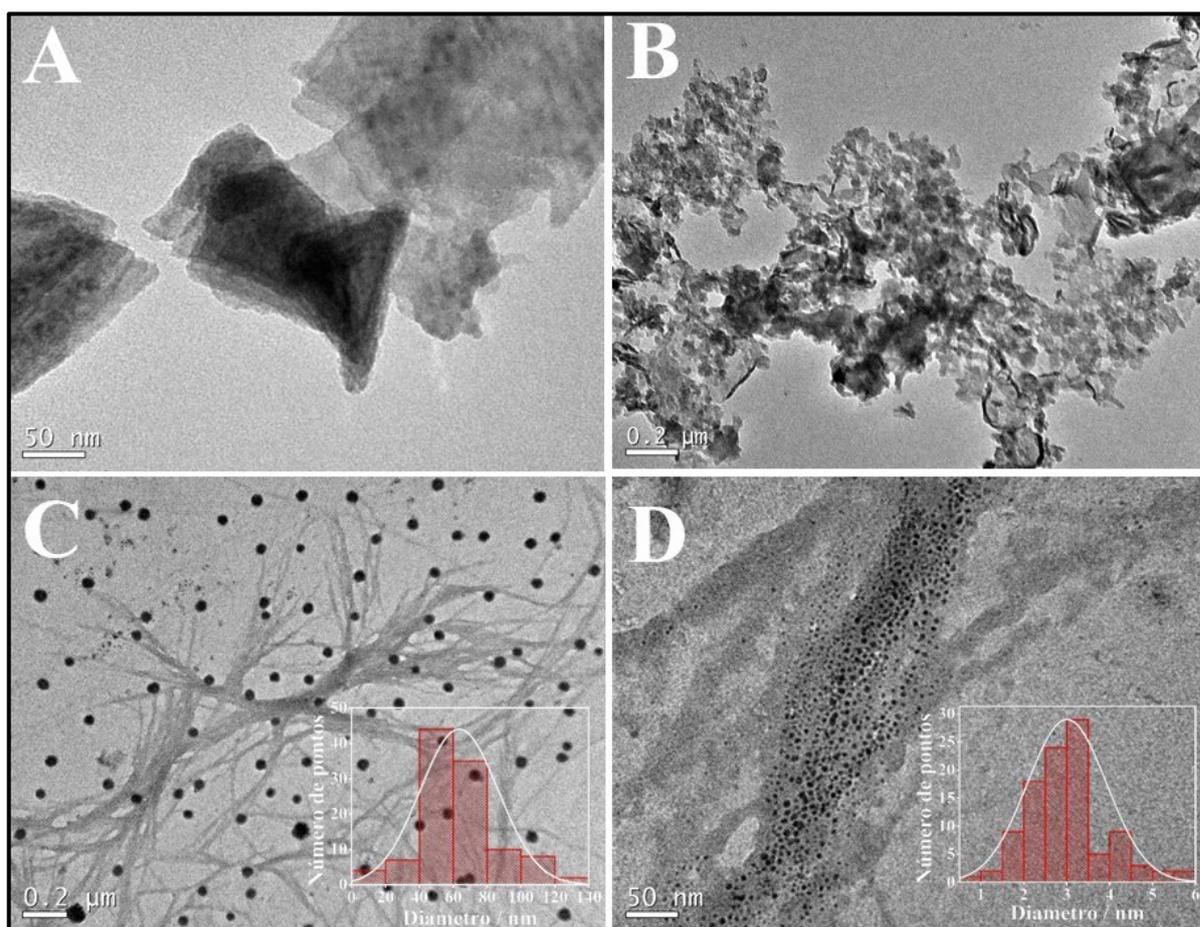
Imagens de microscopia eletrônica foram realizadas para a compressão da morfologia dos diferentes materiais, bem como sua interação na formação de uma heterojunção. As imagens de TEM revelaram estruturas em nanofolhas tanto para o Ti₃C₂T_x (Fig. 12A), quanto o g-C₃N₄ (Fig. 12B) quando dispersos em água. Após a síntese das Ag NPs, foram registradas como um subproduto nanopartículas esféricas de TiO₂ com diâmetro médio de $63,47 \pm 23,01$ nm dispersas em Ag NP-Ti₃C₂T_x (Fig. 12C), em decorrência do processo *self-reduction*, conduzido pela oxidação do Ti^{III} a Ti^{IV} [88]. Além disso, como a síntese foi realizada em meio alcalino, a morfologia do Ti₃C₂T_x foi convertida para nanofios reticulados, caracterizando-o como um material unidimensional (1D). Nestas condições, os grupos de superfície do Ti₃C₂T_x, como o -F, são gradualmente substituídos por grupos -O/-OH, o que enfraquece a força da ligação C-Ti na superfície de Ti₃C₂T_x. Ademais, o C exposto após a quebra das ligações, pode ser ainda oxidado em CO e CO₂. Conseqüentemente, com esta fratura, alguns poros são

inicialmente formados na superfície das nanofolhas, e posteriormente, a expansão destes poros, resulta na formação de nanofios reticulados [84].

Por fim, a heteroestrutura Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄ (Fig. 12D), mostra as Ag NP-Ti₃C₂T_x dispersas nas nanofolhas de g-C₃N₄, sendo este um material bidimensional (2D), indicando uma interação entre eles. A imagem de TEM aponta que as Ag NPs permaneceram ancoradas nos nanofios de Ti₃C₂T_x, sendo seu diâmetro médio estimado em Ag NPs em $3,90 \pm 0,96$ nm, o que se caracterizou como um material zero dimensional (0D).

Confirmada a morfologia e a interação entre os três nanomateriais, pode-se descrever que foi alcançada uma heterojunção 0D/1D/2D, sendo um material promissor para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos.

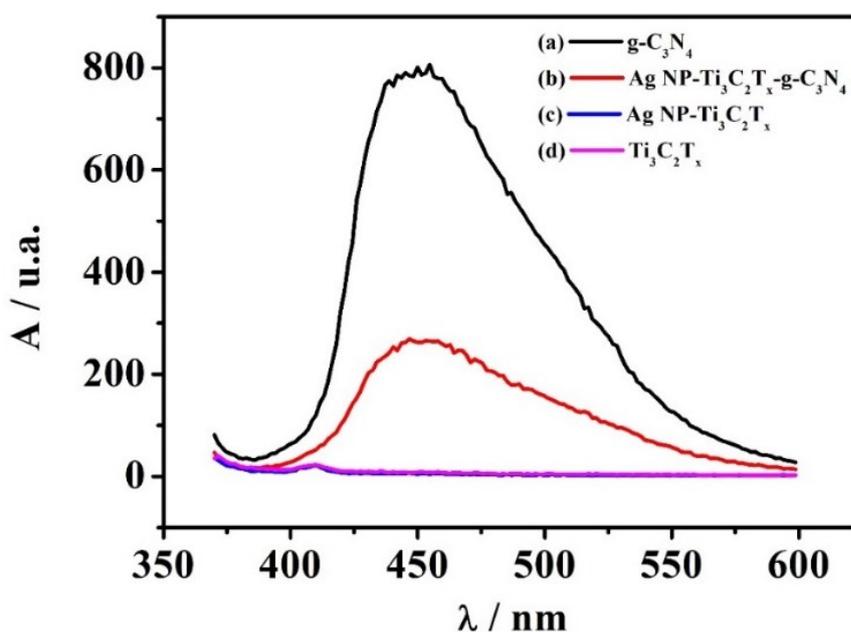
Figura 12. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão para (A) Ti₃C₂T_x, (B) g-C₃N₄, (C) Ag NP-Ti₃C₂T_x, com histograma de distribuição de tamanho de nanopartículas de TiO₂ (subproduto), e (D) Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄, com histograma de distribuição de tamanho das Ag NPs.



5.2.5 Caracterizações espectroscópicas por fluorescência

Visando confirmar as interações entre os materiais da heteroestrutura Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄, foram realizados estudos de espectroscopia de fluorescência. Isoladamente, o g-C₃N₄ é um material que apresenta intensa fluorescência em 448 nm (Fig. 13, espectro a), em virtude das transições internas do anel s-triazina de sua estrutura [106]. No entanto, tanto as Ag NP-Ti₃C₂T_x (Fig. 13, espectro c), quanto o Ti₃C₂T_x (Fig. 13, espectro d) não apresentaram nenhum comportamento de fluorescência. Ao analisar o espectro da heteroestrutura Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄ (Fig. 13, espectro b), o acentuado decréscimo na intensidade da banda do g-C₃N₄, indicou a existência de interação entre os materiais através da formação de uma heterojunção 0D/1D/2D, o que resultou na supressão da fluorescência do material.

Figura 13. Espectros de fluorescência referentes a 150 μ L das dispersões de (a) g-C₃N₄, (b) Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄, (c) Ag NP-Ti₃C₂T_x e (d) Ti₃C₂T_x em 1,0 mL de água ultrapura.

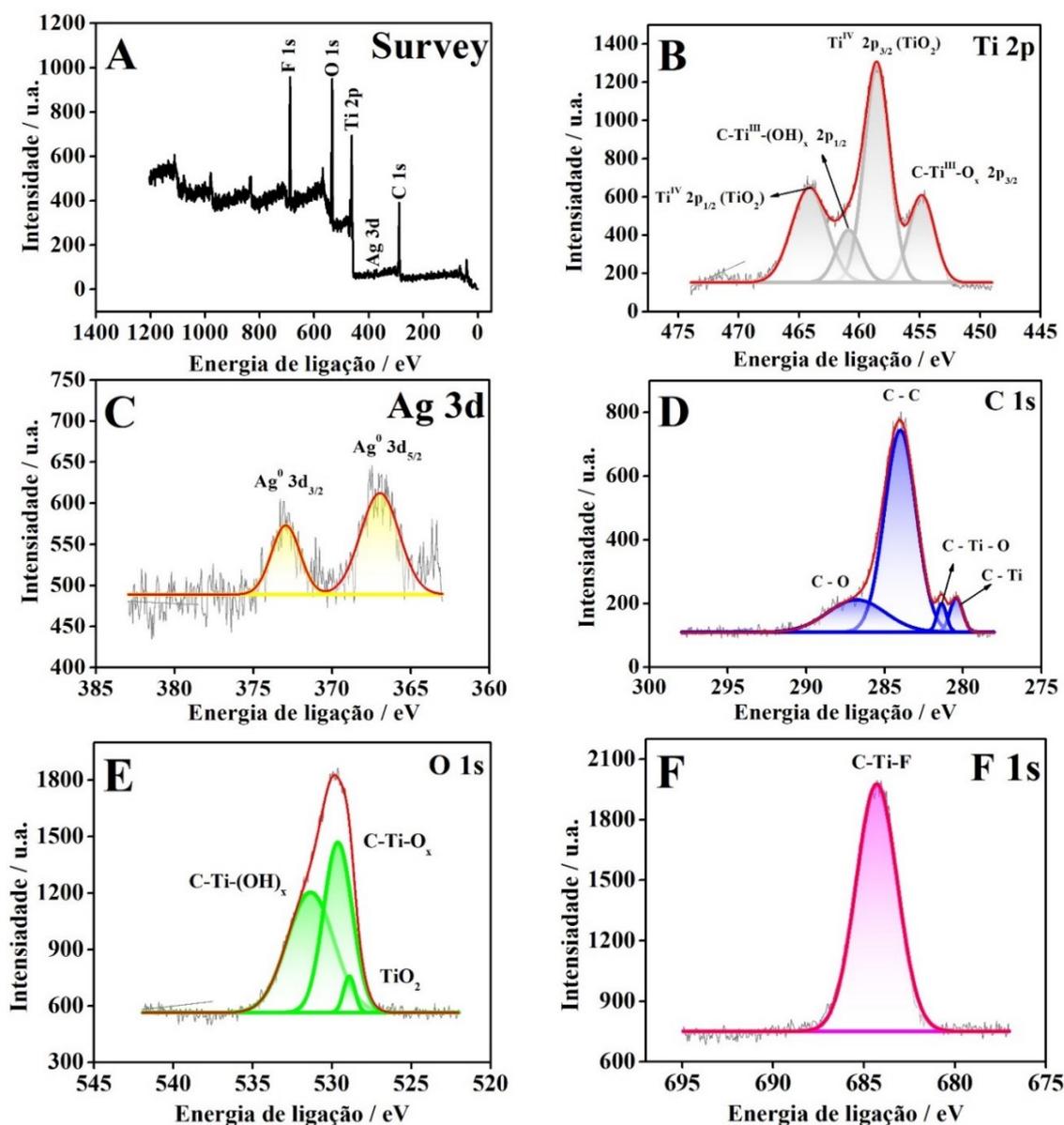


5.2.6 Caracterizações espectroscópicas por XPS

Análises de XPS foram realizadas para a avaliação espectroscópica e constitucional da heteroestrutura Ag NP-Ti₃C₂T_x. O espectro Survey para o Ag NP-Ti₃C₂T_x (Fig. 14A) apresentou picos característicos dos orbitais dos elementos que o constituem, sendo os principais em em 462 eV, ao orbital 2p do titânio, em 372 eV, correspondentes ao orbital 3d da

prata, 284 eV, referente ao orbital 1s do carbono, em 529 eV, referente ao orbital 1s do oxigênio e em 684 eV, ao orbital 1s do flúor. A presença dos picos referentes ao C 1s e O 1s indicaram que o $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ foi funcionalizado com grupos funcionais $-\text{OH}$ [107].

Figura 14. (A) Espectro Survey para a heteroestrutura Ag NP- $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ e espectros de alta resolução para os orbitais (B) 2p do titânio, (C) 3d da prata, (D) 1s do carbono, (E) 1s do oxigênio e (F) 1s do flúor.



Para avaliações mais específicas sobre a estrutura eletrônica e estado de oxidação dos átomos constituintes, espectros XPS de alta resolução foram realizados nas regiões de energia de ligação mencionadas no espectro Survey. A partir da deconvolução do espectro obtido para o Ti 2p (Fig. 14B), foram obtidos quatro picos, sendo dois de dupletos assimétricos (divisão

spin orbita Ti 2p_{3/2} e Ti 2p_{1/2}), com separação de 6,1 eV entre cada sinal. Além disso, os picos referentes aos orbitais Ti 2p_{1/2} foram mais alargados que os referentes ao Ti 2p_{3/2}. Esta diferença foi justificada por um possível canal de decaimento Coster-Kroning, o que corrobora com a literatura [108]. Os sinais em 454,80 e 460,90 eV podem ser atribuídos a ligações C-Ti^{III}-T_x, onde o T_x se refere as funcionalizações de superfície do Ti₃C₂T_x, sendo essas terminações –O (2p_{3/2}) e –OH (2p_{1/2}), respectivamente. Já os sinais em 458,05 e 464,15 foram atribuídos as ligações Ti^{IV}–O em moléculas de TiO₂ para os orbitais de multiplicidade 2p_{3/2} e 2p_{1/2}, respectivamente [109–111]. A maior intensidade dos sinais referente ao Ti^{IV} em relação a Ti^{III}, mostrou que a maior parte deste elemento foi encontrado em seu estado mais oxidado, sendo um dos indicativos de que o mesmo atuou como agente redutor na síntese das Ag NPs.

O espectro de alta resolução da Ag 3d foi analisado (Fig. 14C) para compressão do processo de *self-reduction*. A partir de sua deconvolução, foram obtidos dois picos, referentes aos orbitais Ag 3d_{5/2} e Ag 3d_{3/2} localizados em 366 e 372 eV, respectivamente. A separação de energia de 6 eV entre esses sinais, indicou que a Ag se encontra em estado de oxidação 0 [112], corroborando com as discussões anteriores sobre a formação de Ag NPs.

Ademais, a avaliação dos potenciais padrão para Ag (Eq. 1) e Ti (Eq. 2) também indicam a espontaneidade da reação de redução dos íons Ag⁺ dado seu valor de potencial de redução mais positivo em relação do Ti, o qual tem a oxidação favorecida [113].



A deconvolução do espectro do C 1s (Fig. 14D) forneceu quatro sinais, nas energias de ligação de 280,4, 281,35, 284 e 286,8 eV, os quais foram atribuídos as ligações C-Ti, C-Ti-O, C-C e C-O, respectivamente [109,114]. Enquanto isso, o espectro do O 1s (Fig. 14E) apresentou três sinais, um em 528,9 eV, referente as ligações Ti-O em moléculas de TiO₂, enquanto as ligações C-Ti-T_x foram representadas pelos sinais em 529,65 (T_x = O) e 531,35 eV (T_x = OH) [115]. Já espectro do F 1s (Fig. 14F), foi deconvoluído em apenas um sinal em 684,3 eV, situado em regiões de maior energia, devido a grande eletronegatividade do flúor, o qual foi relacionado a ligação C-Ti-F [88].

Por fim, a Tabela 1 sumariza todos os sinais obtidos pelas deconvoluções dos espectros de alta resolução dos elementos analisados, suas energias de ligação no máximo do pico e a atribuição destes sinais.

Tabela 1. Atribuições das energias de ligação para Ag NP-Ti₃C₂T_x obtidas com os espectros de alta resolução de XPS.

Região	Energia de ligação / eV	Atribuição
Ti 2p	454,80	C-Ti ^{III} -O _x 2p _{3/2}
	458,05	Ti ^{IV} O ₂ 2p _{3/2}
	460,90	C-Ti ^{III} -(OH) _x 2p _{1/2}
	464,15	Ti ^{IV} O ₂ 2p _{1/2}
Ag 3d	366,95	Ag ⁰ 3d _{5/2}
	372,95	Ag ⁰ 3d _{3/2}
C 1s	280,40	C-Ti
	281,35	C-Ti-O
	284,00	C-C
	286,80	C-O
O 1s	528,90	TiO ₂
	529,65	C-Ti-O _x
	531,35	C-Ti-(OH) _x
F 1s	684,30	C-Ti-F

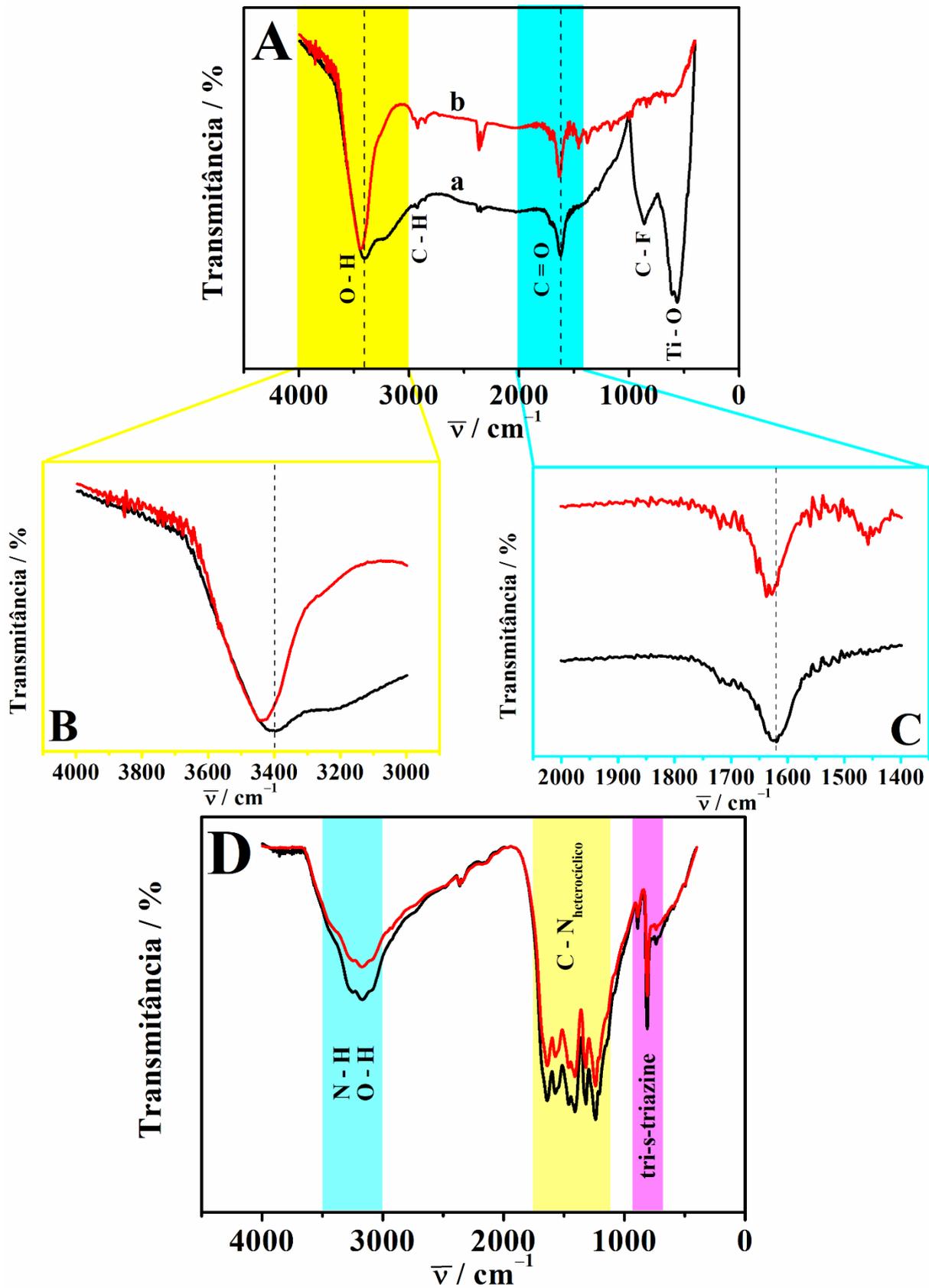
5.2.7 Caracterizações espectroscópicas por ATR-FTIR

Mais informações sobre a funcionalização da superfície do Ti₃C₂T_x e sua interação com os nanomateriais Ag NPs e g-C₃N₄ na heterojunção 0D/1D/2D foram obtidas por espectros da região do infravermelho.

O espectro ATR-FTIR do Ti₃C₂T_x (Fig. 15A-15C, espectro a) apresenta bandas em 3400, 2924 1620 e 860 cm⁻¹, referentes as terminações -OH, C-H, C=O e C-F na superfície do material. Já a banda na região de 600 cm⁻¹ representou as ligações Ti-O presentes nas moléculas de TiO₂, devido a oxidação do Ti^{III} em meio aquoso [116].

Em seguida, foi avaliado como as Ag NPs interferiram no espectro ATR-FTIR do Ti₃C₂T_x (Fig. 15A-C, espectro b). Ocorreram deslocamentos nas bandas em 3400 (Fig. 15B) e 1620 cm⁻¹ (Fig. 15C), referentes as funcionalizações da superfície do Ti₃C₂T_x que contém oxigênio, deslocando-as para 3435 e 1635 cm⁻¹, respectivamente. Como os grupamentos C=O e -OH podem servir como aceitadores e doadores de prótons, respectivamente, interações de ligações de hidrogênio foram estabelecidas entre Ag NPs e o Ti₃C₂T_x [117]. Como consequência, Ag NPs permaneceram adsorvidas na superfície dos nanofios de Ti₃C₂T_x, como mostrado anteriormente nas imagens de TEM (Fig. 12D).

Figura 15. (A) Espectros ATR-FTIR e ampliações nas regiões de (B) 4000 a 3000 e (C) 2000 a 1400 cm^{-1} para (a) $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ e (b) $\text{Ag NP-Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$. (D) Espectros ATR-FTIR para: (a) $\text{g-C}_3\text{N}_4$ e (b) $\text{Ag NP-Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x\text{-g-C}_3\text{N}_4$.



O espectro ATR-FTIR para o g-C₃N₄ (Fig. 15D, espectro a) apresentou uma banda bem definida em 810 cm⁻¹, correspondendo ao modo respiratório característico das unidades tris-s-triazina. Na região de 1150 a 1700 cm⁻¹, registrou-se uma série de bandas, atribuídas aos modos de estiramento das ligações C–N em heterocíclicos. Por fim, na região de 3000 a 3500 cm⁻¹, as bandas devido aos estiramentos das ligações N–H e bandas de –OH proveniente de moléculas de água adsorvidas no g-C₃N₄ [118,119].

Por último, o espectro para a heteroestrutura Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄ (Fig. 15D, espectro b), foi bastante semelhante ao obtido para o g-C₃N₄, sem a adição ou supressão de bandas, bem como nenhum deslocamento. Isso indicou que ao obter a estrutura contendo g-C₃N₄, não houve alterações estruturais significativas, nem do g-C₃N₄, nem da Ag NP-Ti₃C₂T_x.

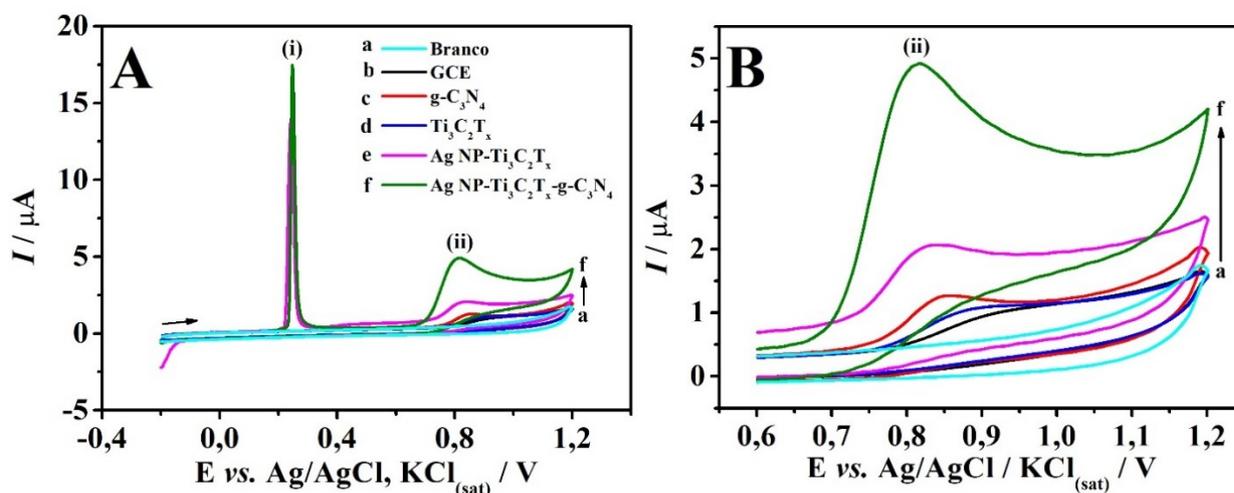
5.3 Comportamento eletroquímico da L-tirosina sobre o sensor ratiométrico Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE

O comportamento eletroquímico da L-tirosina sobre o GCE e sobre suas diferentes etapas de modificação foi investigado por CV. Na ausência de L-tirosina (Fig. 16A-B, curva a), nenhum sinal redox foi observado sobre o GCE. Após a adição de L-tirosina 25,0 μmol L⁻¹ a célula eletroquímica, observou-se no GCE (Fig. 16A-B, curva b), um pico de oxidação (pico ii) em +0,90 V *vs.* Ag/AgCl, KCl_(sat) com intensidade de corrente anódica (*I*_{pa}) de 0,025 μA, correspondente a reação irreversível de oxidação da L-tirosina. Este processo é referente à oxidação do anel fenólico da L-tirosina através da transferência de dois elétrons e dois prótons por molécula [120]. Este fenômeno também pode ser observado nos demais voltamogramas (Fig. 16A-B, curvas c até f), com aumento na intensidade a cada etapa modificação do sensor, além do registro de um deslocamento do potencial de pico de oxidação (*E*_{po}) para +0,82 V *vs.* Ag/AgCl, KCl_(sat), atribuído a um efeito eletrocatalítico proporcionado pela modificação do sensor. O ganho de corrente pode ser atribuído as propriedades condutoras e a maior área superficial dos materiais imobilizados na superfície do GCE. As correntes obtidas para cada modificação tiveram valores de 1,3 μA para o g-C₃N₄/GCE (Fig. 16A-B, curva c), 1,1 μA para o Ti₃C₂T_x/GCE (Fig. 16A-B, curva d), 2,1 μA Ag NP-Ti₃C₂T_x/GCE (Fig. 16A-B, curva e) e 5,0 μA para o Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE (Fig. 16A-B, curva f).

Além disso, os sensores contendo Ag NPs (Fig. 16A-B, curvas e/f) proporcionaram um pico adicional de oxidação (pico i) em +0,24 V *vs.* Ag/AgCl, KCl_(sat), referente a oxidação das Ag NPs [121]. Este pico foi adotado para o desenvolvimento de um sensor ratiométrico, visto

que seu uso como referência interna do sistema, pode fornecer dados da repetibilidade do processo de modificação da superfície do eletrodo [76]. Assim, as medidas geradas pelo sensor mostram dois sinais (um referente ao analito, L-tirosina, e outro da referência interna, Ag NPs). Com uma otimização, e assim obtendo respostas constantes de corrente da referência interna, o sensor ratiométrico pode indicar uma homogeneidade no filme sobre o GCE, o que pode ser averiguado a partir de uma avaliação do sinal de oxidação das Ag NPs, onde qualquer discrepância de intensidade indica um erro/defeito no filme formado sobre a superfície do sensor. Além disso, pequenos erros causados por fatores externos/intrínsecos ao longo das medidas são suprimidos, visto que afetam de forma igual ambos os sinais de oxidação, de maneira que, após a racionalização a proporção entre os sinais se mantém, consequentemente contribuindo para melhor precisão das leituras.

Figura 16. (A) Voltamogramas cíclicos e (B) ampliação da região de potencial de 0,6 a 1,2 V (a) na ausência (sobre o GCE) e (b) na presença de L-tirosina $25,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0): (b) GCE, (c) g- C_3N_4 /GCE, (d) $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ /GCE, (e) Ag NP- $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ /GCE e (f) Ag NP- $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ -g- C_3N_4 /GCE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

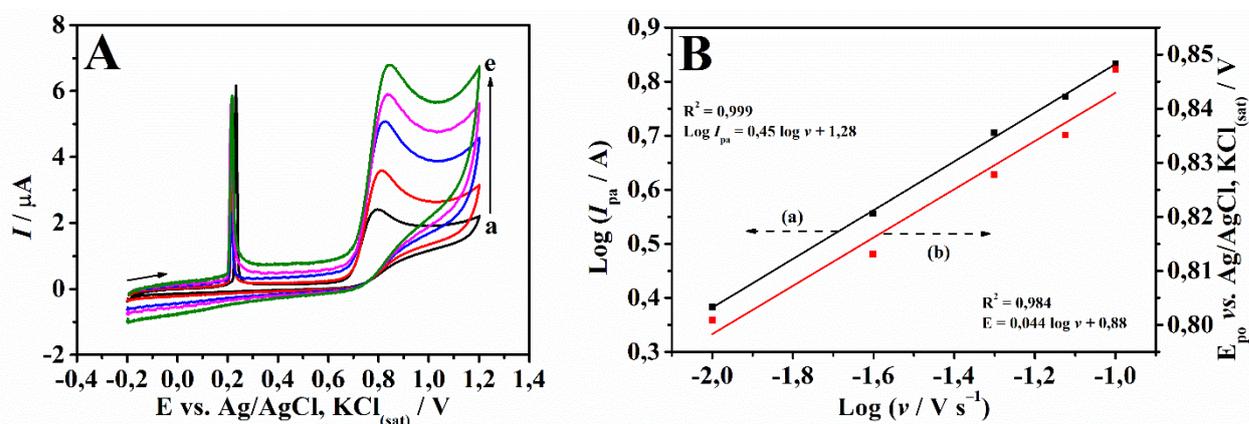


Desta forma, dentre todas as heteroestruturas avaliadas, o Ag NP- $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ -g- C_3N_4 imobilizado sobre a superfície do GCE forneceu as melhores propriedades para ser aplicado, apresentando a possibilidade de desenvolver um sensor ratiométrico, além de fornecer os maiores acréscimos de resposta de corrente para a oxidação da L-tirosina, sendo 24 vezes mais intensas que para o GCE sem modificação. A melhora na performance do sensor foi atribuída as propriedades condutoras e a elevada área superficial dos nanomateriais formando uma heterojunção 0D/1D/2D.

5.3.1 Estudo da velocidade de varredura

O comportamento eletroquímico da L-tirosina sobre a superfície do sensor Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE também foi avaliado em diferentes velocidades de variação de potencial (Fig. 17A). As intensidades de corrente de oxidação da L-tirosina aumentaram com o aumento da velocidade na faixa de 10 a 100 mV s⁻¹. Com o gráfico log I_{pa} vs. log v (Fig. 17B, eixo a) obteve-se a equação log $I_{pa} = 0,45 \log v + 1,28$ ($R^2 = 0,999$). De acordo com a literatura, um coeficiente angular igual (ou próximo) ao valor de 0,5 indica que o processo redox é controlado por difusão [122]. Assim, com o coeficiente obtido igual a 0,45, foi possível concluir que a etapa limitante da velocidade da reação de oxidação da L-tirosina sobre a superfície do eletrodo foi difusional.

Figura 17. (A) Voltamogramas cíclicos para L-tirosina 25,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,0) em diferentes velocidades de variação de potencial: (a) 10, (b) 25, (c) 50, (d) 75 e (e) 100 mV s⁻¹. (B) Relação entre log I_{pa} vs. log v (eixo a) e E_{po} vs. log v (eixo b).



A relação entre o E_{po} com o log v (Fig. 17B, eixo b) obedeceu a regressão $E_{po} = 0,044 \log v + 0,88$ ($R^2 = 0,984$). De acordo com os critérios da voltametria cíclica, para reações totalmente irreversíveis e controladas por difusão, a relação entre E_p e log v é expressa por [123]:

$$E_p = E^0 - \frac{RT}{\alpha z F} \left[0,78 - \ln \frac{k^0}{D^{1/2}} + \ln \left(\frac{\alpha z F}{RT} \right)^{1/2} \right] - \left(\frac{2,3RT}{2\alpha z F} \right) \log v \quad (\text{Eq. 3})$$

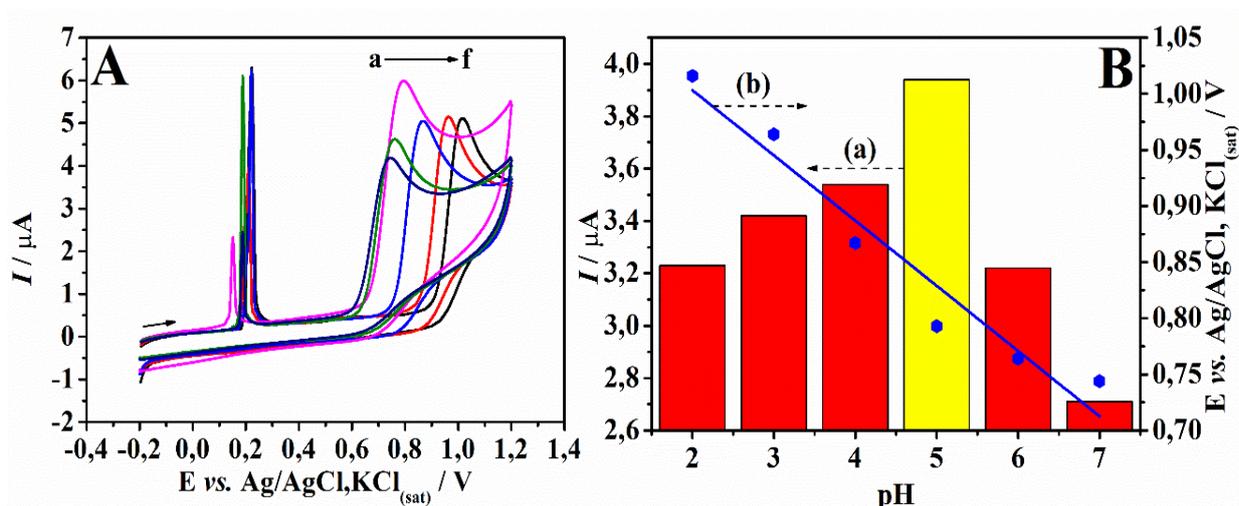
Onde, E^0 é o potencial padrão (V), R é a constante universal dos gases ($\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$), T é a temperatura absoluta (K), F é a constante de Faraday (C mol^{-1}), k^0 é a constante de

velocidade heterogênea (cm s^{-1}), D é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), v é a velocidade de varredura (V s^{-1}), α é o coeficiente de transferência de elétrons e z é o número de elétrons transferidos na reação. A dependência entre os valores de E_{po} e $\log v$ apresentou uma relação linear com inclinação de 0,044 (Fig. 17B, eixo b). Portanto, estimou-se o valor αz como 0,67. Levando em consideração o valor de $\alpha = 0,5$ para sistemas irreversíveis, propôs-se que o número de elétrons por molécula transferidos na reação eletroquímica de oxidação de L-tirosina foi próximo a 2.

5.3.2 Estudo do pH do eletrólito de suporte

A influência da composição e do pH do eletrólito de suporte sobre a resposta eletroquímica da L-tirosina no Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE também foi examinada. Primeiramente, as respostas de corrente e potencial de pico foram medidas no intervalo de pH de 2,0 a 7,0 (Fig. 18A), sendo utilizado como eletrólito de suporte a solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹.

Figura 18. (A) Voltamogramas cíclicos para L-tirosina 25,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ em diferentes valores de pH: (a) 2,0; (b) 3,0; (c) 4,0; (d) 5,0; (e) 6,0 e (f) 7,0; $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$. Em (B) variação de I_{pa} (eixo a) e de E_{po} (eixo b) em função do pH.



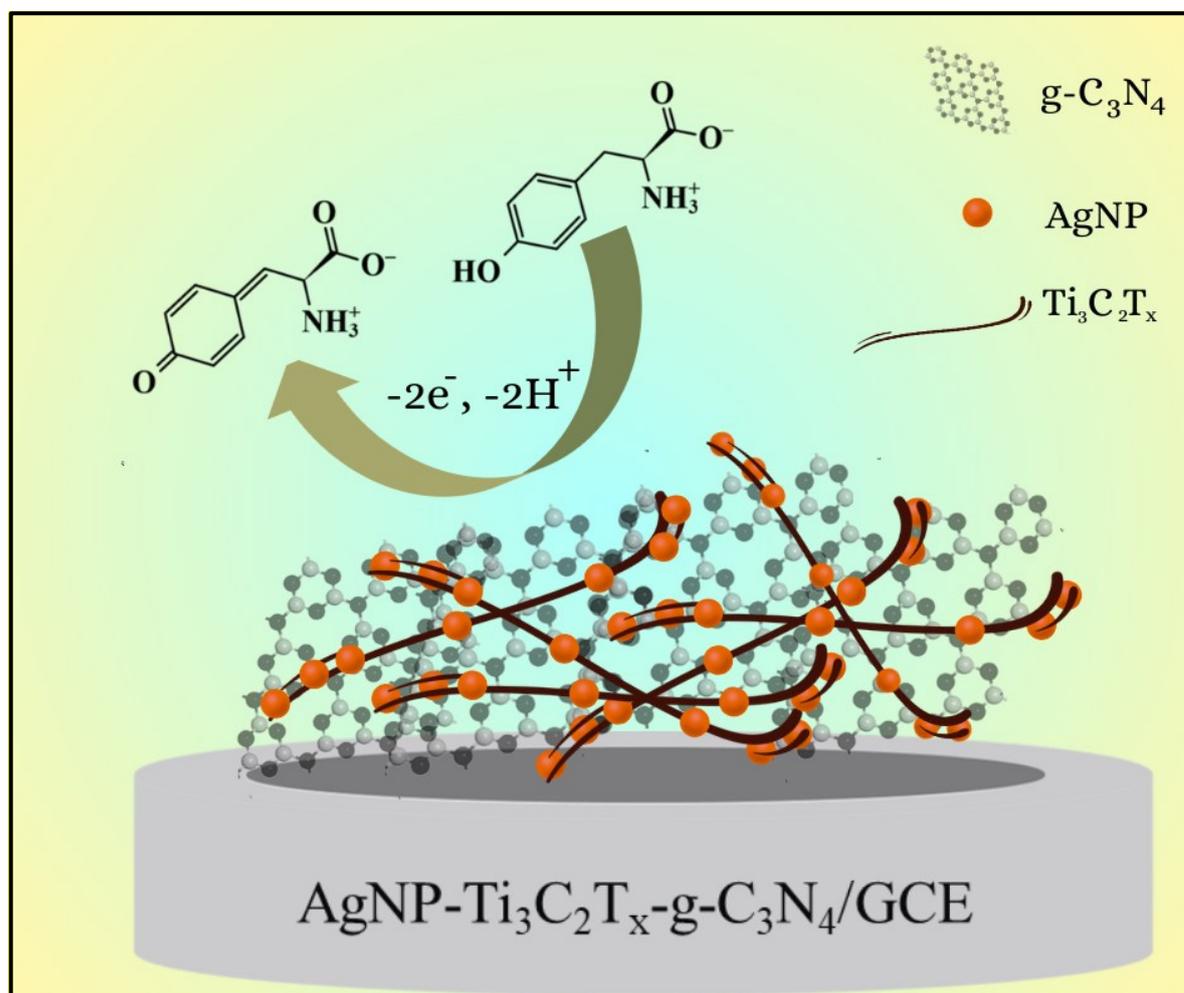
O gráfico de barras (Fig. 18B, eixo a) demonstrou como as correntes de oxidação da L-tirosina se comportaram função do pH do eletrólito de suporte. Visualiza-se que os valores de corrente aumentaram do pH 2,0 ao 5,0; e decresceram em seguida. A L-tirosina é um

aminoácido com valores de pKa de 2,20, 9,11 e 10,07 para os seus grupos ácido, amino e fenol, respectivamente [124]. Assim, na condição de pH 5,0, a molécula de L-tirosina encontra-se desprotonada no grupo carboxílico, e protonada nas funções amina e fenol, o que pode aumentar as interações com os grupamentos $-O/-OH$ presentes nas heteroestrutura do Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄. Sendo assim, buscando uma melhor sensibilidade para a determinação da L-tirosina, adotou-se o pH 5,0 para as análises subsequentes.

Além disso, o E_{po} apresentou um deslocamento no sentido negativo de potencial à medida em que se aumentou o valor do pH do eletrólito. Este comportamento indicou que houve o envolvimento direto de prótons na reação de oxidação. Ao se avaliar a inclinação da reta de E_{po} vs. pH (Fig. 18B – eixo b) ($-58,1 \text{ mV pH}^{-1}$), conclui-se que o valor se aproximou do valor teórico de $-59,2 \text{ mV pH}^{-1}$ da equação de Nernst, indicando que o mesmo número de elétrons e prótons foram transferidos na reação.

Combinando os resultados do estudo de velocidade de varredura e de pH, confirmou-se que a reação de oxidação da L-tirosina ocorre através da transferência de 2 mol de prótons e 2 mol de elétrons por mol de L-tirosina, corroborando com a literatura [120,125]. Neste sentido, a Figura 19 apresenta uma proposta deste mecanismo sobre o sensor ratiométrico Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE.

Figura 19. Representação gráfica da reação de oxidação da L-tirosina sobre a superfície do sensor Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE.



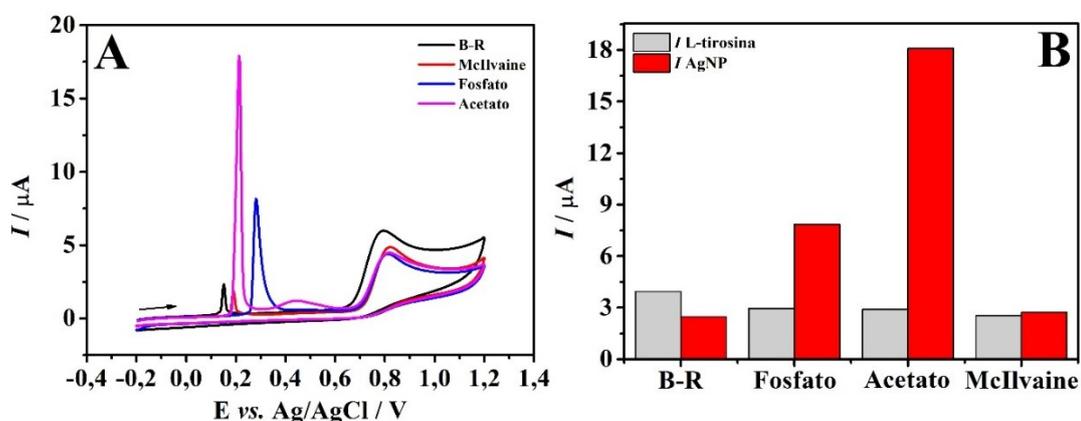
5.3.3 Influência da composição do eletrólito de suporte

Quatro diferentes composições de soluções tampão foram testadas como eletrólitos de suporte no valor de pH 5,0 (Fig. 20A). Foram testadas as seguintes soluções na concentração 0,1 mol L⁻¹: B-R, McIlvaine, fosfato de sódio e acetato de sódio. Além dos registros das intensidades de corrente de oxidação da L-tirosina, foram também registrados os valores de corrente da oxidação das Ag NPs (referência interna) (Fig. 20B).

Inicialmente, nota-se que a composição química do eletrólito de suporte tem influência no potencial de oxidação das Ag NPs. Os picos foram registrados nos potenciais de +0,15, +0,19, +0,21 e +0,27 V vs. Ag/AgCl, KCl_(sat) para as soluções tampão B-R, McIlvaine, acetato e fosfato de sódio, respectivamente

Em relação a solução tampão acetato de sódio, registrou-se além dos picos voltamétrico das Ag NPs e da L-tirosina, um terceiro sinal em +0,44 V vs. Ag/AgCl, KCl_(sat). Este pico foi atribuído a formação do complexo acetato de prata, o qual dificultou a oxidação de uma fração das Ag NP e deslocou parte do pico voltamétrico para este potencial [126,127]. Este fenômeno também foi registrado, mas com menor intensidade, ao se utilizar a solução tampão B-R, o qual contém ácido acético em sua composição. Considerando que a solução foi aferida para o pH 5,0, e o pKA do ácido acético é 4,75, então mais da metade das moléculas estavam na forma de íon acetato, o que possibilitou a formação do complexo acetato de prata. Assim, a solução B-R e o acetato de sódio foram descartadas dada a formação deste complexo. Com isso, selecionou-se a solução tampão fosfato de sódio em valor de pH 5,0 para os estudos posteriores, por proporcionar uma maior intensidade de corrente para a L-tirosina (analito) e também para as Ag NP (referência interna).

Figura 20. (A) Voltamogramas cíclicos para L-tirosina 25,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE em diferentes soluções tampão no valor de pH 5,0: (a) B-R, (b) McIlvaine, (c) fosfato de sódio e (d) acetato de sódio. (B) Gráfico de barras de corrente de oxidação da L-tirosina e das Ag NP em função da composição do eletrólito de suporte.

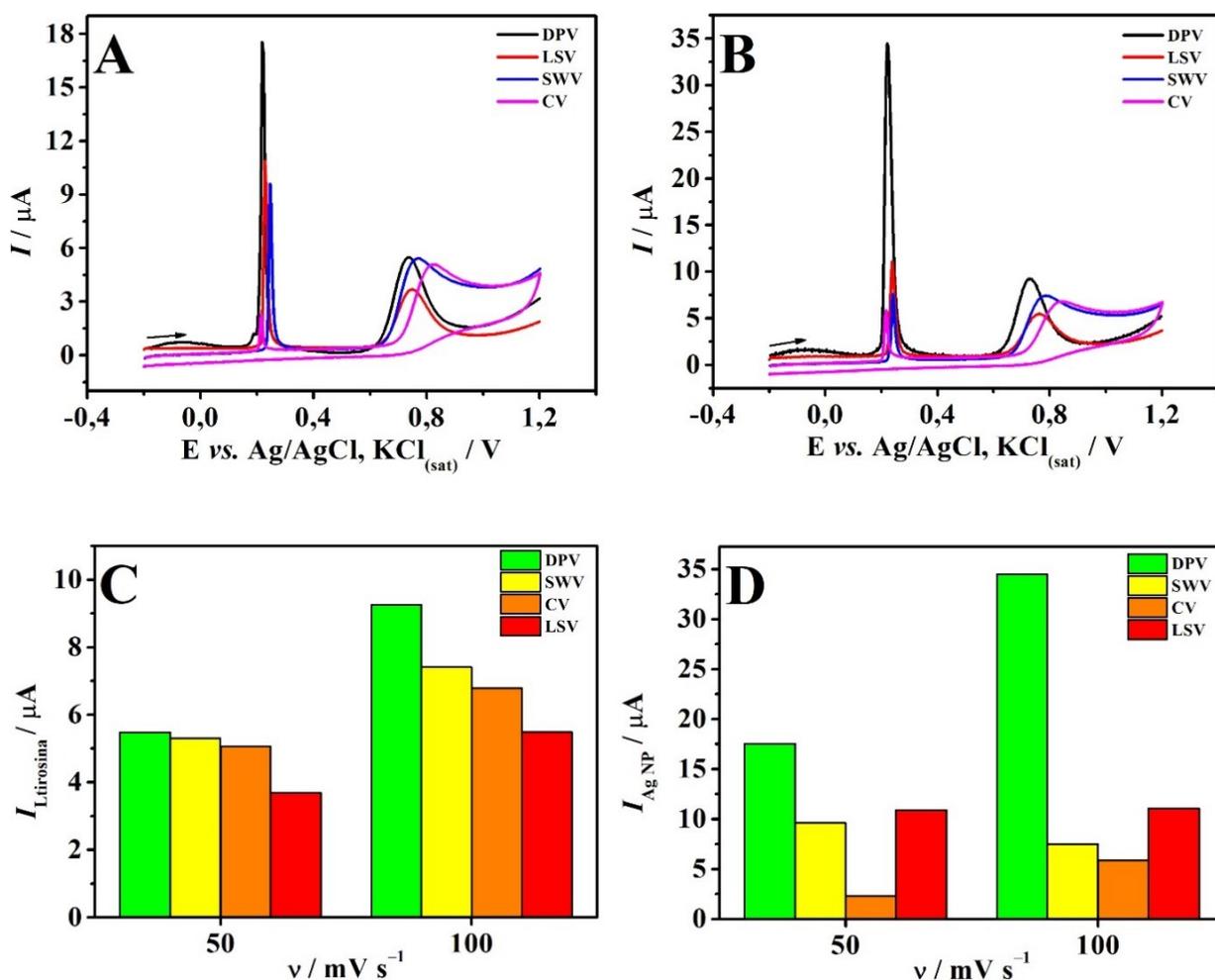


5.4. Seleção da técnica de aplicação de potencial

Para o desenvolvimento de um método analítico sensível para a quantificação da L-tirosina, quatro técnicas de aplicação de potencial foram estudadas, sendo duas pulsadas: DPV e de onda quadrada (do inglês, *square wave voltammetry* - SWV), e duas lineares: CV e voltametria de varredura linear (LSV, do inglês, *linear sweep voltammetry*). Os parâmetros experimentais de cada técnica foram ajustados de modo a se obter a mesma velocidade de varredura de potencial para as medidas.

Os resultados obtidos nas diferentes técnicas voltamétricas em diferentes velocidades são apresentados na Figura 21A. Foi constatado que em velocidades mais altas de varredura ($v = 100,0 \text{ mV s}^{-1}$) (Fig. 21B) foram gerados valores de corrente superiores do que em velocidades mais baixas ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$) (Fig. 21A). Estes dados podem ser melhor visualizados nas Figuras 21C e 21D, onde também se observa que a DPV forneceu melhores resultados entre as técnicas analisadas. Isto pode ser atrelado ao comportamento irreversível da L-tirosina, que é favorecido ao se monitorar tal reação por DPV. Desta maneira, selecionou-se a DPV para os próximos estudos.

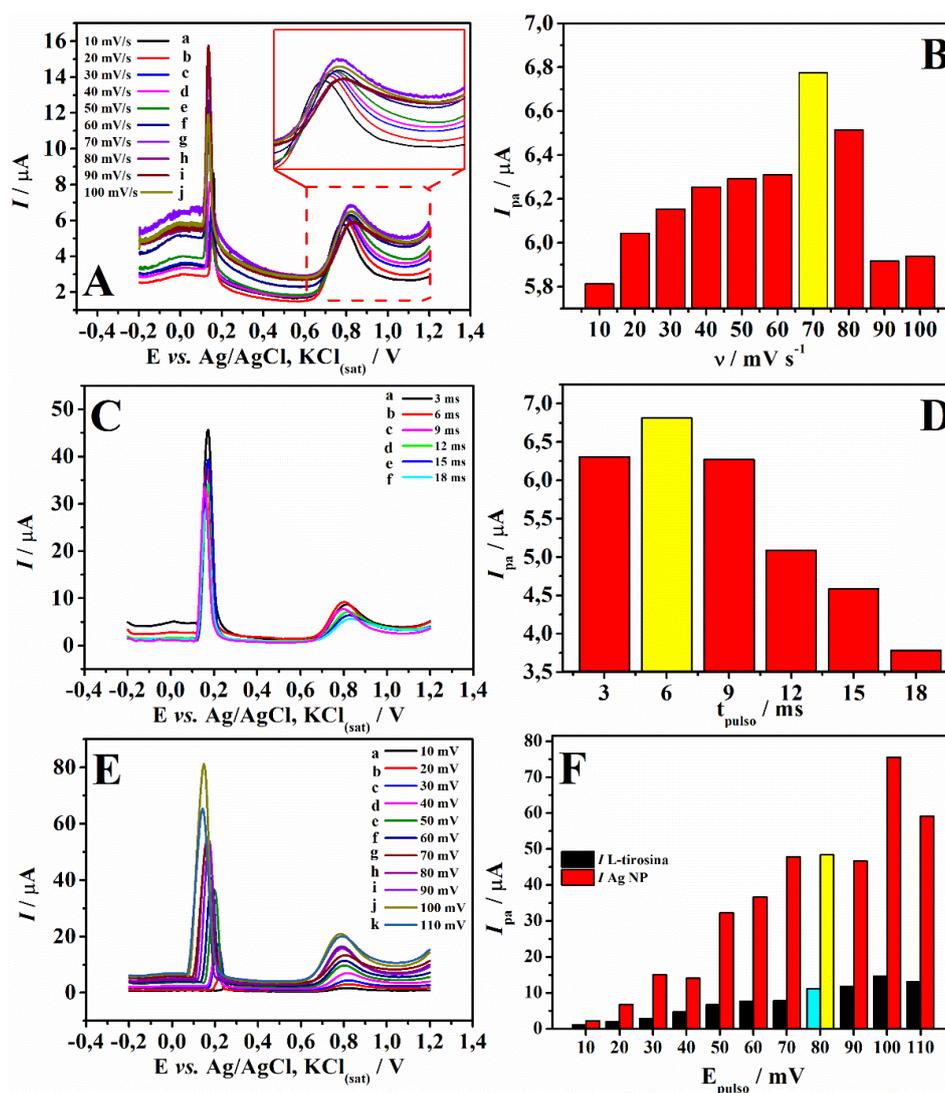
Figura 21. Voltamogramas para L-tirosina $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0) em diferentes velocidades de varredura: (A) $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$, (B) $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ obtidos com diferentes técnicas eletroanalíticas: DPV, SWV, CV e LSV. Gráfico de barras de I_{pa} vs. v para (C) L-tirosina (analito) e (D) Ag NPs (referência interna).



5.4.1 Estudo univariado dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial

Para o desenvolvimento de um método sensível para a quantificação da L-tirosina, os seguintes parâmetros experimentais da técnica DPV foram avaliados: velocidade de varredura de potencial (v), amplitude de pulso de potencial (E_{pulso}) e tempo de duração do pulso (t_{pulso}) [128].

Figura 22. Voltamogramas de pulso diferencial para L-tirosina $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0) em diferentes valores de v : a-j = 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mV s^{-1} , mantendo fixo $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 5,0 \text{ ms}$, com ampliação na região de +0,5 a +1,2 V. (B) I_{pa} vs. v para L-tirosina. (C) Voltamogramas variando t_{pulso} : a-f = 3, 6, 9, 12, 15 e 18 ms, mantendo fixo $v = 70 \text{ mV s}^{-1}$ e $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$. (D) I_{pa} vs. t_{pulso} para L-tirosina. (E) Voltamogramas variando E_{pulso} : a-k = 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 e 110 mV , mantendo fixo $v = 70 \text{ mV s}^{-1}$ e $t_{\text{pulso}} = 6,0 \text{ ms}$ (F) I_{pa} vs. E_{pulso} para L-tirosina e Ag NPs.



A velocidade foi variada de 10 a 100 mV s^{-1} (Fig. 22A), mantendo fixo os demais parâmetros em $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 5,0 \text{ ms}$. Obteve-se um ganho significativo de corrente até a velocidade de 70,0 mV s^{-1} (Fig. 22B). Isso significa que nesta condição, a variação de potencial acompanhou a cinética do processo de oxidação da L-tirosina, e assim, é possível se fazer um registro sensível do fenômeno.

O segundo parâmetro analisado foi o t_{pulso} (Fig. 22C), com valores variando na faixa de 3,0 a 18,0 ms, e mantendo fixo $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 70,0 \text{ mV s}^{-1}$. Neste estudo, foi selecionado o tempo de 6,0 ms (Fig. 22D), para as análises posteriores por ter apresentado a melhor resposta de corrente do ensaio.

Por fim, variou-se o E_{pulso} de 10,0 a 110 mV (Fig. 22E). Um aumento da amplitude promove um aumento das intensidades de corrente, mas também provoca um alargamento dos picos. Como este é o único parâmetro em que foi observado uma variação expressiva na corrente de oxidação das Ag NPs, este também foi analisado. Para manter o compromisso entre intensidade de corrente (tanto do analito, quanto das Ag NPs) e o perfil voltamétrico, selecionou-se $E_{\text{pulso}} = 80 \text{ mV}$ para os estudos posteriores (Figura 22F).

Assim, foram obtidos os parâmetros ótimos da técnica de DPV, sendo selecionados para a construção da curva de calibração para a determinação da L-tirosina.

5.5 Construção da curva de calibração para a L-tirosina

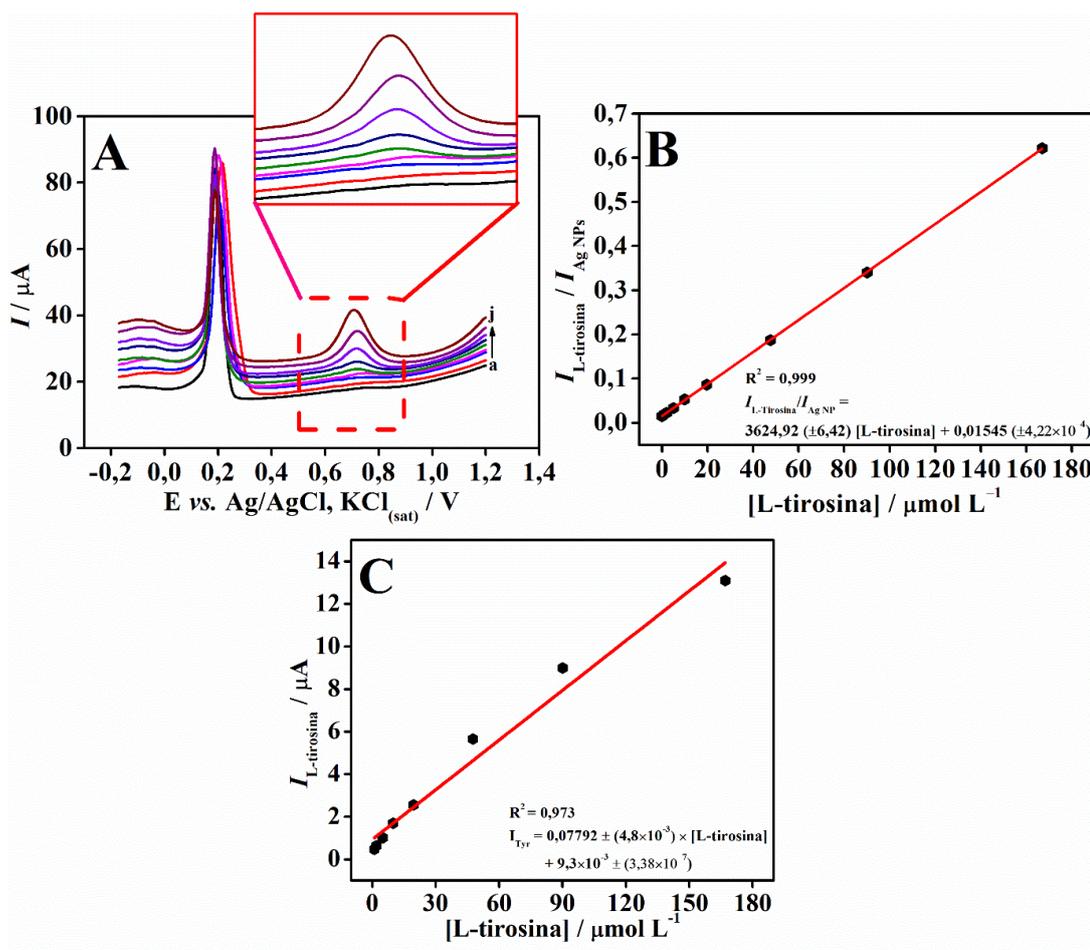
Sob condições experimentais previamente selecionadas (Tabela 2), a curva de calibração para a L-tirosina (Fig. 23) foi construída adicionando diferentes volumes de solução padrão de L-tirosina ao eletrólito de suporte.

Tabela 2. Parâmetros experimentais otimizados para a construção da curva de calibração para a L-tirosina.

Parâmetro	Condição ótima
Eletrodo de trabalho	Ag NP-Ti ₃ C ₂ T _x -g-C ₃ N ₄ /GCE
pH do eletrólito de suporte	5,0
Composição do eletrólito de suporte	Solução tampão fosfato
Técnica voltamétrica	DPV
v	70 mV s^{-1}
t_{pulso}	6,0 ms
E_{pulso}	80 mV

A Figura 23A apresenta os voltamogramas de pulso diferencial, exibindo dois sinais de oxidação, em +0,20 e +0,70 V vs. Ag/AgCl, KCl_(sat) correspondentes as oxidações das Ag NPs e da L-tirosina, respectivamente. A razão entre a corrente da L-tirosina pela corrente das Ag NPs apresentou uma relação linear em função do aumento de concentração do analito (Fig. 23B) em um intervalo de concentração de 1,0 a 170 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A regressão linear obtida foi ser expressa como $I_{L\text{-tirosina}}/I_{\text{Ag NPs}} = 3624,92 (\pm 6,42) [\text{L-tirosina}] + 0,01545 (\pm 4,22 \times 10^{-4})$, onde $I_{L\text{-tirosina}}$ e $I_{\text{Ag NPs}}$ são as correntes de oxidação da L-tirosina e das Ag NPs, respectivamente, e $[\text{L-tirosina}]$ é a concentração de L-tirosina em mol L^{-1} .

Figura 23. (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 5,0) contendo diferentes concentrações de L-tirosina sobre o Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE: a-j: branco, 1,0; 2,0; 5,0; 9,9; 19,6; 47,6, 90,1 e 170 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Inserido: ampliação da região de potencial de +0,5 a +0,9 V. Parâmetros: $v = 70 \text{ mV s}^{-1}$, $t_{\text{pulso}} = 6 \text{ ms}$ e $E_{\text{pulso}} = 80 \text{ mV}$. (B) Curva de calibração para a L-tirosina com racionalização de sinal ($I_{L\text{-tirosina}}/I_{\text{Ag NPs}}$ vs. $[\text{L-tirosina}]$) e (C) Curva de calibração sem racionalização para a L-tirosina.



Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados seguindo o procedimento descrito por Gumustas et al. [129] através dos dados da regressão linear da curva de calibração, com as seguintes equações:

$$\text{LOD} = 3 \times s / m \quad (\text{Eq. 4})$$

$$\text{LOQ} = 10 \times s / m \quad (\text{Eq. 5})$$

Sendo “s” o desvio padrão do coeficiente linear e “m” o coeficiente angular. Os valores encontrados foram de 0,38 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o LOD e 1,16 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o LOQ. Esses valores foram considerados adequados, visto que conforme reportado por Harvey et al. [130], a L-tirosina é encontrado em concentração mínima de 66 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no suor humano. Assim, com os dados obtidos, o sensor Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE atingiu detectabilidade suficiente para ser aplicado na determinação de L-tirosina em amostras reais de suor, porém, ainda havendo a necessidade de se avaliar o efeito de matriz.

Como forma de avaliar a eficiência da racionalização de correntes, uma curva de calibração (Fig. 23C) foi construída relacionando apenas a $I_{L\text{-tirosina}}$ com a concentração de L-tirosina, utilizando o mesmo conjunto de dados anterior. Para este fim, foi avaliado o coeficiente de determinação (R^2), visto que este fornece uma dimensão do quão bem a regressão linear representa os pontos de sinal vs. concentração obtidos. Quanto mais próximo este valor for de 1, mais o modelo matemático representa os pontos [131]. A curva de calibração obtida somente pela $I_{L\text{-tirosina}}$ apresentou $R^2 = 0,973$, ou seja, este modelo representou 97,3% os pontos, enquanto ao utilizar a razão entre $I_{L\text{-tirosina}}$ e $I_{\text{Ag NPs}}$, $R^2 = 0,999$, a regressão representou 99,9% os pontos obtidos. Desta forma, a racionalização da $I_{L\text{-tirosina}}$ pela $I_{\text{Ag NPs}}$ eliminou em certo grau os fatores externos que interferiram na linearidade do modelo em que o sinal não foi racionalizado.

De forma a comparar os resultados de detectabilidade com outros sensores reportados na literatura para a determinação de L-tirosina, a Tabela 3 compara os dados de LOD. O sensor Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE apresentou um LOD ligeiramente menor que os encontrados na literatura, apesar de utilizar materiais mais baratos e/ou com rotas sintéticas mais simples, além de se destacar por conta de ser o modelo matemático que mais bem representa os dados experimentais obtidos. Além disso, nenhum outro sensor eletroquímico ratiométrico é reportado para a quantificação de L-tirosina. Posteriormente, com a realização de ensaios de repetibilidade, é esperado que o sensor Ag NP-Ti₃C₂T_x-g-C₃N₄/GCE também forneça precisão aprimorada por se tratar de um sensor ratiométrico.

Tabela 3. Visão geral de sensores reportados na literatura para a determinação de L-tirosina.

Eletrodo modificado	Técnica	LOD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	R²	Referência
CB/SPE ^a	SWV	4,4	0,996	[132]
PEDOT/AuNPs/GCE ^b	DPV	1,8	0,993	[133]
MWCNTs-Nafion/GCE ^c	DPV	0,8	0,997	[134]
poly(l-pro)/ND/SPGE ^d	DPV	0,74	0,994	[135]
Ag NP-Ti ₃ C ₂ T _x -g-C ₃ N ₄ /GCE	DPV	0,38	0,999	Este trabalho
Cu-NPs@Esh/ Chitosan/CPE ^e	SWV	$1,6 \times 10^{-4}$	0,996	[136]

^a CB/SPE: Negro de fumo em eletrodo impresso;

^b PEDOT/AuNPs/GCE: poli 3,4-etileno-dioxitiofeno e nanopartículas de ouro em GCE;

^c MWCNTs-Nafion/GCE: nanotubos de carbono de paredes múltiplas e náfon em GCE;

^d poly(l-pro)/ND/SPCE: poli l-prolina e nanodiamante em eletrodo de carbono impresso;

^e Cu-NPs@Esh/ Chitosan/CPE: Nanopartículas de cobre, casca de ovo e quitosana em eletrodo de pasta de carbono.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Um novo sensor eletroquímico ratiométrico à base de uma heterojunção 0D/1D/2D formada por Ag NPs, $Ti_3C_2T_x$ e g- C_3N_4 foi desenvolvido, otimizado e caracterizado para ser aplicado na determinação de L-tirosina. A síntese da heteroestrutura Ag NP- $Ti_3C_2T_x$ -g- C_3N_4 utilizando o $Ti_3C_2T_x$ como agente redutor, o que foi comprovado por estudos espectroscópicos, representa um avanço ao se eliminar o uso de agentes redutores tóxicos para a produção de nanopartículas. As imagens de microscopia demonstraram uma interação eficiente entre os materiais, assumindo uma heterojunção 0D/1D/2D, em que as Ag NPs (0D) permaneceram ancorados nos nanofios de $Ti_3C_2T_x$ (1D) que por sua vez, permaneceu sobre as nanofolhas de g- C_3N_4 (2D). Os espectros de XPS e UV-vis permitiram compreender o processo de *self-reduction* utilizado para a síntese das Ag NPs através da oxidação dos átomos de Ti^{III} a Ti^{IV} na estrutura do $Ti_3C_2T_x$.

A presença da heteroestrutura Ag NP- $Ti_3C_2T_x$ -g- C_3N_4 facilitou os processos de transferência de carga do sistema de análise, fornecendo maiores intensidades de corrente para a oxidação da L-tirosina, bem fornecendo um sinal de referência interna estável e bem definido, decorrente da oxidação das Ag NPs. Isso conferiu uma adequação dos pontos ao modelo matemático, bem como a eliminação em certo grau de interferências provenientes de fatores externos. Desta forma, o sensor Ag NP- $Ti_3C_2T_x$ -g- C_3N_4 /GCE pode ser aplicado como ferramenta analítica para determinação de L-tirosina em amostras de suor, tendo alcançado detectabilidade adequada para esta finalidade.

Como perspectivas, o sensor desenvolvido será aplicado para análises em matrizes de suor, com posterior realização de ensaios de adição e recuperação para validação da exatidão do método. Em adição, será submetido a testes de repetibilidade intra e inter dia para a avaliação da precisão e testes com potenciais compostos interferentes para a análise da seletividade do método.

7. REFERÊNCIAS

- [1] K. Chen, C. Seng, H. Ying, Efficient social distancing during the COVID-19 pandemic : Integrating economic and public health considerations, *Eur. J. Oper. Res.* 304 (2023) 84–98.
- [2] H. Niemeyer, The effect of the COVID-19 pandemic on health-care workers, *The Lancet Psychiatry* 10 (2021) 3–5.
- [3] D.C.B.M. Zarchev, N.G.M.D.N. Enthoven, S.J.R.A.M. Kamperman, A longitudinal study of mental health in at - risk adolescents before and during the COVID - 19 pandemic, *Eur. Child Adolesc. Psychiatry* 32 (2023) 1109–1117.
- [4] A. Babore, C. Trumello, L. Lombardi, C. Candelori, A. Chirumbolo, E. Cattelino, R. Baiocco, S. Monique, B. Maria, L. Viceconti, S. Pignataro, M. Morelli, Mothers’ and children’s mental health during the COVID-19 pandemic lockdown: the mediating role of parenting stress, *Child Psychiatry Hum. Dev.* 54 (2023) 134–146.
- [5] C.L. Wicks, J.L. Barton, L. Andrews, S. Orbell, G. Sandercock, C.J. Wood, The impact of the coronavirus pandemic on the contribution of local green space and nature connection to mental health, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 20 (2023) 5083.
- [6] K. Kohlhase, F. Frank, C. Wilmes, K. Koerbel, M.A. Schaller-Paule, M. Miles, C. Betz, H. Steinmetz, C. Foerch, Brain-specific biomarkers in urine as a non-invasive approach to monitor neuronal and glial damage, *Eur. J. Neurol.* 30 (2023) 729–740.
- [7] M. Dervisevic, M. Alba, B. Prieto-Simon, N.H. Voelcker, Skin in the diagnostics game: Wearable biosensor nano- and microsystems for medical diagnostics, *Nano Today* 30 (2020) 100828.
- [8] T. Dong, C. Yu, Q. Mao, F. Han, Z. Yang, Z. Yang, N. Pires, X. Wei, W. Jing, Q. Lin, F. Hu, X. Hu, L. Zhao, Z. Jiang, Advances in biosensors for major depressive disorder diagnostic biomarkers, *Biosens. Bioelectron.* 258 (2024) 116291.
- [9] M. Bariya, H.Y.Y. Nyein, A. Javey, Wearable sweat sensors, *Nat. Electron.* 1 (2018) 160–171.
- [10] L. Qiao, M.R. Benzigar, J.A. Subramony, N.H. Lovell, G. Liu, Advances in sweat wearables: sample extraction, real-time biosensing, and flexible platforms, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 12 (2020) 34337–34361.
- [11] A. Yang, F. Yan, Flexible electrochemical biosensors for health monitoring, *ACS Appl. Electron. Mater.* 3 (2021) 53–67.
- [12] J. Niu, S. Lin, D. Chen, Z. Wang, C. Cao, A. Gao, S. Cui, Y. Liu, Y. Hong, X. Zhi, D. Cui, A fully elastic wearable electrochemical sweat detection system of tree-bionic microfluidic structure for real-time monitoring, *Small* 20 (2024) 1–13.
- [13] Y. Yang, W. Gao, Wearable and flexible electronics for continuous molecular monitoring, *Chem. Soc. Rev.* 48 (2019) 1465–1491.
- [14] A.M.V. Mohan, V. Rajendran, R.K. Mishra, M. Jayaraman, Recent advances and perspectives in sweat based wearable electrochemical sensors, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 131 (2020) 116024.
- [15] E.J.M. Moonen, J.R. Haakma, E. Peri, E. Pelssers, M. Mischi, J.M.J. den Toonder, Wearable sweat sensing for prolonged, semicontinuous, and nonobtrusive health monitoring, *View* 1 (2020) 20200077.
- [16] N. Brasier, J. Eckstein, Sweat as a Source of Next-Generation Digital Biomarkers, *Digit. Biomarkers* 3 (2019) 155–165.

- [17] Z. Wang, J. Shin, J.H. Park, H. Lee, D.H. Kim, H. Liu, Engineering materials for electrochemical sweat sensing, *Adv. Funct. Mater.* 31 (2021) 2008130.
- [18] M. Kang, K. Chai, Wearable sensing systems for monitoring mental health, *Sensors* 22 (2022) 994.
- [19] Q. Zhang, S. Ma, X. Zhan, W. Meng, H. Wang, C. Liu, T. Zhang, K. Zhang, S. Su, Smartphone-based wearable microfluidic electrochemical sensor for on-site monitoring of copper ions in sweat without external driving, *Talanta* 266 (2024) 125015.
- [20] Z. Xu, X. Qiao, R. Tao, Y. Li, S. Zhao, Y. Cai, X. Luo, A wearable sensor based on multifunctional conductive hydrogel for simultaneous accurate pH and tyrosine monitoring in sweat, *Biosens. Bioelectron.* 234 (2023) 115360.
- [21] A. Slominski, M.A. Zmijewski, J. Pawelek, L-tyrosine and L-dihydroxyphenylalanine as hormone-like regulators of melanocyte functions, *Pigment Cell Melanoma Res.* 25 (2012) 14–27.
- [22] L. Zhang, W. Zou, Y. Huang, X. Wen, J. Huang, Y. Wang, X. Sheng, A preliminary study of uric metabolomic alteration for postpartum depression based on liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry, *Dis. Markers* 2019 (2019) 4264803.
- [23] S. Dong, Q. Bi, C. Qiao, Y. Sun, X. Zhang, X. Lu, L. Zhao, Electrochemical sensor for discrimination tyrosine enantiomers using graphene quantum dots and β -cyclodextrins composites, *Talanta* 173 (2017) 94–100.
- [24] M. Liu, J. He, C. Ruan, W. Pan, P. Mao, Z. Sun, G. Wang, J. Yang, Simultaneous measurement of amino acid enantiomers in the serum of late-life depression patients using convenient LC–MS/MS method with $N\alpha$ -(5-fluoro-2,4-dinitrophenyl)-L-leucinamide Derivatization, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 230 (2023)
- [25] J. Xie, Y. Han, Y. Hong, W.W. Li, Q. Pei, X. Zhou, B. Zhang, Y. Wang, Identification of potential metabolite markers for middle-aged patients with post-stroke depression using urine metabolomics, *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 16 (2020) 2017–2024.
- [26] M. Sa, L. Ying, A.G. Tang, L.D. Xiao, Y.P. Ren, Simultaneous determination of tyrosine, tryptophan and 5-hydroxytryptamine in serum of MDD patients by high performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Clin. Chim. Acta* 413 (2012) 973–977.
- [27] W.B. Veloso, V.N. Ataíde, D.P. Rocha, H.P. Nogueira, A. de Siervo, L. Angnes, R.A.A. Muñoz, T.R.L.C. Paixão, 3D-printed sensor decorated with nanomaterials by CO₂ laser ablation and electrochemical treatment for non-enzymatic tyrosine detection, *Microchim. Acta* 190 (2023) 63.
- [28] H. Nasimi, J.S. Madsen, A.H. Zedan, A. Malmendal, P.J.S. Osther, F.A.Z. a. Alatraktchi, Electrochemical sensors for screening of tyrosine and tryptophan as biomarkers for diseases: A narrative review, *Microchem. J.* 190 (2023) 108737.
- [29] G.S. Schmitz, E.R. Santana, L.G. Baumgarten, J.P. Winiarski, M.C. Colaço, G.F. Caramori, A. Spinelli, I.C. Vieira, A simple and reliable electrochemical method employing an unmodified boron-doped diamond electrode for the determination of triclocarban, *Electrochim. Acta* 486 (2024) 144093.
- [30] R.E. Munteanu, P.S. Moreno, M. Bramini, S. Gáspár, 2D materials in electrochemical sensors for in vitro or in vivo use, *Anal. Bioanal. Chem.* 413 (2021) 701–725.
- [31] Y. Yang, Y. Song, X. Bo, J. Min, O.S. Pak, L. Zhu, M. Wang, J. Tu, A. Kogan, H. Zhang, T.K. Hsiai, Z. Li, W. Gao, A laser-engraved wearable sensor for sensitive detection of uric acid and tyrosine in sweat, *Nat. Biotechnol.* 38 (2020) 217–224.
- [32] E. Bakker, M. Telting-Diaz, Electrochemical sensors, *Bioeng. Innov. Solut. Cancer* 74 (2019) 2781–2800. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813886-1.00004-8>.
- [33] F. Wang, S. Hu, Electrochemical sensors based on metal and semiconductor nanoparticles, *Microchim. Acta* 165 (2009) 1–22.

- [34] A. Bolotsky, D. Butler, C. Dong, K. Gerace, N.R. Glavin, C. Muratore, J.A. Robinson, A. Ebrahimi, Two-dimensional materials in biosensing and healthcare: from in vitro diagnostics to optogenetics and beyond, *ACS Nano* 13 (2019) 9781–9810.
- [35] M. Mathew, P. V. Shinde, R. Samal, C.S. Rout, A review on mechanisms and recent developments in p-n heterojunctions of 2D materials for gas sensing applications, *J. Mater. Sci.* 56 (2021) 9575–9604.
- [36] H.L. Hou, C. Anichini, P. Samorì, A. Criado, M. Prato, 2D Van der Waals heterostructures for chemical sensing, *Adv. Funct. Mater.* 32 (2022) 2207065.
- [37] N. Baig, M. Sajid, T.A. Saleh, Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 111 (2019) 47–61.
- [38] J. Low, J. Yu, M. Jaroniec, S. Wageh, A.A. Al-Ghamdi, Heterojunction photocatalysts, *Adv. Mater.* 29 (2017) 1601694.
- [39] H. Wang, L. Zhang, Z. Chen, J. Hu, S. Li, Z. Wang, J. Liu, X. Wang, Semiconductor heterojunction photocatalysts: Design, construction, and photocatalytic performances, *Chem. Soc. Rev.* 43 (2014) 5234–5244.
- [40] Z. Li, M. Hu, P. Wang, J. Liu, J. Yao, C. Li, Heterojunction catalyst in electrocatalytic water splitting, *Coord. Chem. Rev.* 439 (2021) 213953.
- [41] S. Maheshwaran, R. Balaji, S.M. Chen, Y.C. Liao, N. Chandrasekar, S. Ethiraj, M.S. Samuel, Fabrication of 2D-0D $\text{Ti}_3\text{AlC}_2@\text{SmVO}_4$ heterojunction nanocomposites for ultrasensitive electrochemical detection of sulfathiazole in environmental samples, *J. Environ. Chem. Eng.* 10 (2022) 108956.
- [42] C. Yuan, Z. He, Q. Chen, X. Wang, C. Zhai, M. Zhu, Selective and efficacious photoelectrochemical detection of ciprofloxacin based on the self-assembly of 2D/2D g- $\text{C}_3\text{N}_4/\text{Ti}_3\text{C}_2$ composites, *Appl. Surf. Sci.* 539 (2021) 148241.
- [43] F. Duan, C. Guo, M. Hu, Y. Song, M. Wang, L. He, Z. Zhang, R. Pettinari, L. Zhou, Construction of the 0D/2D heterojunction of $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXene nanosheets and iron phthalocyanine quantum dots for the impedimetric aptasensing of microRNA-155, *Sensors Actuators, B Chem.* 310 (2020) 127844.
- [44] K. Sanjeev, A. Esokkiya, S. Sudalaimani, K. Giribabu, Graphitic carbon nitride for sensors, in: *Nanoscale Graph. Carbon Nitride*, Elsevier Inc., 2022: pp. 457–486.
- [45] H.L. Lee, Z. Sofer, V. Mazánek, J. Luxa, C.K. Chua, M. Pumera, Graphitic carbon nitride: Effects of various precursors on the structural, morphological and electrochemical sensing properties, *Appl. Mater. Today* 8 (2017) 150–162.
- [46] W.J. Ong, 2D/2D graphitic carbon nitride (g- C_3N_4) heterojunction nanocomposites for photocatalysis: Why does face-to-face interface matter?, *Front. Mater.* 4 (2017) 11.
- [47] N. Rono, J.K. Kibet, B.S. Martincigh, V.O. Nyamori, A review of the current status of graphitic carbon nitride, *Crit. Rev. Solid State Mater. Sci.* 46 (2021) 189–217.
- [48] Z. Chen, S. Zhang, Y. Liu, N.S. Alharbi, S.O. Rabah, S. Wang, X. Wang, Synthesis and fabrication of g- C_3N_4 -based materials and their application in elimination of pollutants, *Sci. Total Environ.* 731 (2020) 139054.
- [49] M.M. Habibi, M. Mousavi, Z. Shadman, J.B. Ghasemi, Preparation of a nonenzymatic electrochemical sensor based on a g- $\text{C}_3\text{N}_4/\text{MWO}_4$ (M: Cu, Mn, Co, Ni) composite for the determination of H_2O_2 , *New J. Chem.* 46 (2022) 3766.
- [50] J.G. Kim, S.M. Park, M.E. Lee, E.E. Kwon, K. Baek, Photocatalytic co-oxidation of As(III) and Orange G using urea-derived g- C_3N_4 and persulfate, *Chemosphere* 212 (2018) 193–199.

- [51] S. Hua, D. Qu, L. An, W. Jiang, Y. Wen, X. Wang, Z. Sun, Highly efficient p-type Cu_3P /n-type $\text{g-C}_3\text{N}_4$ photocatalyst through Z-scheme charge transfer route, *Appl. Catal. B Environ.* 240 (2019) 253–261.
- [52] M. Bellardita, E.I. García-López, G. Marci, I. Krivtsov, J.R. García, L. Palmisano, Selective photocatalytic oxidation of aromatic alcohols in water by using P-doped $\text{g-C}_3\text{N}_4$, *Appl. Catal. B Environ.* 220 (2018) 222–233.
- [53] M. Inagaki, T. Tsumura, T. Kinumoto, M. Toyoda, Graphitic carbon nitrides ($\text{g-C}_3\text{N}_4$) with comparative discussion to carbon materials, *Carbon N. Y.* 141 (2019) 580–607.
- [54] C. Pandiyarajan, P. Rameshkumar, S. Murugesan, M. Selvaraj, Silver nanoparticles-supported graphitic-like carbon nitride for the electrochemical sensing of nitrobenzene and its derivatives, *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* 32 (2021) 19912–19924.
- [55] K. Schwinghammer, M.B. Mesch, V. Duppel, C. Ziegler, J. Senker, B. V Lotsch, Crystalline carbon nitride nanosheets for improved visible-light hydrogen evolution, *J. Am. Chem. Soc.* 136 (2014) 1730–1733.
- [56] H. Wang, Y. Su, H. Zhao, H. Yu, S. Chen, Y. Zhang, X. Quan, Photocatalytic oxidation of aqueous ammonia using atomic single layer graphitic- C_3N_4 , *Environ. Sci. Technol.* 48 (2014) 11984–11990.
- [57] X. She, L. Liu, H. Ji, Z. Mo, Y. Li, L. Huang, D. Du, H. Xu, H. Li, Template-free synthesis of 2D porous ultrathin nonmetal-doped $\text{g-C}_3\text{N}_4$ nanosheets with highly efficient photocatalytic H_2 evolution from water under visible light, *Appl. Catal. B Environ.* 187 (2016) 144–153.
- [58] S. Zhang, S. Yu, X. Wang, Y. Zhang, Z. Yue, C. Li, Y. Ma, A novel electrochemical sensor for the detection of metronidazole in honey using the $\text{g-C}_3\text{N}_4$ MnO_2/ZnO modified electrode, *J. Food Compos. Anal.* 127 (2024) 105992.
- [59] A. Nahdi, S. Kouass, F. Touati, H. Dhaouadi, A. Othmani, Synthesis of $\text{WO}_3/\text{g-C}_3\text{N}_4/\text{Cu}$ hybrid nanocomposite as a new efficient levofloxacin electrochemical sensor, *J. Appl. Electrochem.* 54 (2024) 935–950.
- [60] W. Bouali, A.A. Genc, N. Erk, G. Kaya, B. Sert, K. Ocakoglu, Development of a Cr_2AlC MAX phase/ $\text{g-C}_3\text{N}_4$ composite - based electrochemical sensor for accurate cabotegravir determination in pharmaceutical and biological samples, *Microchim. Acta* 191 (2024) 135.
- [61] H. Su, H. Yin, R. Wang, Y. Wang, W. Orbell, Y. Peng, J. Li, Atomic-level coordination structures meet graphitic carbon nitride ($\text{g-C}_3\text{N}_4$) for photocatalysis: Energy conversion and environmental remediation, *Appl. Catal. B Environ.* 348 (2024) 123683.
- [62] M. Naguib, M. Kurtoglu, V. Presser, J. Lu, J. Niu, M. Heon, L. Hultman, Y. Gogotsi, M.W. Barsoum, Two-dimensional nanocrystals produced by exfoliation of Ti_3AlC_2 , *Adv. Mater.* 23 (2011) 4248–4253.
- [63] Q. Jiang, Y. Lei, H. Liang, K. Xi, C. Xia, H.N. Alshareef, Review of MXene electrochemical microsupercapacitors, *Energy Storage Mater.* 27 (2020) 78–95.
- [64] X. Wu, P. Ma, Y. Sun, F. Du, D. Song, G. Xu, Application of MXene in electrochemical sensors: a review, *Electroanalysis* 33 (2021) 1827–1851.
- [65] E. Colin-Ulloa, K. Montazeri, V. Natu, A.M. Fitzgerald, K. Ngo, J. Uzarski, M.W. Barsoum, L. V Titova, Ultrafast dynamics of photoexcitations in 2D $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_z$, $\text{Mo}_2\text{Ti}_2\text{C}_3\text{T}_z$, and Nb_2CT_z MXenes, *Proc. SPIE* 12419 (2023) 1241908.
- [66] R.M. Ronchi, J.T. Arantes, S.F. Santos, Synthesis, structure, properties and applications of MXenes: Current status and perspectives, *Ceram. Int.* 45 (2019) 18167–18188.
- [67] T. Habib, X. Zhao, S.A. Shah, Y. Chen, W. Sun, H. An, J.L. Lutkenhaus, M. Radovic, M.J. Green, Oxidation stability of $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXene nanosheets in solvents and composite films, *Npj 2D Mater. Appl.* 3 (2019) 8.

- [68] M. Alhabeb, K. Maleski, B. Anasori, P. Lelyukh, L. Clark, S. Sin, Y. Gogotsi, Guidelines for synthesis and processing of two-dimensional titanium carbide ($\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXene), *Chem. Mater.* 29 (2017) 7633–7644.
- [69] Z. Zhang, H. Li, G. Zou, C. Fernandez, B. Liu, Q. Zhang, J. Hu, Q. Peng, Self-reduction synthesis of new MXene/Ag composites with unexpected electrocatalytic activity, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 4 (2016) 6763–6771.
- [70] C. Pechyen, B. Tangnorawich, S. Toommee, R. Marks, Y. Parcharoen, Green synthesis of metal nanoparticles, characterization, and biosensing applications, *Sensors Int.* 5 (2024) 100287.
- [71] P.G. Jamkhande, N.W. Ghule, A.H. Bamer, M.G. Kalaskar, Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 53 (2019) 101174.
- [72] Y. Wang, P. Zhao, B. Gao, M. Yuan, J. Yu, Z. Wang, X. Chen, Self-reduction of bimetallic nanoparticles on flexible MXene-graphene electrodes for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, and uric acid, *Microchem. J.* 185 (2023) 108177.
- [73] J. Zheng, Z. Li, J. Zheng, H. Chencheng, Y. Chen, Z. Wu, Heterostructured MXene/Ni composites for tunable electromagnetic wave absorption, *ACS Appl. Nano Mater.* 7 (2024) 10860–10869.
- [74] W. Li, X. Bai, F. Xiao, J. Huang, X. Zeng, Q. Xu, Y. Song, X. Xu, H. Xu, MXene@Au based electrochemical biosensor with pretreatment by magnetic nanoparticles for determination of MRSA from clinical samples, *J. Hazard. Mater.* 457 (2023) 131823.
- [75] F. Zhao, Y. Yao, C. Jiang, Y. Shao, D. Barceló, Y. Ying, Self-reduction bimetallic nanoparticles on ultrathin MXene nanosheets as functional platform for pesticide sensing, *J. Hazard. Mater.* 384 (2020) 121358.
- [76] A.M. Mahmoud, S.S. Abu-Alrub, A.O. Al-Qarni, F.M. Alshareef, M.M. El-Wekil, Coordinated molecularly imprinted-based ratiometric sensor for electrochemical sensing of hazardous ciprofloxacin based on nitrogen and sulfur co-doped porous carbon/silver nanoparticles hybrid, *Microchem. J.* 193 (2023) 109083.
- [77] H. Jin, R. Gui, J. Yu, W. Lv, Z. Wang, Fabrication strategies, sensing modes and analytical applications of ratiometric electrochemical biosensors, *Biosens. Bioelectron.* 91 (2017) 523–537.
- [78] Y. Zhao, H. Liu, L. Shi, W. Zheng, X. Jing, Electroactive Cu_2O nanoparticles and Ag nanoparticles driven ratiometric electrochemical aptasensor for prostate specific antigen detection, *Sensors Actuators, B Chem.* 315 (2020) 128155.
- [79] T. Yang, R. Yu, Y. Yan, H. Zeng, S. Luo, N. Liu, A. Morrin, X. Luo, W. Li, A review of ratiometric electrochemical sensors: From design schemes to future prospects, *Sensors Actuators, B Chem.* 274 (2018) 501–516.
- [80] M. Madhu, S. Santhoshkumar, W.-B. Tseng, W.-L. Tseng, Maximizing analytical precision: exploring the advantages of ratiometric strategy in fluorescence, Raman, electrochemical, and mass spectrometry detection, *Front. Anal. Sci.* 3 (2023) 1258558.
- [81] Y. Liu, Z. Liu, Y. Zhou, Y. Tian, Implantable electrochemical sensors for brain research, *JACS Au* 3 (2023) 1572–1582.
- [82] M.C. Monteiro, J.P. Winiarski, E.R. Santana, B. Szpoganicz, I.C. Vieira, Ratiometric electrochemical sensor for butralin determination using a quinazoline-engineered Prussian blue analogue, *Materials (Basel)*. 16 (2023) 1024.
- [83] W. Zhong, F. Gao, J. Zou, S. Liu, M. Li, Y. Gao, Y. Yu, X. Wang, L. Lu, MXene@Ag-based ratiometric electrochemical sensing strategy for effective detection of carbendazim in vegetable samples, *Food Chem.* 360 (2021) 130006.

- [84] J. Zhang, X. Zhang, W. Sun, W. Zhou, W. Yue, Chemical Scissor-Enabled synthesis of $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXene nanowires for selective oxygen reduction to hydrogen peroxide, *Appl. Surf. Sci.* 648 (2024) 159068.
- [85] W. Iqbal, B. Qiu, J. Lei, L. Wang, J. Zhang, M. Anpo, One-step large-scale highly active g- C_3N_4 nanosheets for efficient sunlight-driven photocatalytic hydrogen production, *Dalt. Trans.* 46 (2017) 10678–10684.
- [86] X. Lu, M. Rycenga, S.E. Skrabalak, B. Wiley, Y. Xia, Chemical synthesis of novel plasmonic nanoparticles, *Annu. Rev. Phys. Chem.* 60 (2009) 167–192.
- [87] D. Magne, V. Mauchamp, S. Célérier, P. Chartier, T. Cabioch, Spectroscopic evidence in the visible-ultraviolet energy range of surface functionalization sites in the multilayer Ti_3C_2 MXene, *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* 91 (2015) 201409.
- [88] V. Natu, M. Benchakar, C. Canaff, A. Habrioux, S. Célérier, M.W. Barsoum, A critical analysis of the X-ray photoelectron spectra of $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_z$ MXenes, *Matter* 4 (2021) 1224–1251.
- [89] Q. Xiao, J. Zhang, C. Xiao, Z. Si, X. Tan, Solar photocatalytic degradation of methylene blue in carbon-doped TiO_2 nanoparticles suspension, *Sol. Energy* 82 (2008) 706–713.
- [90] J. Tang, T.S. Mathis, N. Kurra, A. Sarycheva, X. Xiao, M.N. Hedhili, Q. Jiang, H.N. Alshareef, B. Xu, F. Pan, Y. Gogotsi, Tuning the Electrochemical Performance of Titanium Carbide MXene by Controllable In Situ Anodic Oxidation, *Angew. Chemie* 131 (2019) 18013–18019.
- [91] M. Perdicakis, N. Grosselin, J. Bessière, Interaction of pyrite pulps with Ag^+ and Hg^{2+} ions. Electrochemical characterization of micrometric grains, *Anal. Chim. Acta* 385 (1999) 467–485.
- [92] A. Azouri, M. Ge, K. Xun, K. Sattler, J. Lichwa, C. Ray, Zeta potential studies of titanium dioxide and silver nanoparticle composites in water-based colloidal suspension, *Multifunct. Nanocomposites* (2006) 221–223.
- [93] H.S. Bae, M.K. Lee, W.W. Kim, C.K. Rhee, Dispersion properties of TiO_2 nano-powder synthesized by homogeneous precipitation process at low temperatures, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 220 (2003) 169–177.
- [94] D.K. Naser, A.K. Abbas, K.A. Aadim, Zeta potential of Ag, Cu, ZnO, CdO and Sn nanoparticles prepared by pulse laser ablation in liquid environment, *Iraqi J. Sci.* 61 (2020) 2570–2581.
- [95] S.G. Schulman, *Fluorescence and phosphorescence spectroscopy: Physicochemical principles and practice*, Elsevier, 2017.
- [96] G. Shiravand, A. Badiei, G. Mohammadi Ziarani, Carboxyl-rich g- C_3N_4 nanoparticles: Synthesis, characterization and their application for selective fluorescence sensing of Hg^{2+} and Fe^{3+} in aqueous media, *Sensors Actuators, B Chem.* 242 (2017) 244–252.
- [97] C.A. De Lima, P.S. Da Silva, A. Spinelli, Chitosan-stabilized silver nanoparticles for voltammetric detection of nitrocompounds, *Sensors Actuators, B Chem.* 196 (2014) 39–45.
- [98] K. Hu, H. Wang, X. Zhang, H. Huang, T. Qiu, Y. Wang, C. (John) Zhang, L. Pan, J. Yang, Ultralight $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXene foam with superior microwave absorption performance, *Chem. Eng. J.* 408 (2021)
- [99] J. Tian, R. Ning, Q. Liu, A.M. Asiri, A.O. Al-Youbi, X. Sun, Three-dimensional porous supramolecular architecture from ultrathin g- C_3N_4 nanosheets and reduced graphene oxide: Solution self-assembly construction and application as a highly efficient metal-free electrocatalyst for oxygen reduction reaction, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 6 (2014) 1011–1017.
- [100] A. Kumar, P. Kumar, C. Joshi, M. Manchanda, R. Boukherroub, S.L. Jain, Nickel decorated on phosphorous-doped carbon nitride as an efficient photocatalyst for reduction of nitrobenzenes, *Nanomaterials* 6 (2016) 59.

- [101] W.S.B. Dwandaru, A. Fathia, R.I. Wisnuwjaya, Study on the synthesis of GO-AgNP mixture assisted by AgNP based on UV-Vis, SEM-EDX, XRD, and FTIR, *J. Phys. Conf. Ser.* 1097 (2018) 012011.
- [102] M. Yang, Y. Pan, C. Ji, M. Shao, Z. Li, J. Yu, C. Li, B. Man, C. Zhang, X. Zhao, Three-Dimensional MXene-AgNP Hollow Spheres for In Situ Surface-Enhanced Raman Scattering Detection of Catalysis Reactions, *J. Phys. Chem. Lett.* 14 (2023) 9019–9026.
- [103] A. Numan, S. Rafique, M. Khalid, H.A. Zaharin, A. Radwan, N.A. Mokri, O.P. Ching, R. Walvekar, Microwave-assisted rapid MAX phase etching and delamination: A paradigm shift in MXene synthesis, *Mater. Chem. Phys.* 288 (2022) 126429.
- [104] P.C. Nagajyothi, M. Pandurangan, S.V.P. Vattikuti, C.O. Tettey, T.V.M. Sreekanth, J. Shim, Enhanced photocatalytic activity of Ag/g-C₃N₄ composite, *Sep. Purif. Technol.* 188 (2017) 228–237.
- [105] L. Biao, S. Tan, Y. Wang, X. Guo, Y. Fu, F. Xu, Y. Zu, Z. Liu, Synthesis, characterization and antibacterial study on the chitosan-functionalized Ag nanoparticles, *Mater. Sci. Eng. C* 76 (2017) 73–80.
- [106] B. Qu, J. Sun, P. Li, L. Jing, Current advances on g-C₃N₄-based fluorescence detection for environmental contaminants, *J. Hazard. Mater.* 425 (2022) 127990.
- [107] R.P. Pandey, K. Rasool, V.E. Madhavan, B. Aïssa, Y. Gogotsi, K.A. Mahmoud, Ultrahigh-flux and fouling-resistant membranes based on layered silver/MXene (Ti₃C₂T_x) nanosheets, *J. Mater. Chem. A* 6 (2018) 3522–3533.
- [108] L.Å. Näslund, I. Persson, XPS spectra curve fittings of Ti₃C₂T_x based on first principles thinking, *Appl. Surf. Sci.* 593 (2022) 153442.
- [109] Y.Q. Liu, Y. Zhang, J.P. Zhou, D.Q. Sun, H.M. Li, Effect of Ti₃C₂T_x/Ag MXene fillers on the electrical conductivity of Ag-coated Cu conductive adhesives, *Ceram. Int.* 49 (2023) 24895–24903.
- [110] C. Wu, F. Li, M. Bi, P. Yao, M. Yue, T. Xue, Synthesis of Ti₃C₂T_x decorated with silver nanoparticles as a surface-enhanced Raman scattering (SERS)-active substrate, *Mater. Chem. Phys.* 263 (2021) 124383.
- [111] C. Peng, Z. Kuai, X. Li, S. Lian, D. Jiang, J. Tang, L. Li, R. Wu, A. Wu, S. Chen, Facile synthesis of Ag nanoparticles/Ti₃C₂T_x/polyacrylamide composite hydrogel as efficient catalyst for methylene blue and 4-nitrophenol reduction, *Mater. Des.* 210 (2021) 110061.
- [112] E. Satheshkumar, T. Makaryan, A. Melikyan, H. Minassian, Y. Gogotsi, M. Yoshimura, One-step Solution Processing of Ag, Au and Pd@MXene Hybrids for SERS, *Sci. Rep.* 6 (2016) 1–9.
- [113] Titanium - EniG. Periodic Table of the Elements. 2024. Disponível em: <https://www.periodni.com/ti.html>. Acesso em 14 out. 2024
- [114] Y. Li, Z. Liu, S. Li, P. Nian, N. Xu, H. Luo, Y. Wei, Highly permeable and stable hyperbranched polyethyleneimine crosslinked AgNP@Ti₃C₂T_x MXene membranes for nanofiltration, *J. Memb. Sci.* 670 (2023) 121376.
- [115] N. Abumounshar, R.P. Pandey, S.W. Hasan, Enhanced hydrophilicity and antibacterial efficacy of in-situ silver nanoparticles decorated Ti₃C₂T_x/Polylactic acid composite membrane for real hospital wastewater purification, *Sci. Total Environ.* 954 (2024) 176697.
- [116] T. Parker, D. Zhang, D. Bugallo, K. Shevchuk, M. Downes, G. Valurouthu, A. Inman, B. Chacon, T. Zhang, C.E. Shuck, Y. Hu, Fourier-transform infrared spectral library of MXenes, (2024) no prelo.
- [117] X. Qin, C. Ding, Y. Tian, J. Dong, B. Cheng, Multifunctional Ti₃C₂T_x MXene/Silver nanowire membranes with excellent catalytic, antifouling, and antibacterial properties for nitrophenol-containing water purification, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 15 (2023) 48154–48167.
- [118] G. Xin, Y. Meng, Pyrolysis synthesized g-C₃N₄ for photocatalytic degradation of methylene blue, *J. Chem.* 2013 (2013) 187912.

- [119] I. Papailias, T. Giannakopoulou, N. Todorova, D. Demotikali, T. Vaimakis, C. Trapalis, Effect of processing temperature on structure and photocatalytic properties of g-C₃N₄, *Appl. Surf. Sci.* 358 (2015) 278–286.
- [120] B. Shobana, L. Gayathri, P.S. Kumar, P. Prakash, Nonenzymatic interference free nano-molar range detection of L-tyrosine in human serum and urine samples using carbon dots doped cerium titanate modified glassy carbon electrode, *Microchem. J.* 193 (2023) 109116.
- [121] K. Tschulik, C. Batchelor-Mcauley, H.S. Toh, E.J.E. Stuart, R.G. Compton, Electrochemical studies of silver nanoparticles: A guide for experimentalists and a perspective, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 16 (2014) 616–623.
- [122] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed., John Wiley & Sons: New York, 2001.
- [123] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 2nd ed., Wiley-VCH, 2000.
- [124] C. Cioates Negut, C. Stefanov, J. Frederick van Staden, Graphite based microsensors developed for the electrochemical determination of L-tyrosine from pharmaceutical samples, *Electroanalysis* 32 (2020) 1488–1497.
- [125] V.C. Valsalakumar, A.S. Joseph, J. Piyus, S. Vasudevan, Polyaniline-graphene oxide composites decorated with ZrO₂ nanoparticles for use in screen-printed electrodes for real-time L-tyrosine sensing, *ACS Appl. Nano Mater.* 6 (2023) 8382–8395.
- [126] G. Cepriá, J. Roque, J. Molera, J. Pérez-Arantegui, M. Vendrell, Electroanalytical study of the composition of the raw pigment mixtures that yield the metallic lustre on ceramics. A link between composition and final result, *Electroanalysis* 19 (2007) 1167–1176.
- [127] A. Doménech, M.T. Doménech-Carbó, T. Pasies, M.C. Bouzas, Application of modified tafel analysis to the identification of corrosion products on archaeological metals using voltammetry of microparticles, *Electroanalysis* 23 (2011) 2803–2812.
- [128] F. Scholz, *Voltammetric techniques of analysis: the essentials*, ChemTexts 1 (2015) 17.
- [129] M. Gumustas, S.A. Ozkan, The role of and the place of method validation in drug analysis using electroanalytical techniques, *Open Anal. Chem. J.* 5 (2011) 1–21.
- [130] C.J. Harvey, R.F. LeBouf, A.B. Stefaniak, Formulation and stability of a novel artificial human sweat under conditions of storage and use, *Toxicol. Vit.* 24 (2010) 1790–1796.
- [131] D. Moraes, The coefficient of determination : What determines a useful R² statistic?, *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 53 (2012) 6830–6832.
- [132] L. Fiore, B. De Lellis, V. Mazzaracchio, E. Suprun, R. Massoud, B.M. Goffredo, D. Moscone, F. Arduini, Smartphone-assisted electrochemical sensor for reliable detection of tyrosine in serum, *Talanta* 237 (2022) 122869.
- [133] X. Liang, W. Wang, Q. Ma, L. Wang, A novel tyrosine electrochemical sensor based on poly 3,4-ethylene-dioxythiophene and gold nanoparticles, *J. Solid State Electrochem.* 28 (2024) 3731–3744.
- [134] Z.Y. Li, D.Y. Gao, Z.Y. Wu, S. Zhao, Simultaneous electrochemical detection of levodopa, paracetamol and L-tyrosine based on multi-walled carbon nanotubes, *RSC Adv.* 10 (2020) 14218–14224.
- [135] K. Kaewjua, W. Siangproh, Innovative electrochemical platform for the simultaneous determination of l-DOPA and l-tyrosine using layer-by-layer assembled L-proline-linked nanodiamonds on printed graphene, *Microchim. Acta* 190 (2023) 398.

- [136] R.M. Kamel, F.A.M. Abdel-aal, F.A. Mohamed, A. Abdeltawab, M.O. Abdel-Malek, A.A. Othman, A.M.I. Mohamed, Copper @ eggshell nanocomposite/chitosan gelified carbon paste electrode as an electrochemical biosensor for l-tyrosine analysis as a biomarker in the serum of normal and liver disease patients, *Microchem. J.* 201 (2024) 110703.