

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA

ISABELA APARECIDA DE ARAUJO ANDREOTTI

Desenvolvimento de sensores impressos e descartáveis para a detecção de compostos de
importância ambiental e biológica

Bolsista CAPES – Número do processo: 1687539

São Carlos

2019

ISABELA APARECIDA DE ARAUJO ANDREOTTI

Desenvolvimento de sensores impressos e descartáveis para a detecção de compostos de importância ambiental e biológica

Versão Original

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos, para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Bruno Campos Janegitz

São Carlos

2019

Isabela Aparecida de Araujo Andreotti

Tese de Doutorado submetida à
Coordenação do Programa de Pós-
Graduação em Biotecnologia, da
Universidade Federal de São
Carlos, como requisito parcial para
a obtenção do título de Doutora em
Biotecnologia

Aprovada em: 11/07/2019

BANCA EXAMINADORA

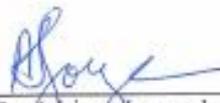
Prof. Dr. Bruno Campos Janegitz (Orientador)
(UFSCar - Campus Araras)



Profa. Dra. Mônica Helena Marcon Teixeira Assumpção
(UFSCar - Campus Lagoa do Sino)



Prof. Dr. Fernando Campanhã Vicentini
(UFSCar - Campus Lagoa do Sino)



Prof. Dr. Adriano Lopes de Souza
(UFSCar - Campus Araras)

“Always pass on what you have learned”

Mestre Yoda

Para todos os meus colegas de trabalho,
espalhados pelo Brasil, que assim como eu
acreditam no poder de transformação da educação
e da ciência.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela força.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Bruno Campos Janegitz, pela confiança em mim. Por acreditar no meu trabalho, mesmo eu vindo de outra área de estudo e pesquisa. Agradeço pelos ensinamentos que me fizeram crescer pessoalmente e profissionalmente. Agradeço ao meu co-orientador, Prof. Dr. Luiz Humberto Marcolino Júnior, por todas as contribuições feitas neste estudo.

Agradeço aos meus pais que sempre me incentivaram a estudar e pelos tantos sacrifícios feitos por mim. À Maria, minha mãe, que nunca me deixou desistir, mesmo nos momentos mais sombrios que passaram na minha caminhada. Ao meu pai, que se sacrificava, recolhendo reciclagem para que eu pudesse fazer minha graduação em Biotecnologia na UFSCar – *campus* Araras.

Agradeço aos meus amigos, Elaine Ribeiro, Rebecca Ulbricht, Stephanie Bajay, Flávia Maria Gustani e Natália Spernega, por sempre estarem comigo, mesmo que de longe, me apoiando e me dando forças.

Agradeço aos membros do Laboratório de Sensores, Nanomedicina e Materiais Nanoestruturados (LSNano) por todo apoio. Agradeço por todas as risadas e ensinamentos, pela convivência, carinho e discussões filosóficas. Agradeço, em especial, ao Luiz e a Jéssica, que foram meus “professores”, no meu início de laboratório, me ensinando a como manusear os equipamentos, além das discussões enriquecedoras.

Agradeço a Universidade Federal de São Carlos, ao Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia pela oportunidade me dada.

Agradeço aos órgãos de fomento, CAPES, CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Aos que acreditaram no meu trabalho, agradeço pela força, carinho e apoio e, também, aos que não acreditaram no meu trabalho questionando minha capacidade, vocês me deram mais combustível para continuar, muito obrigada!

LISTA DE ABREVEATURAS E SÍMBOLOS

5-HT: serotonina (5-hidroxitriptamina)

5-HTP: 5-hidroxitriptofano

a : amplitude de pulso

A: área eletroativa (cm²)

BHET: bis(2-hidroxietileno)

C: concentração da sonda utilizada

CA: catecol

C_{dc}: capacitância da dupla camada

CYP19: enzima aromatase

D : coeficiente de difusão das espécies em solução

DHEA: dehidroepiandrosterona

DHEAS: sulfato de DHEA

DMT: éster tereftalato de dimetileno

DPV: voltametria de pulso diferencial (do inglês, *Differential Pulse Voltammetry*)

E3: estriol (1,3,5,(10)-estratriene-3,16 α ,17 β -triol)

EG: etileno glicol

EP: epinefrina ([1-(3,4-dihiroxiphenil)-2-metilaminoetanol])

EPA: Agência Nacional de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (do inglês, *Environmental Protection Agency*)

f : frequência

FTIR: espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (do inglês, *Fourier spectroscopy of transmission*)

GP: grafite (do inglês, *graphite*)

NP: esmalte para unhas (do inglês, *nail polish*)

GV: verniz vitral (do inglês, *glass varnish*)

GP-GV: tinta composta por verniz vitral e grafite

GP-NP: tinta composta por esmalte para unhas e grafite

HQ: hidroquinona (1,4-dihidroxibenzeno)

I_p : corrente de pico

LOD: limite de detecção (em inglês *Limit of Detection*)

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura (do inglês, *Spectroscopy Electron Microscopy*, SEM)

n : número de elétrons transferidos na reação redox

PET: poli(tereftalato) de etileno

r : coeficiente de correlação linear

R_p : transferência de massa ou resistência de polarização

R_s : resistência da solução eletrolítica

RSD: desvio padrão relativo (do inglês, *Relative Standard Deviation*)

SNC: sistema nervoso central

SNP: sistema nervoso periférico

SPCE: eletrodo impresso de carbono (do inglês, *Screen Printed Carbon Electrodes*)

SPE: eletrodo impresso (do inglês, *Screen-Printed Electrode*)

SWV: voltametria de onda quadrada (do inglês, *Square Wave Voltammetry*)

t : tempo de espera

TPA: ácido tereftálico

v : velocidade de varredura

W: impedância de Warburg

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros otimizados para a detecção de hidroquinona pelo dispositivo descartável GP-NP/PET, utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada

Tabela 2: Valores de recuperação de hidroquinona em amostras de água de rio

Tabela 3: Valores de recuperação de hidroquinona em amostras de água de distribuição

Tabela 4: Valores de recuperação de hidroquinona em creme dermatológico

Tabela 5: Comparação entre o presente estudo e outros estudos da literatura para a determinação de HQ

Tabela 6: Valores de recuperação de epinefrina e serotonina em urina sintética

Tabela 7: Comparação entre o presente estudo e outros estudos da literatura para a determinação de epinefrina e serotonina

Tabela 8: Determinação de E3 pelo dispositivo GP-GV/PET

Tabela 9: Comparação entre o presente estudo e outros estudos da literatura para a determinação do E3

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Adaptação da máscara que tem por objetivo delimitar a área a ser impressa (Orzari *et al.*, 2018).

Figura 2. Imagens cedidas por de Araujo Andreotti e colaboradores (2019) (A) Engate de computador com os três fios condutores com *plugs* do tipo banana soldados individualmente nas três primeiras regiões de contato elétrico. (B) É possível visualizar os três eletrodos, que compõem o sensor descartável, encaixados dentro do engate. Foi necessário colocar uma folha de PET limpa abaixo do sensor para que os eletrodos tocassem nos contatos elétricos do engate de computador.

Figura 3. Processo do desenvolvimento da tinta condutora e do dispositivo descartável GP-NP/PET. (1) Inicialmente misturou-se diferentes proporções de grafite e esmalte para unhas, (2) chegando à tinta final. (3) Após o preparo da folha de PET, (4) colou-se as máscaras. (5) Depositou-se uma quantidade generosa de tinta condutora e em seguida espalhou-se com o auxílio de uma espátula. (6) Deixou-se a tinta secar por 30 min e pintou-se o eletrodo de referência com tinta de prata e secagem por 24 h. (7) Realização das medidas eletroquímicas.

Figura 4. Processo do desenvolvimento da tinta condutora e do dispositivo descartável GP-GV/PET. (1) Inicialmente misturou-se diferentes proporções de grafite e verniz vitral, (2) chegando à tinta final. (3) Após o preparo da folha de PET, (4) colou-se as máscaras. (5) Depositou-se uma quantidade generosa de tinta condutora e em seguida espalhou-se com o auxílio de uma espátula. (6) Deixou-se a tinta secar por 24 h. (7) Realização das medidas eletroquímicas.

Figura 5. Voltamogramas cíclicos obtidos com solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. As medidas foram realizadas sobre dispositivos descartáveis utilizando uma folha de PET como suporte da impressão dos eletrodos. (A) Dispositivo impresso com tinta composta por verniz brilhante e grafite. (B) Dispositivo impresso com tinta composta por verniz geral e grafite.

Figura 6. Voltamograma cíclico obtido a partir do dispositivo GP-NP/PET. A medida foi realizada em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 7. Imagens da tinta espalhada sobre o PET obtidas por SEM (A) Ampliação de 200 x. (B) Ampliação de 2.000 x. (C) Ampliação de 10.000 x. (D) Ampliação de 50.000 x.

Figura 8. Espectros de FTIR de esmalte para unhas (NP), tinta condutora (GP-NP) e grafite em pó (GP).

Figura 9. Diagramas de Nyquist do GP-GV/PET na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} equimolar em solução de KCl 0,1 mol L^{-1} .

Figura 10. (A) Voltamogramas cíclicos do GP-NP/PET. As medidas em solução de KCl 0,1 mol L^{-1} na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} , no intervalo de potenciais de $-0,6$ V a $0,8$ V, para as velocidades de varredura de 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 mV s^{-1} . (B) Gráfico de pontos I vs $v^{1/2}$.

Figura 11. Voltamograma cíclico do GP-NP/PET demonstrando a detecção de HQ pelo GP-NP/PET, solução de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 3,5) na presença de HQ $1,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} , na janela de potencial de $-0,6$ V a $1,2$ V, $v = 100$ mV s^{-1} .

Figura 12. Reação de oxidação da hidroquinona.

Figura 13. (A) Comparação entre as técnicas DPV (•), LSV (•) e SWV (•), demonstrando que a técnica de SWV apresentou o maior valor da corrente de pico. (B) Voltamograma de onda quadrada obtidos com GP-NP/PET em solução de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0) (•) na presença de HQ $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} (pH 7,0) (•), *frequência* = 70 Hz, $t = 40$ s.

Figura 14. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos nas frequências de 10 até 100 Hz. (B) Gráfico I vs f . As medidas foram realizadas em solução de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0) na presença de HQ $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} .

Figura 15. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos variando-se a amplitude de pulso em 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mV , $f = 70$ Hz. (B) Gráfico I vs a . As medidas foram realizadas em solução de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0) na presença de HQ $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} .

Figura 16. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos variando-se o degrau de potencial de 1 até 10 mV , $f = 70$ Hz e $a = 70$ mV . (B) Gráfico I vs *Step*. As medidas foram realizadas em solução de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0) na presença de HQ $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} .

Figura 17. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em solução de tampão fosfato $1,0 \times 10^{-1}$ mol L^{-1} na presença de HQ $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} , variando-se o pH em 2,5; 3,5; 4,5; 6,0; 7,0 e 9,0; $f = 70$ Hz, $a = 70$ mV e *step* = 6 mV . (B) Gráfico I vs pH.

Figura 18. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos a partir de uma gota de 70 μL da solução de tampão fosfato $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,5) (\bullet), em diferentes concentrações de hidroquinona: $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (\circ), $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (\circ), $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (\circ), $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (\circ), $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (\circ) e $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (\circ). (B) Curva analítica obtida para hidroquinona com o dispositivo GP-NP/PET.

Figura 19: (A) Voltamogramas cíclico de GP-NP/PET na presença de $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de EP. (B) Voltamogramas de pulsos diferenciais de GP-NP/PET na presença de concentrações variáveis de EP, variando de 5×10^{-6} a $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5). Inserção mostra a curva analítica. (C) Voltamogramas cíclico de GP-NP/PET na presença de $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 5-HT. (B) Voltamogramas de pulsos diferenciais de GP-NP/PET na presença de concentrações variáveis de 5-HT, variando de 1×10^{-6} a $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5). Inserção mostra a curva analítica.

Figura 20: Mecanismo de reação eletroquímica para epinefrina.

Figura 21: Mecanismo de reação eletroquímica para serotonina.

Figura 22. (A) Dispositivo dobrado demonstrando a flexibilidade da tinta GP-GV. (B) Comparação de tamanho entre o GP-GV/PET com uma moeda real brasileira.

Figura 23. Imagens da tinta impressa sobre PET obtidas por MEV. (A1) Ampliação de 40 x sobre o dispositivo. (A2) Ampliação de 1000 x sobre o PET. (A3) Ampliação de 5.000 x sobre o PET. (A4) Ampliação de 1000 x sobre a tinta impressa. (A5) Ampliação de 5000 x sobre a tinta impressa.

Figura 24. Diagramas de Nyquist do GP-GV/PET na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ equimolar $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 25. Espectros de FTIR de GP-GV (azul), GP (vermelho) e GV (preto).

Figura 26. Voltamograma cíclico de GP-GV/PET em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ equimolar $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 27. (A) Voltametria cíclica do dispositivo GP-GV/PET na presença de solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ equimolar $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, variando as velocidades de varredura de 50 a 160 mV s^{-1} (B) Gráfico de pontos I_p vs $\nu^{1/2}$.

Figura 28. Voltamogramas cíclicos de GP-GV/PET com solução fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,4) (●) e $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ E3 (●), $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 29: Mecanismo eletroquímico proposto para a oxidação do estriol.

Figura 30. Voltamogramas obtidos com GP-GV/PET na presença de $10 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (●) e $10 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de E3 (●) em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 5,7) (●); DPV: $a = 25 \text{ mV}$, tempo de modulação = 50 ms , $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$; SWV: $f = 25 \text{ Hz}$, $t = 40 \text{ ms}$. (A) Voltametria de onda quadrada. (B) Voltametria de pulso diferencial.

Figura 31. Comparação entre as técnicas de DPV (●) e SWV (●). Voltamogramas de onda quadrada obtidos com GP-GV/PET na presença de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de E3 em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 5,7); DPV: $a = 25 \text{ mV}$, tempo de modulação = 50 ms , $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$; SWV: $f = 25 \text{ Hz}$, $t = 40 \text{ ms}$.

Figura 32. (A) Voltamogramas de onda quadrada de GP-GV/PET em presença de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de E3 e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 5,7) para as frequências 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 Hz; $\text{step} = 5 \text{ mV}$, amplitude = 20 mV . (B) $I/\mu\text{A}$ vs Frequência/Hz.

Figura 33. (A) Voltamogramas de onda quadrada de GP-GV/PET em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato (pH 5,7) na presença de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de E3 para as amplitudes 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mV; $\text{step} = 5 \text{ mV}$, frequência = 90 Hz . (B) $I/\mu\text{A}$ vs Amplitude/mV.

Figura 34. (A) Voltamogramas de onda quadrada de GP-GV/PET em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato (pH 5,7) na presença de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de E3 e para os steps de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 mV; frequência = 90 Hz , amplitude = 80 mV . (B) $I/\mu\text{A}$ vs Step/mV.

Figura 35. (A) Voltamogramas de onda quadrada de GP-GV/PET em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de E3 e para diferentes valores de pH; frequência = 90 Hz , amplitude = 80 mV , $\text{step} = 9 \text{ mV}$. (B) $I/\mu\text{A}$ vs pH.

Figura 36. (C) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 6,4) (●) em diferentes concentrações de E3, variando de $0,1$ (●) a $8,0$ (●) $\mu\text{mol L}^{-1}$. (D) Curva analítica obtida para E3 com o dispositivo GP-GV/PET.

RESUMO

Os sensores eletroquímicos descartáveis têm chamado a atenção da comunidade científica dado suas vantagens, como produção em larga escala com custo relativamente baixo e redução do volume de amostra. Neste contexto, os eletrodos impressos tem sido amplamente empregada na eletroanalítica para o desenvolvimento de novas plataformas de sensoriamento e na melhoria de suas performances. Com o objetivo de desenvolver sensores descartáveis com baixo custo relativo, através da técnica de impressão, desenvolveram-se duas tintas condutoras: uma a partir de esmalte para unhas (NP, do inglês *nail polish*) e grafite (GP, do inglês *grafite*) e outra tinta a partir de verniz vitral (GV, do inglês *glass varnish*) e grafite. Como substrato do sensor, utilizamos PET oriundo a partir de garrafas de refrigerantes que seriam descartadas. Após o desenvolvimento das tintas condutoras, realizou-se as caracterizações morfológicas e eletroquímicas dos dispositivos GP-NP/PET e GP-GV/PET. Para verificar a funcionalidade dos sensores, escolheu-se a hidroquinona (HQ), serotonina (5-HT), epinefrina (EP) e estriol (E3) como analitos. A caracterização por microscopia eletrônica de varredura do GP-NP/PET e do GP-GV/PET revelou que as tintas possuem uma superfície homogênea, rugosa e porosa, características que ajudam a aumentar a área superficial do eletrodo. Utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, o sensor GP-NP/PET apresentou uma resposta linear na faixa de concentração de $5,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $1,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ para HQ; $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $3,1 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para 5-HT, e $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ a $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de 1×10^{-7} mol L⁻¹ para EP. Já, para o dispositivo GP-GV/PET, obteve-se $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ a $8,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de 1×10^{-8} mol L⁻¹ para E3. Os dispositivos detectaram os analitos em amostras ambientais, farmacêuticas e biológicas. As tintas desenvolvidas são interessantes para a aplicação em sensores descartáveis, dado suas características como homogeneidade enquanto líquida e estabilidade física após a secagem, não quebrando, acompanhando a flexibilidade do substrato.

ABSTRACT

Disposable electrochemical sensors have attracted the attention of the scientific community given its advantages, such as large-scale production with relatively low cost and reduced sample volume. In this context, the technique of printed electrodes has been widely used in electroanalytical for the development of new sensing platforms and in the improvement of their performances. With the objective of developing disposable sensors with low relative cost, through the printing technique, two conductive inks were developed: one from nail polish (NP) for nails and graphite (GP) and another paint from stained glass varnish (GV) and graphite. As a substrate of the sensor, we used PET from bottles of drinks that would be discarded. After the development of the conductive ink, the morphological and electrochemical characterization of GP-NP / PET and GP-GV / PET devices were performed. To verify the functionality of the sensors, hydroquinone (HQ), serotonin (5-HT), epinephrine (EP) and estriol (E3) were chosen as analytes. The scanning electron microscopy characterization of GP-NP / PET and GP-GV / PET revealed that the inks have a homogeneous, rough and porous surface, characteristics that help increase the surface area of the working electrode. Using the square-wave voltammetry technique, the GP-NP / PET sensor presented a linear response in the concentration range of 5.0×10^{-6} to 1.0×10^{-4} mol L⁻¹ with a detection limit of 1.2×10^{-8} mol L⁻¹ for HQ, 5.0×10^{-5} to 1.0×10^{-4} mol L⁻¹ with a detection limit of 3.1×10^{-7} mol L⁻¹ for 5-HT and 1.0×10^{-7} to 5.0×10^{-5} mol L⁻¹ with a detection limit of 1×10^{-7} mol L⁻¹ for EP. For the GP-GV/PET device, 1.0×10^{-7} at 8.0×10^{-6} mol L⁻¹ to was obtained with a detection limit of 1×10^{-8} mol L⁻¹ for E3. The devices detected the analytes in environmental, pharmaceutical and biological samples. In this way, the inks developed are interesting for the application in disposable sensors, given their characteristics as homogeneity while liquid, and physical stability after drying, not breaking, following the flexibility of the substrate.

Sumário

CAPÍTULO 1	18
1. Introdução.....	18
1.1. Sensores eletroquímicos descartáveis.....	18
1.2. Eletrodos impressos descartáveis.....	19
2. Tintas condutoras.....	19
2.1. Esmalte para unhas	21
2.2. Resina alquídica.....	22
3. Poli(tereftalato) de etileno.....	24
4. Hidroquinona	25
5. Estriol.....	27
6. Serotonina	28
7. Epinefrina	30
CAPÍTULO 2	32
Objetivos	32
Objetivo geral.....	32
Objetivos específicos.....	32
CAPÍTULO 3	33
1. Material e Métodos.....	33
1.1. Reagentes e soluções.....	33
2. Equipamentos	33
3. Desenvolvimento das tintas condutoras e preparo dos dispositivos descartáveis	35
4. Caracterizações dos dispositivos descartáveis.....	37
4.1. Caracterização morfológica.....	37
4.2. Caracterização eletroquímica	37
5. Preparo das amostras.....	37
CAPÍTULO 4	39
1. Resultados e Discussão	39
1.1. Preparo da tinta condutora.....	39
2. Caracterização morfológica.....	41
3. Caracterização eletroquímica do GP-NP/PET.....	44
3.1. Área eletroativa.....	44
4. Caracterização eletroquímica da hidroquinona.....	45
4.1. Otimização dos parâmetros experimentais	47
4.1.1. Curva analítica	51

4.1.2.	Repetibilidade e reprodutibilidade	52
4.1.3.	Determinação de hidroquinona em amostras ambientais e farmacêutica	52
4.2.	Determinação eletroquímica de EP e 5-HT	55
CAPÍTULO 5		60
1.	Resultados e Discussão	60
1.1.	Caracterização morfológica e eletroquímica do GP-GV/PET	60
2.	Determinação eletroquímica de E3 com eletrodo descartável GP-GV/PET	65
2.1.	Comportamento eletroquímico de E3	65
2.2.	Otimização dos parâmetros de voltametria de onda quadrada	68
2.2.1.	Construção da curva analítica e detecção de E3 em amostras	72
CAPÍTULO 6		76
CAPÍTULO 7		78

CAPÍTULO 1

1. Introdução

1.1. Sensores eletroquímicos descartáveis

Um sensor químico é um dispositivo capaz de transformar informações químicas, variando-se a concentração de um componente específico (analito) de uma amostra, até a análise da composição total, em um sinal mensurável (Hulanicki *et al.*, 1991; Wolfgang *et al.*, 2008). Tal informação pode ser originada de uma reação química do analito ou de uma propriedade física do sistema em estudo. Os sensores químicos contêm duas unidades funcionais básicas: (a) o receptor, no qual a informação química é transformada em uma forma de energia que pode ser medida e, o (b) transdutor, que transforma a resposta gerada em um sinal detectável através de uma instrumentação moderna (Hulanicki *et al.*, 1991; Stradiotto *et al.*, 2003). Os sensores também podem conter uma camada quimicamente seletiva, cujo objetivo é isolar a resposta do analito de seu ambiente como, por exemplo, o uso de uma membrana ou uma enzima.

O princípio do funcionamento do transdutor é largamente utilizado para classificar os sensores químicos em: eletroquímicos, óticos, sensíveis à massa, magnéticos e termométricos (Hulanicki *et al.*, 1991). Analisando o histórico do desenvolvimento da química analítica, é possível observar que os sensores eletroquímicos representam a classe de sensores químicos em amplo crescimento (Stradiotto *et al.*, 2003). Estes dispositivos são capazes de transformar o efeito de interações eletroquímicas entre o eletrodo e o analito em sinais elétricos (Hulanicki *et al.*, 2009). Junto a isso, os avanços na eletroquímica resultaram na possibilidade de fabricação de dispositivos eletroanalíticos portáteis, dos quais destaca-se os eletrodos impressos descartáveis (Ashley, 2003).

O desenvolvimento de sensores eletroquímicos descartáveis tem chamado a atenção da comunidade científica, pois elimina a necessidade de regeneração da superfície do eletrodo superando o problema de “envenenamento” de sua superfície (Palchetti *et al.*, 2003). Estes sensores podem ser produzidos em larga escala com custo relativamente baixo, dependendo do material utilizado, conseguindo atingir bons resultados quanto à reprodutibilidade, precisão e sensibilidade (Thiyagarajan *et al.*, 2014). Outra vantagem associada aos sensores descartáveis é a possibilidade de miniaturização do dispositivo, facilitando o manuseio; além da redução do volume de amostra necessário, que por consequência ajuda a reduzir o tamanho total do sistema de diagnóstico no qual o dispositivo é integrado (Taleat *et al.*, 2014).

1.2. Eletrodos impressos descartáveis

A serigrafia é datada da China antiga como uma técnica de coloração, na qual a tinta é transferida para um substrato através de uma malha apropriada (Trojanowicz, 2016). No início do século 20, a serigrafia foi introduzida na eletrônica para a impressão de circuitos eletrônicos (Barry *et al.*, 2009) e na produção de eletrodos para células solares (Bogenschutz e Krahl, 1968), com as primeiras aplicações para fins analíticos ao final da década de 80 e início dos anos 90 (Ogata *et al.*, 1986; Matthews *et al.*, 1987; Frew *et al.*, 1989; Wang e Tian, 1992). Desde então, o preparo de eletrodos impressos tem sido amplamente empregado na eletroanalítica para o desenvolvimento de novas plataformas de sensoriamento e na melhoria de suas performances. A título de exemplo, o mercado dispõe de eletrodos comerciais que podem ser vendidos diretamente ao público com ou sem modificações em sua superfície (e. g. DropSens[®]).

A preparação dos eletrodos impressos consiste em deposições de camadas de tinta condutora sobre um substrato sólido, inerte e não condutor, através do uso de uma tela ou malha, definindo a geometria do sensor. Esta tecnologia tem inúmeras vantagens como: relativo baixo custo, automação de processos (facilidade e velocidade de produção em massa), boa reprodutibilidade, ampla escolha de materiais e flexibilidade do *design*, podendo ser projetado para englobar o sistema eletroquímico completo, contendo o eletrodo de trabalho, referência e contra-eletrodo no mesmo suporte (Hayat e Marty, 2014; Taleat *et al.*, 2014). A versatilidade dos eletrodos impressos em tela também se dá pela possibilidade de modificação da superfície para atender aos vários propósitos relacionados a diferentes analitos.

A modificação em massa de eletrodos impressos descartáveis pode ser considerada simples, quando comparada aos eletrodos convencionais de carbono vítreo (Taleat *et al.*, 2014), podendo ser realizada pela adição de substâncias diretamente à tinta (Buleandra *et al.*, 2014).

2. Tintas condutoras

De acordo com a norma brasileira, NBR 12554, as tintas “são produtos compostos de veículo, pigmentos, aditivos e solventes que, quando aplicados sobre um substrato, se convertem em película sólida, dada a evaporação do solvente e/ou reação química, com a finalidade de decoração, proteção e outras” (Associação Brasileira De Normas Técnicas, 1993). Ou seja, a tinta é uma composição líquida constituída de (1) resinas, também denominado de ligantes, um veículo não-volátil que adere as partículas dos pigmentos a fim de formar uma película íntegra; (2) pigmentos, substância não voláteis, inorgânicas ou orgânicas, que tem como objetivo dar cor, opacidade, consistência e durabilidade; (3) aditivos, produtos químicos

sofisticados que vão proporcionar características especiais ou melhorias; e o (4) solvente, um veículo volátil capaz de diminuir o ponto de ebulição da tinta, além de oferecer a viscosidade adequada para sua aplicação.

O início do uso de tintas condutoras se deu em 1958, no qual Ralph Norman Adans propôs um eletrodo alternativo a partir de grafite e óleo mineral para usar em faixas de potenciais nas quais o eletrodo de mercúrio não era útil. Deste modo, a partir do novo eletrodo gotejante de carbono, Adans desenvolveu um eletrodo de pasta de carbono (Adams, 1958). Neste contexto, a vantagem deste eletrodo em relação aos tubos de grafite residia na versatilidade de se adicionar outros compostos combinados ao grafite, obtendo boas respostas nas curvas polarográficas anódicas. Posteriormente, vários estudos foram desenvolvidos para aprimorar este eletrodo envolvendo sensores e biossensores eletroquímicos de pasta de carbono (Švancara *et al.*, 2009). Uma das primeiras tintas condutoras produzidas no Brasil é composta por poliuretano derivado de óleo de mamona e grafite (Mendes *et al.*, 2002). O novo compósito grafite-poliuretano apresentou características interessantes para o uso analítico, tanto em experimentos voltamétricos cíclicos como de voltametria de pulso, além de detector amperométrico em sistemas de injeção em fluxo.

Vários estudos têm sido feitos para o desenvolvimento de tintas condutivas (Mendes *et al.*, 2006; Saciloto *et al.*, 2013; Ferreira *et al.*, 2014; Saciloto *et al.*, 2014). Santos e Cavalheiro (2016) desenvolveram um novo eletrodo composto baseado em nanotubos de carbono de paredes múltiplas e resina poliuretana. O dispositivo foi utilizado para a detecção de hidroquinona em uma formulação cosmética. Os autores realizaram também cromatografia líquida de alta eficiência como método de comparação, e de acordo com o teste t de Student os resultados para ambos os experimentos concordaram com o nível de confiança de 95%. Um eletrodo em tela baseado em compósito de grafite e poliuretano foi utilizado para a determinação de epinefrina em amostra de fluido sintético cerebral (Dias *et al.*, 2017). Os autores conseguiram um limite de detecção de $6,2 \times 10^{-7} \mu\text{mol L}^{-1}$, $R = 0,997$.

Atualmente, compostas principalmente pela mistura de um polímero e um material condutor que possibilite a passagem de elétrons em fluxo, as tintas condutoras já podem ser encontradas no mercado, juntamente com uma ampla oferta de impressoras para eletrodos impressos em tela (SPE, do inglês *screen-printed electrode*) para uso em laboratório (Trojanowicz, 2016). Neste contexto, pesquisas para o desenvolvimento de diferentes composições dessas tintas têm despertado a atenção da comunidade científica e da indústria, possibilitando novas composições para uso em materiais eletródicos (Taleat *et al.*, 2014; Couto *et al.*, 2016; Trojanowicz, 2016).

Para o desenvolvimento destas, o polímero escolhido deve possuir algumas propriedades como secagem controlada, facilidade para dispersar pequenas partículas e possibilidade de espalhamento sobre determinada superfície de forma homogênea, visando à formação de uma película lisa e estável. Já o material condutor deve proporcionar boa condutividade, além de possuir facilidade para dispersar em meio polimérico sem a formação de aglomerados.

O desenvolvimento da eletroquímica moderna e da química eletroanalítica dispõem de uma gama de materiais que podem ser utilizados como condutores nessas tintas. Destes, destacamos o carbono e seus derivados, devido suas inúmeras vantagens como ampla janela de potenciais eletroquímicos, boa condutividade elétrica, estabilidade em longo prazo e baixa corrente residual (Huang *et al.*, 2011; Cuartero *et al.*, 2014; Yang e Wang, 2016; Phillips *et al.*, 2017). Dentre os materiais derivados de carbono, a grafite (GP, do inglês *graphite*) pode ser considerada um dos materiais de carbono mais importantes em aplicações eletroquímicas. Composta de séries de planos de camadas paralelas de carbono empilhadas, com ligação trigonal sp^2 , a GP possui propriedades tanto de um metal, como condutividade térmica e elétrica, quanto à de um não-metal, como elevada resistência térmica, compressibilidade e elasticidade (Wissler, 2006; Pierson, 2012).

2.1. Esmalte para unhas

O esmalte para unhas (NP, do inglês *nail polish*) foi introduzido na década de 1920, quando a tecnologia da laca foi desenvolvida. Durante a Primeira Guerra Mundial, excelentes fontes de nitrocelulose foram desenvolvidas como um explosivo militar. A nitrocelulose foi criada pela reação da fibra de celulose, a partir de flocos de algodão ou polpa de madeira, com ácido nítrico. Descobriu-se que a nitrocelulose fervida poderia ser dissolvida em solventes orgânicos. Após a evaporação dos solventes, uma película dura e brilhante de nitrocelulose foi produzida, conhecida como verniz. Tal tecnologia foi adaptada diretamente para a indústria de cosméticos. A primeira laca comercializada era clara e rotulada de esmalte porque conferia um alto brilho à placa ungueal. Em 1930, Revson desenvolveu a ideia de adicionar pigmentos à laca transparente para formar um esmalte de unhas colorido e opaco. Com base no sucesso desse esmalte de baixa qualidade, Revson formou a Revlon[®] em 1932. Ele contratou um especialista em formulação para desenvolver um produto melhor, que ficou conhecido como esmalte para unhas.

O esmalte para unhas tem como principal função proteger e embelezar as unhas, conferindo brilho e coloração. São compostos principalmente por (1) nitrocelulose, que permite a formação do filme; (2) solventes orgânicos, responsáveis pela estabilidade da formulação e pelo tempo de secagem, permitindo que os componentes do NP permaneçam líquidos; (3) plastificantes,

cuja função é tornar a película do NP flexível, resistente e durável; (4) resina, conferindo aderência do NP à unha, brilho e dureza; (5) pigmentos orgânicos e/ou inorgânicos, que conferem coloração ao produto e (6) agentes tixotrópicos, que trazem viscosidade e uniformidade a formulação (Favaro *et al.*, 2005; Iorizzo *et al.*, 2007).

A busca por polímeros com características diferenciadas e de baixo custo tem grande importância para o desenvolvimento de sensores impressos descartáveis (De Gans *et al.*, 2004). Deste modo, o esmalte para unhas é um excelente candidato para o uso em tintas condutivas. Pradela-Filho e colaboradores (2017) desenvolveram uma tinta condutora composta por 80% de NP e 20% de GP (*m:m*). Os autores desenvolveram um eletrodo de trabalho em papel para o sistema eletroquímico, depositando com a ajuda de um pincel, a tinta condutora em um lado do papel. No outro lado do papel, os autores impermeabilizaram a superfície a fim de evitar a absorção da solução presente na cela eletroquímica. Os autores selecionaram dopamina como composto alvo para avaliar a possibilidade de utilização do dispositivo proposto para fins eletroanalíticos, e o analito foi detectado em 0,13 V vs. Ag/AgCl_{sat} em solução tampão fosfato pH 7 com um limite de detecção de 5,2 mmol L⁻¹.

2.2. Resina alquídica

O verniz vitral (GV, do inglês *glass varnish*) é um composto muito utilizado em artesanatos para fins exclusivamente decorativos. Em sua composição, encontra-se resina alquídica modificada, xilenos (orto, meta, para), éter monobutílico de etileno glicol e corantes orgânicos. Destes, destaca-se a resina alquídica que encontra-se em maior concentração numa porcentagem de 35 a 40%. A primeira resina alquídica foi sintetizada em 1920 por Kienle, ao combinar a tecnologia de produção de resinas de poliéster baseadas em glicerol e anidrido ftálico com o conhecimento empírico de produção de tintas oleorresinas (Hofland, 2012). Treze anos depois, a resina alquídica foi patenteada pela *General Electric* e comercializada em larga escala a partir de 1933 com o nome de “Glyptal”. Em 1935, outras empresas começaram a comercializá-la (Fisher *et al.*, 1990).

Utilizadas em revestimentos industriais e comerciais, podendo ser pigmentadas ou incolores, com o objetivo de protegerem e/ou decorarem uma grande variedade de superfícies, as resinas alquídicas têm sido utilizadas desde o século XIX como um aglutinante principal devido às suas excelentes propriedades de cura auto-oxidativas, químicas e mecânicas, como dureza do filme, durabilidade e retenção de brilho, resistência à abrasão e compatibilidade com vários polímeros (e. g. acrílicos, epóxi, resinas amínicas, resinas cloradas, e hidrocarbônicas) (Patton, 1962; Hofland, 2012).

A resina alquídica é denominada de éster polimérico modificado com óleo ou ácidos graxos e seu principal processo de fabricação é chamado de processo monoglicerídico. Este processo ocorre em duas etapas: (1^a.) transesterificação (ou alcóolise), na qual o óleo vegetal é convertido em mono, di e triglicilgliceróis e ácidos graxos livres, formando uma mistura com o álcool polifuncional presente na reação; e (2^a.) esterificação (ou policondensação), onde ocorre a reação de condensação com os poliácidos funcionais, a partir de catálise básica, empregando em geral óxidos ou hidróxidos de metais alcalinos terrosos a temperatura acima de 200°C (Barrios, 2008; Pilz, 2016). Nesta reação, há a formação de água como subproduto, e deve ser retirada para que reação prossiga até o final. Sua classificação, empregada por Kienle, se dá segundo a quantidade de óleo empregada na reação: alquídicas curtas possuem 30 a 45%, já as alquídica médias têm 45 a 55% e as longas possuem acima de 55% de óleo (Hofland, 2012). Alquídicas curtas e médias são solúveis em hidrocarbonetos aromáticos e as alquídicas longas são solúveis em hidrocarbonetos alifáticos (Hare, 1994).

Considerada um dos polímeros mais antigos produzidos em escala industrial, seu elevado crescimento se deve à substituição de óleos como aglutinantes em tintas oleorresinas antiquadas, oferecendo melhores propriedades de revestimento a um preço reduzido. O tipo de óleo influencia nas propriedades da resina alquídica como flexibilidade, cor e cura do polímero. Estes podem ser denominados de: (1) óleos secativos, no qual ocorre a cura oxidativa pelo ar, como os óleos de linhaça, tungue e oiticica; (2) semi-secativos, como os óleos de soja, girassol; e (3) não secativos, necessitando de processos cura em estufa ou catálise, como o óleo de coco e o óleo de mamona cru. É observado que quanto maior o número de insaturações maior o tempo de secagem (Pilz, 2016).

Dado sua aplicação à uma grande diversidade de revestimentos e variabilidade de acabamentos (incluindo *primers* e *top coats*) industriais e comerciais, a resina alquídica pode ser especificamente formulada para atender as condições desejadas para sua aplicação a partir da mesma estrutura de reação (Hlaing e Oo, 2008; Hofland, 2012). É possível empregar modificantes como resinas fenólicas, monômeros acrílicos, estireno, silicones, isocianatos, entre outros; variar a quantidade de óleo ou ácido graxo e a combinação de diferentes álcoois e ácidos polifuncionais (Hofland, 2012). Tal sucesso se deve ao extenso trabalho teórico sobre a polimerização não-linear (Flory, 1953; Gordon, 1962) seguido por numerosos métodos para calcular as formulações (Misev, 1992), resultando em suas propriedades únicas.

3. Poli(tereftalato) de etileno

O poli(tereftalato) de etileno (PET) foi desenvolvido no final da década de 40 por Whinfield e Dicksonem (Romão *et al.*, 2009). A produção de PET ocorre a partir de três etapas: (1^a.) pré-polimerização, (2^a.) policondensação e (3^a.) polimerização no estado sólido. A pré-polimerização consiste na fabricação do oligômero tereftalato de bis(2-hidroxi-etileno) (BHET), na qual o poliéster pode ser fabricado por duas rotas distintas: (a) esterificação direta, obtida pela reação do ácido tereftálico (TPA) com etileno glicol (EG) e, (b) transesterificação, na qual ocorre a substituição do monômero TPA pelo éster tereftalato de dimetileno (DMT) (Romão *et al.*, 2009). Em seguida, na policondensação, o BHET é aquecido gradualmente a 280 °C enquanto a pressão interna do reator é reduzida para valores abaixo de $1,3 \times 10^2$ Pa. O tempo reacional total pode variar de cinco a dez horas, obtendo polímeros com massa molar em torno de $33.000 \text{ g mol}^{-1}$ e EG como subproduto (Chegolya *et al.*, 1979; Ravindranath e Mashelkar, 1986). O aumento da viscosidade do material dificulta a difusão do EG e, conseqüentemente, reduz a taxa de reação, pois as reações de degradação podem competir com a polimerização. Deste modo, é necessária uma terceira etapa para se obter um polímero com elevada massa molar, denominada de polimerização no estado sólido (SSP). Esta é realizada a uma temperatura entre a de transição vítrea e a de fusão, a 220-230 °C por um período entre dez e trinta horas, sendo utilizada para a produção de PET com alta massa molar ($> 30.000 \text{ g mol}^{-1}$) (Romão *et al.*, 2009). Esta etapa visa aumentar o grau de cristalinidade do material, sob um curto intervalo de tempo e alto vácuo ou com um sistema de atmosfera inerte sob agitação, com o objetivo de evitar a sinterização do material. Assim, há prevenção de que as partículas comecem a aderir umas às outras podendo danificar as paredes do reator.

O PET tornou-se o material mais utilizado para a produção de garrafas e embalagens para líquidos e alimentos, devido suas excelentes propriedades, como: transparência, que permite ao consumidor visualizar o produto que está comprando; flexibilidade e capacidade de suportar longas viagens, permanecendo atrativo para o mesmo (Sidel; Welle, 2011). Além disso, em comparação com outros polímeros, o PET possui características importantes: é quimicamente inerte, possuindo propriedades de barreira que protegem os alimentos e bebidas contra contaminação, sem conter substâncias tóxicas; é biologicamente inerte, se ingerido; oferece manipulação segura; possui estabilidade dimensional e boas propriedades de barreira em relação à umidade e gases (e. g. oxigênio e dióxido de carbono) (Sidel; Leadbitter *et al.*, 2000; Welle, 2011).

Dado suas características vantajosas, o consumo deste material ao longo dos anos vem produzindo uma grande quantidade de resíduos que como destino final se acumulam em aterros. Devido sua elevada resistência a degradação, o PET demora anos para se decompor. Deste modo, iniciativas para reciclagem deste resíduo são de extrema importância. Garrafas recicladas podem gerar de novas garrafas até malha polar, fibras de poliéster, carpete, embalagens PET termoformadas e roupas. Além disso, é importante ressaltar que produção de uma tonelada de PET reciclado limpo economiza 14.067 kW h^{-1} adicionais de energia e reduz as emissões de gases de efeito estufa em mais de 1.360 kg, quando comparado a produção de PET virgem (Sidel). Um milhão de garrafas plásticas são compradas em todo o mundo a cada minuto, e o número saltará mais 20% até 2021. São mais de 480 bilhões de garrafas de plástico vendidas em 2016 em todo o mundo, contra cerca de 300 bilhões uma década atrás. Até 2021, isso aumentará para 583,3 bilhões, de acordo com as estimativas mais atualizadas do relatório global de tendências de embalagens da Euromonitor International (Guardian, 2017). Neste contexto, dentre os diversos materiais que podem ser utilizados na construção de sensores descartáveis, destacamos o uso do PET devido suas excelentes características além de ajudar a reduzir os impactos ambientais causados pelo descarte inadequado do material.

4. Hidroquinona

Como consequência do desenvolvimento industrial houve um aumento na liberação de compostos potencialmente tóxicos para o meio ambiente. Dentre os vários compostos, ressaltamos a hidroquinona (1,4-dihidroxibenzeno, HQ), um composto aromático, contendo um anel benzênico e dois grupos $-\text{OH}$ na posição *para*. A HQ é formada durante os processos de degradação biológica e é largamente utilizada em processos biológicos, industriais e em cosméticos (Huang *et al.*, 2017). Dado sua baixa degradabilidade e alta toxicidade, semelhante a outros compostos fenólicos, a HQ é considerada um dos poluentes prioritários para o monitoramento ambiental pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*) (Keith, 1996). Auto-oxidada por duas oxidações sucessivas, a HQ produz um intermediário semiquinona extremamente reativo e o mais tóxico das espécies quinonas (Enguita e Leitão, 2013).

A HQ é considerada o dihidroxibenzeno mais tóxico por reduzir consideravelmente o número de microrganismos cultiváveis, prejudicando a atividade microbiana do solo (Chen *et al.*, 2009). Os compostos fenólicos também apresentam alta toxicidade para organismos aquáticos ao nível de concentração em parte por milhão, podendo também influenciar nas propriedades organolépticas de moluscos e peixes ao nível de concentração em parte por bilhão

(Guerra, 2001). Diversos estudos têm relacionado a toxicidade da HQ sobre células animais, demonstrando ser um potencial agente tóxico sobre a resposta imune. Li e colaboradores (1996) observaram que HQ inibia a proliferação de linfócitos pela supressão da síntese de DNA, além de exercer um efeito citotóxico sobre neutrófilos, eosinófilos e linfócitos (Li *et al.*, 1996; Yang *et al.*, 2011; Hebeda *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2012). Estudos também relataram a atividade de transformação celular e genotóxica da HQ em culturas de células animais (Tsutsui *et al.*, 1997). Os autores evidenciaram o aumento de quebras e trocas de cromátides irmãs, bem como aberrações cromossômicas.

Diversos eletrodos têm sido propostos para a detecção de HQ. Umar e colaboradores (2015) utilizaram nanobastões de óxido de zinco dopado com ferro para modificar o eletrodo de trabalho de um SPE revestido com ouro para detectar HQ (Umar *et al.*, 2015). Arduini e colaboradores (2015) imprimiram eletrodos com uma tinta comercial de grafite, sobre folhas flexíveis de poliéster, a partir de uma máquina de *screen-printing* (Arduini *et al.*, 2015). Em seguida, modificaram o eletrodo de trabalho com negro de fumo e nanopartículas de ouro e pintaram o eletrodo de referência com tinta de prata. Wang *et al.* (2010) detectaram HQ e catecol (CA) empregando eletrodos de carbono impressos em tela (SPCE, do inglês *screen printed carbon electrodes*), em água de rio fortificada, com resultados satisfatórios de recuperação (Wang *et al.*, 2010). Buleandra *et al.* (2014) determinaram simultaneamente HQ e CA, em água da torneira fortificada, a partir de um SPCE comercial modificado com azul da Prússia, obtendo o sensor PB-SPCE. Neste estudo, o azul da Prússia atuou como um mediador, aumentando a taxa de transferência de elétrons na reação química (Buleandra *et al.*, 2014).

Aragó *et al.* (2016) detectou os isômeros catecol, resorcinol e hidroquinona em amostras de água da torneira a partir de um SPE comercial de grafeno. Houve uma sobreposição de sinais entre catecol e hidroquinona, entretanto o estudo obteve uma separação dos sinais por meio da combinação de voltametria de pulso diferencial com SPE comercial de grafeno (Aragó *et al.*, 2016). Um sensor amperométrico de injeção em fluxo foi desenvolvido para a determinação de hidroquinona e um SPCE foi modificado com nanotubos de carbono para melhorar a sensibilidade na determinação da quinona. Os autores obtiveram uma reprodutibilidade ($n = 9$) e a repetibilidade ($n = 111$) de 4,4% e 3,6% RSD, respectivamente (Upan *et al.*, 2016). Velmurugan *et al.* (2017) modificaram um SPE com óxido de grafeno ativado para a detecção de hidroquinona e catecol, no qual revelou uma excelente seletividade para a determinação (Velmurugan *et al.*, 2017).

5. Estriol

Sintetizados a partir do colesterol, os hormônios esteroides são compostos orgânicos que possuem quatro anéis aromáticos fundidos, sendo três anéis de ciclohexano de seis membros e um anel de ciclopentano de cinco membros. Os diferentes grupos funcionais, e sua configuração, ligados ao núcleo de quatro anéis, seu estado de oxidação e a presença da cadeia lateral proeminente em C₁₇ determinam sua função fisiológica. Dentre os esteroides, destacamos o estriol (1,3,5,(10)-estratriene-3,16 α ,17 β -triol, E3), um dos estrogênios essenciais que apresentam um impacto crítico no funcionamento sexual e reprodutivo e na estrutura óssea.

Isolado em 1923, por Edward Adelbert Doisy, a partir de urina de gestantes, o E3 é o estrogênio dominante durante a gravidez, sendo secretado principalmente pela placenta (Levitz e Young, 1978). O E3 se origina da 16-hidroxição de dehidroepiandrosterona (DHEA) ou sulfato de DHEA (DHEAS) no fígado fetal e é metabolizado pelo esteroide sulfatase na placenta. O DHEA sofre aromatização pela enzima aromatase nos sincitiotrofoblastos da placenta à medida que o sangue flui do concepto para a mãe. Devido à natureza hemocorial da placenta, mais de 90% do estriol formado no sincitiotrofoblasto entra na circulação materna (Thomas e Potter, 2013). O E3 é então transportado para o fígado materno, sendo rapidamente conjugado pela enzima glucuroniltransferase para torná-lo mais solúvel em água para ser excretado pela urina.

Essencial para o funcionamento sexual e reprodutivo e na estrutura óssea, o E3 sintético vem sendo usado no tratamento de doenças urogenitais em mulheres na menopausa, utilizado em pílulas anticoncepcionais e na terapia de reposição hormonal (Hayashi *et al.*, 2000; Leelawattana *et al.*, 2000; Takahashi *et al.*, 2000; Ishiko *et al.*, 2001; Speroff, 2003). Apesar dos papéis funcionais e fisiológicos do E3 não serem totalmente compreendidos (Cohen, 1985; Watson *et al.*, 2008), devido à natureza hemecorial, entrando na circulação materna, este pode ser um importante biomarcador da saúde fetal. A concentração média de E3 urinário aumenta gradualmente até a 12^a semana de gestação, e em seguida aumenta rapidamente até preceder o trabalho de parto. Deste modo, ensaios de E3 tem sido utilizados para avaliar a função fetoplacentária desde a década de 60.

Apesar de sua importância, o estriol não degrada completamente ao entrar nos cursos das águas (Yoshimoto *et al.*, 2004; Cincotto *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016; Ochiai, L. M. *et al.*, 2017) sendo um poluente em águas ambientais e em organismos aquáticos (Chen e Huang, 2013; Gan *et al.*, 2013). Entretanto, encontramos poucos estudos que se utilizam da técnica de eletrodos impressos para a detecção de E3. Ochiai *et al.* (2017) desenvolveram um dispositivo

eletroanalítico baseados em fios de algodão que serviriam como o canal de solução. Os pesquisadores cobriram a superfície de eletrodos impressos em tela modificados com nanotubos de carbono para a determinação amperométrica de E3 em amostras farmacêuticas. Conseqüentemente, o monitoramento do E3 no ambiente aquáticos está se tornando uma questão de prioridade (Cesarino e Hümmelgen, 2015).

6. Serotonina

Ao final da década de 40, Maurice Rapport e Irvine Page isolaram e caracterizaram a serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) (Rapport *et al.*, 1948), período no qual pesquisadores tinham como objetivo caracterizar substâncias vasoconstritoras supostamente presente em plaquetas (Reid e Bick, 1942; Zucker, 1944). Humphrey e Jaques, em 1954, demonstraram que a 5-HT circulante era transportada primariamente em plaquetas em várias espécies animais, suspeitando-se de que essa substância pudesse desempenhar algum papel na hemostasia, sendo rapidamente identificada em vários tecidos, incluindo cérebro, pulmões, rins, plaquetas e o trato gastrointestinal (Humphrey e Jaques, 1954).

Ao final da década de 50, pesquisadores propuseram o papel neurotransmissor para 5-HT baseados em estudos que demonstravam a localização de seus receptores em áreas específicas em cérebros de vertebrados (Brodie e Shore, 1957). Posteriormente, estudos demonstraram que 5-HT localizava-se principalmente nas terminações nervosas em preparações isoladas de cérebro de mamíferos (Michaelson e Whittaker, 1963; Zieher e De Robertis, 1963). Dahlstrom & Fuxe (1964) foram os primeiros a mapear núcleos específicos no cérebro que continham 5-HT. Tal grupo de neurônios ficou conhecido como sistema serotoninérgico (Darhstrom, 1964). Os neurônios serotoninérgicos inervam várias regiões do Sistema Nervoso Central (SNC) e conectam-se a diversos sistemas neuronais (Audet *et al.*, 1989). A ativação desse sistema pode influenciar a expressão de vários genes, resultando em mudanças da atividade celular (Brodie e Shore, 1957). Estudos indicam que o sistema de sinalização intracelular da 5-HT tem sido preservado ao longo de aproximadamente dois milhões de anos de evolução nos seres que vão de protozoários a mamíferos (Turlejski, 1996).

Tal importância é ligada aos papéis que a mesma pode atuar, dependendo da posição em que o organismo ocupa na escala filogenética, como sinalizador celular, neuromodulador, hormônio ou neurotransmissor (Buznikov, 1991; Côté *et al.*, 2007). Em mamíferos, amplamente distribuída no encéfalo, a 5-HT atua como sinalizador celular, neuromodulador, hormônio ou neurotransmissor (Buznikov, 1991; Fabre e Hamon, 2003). Sua produção é dividida em duas etapas: inicialmente, o aminoácido triptofano sofre hidroxilação originando o

5-hidroxitriptofano (5-HTP), por ação da enzima triptofano hidroxilase. Posteriormente, o 5-HTP é descarboxilado pela enzima L- aminoácido aromático descarboxilase originando a 5-HT (Clark *et al.*, 1954). A 5-HT controla diversas funções cerebrais, regulando o sono, a agressividade, a temperatura corporal, o desejo sexual e a dor. Além disso, a 5-HT está diretamente relacionada com diversas condições patológicas, dentre elas a depressão (Moriarty *et al.*, 2012; Newberg *et al.*, 2012).

Neste contexto, atualmente observa-se um aumento pronunciado na preocupação da população com assuntos relacionados à sua saúde e bem-estar, e como consequência, resultou no aumento do consumo de suplementos alimentares que eventualmente possam trazer benefícios a saúde física e mental. Deste modo, nota-se um consumo crescente de suplementos alimentares, que contêm 5-hidroxitriptofano (5-HTP), para minimizar sintomas de doenças como a depressão, fibromialgia, transtorno do sono, humor e ansiedade (Shaw *et al.*, 2002; Iovieno *et al.*, 2011). Neste contexto, determinar níveis de serotonina é demasiadamente importante, deste modo diversos eletrodos têm sido propostos para sua detecção. Gomez *et al.* (2015), desenvolveram um SPE para a determinação de amostras de serotonina através da modificação do eletrodo de trabalho com nanotubos de carbono de parede simples e de paredes alinhadas e grafeno. Este trabalho apresentou LODs competitivos com relação a outros estudos, além de abrir possibilidades para sua aplicação em análises farmacêuticas no controle de qualidade na determinação de 5-HTP em urina (Gomez *et al.*, 2015).

Um SPE modificado com nanotubos de paredes múltiplas e quitosana foi proposto por Wang *et al.* (2015). Os resultados deste estudo mostraram que o eletrodo foi aplicado com sucesso para detectar o nível de 5-HTP no líquido cefalorraquidiano de rato com excelente seletividade e sensibilidade, além da possibilidade de armazenar o eletrodo modificado de forma estável por pelo menos 3 meses a 4 °C em um refrigerador (Wang *et al.*, 2015). Pesquisadores desenvolveram um novo dispositivo ao customizar um SPE com nanopartículas de polipirrol decoradas com nanopartículas de ouro (Tertiş *et al.*, 2017). Como resultado, a superfície composta pelos dois modificadores demonstrou-se altamente seletiva e sensível à 5-HTP dado ao aumento da área eletroativa, devido à nanoestrutura do polipirrol e ao efeito catalítico do metal nobre. O novo dispositivo foi aplicado na detecção de serotonina em amostras de soro, na presença de espécies interferentes, e demonstrou um desempenho analítico 320 vezes melhor que o do eletrodo nu.

Para desenvolver um método eletroquímico sensível com propriedades adequadas para a determinação de serotonina, dopamina e ácido ascórbico, um SPE foi modificado por nanofios

de $\text{CeO}_2\text{-Au}$ ($\text{CeO}_2\text{-AuNFs}$) e nanofios de RuO_2 monocristalinos (RuO_2NWs), criando uma nova arquitetura híbrida. A arquitetura híbrida $\text{RuO}_2\text{NWs-CeO}_2\text{-AuNFs}$ em combinação com óxidos de grafite e nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizadas, diminuiu os potenciais de trabalho, bem como resolveu a sobreposição dos potenciais de pico de oxidação, sendo aplicado com sucesso para a determinação de serotonina, dopamina e ácido ascórbico em fluidos biológicos e amostras farmacêuticas (Samie e Arvand, 2019). Para a determinação simultânea de serotonina e norepinefrina, nanopartículas de NiFe_2O_4 foram aplicadas com sucesso em um SPE. O eletrodo proposto foi então caracterizado por voltametria cíclica, cronoamperometria e voltametria de pulso diferencial. Foi observado que o eletrodo possuía maior atividade eletrocatalítica para a oxidação da serotonina permitindo a determinação simultânea de serotonina e norepinefrina e suas amostras reais de detecção (Beitollahi *et al.*, 2018).

7. Epinefrina

As catecolaminas são neurotransmissores e/ou hormônios presentes nos sistemas nervoso central (SNC) e periférico (SNP), podendo excitar, inibir ou influenciar a atividade celular. Dentre as catecolaminas, destacamos a epinefrina ([1-(3,4-dihydroxifenil)-2-metilaminoetanol] (EP) também denominada de adrenalina, liberada como sinal à respostas fisiológicas imediatas, como frio, medo, fadiga e choque (Harper *et al.*, 1980). Responsável, principalmente, por ativar o sistema simpático associado com o mecanismo de luta ou fuga, a EP é secretada pela medula das glândulas suprarrenais e nas extremidades das fibras nervosas simpáticas, servindo como um mediador químico para transmitir impulsos nervosos para os órgãos efetores (Davison, 1989; Peaston e Weinkove, 2004). Em tecidos do sistema nervoso central, a EP existe como um cátion orgânico possuindo um modo de ação que está diretamente relacionado a condições externas, como estresse físico ou psicológico, já no cérebro, a EP tem a função de neurotransmissor (Mahmoudi Moghaddam *et al.*, 2015).

Isolada pela primeira vez em 1900 pela Dra. Jokichi Takamine (Saito e Kamiyama, 2011), a EP passou a ser produzida artificialmente por Friedrich Stols (Brucke, 1954). Atualmente, o uso de EP é comum nas práticas médicas e até no ambiente extra-hospitalar para aliviar broncoespasmos, restaurar os batimentos cardíacos no caso de uma parada cardíaca, prolongar o efeito de anestésicos locais, aliviar reações alérgicas graves, entre outros (Goldman e Gilman, 2003; Sheikh *et al.*, 2008; Ferguson-Myrthil, 2012; Oba e Lone, 2014). Segundo Moraes (2010), os níveis de concentração de EP estão intimamente relacionados com diversas doenças, como bronquite asmática, infarto do miocárdio, diabetes, hipertensão arterial, glaucoma e

Parkinson (Moraes, 2010). Muitas reações biológicas têm as propriedades essenciais de reações eletroquímicas, e o processo químico nervoso é um tipo de processo eletroquímico orgânico. Portanto, um estudo sobre o comportamento eletroquímico da EP é de grande ajuda na compreensão dos efeitos do sistema nervoso e dos substitutos artificiais, e é de grande importância para a pesquisa farmacológica.

Arduini et al. (2010) desenvolveram um sensor baseado em um SPE modificado com uma dispersão estável de negro de fumo. Esta sonda mostrou atividade eletroquímica significativamente aumentada em relação a um SPE não modificado (Arduini *et al.*, 2010). Nanohorns de parede simples oxidados foram utilizados pela primeira vez para a modificação de um SPE para a detecção de EP, resultando em desempenhos analíticos elevados quando comparados com outros nanomateriais utilizados literatura para montagem de sensores eletroquímicos (Valentini *et al.*, 2014). Ibáñez-Redín et al. (2017) propuseram SPE, fabricados em PET, quimicamente modificados com negro de fumo e composto de óxido de grafeno eletroquimicamente reduzido, exibindo um melhor desempenho eletrocatalítico em comparação com um SPCE não modificado (Ibáñez-Redín *et al.*, 2018). Beitollahi et al. (2018) modificaram um SPCE com nanopartículas de $Dy_2(WO_4)_3$ para a análise de EP em amostras contendo também acetilcolina. O estudo demonstra que o sensor apresentou excelente comportamento mediador de elétrons na oxidação de EP em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0). A aplicação do dispositivo na voltametria de pulso diferencial (DPV) demonstrou uma resposta distinta para a oxidação da EP e da acetilcolina, com os potenciais dos picos de EP e acetilcolina separados por 550 mV.

CAPÍTULO 2

Objetivos

Objetivo geral

Desenvolvimento de sensores descartáveis a partir da técnica de impressão de tintas condutoras de baixo custo sobre PET para a determinação de compostos de interesse ambiental.

Objetivos específicos

- Desenvolver novas tintas condutoras que possuam aderência ao PET e que sejam flexíveis para evitar possíveis quebras dos eletrodos durante o manuseio do dispositivo;
- Preparar eletrodos a partir da técnica de impressão;
- Caracterizar as superfícies dos eletrodos por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- Caracterizar as tintas condutoras por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR);
- Otimizar os parâmetros de detecção de HQ, E3, EP e 5-HT para os dispositivos descartáveis propostos;
- Detectar HQ, E3, EP e 5-HT em amostras ambientais, farmacêuticas e biológicas

CAPÍTULO 3

1. Material e Métodos

1.1. Reagentes e soluções

Para a fabricação da tinta condutora testou-se diferentes polímeros: verniz automotivo (Verniz 2K Alto Brilho – Lazzudur, Sherwin-Williams[®]) com e sem a adição de diluente (Itaqua[®]); poliéster (Resina de poliéster cristal Arazyn, Redelease[®]); verniz geral (Acrilex[®]); verniz acrílico brilhante (Acrilex[®]); esmalte para unhas (NP, do inglês *nail polish*) (Base Brilho Cuidados, Cora[®]), verniz vitral (GP, do inglês *glass varnish*) (Acrilex[®]) e seu solvente (Acrilex[®]) e, para material condutor: grafite (GP) (Fischer Chemical). Hidroquinona (HQ), estriol (E3), serotonina (5-HT), epinefrina (EP) e demais reagentes utilizados foram adquiridos pela Sigma-Aldrich e/ou Fluka, PA. As amostras farmacêuticas utilizadas foram: creme Vitacid[®] Plus (Theraskin Farmaceutica LTDA), pílula Ovestrion[®] (Laboratórios Eurofarma) e o creme Stele (Biolab Sanus Farmaceutica). Água proveniente de rio e água de distribuição foram utilizadas através da fortificação com os analitos. Urina sintética também foi utilizada nos testes (Silva *et al.*, 2015).

A caracterização eletroquímica dos dispositivos descartáveis foi realizada com uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte e uma mistura equimolar de [Fe(CN)₆]^{3-/4-} 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹ como sonda eletroquímica. Para a detecção dos analitos, as medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹. Para o preparo de todas as soluções foi utilizado água purificada pelo sistema Megapurity, resistividade ≥ 18,0 MΩ cm.

2. Equipamentos

Para a fabricação das máscaras utilizou-se o design proposto por Orzari e colaboradores (2018). As máscaras (Figura 1) foram recortadas com a impressora de corte Silhouette (modelo Cameo3) gerenciada pelo *software* Silhouette Studio[™]. Com o auxílio de um centrifugador assimétrico duplo (SpeedMixer[™] Dac 150.1 FVZ-K, FlackTec Inc) os reagentes foram misturados, desenvolvendo as várias composições de tintas.

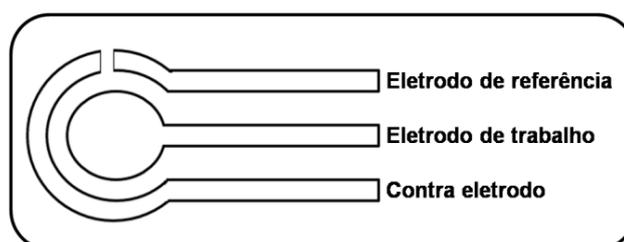


Figura 1. Adaptação da máscara que tem por objetivo delimitar a área a ser impressa (Orzari *et al.*, 2018)

As superfícies dos eletrodos propostos foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com o equipamento Tescan (modelo VEGA3 LMU). As imagens foram realizadas com 15 kV com elétrons secundários. As tintas foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR) com o espectrofotômetro Tensor II (Bruker). Foi desenvolvido um conector (Figura 2A) que permitisse vincular o dispositivo descartável ao potenciostato. Como ilustrado na Figura 2B, três fios condutores com *plugs* do tipo banana foram soldados individualmente em regiões de contato elétrico de um engate de computador (Orzari *et al.*, 2018).

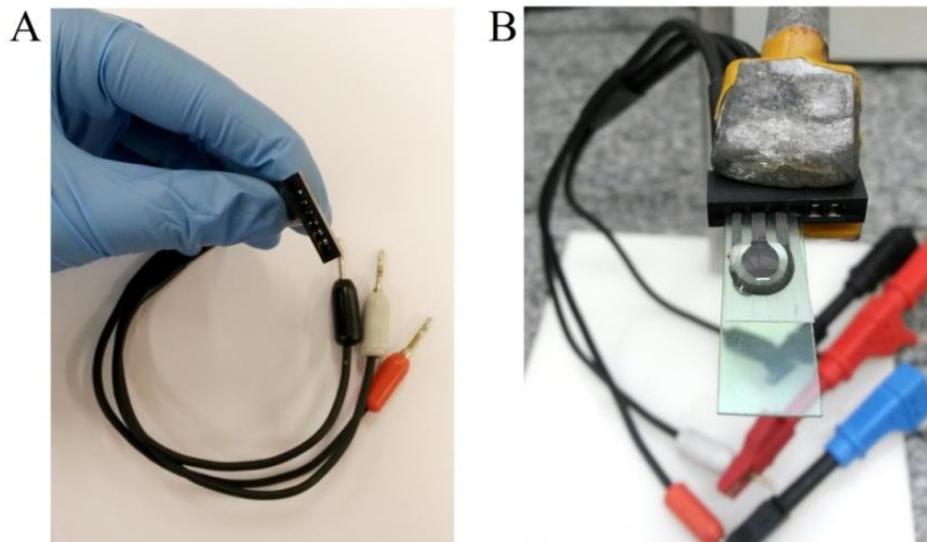


Figura 2. Imagens cedidas por de Araujo Andreotti e colaboradores (2019) (A) Engate de computador com os três fios condutores com *plugs* do tipo banana soldados individualmente nas três primeiras regiões de contato elétrico. (B) É possível visualizar os três eletrodos, que compõem o sensor descartável, encaixados dentro do engate. Foi necessário colocar uma folha de PET limpa abaixo do sensor para que os eletrodos tocassem nos contatos elétricos do engate de computador

Em todas as medidas eletroquímicas utilizou-se o potenciostato/galvanostato AutoLab PGSTAT204 (Metrohm), gerenciado pelo *software* NOVA 2.1. Para o tratamento dos dados utilizou-se o *software* Origin Pro 2016.

3. Desenvolvimento das tintas condutoras e preparo dos dispositivos descartáveis

As tintas condutoras foram obtidas a partir da mistura de diferentes proporções de polímeros e materiais condutores, como exemplificado na etapa 1 (Figuras 3 e 4). Com o auxílio do SpeedMixer™ Dac 150.1 FVZ-K (FlackTec Inc), os reagentes foram misturados seguindo a programação de 3.500 rpm por 3 minutos, repetindo o processo três vezes visando a completa homogeneização (etapa 2, Figuras 3 e 4).

A partir da impressora de corte (Silhouette, modelo Cameo3), máscaras foram recortadas em folhas de papel adesivo (Colacril, Office CC185). O desenho destas foi realizado com o auxílio do *software* Silhouette Studio™. Após os cortes, a parte interna das máscaras foi retirada e, em seguida, as máscaras foram coladas sobre a superfície de uma folha de PET, obtida a partir de garrafas de refrigerante, como demonstrado nas etapas 4 (Figura 3 e 4). Previamente, a folha de PET deve ser lavada com água e detergente neutro. Após a secagem, a folha deve ser lixada numa única direção para facilitar a deposição da tinta sobre as ranhuras do PET – utilizou-se a lixa para massa nº 220 (3M). Em seguida, a folha de PET deve ser limpa com álcool 70% para retirar os resíduos (etapa 2, Figuras 3 e 4).

Uma quantidade de tinta deve ser depositada sobre as máscaras, seguido do espalhamento da mesma sobre o desenho, com o auxílio de uma espátula (etapa 5, Figuras 3 e 4). Rapidamente, as máscaras devem ser retiradas antes que a tinta seque. Após 30 minutos os dispositivos foram recortados individualmente. Para o dispositivo GP-NP/PET, com o auxílio de um pincel do tipo boleador (nº 01, Macrilan®) pintou-se o pseudo-eletrodo de referência com tinta de prata (Electron Microscopy Sciences) obtendo o sensor final, como ilustrado na etapa 6 (Figura 3). Para o dispositivo GP-GV/PET, o eletrodo de referência era composto somente pela tinta GV-NP, como ilustrado na etapa 6 (Figura 4). Aguardou-se 24 h para a secagem completa das tintas. Após o período de tempo, seguiu-se para as caracterizações morfológicas e eletroquímicas (etapa 7, Figuras 3 e 4).

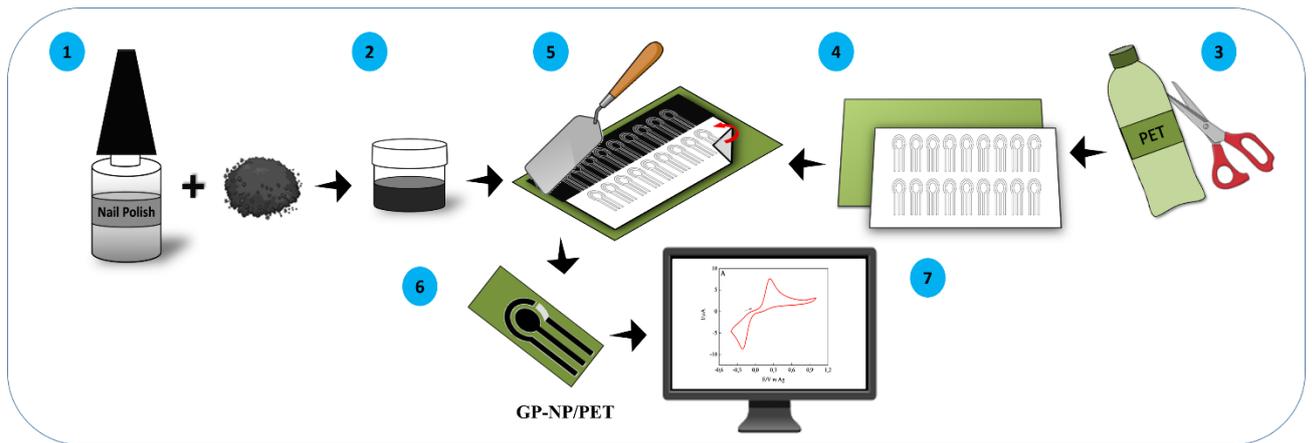


Figura 3. Processo do desenvolvimento da tinta condutora e do dispositivo descartável GP-NP/PET. (1) Inicialmente misturou-se diferentes proporções de grafite e esmalte para unhas, (2) chegando à tinta final. (3) Após o preparo da folha de PET, (4) colou-se as máscaras. (5) Depositou-se uma quantidade generosa de tinta condutora e em seguida espalhou-se com o auxílio de uma espátula. (6) Deixou-se a tinta secar por 30 min e pintou-se o eletrodo de referência com tinta de prata e secagem por 24 h. (7) Realização das medidas eletroquímicas

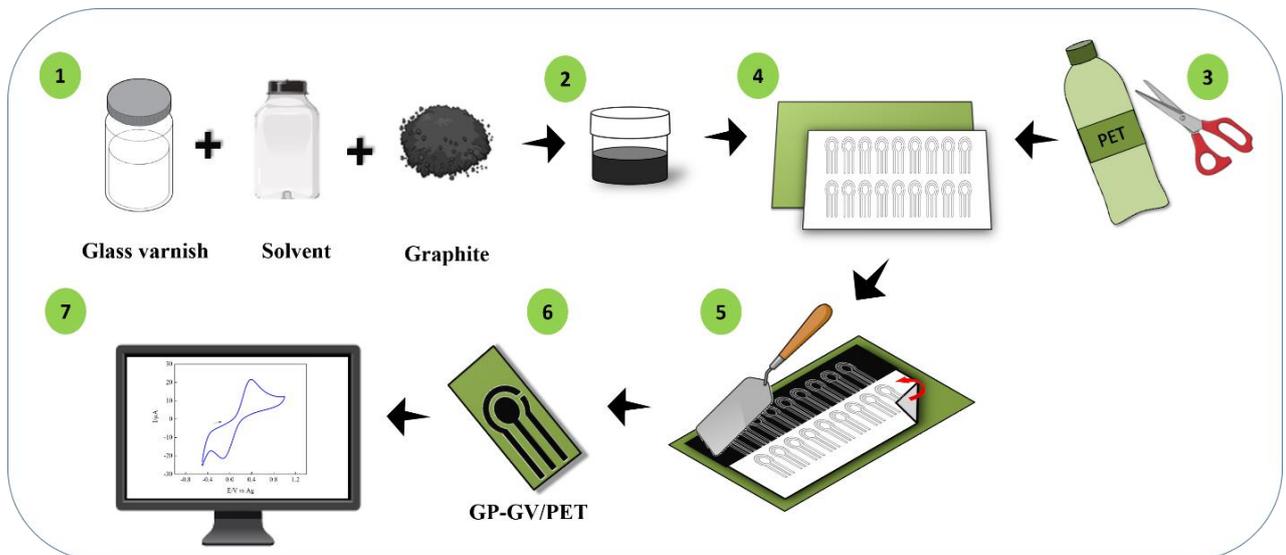


Figura 4. Processo do desenvolvimento da tinta condutora e do dispositivo descartável GP-GV/PET. (1) Inicialmente misturou-se diferentes proporções de grafite e verniz vitral, (2) chegando à tinta final. (3) Após o preparo da folha de PET, (4) colou-se as máscaras. (5) Depositou-se uma quantidade generosa de tinta condutora e em seguida espalhou-se com o auxílio de uma espátula. (6) Deixou-se a tinta secar por 24 h. (7) Realização das medidas eletroquímicas

As caracterizações morfológicas e eletroquímicas foram realizadas 24 horas após o preparo do dispositivo, deixando a tinta secar em temperatura ambiente (25 °C).

4. Caracterizações dos dispositivos descartáveis

4.1. Caracterização morfológica

Os sensores foram caracterizados morfológicamente a partir da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) com o aparelho Tescan (modelo VEGA3 LMU). As imagens foram feitas com 15 kV com elétrons secundários. O dispositivo foi fixado no porta-amostra do aparelho (disco de alumínio de 32 mm de diâmetro) com uma fita dupla face de cobre.

As análises de espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR) foram realizadas com o espectrofotômetro Tensor II (Bruker) com resolução de $4,0 \text{ cm}^{-1}$ no modo de absorbância na faixa de 400 a 4.000 cm^{-1} . Os espectros das amostras secas foram obtidos em pastilhas de KBr (Sigma-Aldrich).

4.2. Caracterização eletroquímica

As técnicas empregadas para as caracterizações eletroquímicas foram: voltametria cíclica (CV, do inglês *Cyclic Voltammetry*), voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*), voltametria linear (LSV, do inglês *Linear Sweep Voltammetry*) e voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *Square Wave Voltammetry*). Todas as medidas foram realizadas com uma gota de $70 \mu\text{L}$ da amostra. Após 40 segundos da aplicação da amostra sobre os eletrodos (tempo de espera, t), realizou-se as medidas visando à padronização dos resultados.

5. Preparo das amostras

A determinação de HQ foi realizada em água de distribuição da cidade de Araras (SP) (-22,311323, -47,384022), água do rio Monjolinho (São Carlos, SP) (-21,985955, -47,880751) e creme dermatológico Vitacid® Plus. Para as amostras em água, as soluções de HQ foram preparadas pela adição de diferentes massas analíticas de interesse, sem qualquer pré-tratamento, e então foram em diluídas em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,5). Para o creme dermatológico, 1 g de creme foi diluído em 10 mL de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,5) para obter a solução de estoque. Alíquotas de diferentes concentrações da solução de estoque foram diluídas em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,5).

As detecções de 5-HT e EP foram realizadas em urina sintética. A urina sintética foi preparada com $1,103 \text{ g L}^{-1}$ de CaCl_2 , $2,925 \text{ g L}^{-1}$ de NaCl , $2,250 \text{ g L}^{-1}$ de Na_2SO_4 , $1,400 \text{ g L}^{-1}$ de KH_2PO_4 , $1,600 \text{ g L}^{-1}$ de KCl , $1,00 \text{ g L}^{-1}$ NH_4Cl , $25,00 \text{ g L}^{-1}$ de uréia e $1,100 \text{ g L}^{-1}$ de creatinina em água ultrapura (Silva *et al.*, 2015). As amostras foram diluídas em urina sintética e alíquotadas em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,0).

Para o creme vaginal, pesou-se 0,29 g e diluiu-se em 100 mL de água ultrapura. Para o comprimido Ovestrion[®], 3 unidades foram macerados e diluídos em 100 mL etanol a fim de se obter uma solução estoque. A partir dos estoques, soluções de concentrações conhecidas foram preparadas para as análises.

CAPÍTULO 4

SENSOR ELETROQUÍMICO DESCARTÁVEL FEITO COM ESMALTE PARA UNHAS E GRAFITE

1. Resultados e Discussão

1.1.Preparo da tinta condutora

Para o preparo da tinta, foram testados diferentes polímeros: verniz automotivo, poliéster, verniz acrílico brilhante para artesanato, verniz geral para artesanato e esmalte para unhas (NP, do inglês *nail polish*). O verniz automotivo é composto por resina acrílica poliuretânica, solventes aromáticos, ésteres e aditivos. Realizaram-se testes variando-se as porcentagens em massa de verniz automotivo e grafite. As tintas resultantes eram espessas, dificultado o manuseio e a impressão sobre a máscara, além de quebrar quando a máscara era retirada. Em seguida, testou-se o poliéster como base de uma nova tinta em diversas porcentagens em massa de poliéster e grafite e observou-se os mesmos problemas das tintas preparadas com verniz automotivo.

Composto por resina acrílica, o verniz brilhante tem como característica principal solubilidade em água. Após testes variando-se as porcentagens, chegou-se a concentração de 55,5% de verniz brilhante e 44,5% de grafite (*m:m*), na qual a tinta não quebrava após a retirada da máscara. Seguiu-se com os testes e imprimiu-se a mesma sobre a folha de PET lixada. Após 24 h de secagem da tinta, realizou-se uma CV com solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ na presença de [Fe(CN)₆]^{3-/4-} 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, para testar a funcionalidade do dispositivo. Como observado na Figura 5A, não obtivemos resposta eletroquímica da sonda redox no dispositivo.

O verniz geral, constituído por resina acrílica e solventes orgânicos, foi misturado ao grafite. Optou-se por seguir a mesma porcentagem da tinta composta por verniz brilhante (55,5% de verniz geral e 44,5% de grafite). Assim como a tinta obtida com o verniz brilhante, esta também não quebrava permitindo a impressão dos eletrodos sobre a folha de PET lixada. Retirou-se as máscaras logo após a impressão, deixando os eletrodos secarem por 24 h. Em seguida, realizou-se uma CV em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ na presença de [Fe(CN)₆]^{3-/4-} 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Ao contrário do dispositivo anterior, obteve-se a ocorrência de uma resposta redox (Figura 5B), entretanto os picos de oxidação e redução apresentavam-se pouco definidos e o sistema demonstrou-se irreversível, com $\Delta E = 1.445 \text{ mV}$.

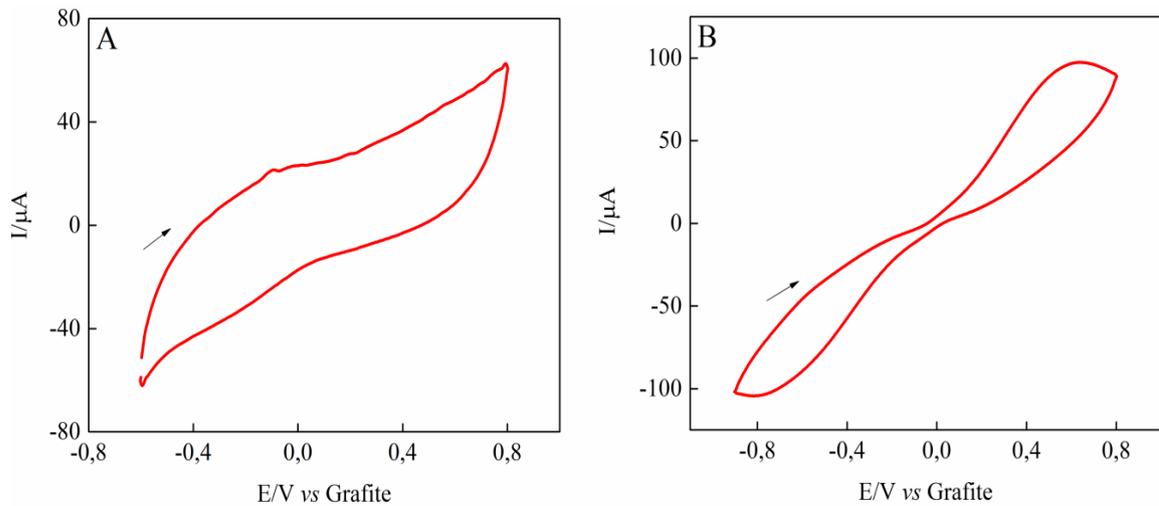


Figura 5. Voltamogramas cíclicos obtidos com solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. As medidas foram realizadas sobre dispositivos descartáveis utilizando uma folha de PET como suporte da impressão dos eletrodos. (A) Dispositivo impresso com tinta composta por verniz brilhante e grafite. (B) Dispositivo impresso com tinta composta por verniz geral e grafite

Testou-se o esmalte para unhas (NP) para a elaboração de uma nova tinta e, dada à baixa viscosidade do polímero, conseguiu-se misturar 47,4% do grafite (GP) com 52,6% de esmalte para unhas ($m:m$). Observou-se que a tinta GP-NP era homogênea enquanto líquida e não quebrava durante e/ou após o processo de impressão. A partir deste resultado imprimiu-se a tinta GP-NP sobre a folha de PET lixada, retirando as máscaras rapidamente, obtendo o dispositivo descartável GP-NP/PET. Foi realizada uma CV com KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, na janela de potenciais de $-0,6 \text{ V}$ a $0,8 \text{ V}$ (Figura 6). Obteve-se um pico anódico de $46,0 \mu\text{A}$, no potencial $0,36 \text{ V}$, e um pico catódico de $-38,5 \mu\text{A}$, no potencial $-0,19 \text{ V}$, com $\Delta E = 249 \text{ mV}$ e I_{p_a}/I_{p_c} de 1,19. A partir destes resultados, os experimentos foram direcionados para as caracterizações do GP-NP/PET.

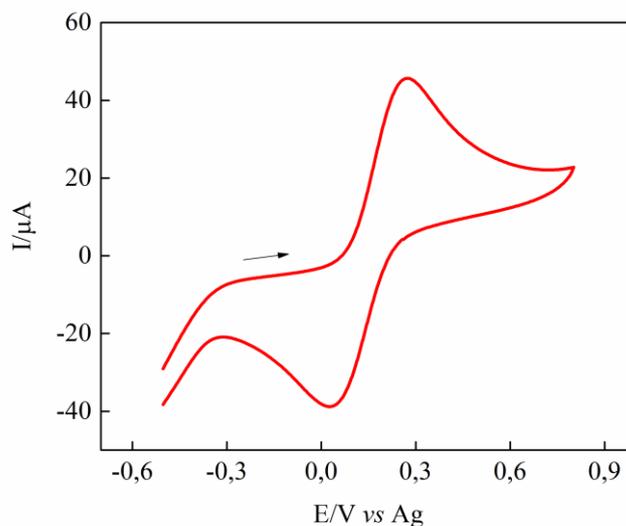


Figura 6. Voltamograma cíclico obtido a partir do dispositivo GP-NP/PET. A medida foi realizada em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

2. Caracterização morfológica

A partir da microscopia eletrônica de varredura, é possível observar que a tinta GP-NP cobriu totalmente a superfície do PET (Figura 7A). Nota-se que a superfície é homogênea possuindo uma topografia rugosa e porosa (Figura 7B), características que acarretam o aumento da área eletroativa do eletrodo de trabalho. A partir das Figuras 7C e 7D observou-se folhas de grafite expostas. Pradela-Filho e colaboradores (2017) observaram uma morfologia heterogênea ao caracterizar um eletrodo de trabalho em papel, sobre o qual foi depositado uma tinta constituída por 80% GP e 20% NP (*m:m*). Tal resultado pode ser devido ao modo de preparo do eletrodo, no qual a tinta foi depositada através da pintura com um pincel. Neste estudo os autores precisaram impermeabilizar a outra face do eletrodo com esmalte para unhas para evitar que o mesmo absorvesse o conteúdo da célula eletroquímica. No presente trabalho, não foi necessário impermeabilizar a superfície já que se utilizou PET como substrato.

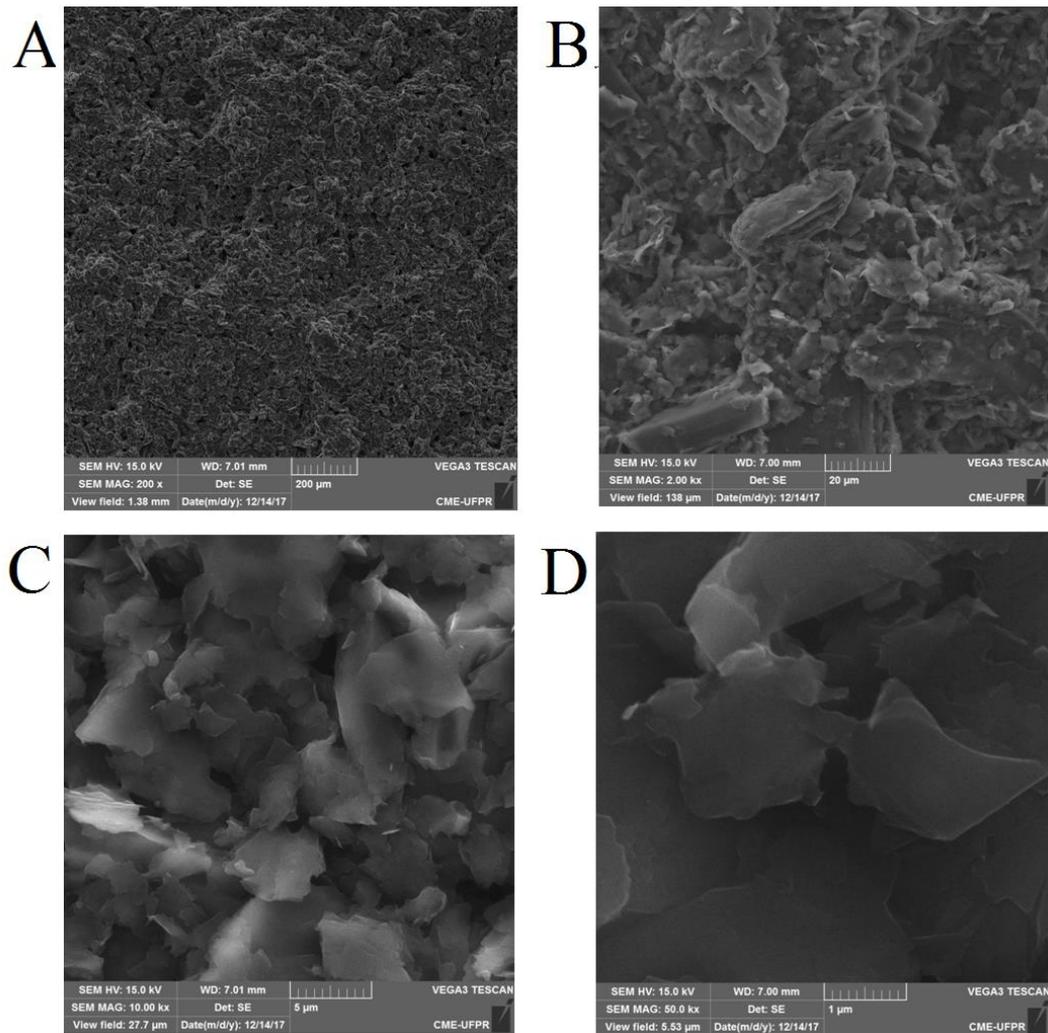


Figura 7. Imagens da tinta impressa sobre o PET obtidas por SEM (A) Ampliação de 200 x. (B) Ampliação de 2.000 x. (C) Ampliação de 10.000 x. (D) Ampliação de 50.000 x

Na Figura 8 é possível observar os espectros de FTIR do esmalte para unhas, tinta condutora e grafite em pó, respectivamente. Observam-se bandas em comum entre os três espectros: bandas O–H em 3.460 cm^{-1} , atribuídas as ligações de hidrogênio (Prabakar e Narayanan, 2006); bandas C–H em 2.924 cm^{-1} , referente a alcanos (estiramento); bandas C=C em 1.632 cm^{-1} , relacionadas aos alquenos (estiramento); bandas CH₃ (dobramento) em 1.384 cm^{-1} ; e bandas C–O (estiramento) em 1.163 cm^{-1} , pertinente a alcoóis saturados (Pavia *et al.*, 2001). No espectro da tinta condutora encontrou-se uma banda N–H (estiramento). Já o espectro do esmalte para unhas apresentou uma banda =C–H em 828 cm^{-1} (dobramento fora do plano), concernente a cadeias aromáticas (Pavia *et al.*, 2001). O grupo funcional =C–H pode ser associada ao tolueno, presente na formulação deste esmalte. Não foi possível diferenciar grupos em comprimentos de bandas menores que 828 cm^{-1} , presente nos espectros de NP e GP-NP dado a complexidade da composição do esmalte para unhas.

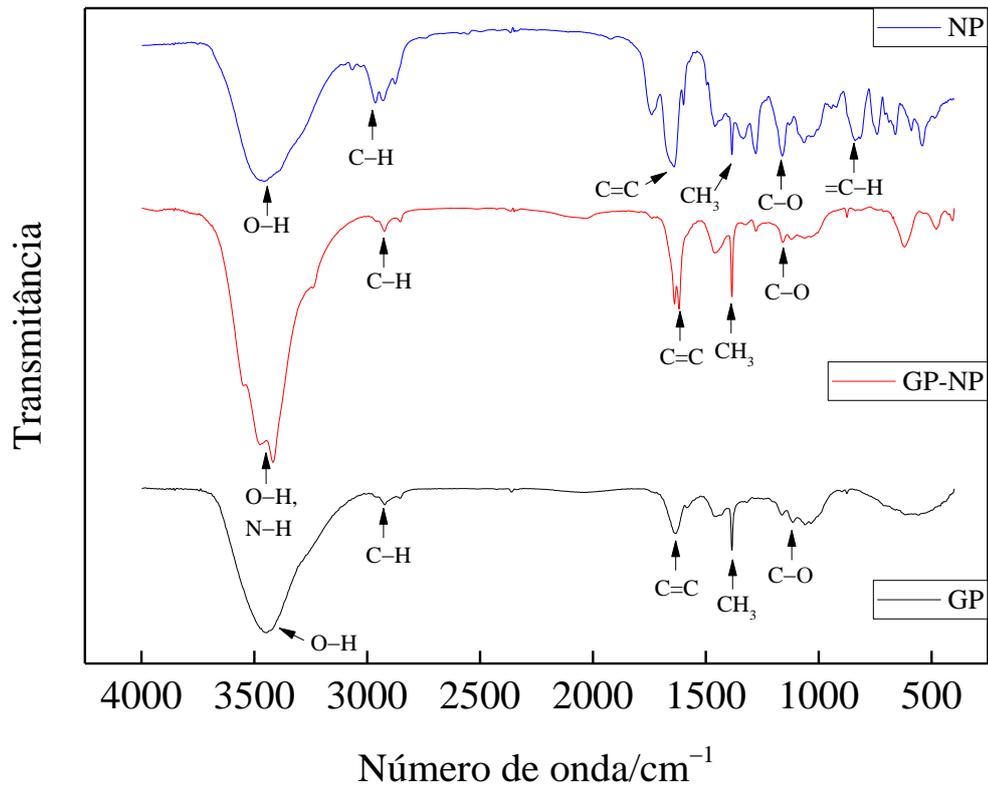


Figura 8. Espectros de FTIR de esmalte para unhas (NP), tinta condutora (GP-NP) e grafite em pó (GP)

O diagrama de Nyquist e o circuito de Randles são apresentados na Figura 9. A partir dos dados presentes neste circuito, destacamos a resistência de transferência de carga obtida de 13,6 k Ω que pode estar relacionada à superfície porosa da tinta no sensor. Na região de alta frequência, a resistência está associada à solução eletrolítica, correspondendo a R_s de 370 Ω . Observando a figura, em frequências mais baixas, as regiões difusionais não obtiveram um crescimento esperado. A alta resistência do dispositivo eletroquímico pode explicar esse comportamento.

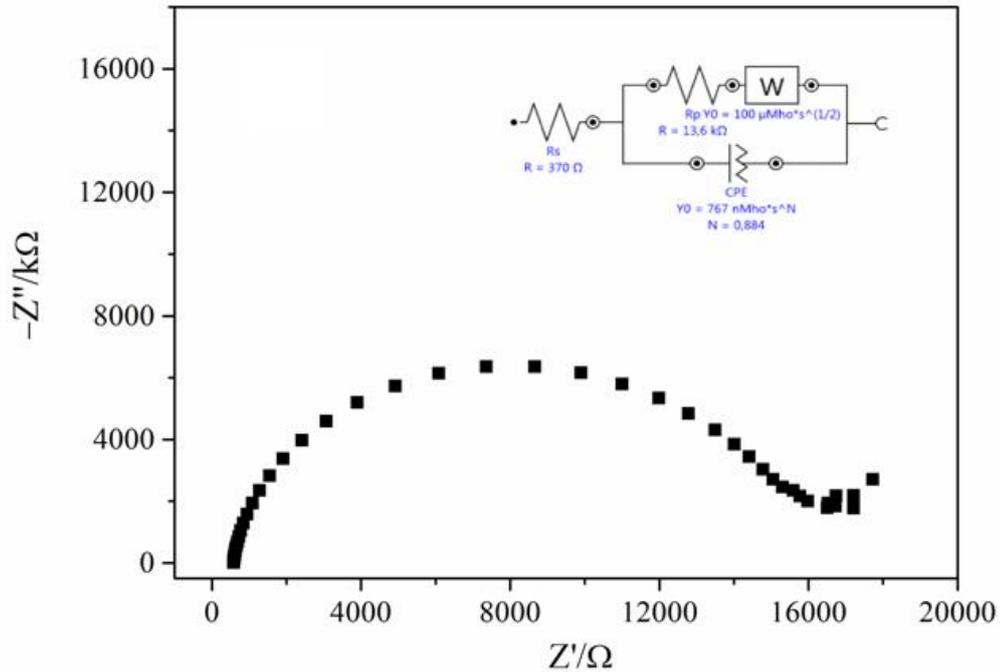


Figura 9. Diagramas de Nyquist do GP-GV/PET na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} equimolar em solução de KCl $0,1$ mol L^{-1}

3. Caracterização eletroquímica do GP-NP/PET

3.1. Área eletroativa

A área eletroativa do GP-NP/PET foi estimada através da equação de Randles-Sevcik (Equação 1) utilizando a voltametria cíclica em diversas velocidades de varredura (ν) (Figura 10A), no intervalo de potenciais de $-0,6$ V a $0,8$ V, em solução de KCl $0,1$ mol L^{-1} e $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de como apresentada abaixo:

$$I_p = 2,69 \times 10^5 A C D^{1/2} n^{3/2} \nu^{1/2} \quad (\text{Equação 1})$$

Na qual I_p refere-se à corrente de pico anódica, A corresponde a área eletroativa (cm^2), C é a concentração da sonda utilizada (mol cm^{-3}), D é o coeficiente de difusão das espécies em solução $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($7,6 \times 10^{-6}$ $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), n refere-se ao número de elétrons transferidos na reação redox e ν trata-se da velocidade de varredura. Obteve-se a área eletroativa de $0,45$ cm^2 para o dispositivo GP-NP/PET. Um aumento nas correntes de pico anódica e catódica é observado à medida que a velocidade de varredura aumenta (Figuras 10A e 10B).

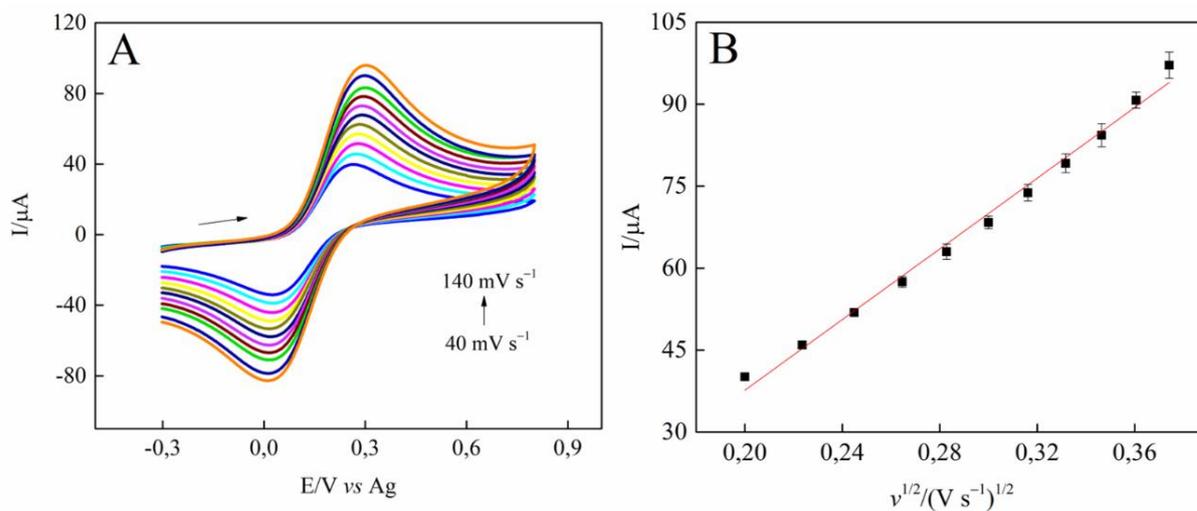


Figura 10. (A) Voltamogramas cíclicos do GP-NP/PET. As medidas em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ no intervalo de potenciais de $-0,6 \text{ V}$ a $0,8 \text{ V}$, para as velocidades de varredura de 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 mV s^{-1} . (B) Gráfico de pontos I vs $v^{1/2}$

4. Caracterização eletroquímica da hidroquinona

Para demonstrar a funcionalidade do dispositivo GP-NP/PET em detectar HQ, realizou-se uma voltametria cíclica em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,5) na presença de HQ $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. A partir do voltamograma obtido para a oxidação de HQ (Figura 11), observa-se um pico anódico de $7,68 \mu\text{A}$, no potencial de $0,24 \text{ V}$, e um pico catódico de $-8,75 \mu\text{A}$, no potencial de $-0,22 \text{ V}$; apresentando I_a/I_c de 0,88 e $\Delta E = 460 \text{ mV}$. Umar e colaboradores (2015) observaram um ΔE de 460 mV ao desenvolver um sensor para a detecção de HQ a partir de um SPE modificado com nanobastões de óxido de zinco dopado com ferro. Os autores concluíram que o que os nanomateriais usados para modificação atuaram como eficientes mediadores de elétrons.

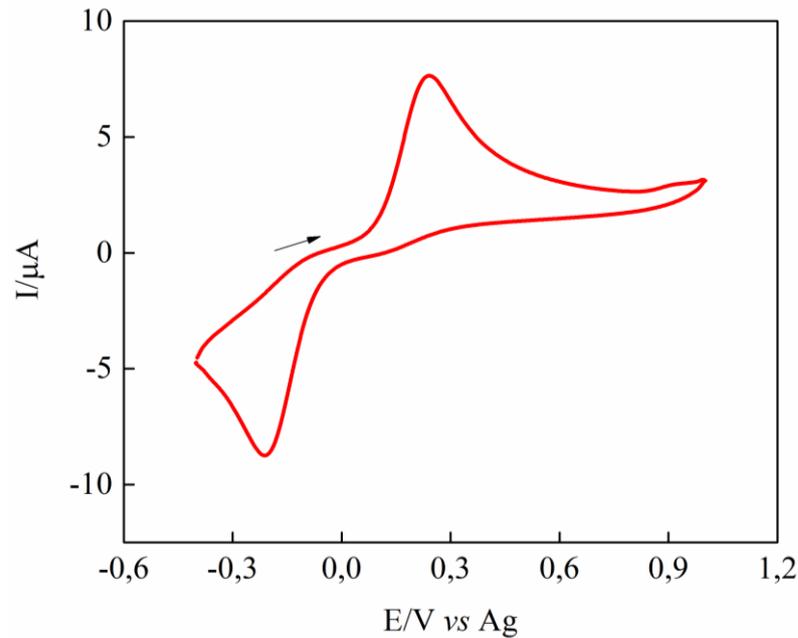


Figura 11. Voltamograma cíclico do GP-NP/PET demonstrando a detecção de HQ pelo GP-NP/PET, solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,5) na presença de HQ $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$

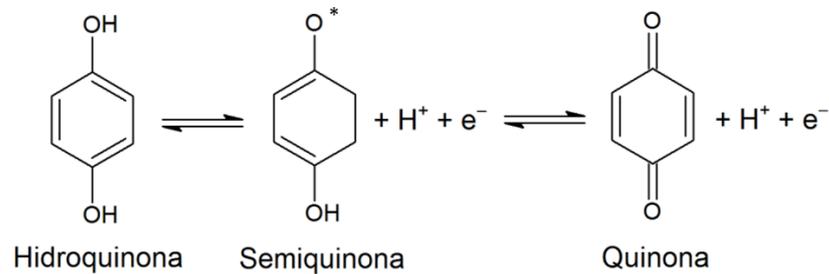


Figura 12. Reação de oxidação da hidroquinona

Em seguida, determinou-se a melhor técnica voltamétrica para a detecção de HQ. Foram testadas as técnicas de voltametria de pulso diferencial (DPV), voltametria linear (LSV) e voltametria de onda quadrada (SWV). As medidas foram realizadas em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) na presença de HQ $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Para a padronização dos resultados, estabeleceu-se um tempo de 40 segundos ($t = 40 \text{ s}$) a partir do gotejamento até o início da medida. Pode-se verificar que o voltamograma obtido pela SWV apresentou o maior valor da corrente de pico no potencial 0,30 V (Figuras 13A e 13B), técnica utilizada para estudos posteriores.

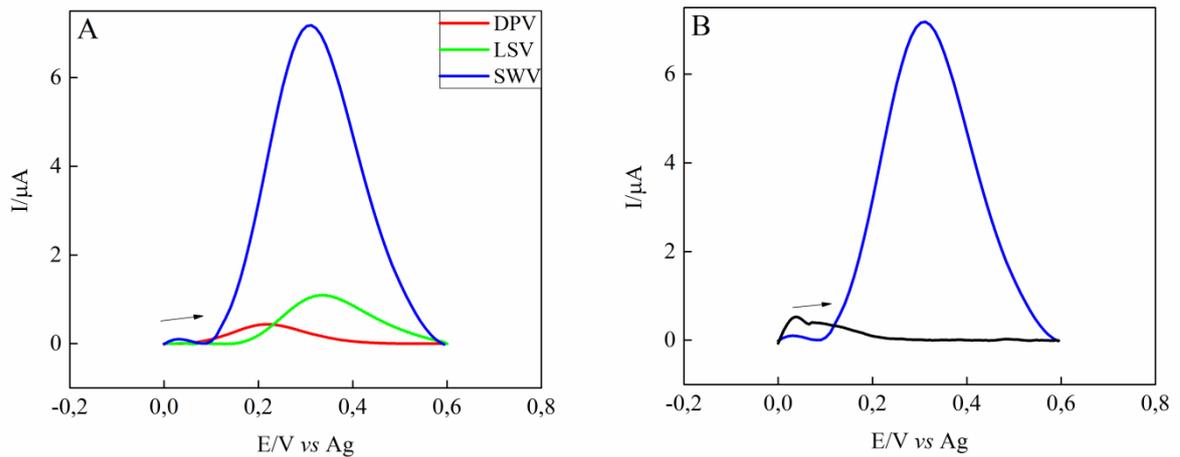


Figura 13. (A) Comparação entre as técnicas DPV (•), LSV (•) e SWV (•), demonstrando que a técnica de SWV apresentou o maior valor da corrente de pico. (B) Voltamograma de onda quadrada obtidos com GP-NP/PET em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0) (•) na presença de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de HQ (pH 7,0) (•), *frequência* = 70 Hz, $t = 40 \text{ s}$

4.1.Otimização dos parâmetros experimentais

A otimização dos parâmetros da voltametria de onda quadrada foi realizada em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) na presença de HQ $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $t = 40 \text{ s}$, sentido anódico. Estudou-se a efetividade da variação da frequência (f), da amplitude de pulso (a) e do degrau de potencial ($step$), respectivamente. A frequência influencia na intensidade do sinal analítico e conseqüentemente na sensibilidade, deste modo foram realizadas medidas variando-se a frequência entre 10 a 100 Hz. Observou-se que aumentando a frequência até 70 Hz a corrente de pico também aumentava (Figura 14A). A partir de 70 Hz, as correntes de pico começaram a variar apresentando considerável desvio padrão (SD, do inglês *Standard Deviation*). Em vista disso escolheu-se a frequência de 70 Hz, que apresentava uma corrente de pico com magnitude maior que as frequências de 60 e 80 Hz e menor SD (Figura 14B).

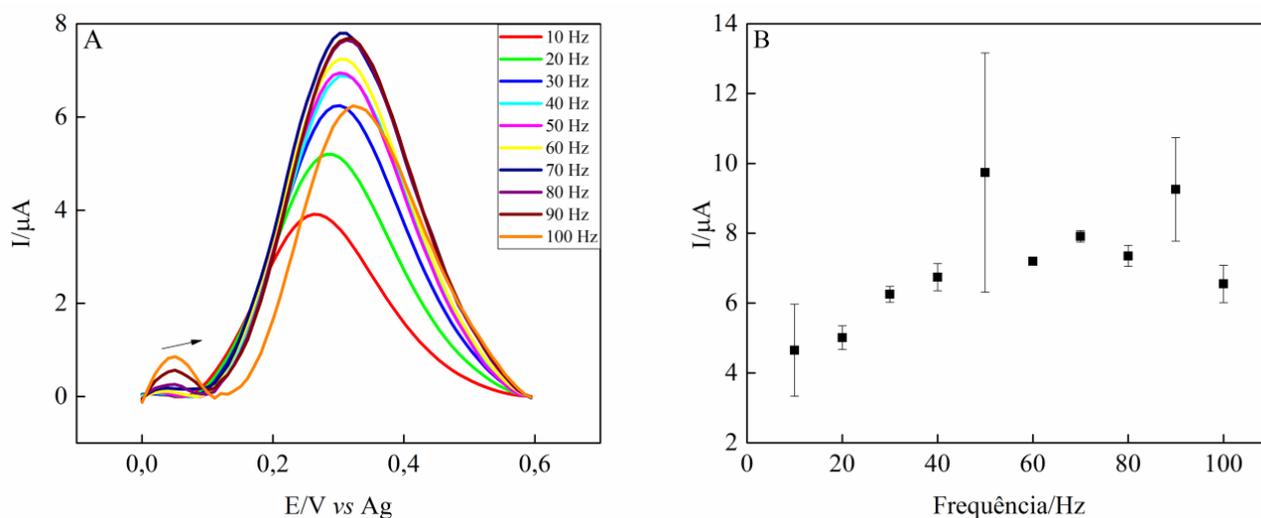


Figura 14. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos nas frequências de 10 até 100 Hz. (B) Gráfico I vs f . As medidas foram realizadas em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) na presença de HQ $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

A amplitude de pulso também interfere na intensidade do sinal analítico. Utilizando $f = 70 \text{ Hz}$, solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) na presença de HQ $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ foram realizadas medidas variando-se a amplitude entre 10 a 100 mV, das quais escolheu-se a de 70 mV (Figura 15A). Observou-se um deslocamento de potencial e o aumento da corrente de pico em concordância com o aumento da amplitude. Optou-se por trabalhar com a amplitude de 60 mV, pois a partir deste valor notou-se uma baixa variação na corrente de pico formando um platô (Figura 15B).

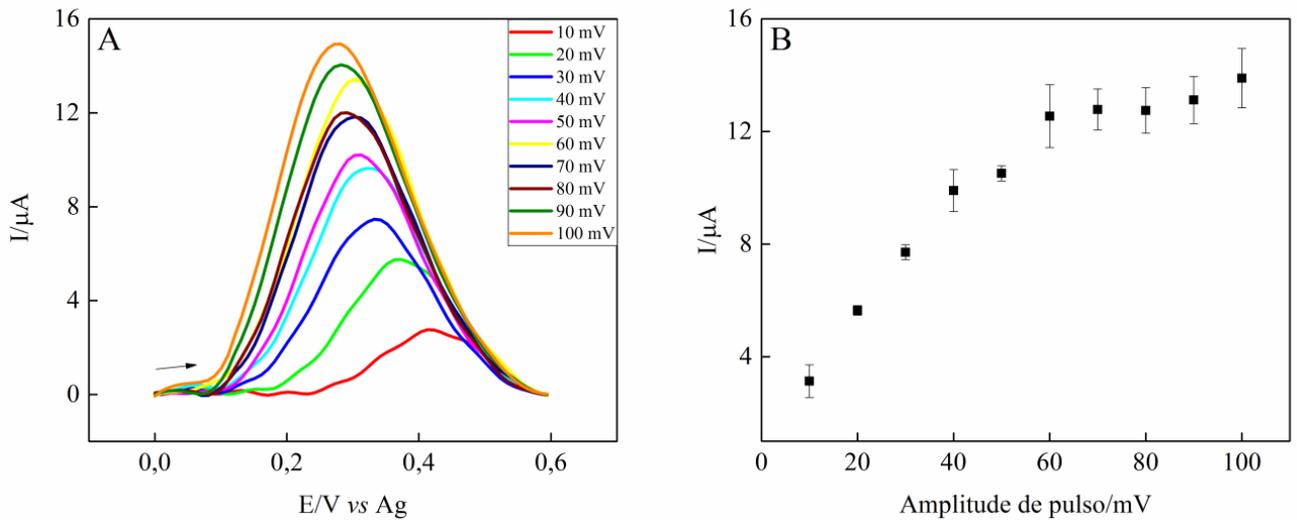


Figura 15. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos variando-se a amplitude de pulso em 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mV, $f = 70$ Hz. (B) Gráfico I vs a . As medidas foram realizadas em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) na presença de HQ $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Posteriormente, utilizando $f = 70$ Hz e $a = 70$ mV, realizou-se as medidas variando o degrau de potencial (*step*) de 1 a 10 mV (Figura 16A). À medida que o *step* aumentava, a corrente de pico também aumentava até o valor de 5 mV (Figura 16B). Para *steps* maiores a corrente atingiu um platô, deste modo escolheu-se o valor de 6 mV.

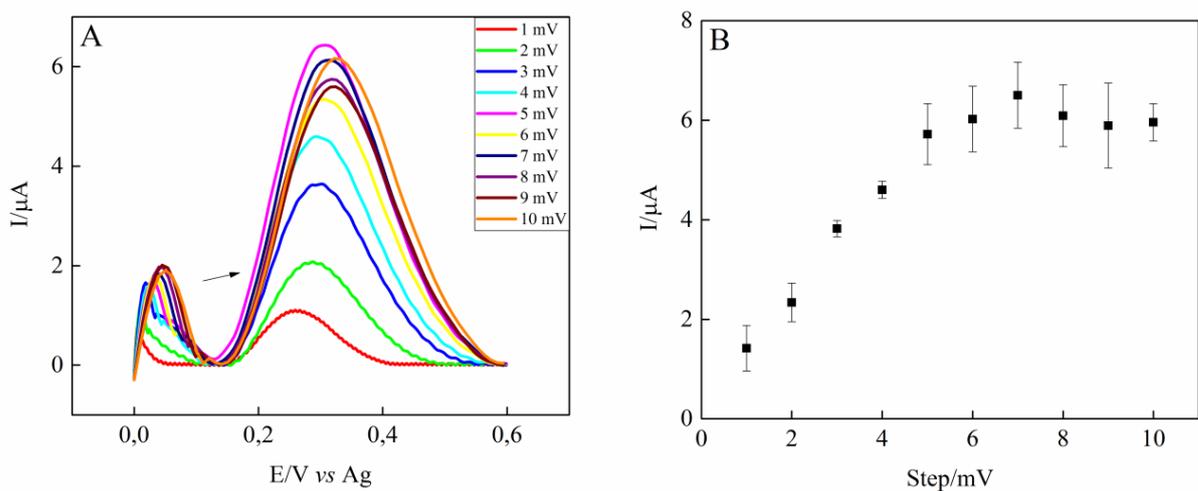


Figura 16. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos variando-se o degrau de potencial de 1 até 10 mV, $f = 70$ Hz e $a = 70$ mV. (B) Gráfico I vs *Step*. As medidas foram realizadas em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) na presença de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de HQ

Após a definição dos parâmetros da técnica, estudou-se como parâmetro químico a influência do pH em relação a resposta analítica. As medidas foram realizadas utilizando uma gota de 70 μL da solução de 0,1 mol L^{-1} de tampão fosfato na presença de HQ $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ nos seguintes valores de pH: 2,5; 3,5; 4,5; 6,0; 7,0 e 9,0. Realizou-se a SWV, $f = 70 \text{ Hz}$, $a = 70 \text{ mV}$, $step = 6 \text{ mV}$, $t = 40 \text{ s}$, sentido anódico. Através da Figura 17A, pode-se observar que a corrente de pico depende do pH, contudo é visto que não há uma linearidade entre eles como, por exemplo, ao se atentar para as respostas da corrente obtidas com os pHs 7,0 e 9,0 (Figura 17B). Dentre os pHs testados, escolheu-se trabalhar com o pH 3,5, o que apresentou maior corrente de pico anódica para HQ.

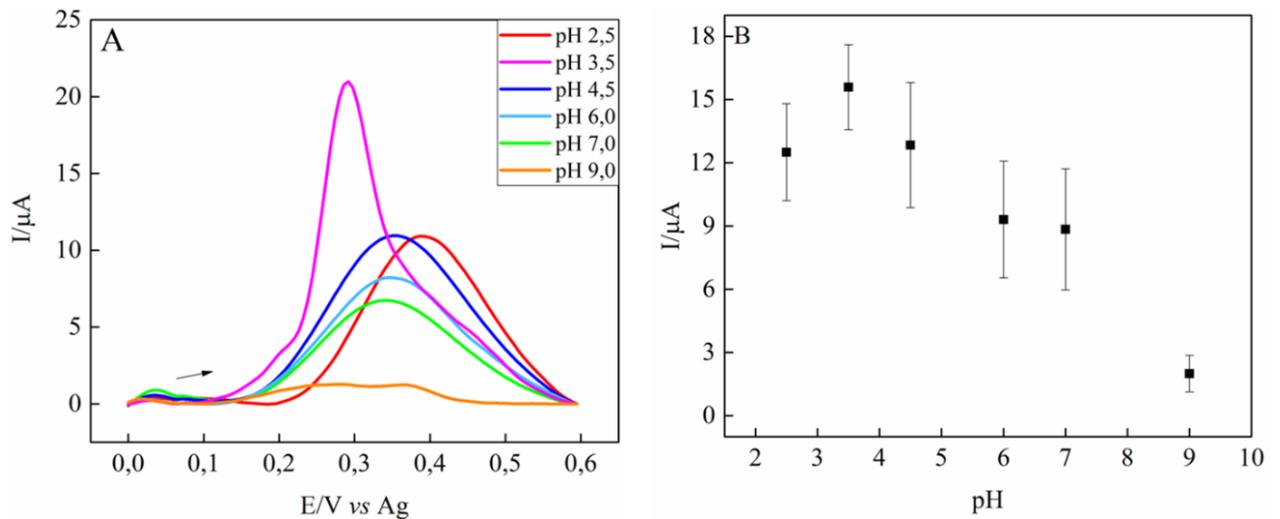


Figura 17. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em solução de tampão fosfato $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de HQ, variando-se o pH em 2,5; 3,5; 4,5; 6,0; 7,0 e 9,0; $f = 70 \text{ Hz}$, $a = 70 \text{ mV}$ e $step = 6 \text{ mV}$. (B) Gráfico I vs pH

Após os estudos de todos os parâmetros para melhor obtenção da resposta de corrente de pico selecionaram-se os valores apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros otimizados para a detecção de hidroquinona pelo dispositivo descartável GP-NP/PET, utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada

Parâmetros	Faixa Estudada	Selecionado
Frequência (Hz)	10 a 100	70
Amplitude de pulso (mV)	10 a 100	70
Step (mV)	1 a 10	6
pH	2,5 a 9,0	3,5

4.1.1. Curva analítica

Após a otimização dos parâmetros experimentais para o GP-NP/PET utilizando a voltametria de onda quadrada, construiu-se a curva analítica para diferentes concentrações de HQ. Foram realizadas medidas únicas e sucessivas de HQ em diferentes concentrações no intervalo de $5,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, obtendo voltamogramas para cada concentração (Figura 18A). Pode-se observar um aumento linear na corrente de pico com o aumento na concentração de HQ (Figura 18B), com coeficiente de correlação linear (r) de 0,99368, coeficiente angular de 0,37834 e R² de 0,98739. A equação da reta é descrita na Equação 2.

$$I(A) = -1,02756 \times 10^{-6} + 0,37834 [HQ]molL^{-1} \quad (\text{Equação 2})$$

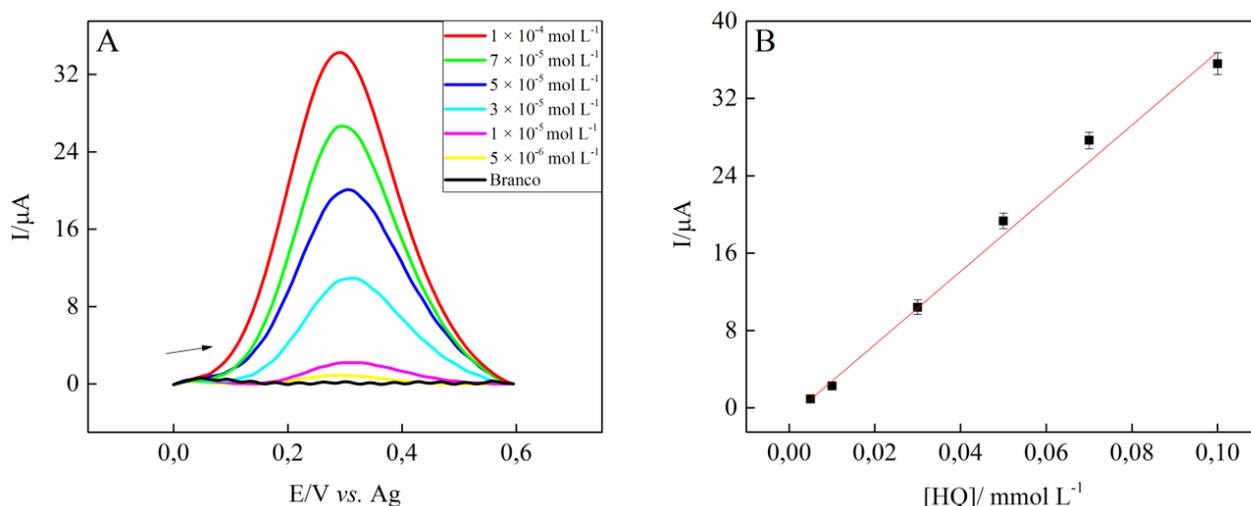


Figura 18. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos a partir de uma gota de 70 μ L da solução de tampão fosfato $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ (pH 3,5) (•), em diferentes concentrações de hidroquinona: $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (•), $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (•), $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (•), $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (•), $7,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (•) e $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (•). (B) Curva analítica obtida para hidroquinona com o dispositivo GP-NP/PET

O limite de detecção (LOD, do inglês *Limit of Detection*) é a menor concentração do analito presente em uma amostra e foi calculado de acordo com a Equação 3, apresentada abaixo:

$$LOD = 3 sd/b \quad (\text{Equação 3})$$

Na qual, *sd* é o desvio padrão dos valores obtidos para dez determinações com o eletrólito sem HQ, utilizando o mesmo potencial de oxidação da HQ e, *b* é o valor do coeficiente angular da curva analítica. Obteve-se um LOD de $1,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

4.1.2. Repetibilidade e reprodutibilidade

Ensaio para o estudo de repetibilidade e reprodutibilidade para o dispositivo descartável GP-NP/PET foram realizados sob as condições anteriormente otimizadas, sendo executados a partir de uma gota de 70 μL da solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,5) na presença de HQ $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Analisando a repetibilidade com $n = 4$, obteve-se o desvio padrão relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*) de 6,5%. Ao estudar a reprodutibilidade com $n = 4$, o RSD foi de 13%.

4.1.3. Determinação de hidroquinona em amostras ambientais e farmacêutica

As amostras ambientais empregadas foram retiradas de água de rio e água potável. A primeira foi coletada no rio Monjolinho (UFSCar – *campus* São Carlos/SP) (Tabela 2), já a segunda foi obtida do sistema de distribuição de água (Tabela 3) (UFSCar – *campus* Araras/SP). Inicialmente, $1,0 \times 10^{-3} \text{ g}$ de HQ foram diluídos nas amostras ambientais para obter a solução estoque. A partir desta solução, alíquotas de diversas concentrações de HQ foram preparadas com a adição de tampão fosfato $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,5).

As Tabelas 2 e 3 mostram as concentrações encontradas utilizando o sensor GP-NP/PET proposto variando de 88,80 a 105,5% para água de rio e 92,80 a 107,20 % para água de distribuição, demonstrando que o dispositivo proposto GP-NP/PET tem ótima aplicação para amostras ambientais.

Tabela 2: Valores de recuperação de hidroquinona em amostras de água de rio

Amostra	Adicionado (mol L⁻¹)	Recuperado (mol L⁻¹)	Porcentagem (%)
A	$3,0 \times 10^{-5}$	$2,7 \times 10^{-5}$	88,80
B	$5,0 \times 10^{-5}$	$4,7 \times 10^{-5}$	93,80
C	$7,0 \times 10^{-5}$	$6,7 \times 10^{-5}$	96,20
D	$1,0 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-4}$	105,5

Tabela 3: Valores de recuperação de hidroquinona em amostras de água de distribuição

Amostra	Adicionado (mol L⁻¹)	Recuperado (mol L⁻¹)	Porcentagem (%)
A	$5,0 \times 10^{-6}$	$4,6 \times 10^{-6}$	92,80
B	$1,0 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-5}$	107,2
C	$3,0 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-5}$	100,8
D	$5,0 \times 10^{-5}$	$5,2 \times 10^{-5}$	103,9
E	$7,0 \times 10^{-5}$	$7,4 \times 10^{-5}$	106,1
F	$1,0 \times 10^{-4}$	$9,9 \times 10^{-5}$	98,50

A eficiência do sensor também foi testada com uma amostra comercial farmacêutica do creme Vitacid® Plus (Theraskin Farmaceutica LTDA.). Esta pomada é um medicamento não cosmético que possui em sua composição, dos quais destacam-se como ingredientes principais, por grama de creme: a HQ (40 mg g^{-1}), a tretinoína ($0,5 \text{ mg g}^{-1}$) e a fluocilonaacetona ($0,1 \text{ mg g}^{-1}$), além dos excipientes *q.s.p* 1 g. Dilui-se 1,0 g da pomada em 10,0 mL de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,5) para obter a solução estoque. A partir da solução estoque, alíquotas de diversas concentrações de HQ foram preparadas com a adição de tampão fosfato $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,5). A Tabela 4 mostra os valores obtidos e o erro relativo, variando de $-5,0$ a $5,7\%$, demonstrando que o sensor proposto tem ótima aplicação para detecção de HQ em amostras farmacêuticas.

Tabela 4: Valores de recuperação de hidroquinona em creme dermatológico

Amostra	Rotulado (mol L⁻¹)	Valor obtido (mol L⁻¹)	Erro relative (%)
A	$5,0 \times 10^{-5}$	$5,1 \times 10^{-5}$	2,0
B	$7,0 \times 10^{-5}$	$7,4 \times 10^{-5}$	5,7
C	$1,0 \times 10^{-4}$	$9,5 \times 10^{-5}$	-5,0

Em busca de avaliar o desempenho do GP-NP/PET, este sensor foi comparado a outros já desenvolvidos, por meio de uma busca na literatura por sensores baseados em materiais de carbono para a determinação de HQ (Tabela 5). Hidroquinona e catecol (CA) geralmente coexistem em amostras ambientais e provocam poluição no meio ambiente. Wang et al. (2010) desenvolveram um método barato, rápido e sensível para a determinação eletroquímica de HQ e CA ao empregar um SPCE* pré-tratados anodicamente. Sob condições otimizadas, o eletrodo apresentou a faixa linear de $1,0 \times 10^{-7}$ a $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ com um LOD de $5,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Já, Du et al. (2011) realizaram a detecção simultânea de HQ e CA a partir de um eletrodo de carbono vítreo modificado com grafeno, obtendo a faixa linear de $1,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e LOD de $1,5 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. O sensor proposto foi aplicado com sucesso na determinação simultânea de HQ e CA na água de torneira. Para alcançar uma alta seletividade na detecção de HQ e CA, Buleandra et al. (2014) modificaram um SPCE com azul da Prússia (PB). O azul da Prússia atuou como um mediador e, assim, aumentou a taxa de transferência de elétrons na reação química. O estudo alcançou uma faixa linear de $4,0 \times 10^{-6}$ a $9,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e um LOD de $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Calaça et al. (2015), a partir de uma célula eletroquímica de três eletrodos convencional, consistindo de um eletrodo de carbono vítreo ($A = 7,07$ mm²), disco de Pt ($A = 12,57$ mm²) como contra-eletrodo e Ag/AgCl (KCl_{sat}) como eletrodo de referência, detectaram HQ em cosméticos clareadores de pele numa faixa linear de $1,5 \times 10^{-5}$ a $1,6 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e um LOD de $3,7 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Um sensor amperométrico de injeção em fluxo foi desenvolvido para a determinação sensível e seletiva de HQ (Upan *et al.*, 2016) e foi incorporado a um SPCE modificado com nanotubos de carbono. O sistema proposto forneceu uma ampla faixa linear entre $1,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Após o levantamento de pesquisas direcionadas para a detecção de HQ (Tabela 5), é possível concluir que o sensor tem faixa linear e o LOD parecido ou superiores a outros dispositivos propostos, junto às características como facilidade no preparo e baixo custo relativo.

Tabela 5: Comparação entre o presente estudo e outros estudos da literatura para a determinação de HQ

Sensor	Faixa linear (mol L ⁻¹)	LOD (mol L ⁻¹)	Referências
SPCE*	$1,0 \times 10^{-7}$ a $5,0 \times 10^{-5}$	$5,0 \times 10^{-8}$	(Wang <i>et al.</i> , 2010)
GR/GCE	$1,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-5}$	$1,5 \times 10^{-8}$	(Du <i>et al.</i> , 2011)
PB-SPCE	$4,0 \times 10^{-6}$ a $9,0 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-6}$	(Buleandra <i>et al.</i> , 2014)
GCE**	$1,5 \times 10^{-5}$ a $1,6 \times 10^{-4}$	$3,7 \times 10^{-6}$	(Calaça <i>et al.</i> , 2015)
SPCE-CNT	$1,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-7}$	(Upan <i>et al.</i> , 2016)
GP-NP/PET	$5,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-8}$	Este estudo

SPCE*: SPCE comercial pré-tratado em um alto potencial de anodização; **GR/GCE**: eletrodo de carbono vítreo (GCE) modificado com grafeno (GR); **PB-SPCE**: SPCE modificado com azul da prússia (PB); **GCE****: eletrodo de carbono vítreo; **SPCE-CNT**: SPCE modificado com nanotubos de carbono (CNT).

4.2.Determinação eletroquímica de EP e 5-HT

Como prova de conceito, o dispositivo GP-NP/PET também foi aplicado na detecção de EP e 5-HT. Deste modo, realizou-se voltametria cíclica na presença de 50×10^{-6} mol L⁻¹ do analito desejado, em meio KCl 0,1 mol L⁻¹, a 50 mV s⁻¹. Pode-se observar que a EP (Figura 19A) apresenta comportamento eletroquímico irreversível, com pico anódico de 360 mV, com magnitude de 1,24 μA. A Figura 19C apresenta o comportamento também irreversível da 5-HT, com pico anódico de 471 mV e corrente de 3,20 μA.

Devido aos comportamentos encontrados pela voltametria cíclica, favorecendo reações de oxidação mais lentas, as curvas analíticas (Figura 19A e 19B) foram obtidas por DPV, $\nu = 30$ mV s⁻¹, com os parâmetros padrão NOVA 2.1. As medidas foram realizadas em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,5), aproximando-se ao máximo de um meio biológico.

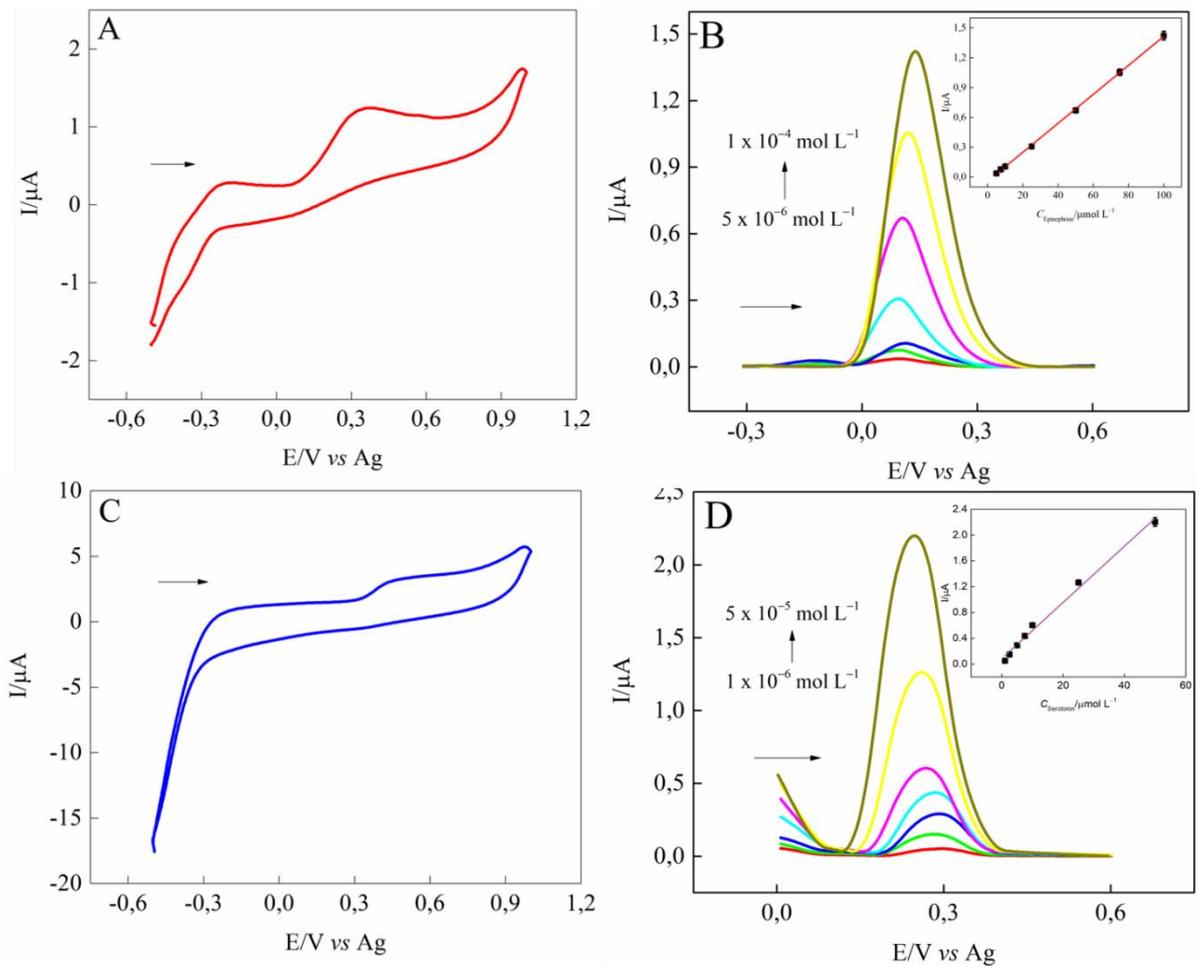


Figura 19: (A) Voltamogramas cíclico de GP-NP/PET na presença de EP $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Voltamogramas de pulsos diferenciais de GP-NP/PET na presença de concentrações variáveis de EP, variando de 5×10^{-6} a $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5). Inserção mostra a curva analítica. (C) Voltamogramas cíclico de GP-NP/PET na presença de 5-HT $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. (D) Voltamogramas de pulsos diferenciais de GP-NP/PET na presença de concentrações variáveis de 5-HT, variando de 1×10^{-6} a $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5). Inserção mostra a curva analítica

As reações de oxidação propostas para a epinefrina e serotonina se encontram nas Figuras 20 e 21. Ambas se apresentam neste trabalho como processos irreversíveis em que dois elétrons e dois prótons são retirados, ocasionando a formação de serotonina quinoneimina e epinefrinaquinona, respectivamente.

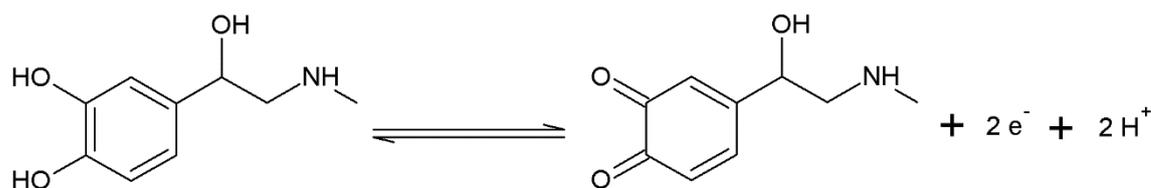


Figura 20: Mecanismo de reação eletroquímica para epinefrina

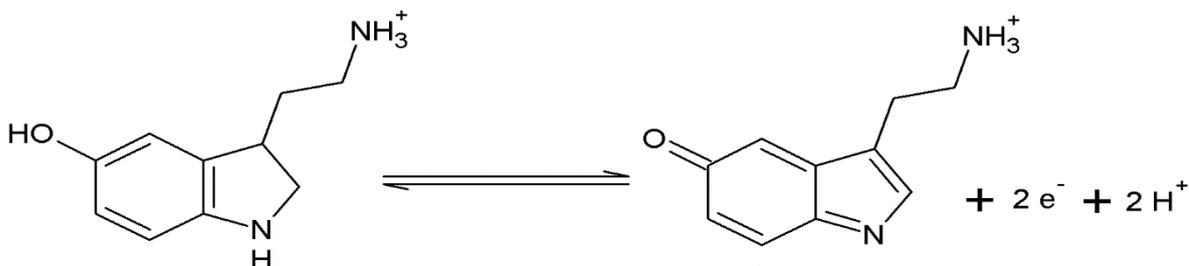


Figura 21: Mecanismo de reação eletroquímica para serotonina

Realizou-se então a construção de duas curvas analíticas, uma para cada analito em questão. Para EP, obteve-se a equação linear $I_p (\mu A) = -4,27868 \times 10^{-8} + 0,1458 [EP] (\mu mol L^{-1})$, com R^2 0,999 e um LOD de $3,11 \times 10^{-7} \mu mol L^{-1}$, de $5,0$ a $1,0 \times 10^{-4} mol L^{-1}$ como faixa de trabalho. No caso 5-HT, uma faixa de trabalho de $1,0$ a $5,0 \times 10^{-5} mol L^{-1}$ forneceu uma equação linear de $I_p (\mu A) = -8,6388 \times 10^{-8} + 0,04351 [5-HT] (\mu mol L^{-1})$, com R^2 de 0,992 e um LOD de $1,04 \times 10^{-7} \mu mol L^{-1}$. O efeito da matriz urinária sintética nas análises de ambos os analitos foi testado pelo método de adição e recuperação, com recuperação obtida variando de 97,7 a 102% e 100%, para EP e 5-HT, respectivamente. A Tabela 6 apresenta esses resultados.

Tabela 6: Valores de recuperação de epinefrina e serotonina em urina sintética

Analito	Amostra	Adicionado (mol L ⁻¹)	Recuperado (mol L ⁻¹)	Porcentagem (%)
Epinefrina	A	$7,5 \times 10^{-5}$	$7,3 \times 10^{-5}$	97,7
	B	10×10^{-4}	$1,0 \times 10^{-4}$	102
Serotonina	A	$1,0 \times 10^{-6}$	$1,0 \times 10^{-6}$	100
	B	$2,5 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-5}$	100

Em busca de avaliar o desempenho do GP-NP/PET, este sensor foi também comparado a outros estudos já desenvolvidos para a detecção de epinefrina e serotonina. Salamini et al. (2005) modificaram um eletrodo impresso com filmes de óxido de irídio hidratado para a

detecção de adrenalina, obtendo uma faixa de concentração de $0,1$ a 15×10^{-6} mol L⁻¹ e um LOD de 3×10^{-8} mol L⁻¹. Apetrei e Apetrei (2015) descrevem as propriedades sensoriais de SPCE modificados com três tipos de materiais carbonados: nanotubos de carbono, microfibras de carbono e grafeno, obtendo melhores resultados para epinefrina com grafeno, com um LOD de $3,52 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Wang et al. (2015) desenvolveram um sensor capaz de detectar simultaneamente norepinefrina (NE) e serotonina (5-HT) a partir de um SPE modificado com MWNTs-ZnO/quitosana. Os resultados mostraram que as respostas de NE e 5-HT aumentaram devido à alta atividade catalítica dos compósitos, com um limite de detecção de 1×10^{-8} mol L⁻¹. Um sensor impresso de ouro coloidal e revestido por uma membrana de Nafion, foi descrito para a determinação de serotonina na presença de altas concentrações de dopamina, ácido ascórbico e ácido úrico. Liu et al. (2019) obteve uma faixa linear de 2×10^{-8} mol L⁻¹ a 5×10^{-4} mol L⁻¹ e um LOD de 5×10^{-9} mol L⁻¹. Ao comparar o dispositivo descartável GP-NP/PET com vários estudos na literatura para detecção de todas essas espécies eletroativas (Tabela 7), pode-se observar que o sensor proposto apresenta faixa linear e LOD satisfatórias, características importantes observadas em um sensor de baixo custo e fácil preparo.

Tabela 7: Comparação entre o presente estudo e outros estudos da literatura para a determinação de epinefrina e serotonina

Espécies	Eletrodo	Limite de detecção	LOD	Referências
		(mol L ⁻¹)	(mol L ⁻¹)	
Epinefrina	SPE modificado	$5,0 \times 10^{-5}$ a $4,0 \times 10^{-6}$	$3,0 \times 10^{-8}$	(Salimi <i>et al.</i> , 2005)
	CNF-SPE	$1,0 \times 10^{-6}$ a 6×10^{-5}	$1,1 \times 10^{-6}$	(Apetrei e Apetrei, 2015)
	GP-NP/PET	$5,0 \times 10^{-6}$ a 1×10^{-4}	$3,1 \times 10^{-7}$	Este estudo
Serotonina	MWNTs-ZnO/quitosana SPE	$1,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-6}$	$1,0 \times 10^{-8}$	(Wang <i>et al.</i> , 2015)
	Nafion/CGSPE	$1,0 \times 10^{-8}$ a $5,0 \times 10^{-4}$	$5,0 \times 10^{-10}$	(Liu <i>et al.</i> , 2010)
	GP-NP/PET	$1,0 \times 10^{-6}$ a 5×10^{-5}	$1,0 \times 10^{-7}$	Este estudo

SPE modificado: eletrodos impressos modificados com uma fina película de óxido de irídio; **CNF-SPE:** eletrodos impressos modificados com nanofibras de carbono; **MWNTs-ZnO/quitosana SPE:**

eletrodo impresso com compósito óxido de zinco e quitosana; **Nafion/CGSPE:** Eletrodo impresso modificado com ouro coloidal revestido com membrana de Nafion

CAPÍTULO 5

DESENVOLVIMENTO DE UMA TINTA CONDUTORA A PARTIR DE VERNIZ VITRAL E GRAFITE PARA A ELABORAÇÃO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO

1. Resultados e Discussão

1.1. Caracterização morfológica e eletroquímica do GP-GV/PET

A partir da Figura 22A, é possível observar que a tinta GP-GV possui flexibilidade quando sujeito a torções, assim como a tinta desenvolvida para o dispositivo GP-NP/PET. Neste contexto, as características podem ser conferidas pela existência de resina alquídica, presente na composição do verniz vitral. O dispositivo possui aproximadamente 2,9 cm de comprimento (Figura 22B).

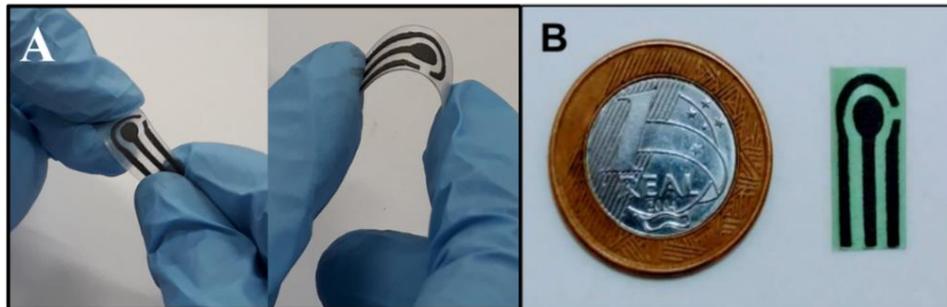


Figura 22. (A) Dispositivo dobrado demonstrando a flexibilidade da tinta GP-GV. (B) Comparação de tamanho entre o GP-GV/PET com uma moeda real brasileira

Ao realizar a microscopia eletrônica de varredura (MEV), pode-se observar que a tinta cobriu toda a superfície delimitada pela máscara de forma homogênea (Figura 23A1). Destaca-se em A2 (Figura 23) a superfície do PET lixada, na qual podemos visualizar as ranhuras causadas pela lixa na preparação da folha de PET (Figura 23A3). Em A4 e A5 (Figura 23) é possível observar que a superfície pintada com a tinta GP-GV é rugosa e porosa, aumentando, assim, a área geométrica do eletrodo de trabalho.

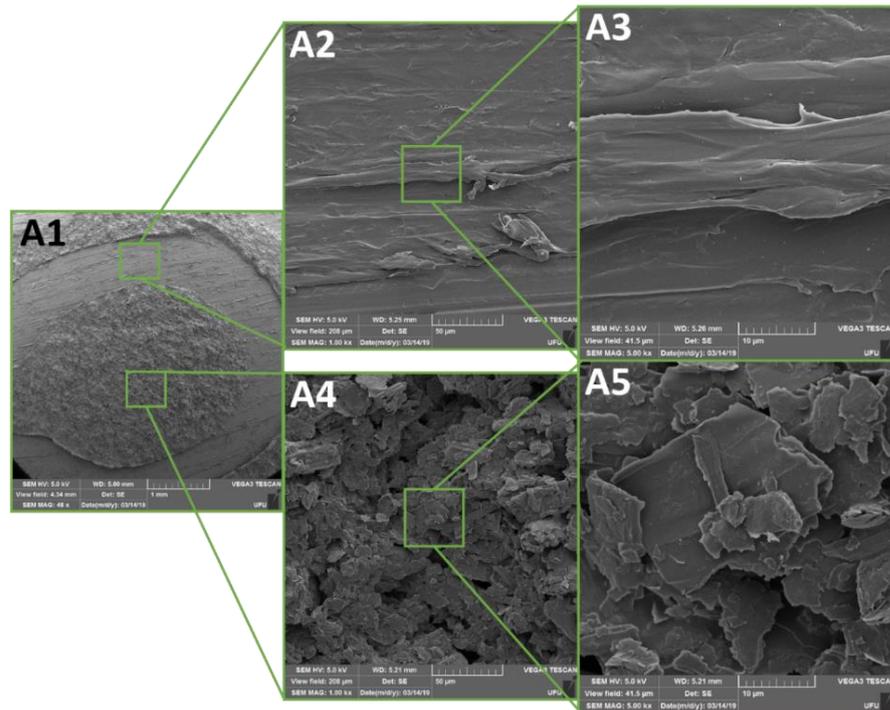


Figura 23. Imagens da tinta impressa sobre PET obtidas por MEV. (A1) Ampliação de 40 x sobre o dispositivo. (A2) Ampliação de 1000 x sobre o PET. (A3) Ampliação de 5.000 x sobre o PET. (A4) Ampliação de 1000 x sobre a tinta impressa. (A5) Ampliação de 5000 x sobre a tinta impressa.

A técnica EIS é um método complexo, mas de grande eficiência para caracterização de interface. Devido à sua natureza, os dados resultantes podem contribuir com várias propriedades físico-químicas, como a resistência do eletrodo-solução e os parâmetros cinéticos. Pode ser visto no diagrama de Nyquist e seu circuito (Figura 24) que o arco capacitivo tem um diâmetro de $13,6 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$, tal valor correspondendo à transferência de massa ou resistência de polarização (R_p). Na região de alta frequência, temos um R_s de 569Ω . Também podemos observar o valor de da capacitância da dupla camada (C_{dc}) além da impedância de Warburg (W) – referente ao comportamento difusional das espécies eletroativas.

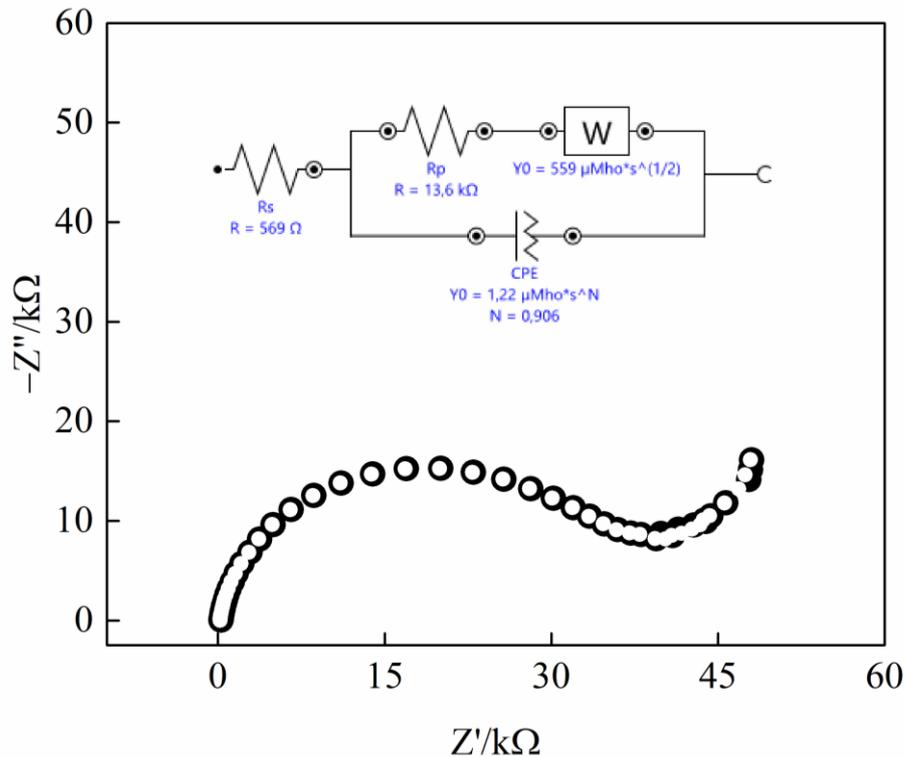


Figura 24. Diagramas de Nyquist do GP-GV/PET na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} equimolar em solução de KCl 0,1 mol L^{-1}

A tinta GP-GV também foi caracterizada pelo uso da técnica FTIR. Com a noção de qual grupo funcional está presente em GP-GV durante as medições, é possível discernir, ou mesmo esperar, diferentes comportamentos eletroquímicos, especialmente na presença do analito. A Figura 25 mostra os espectros de FTIR do GP-GV, GP e GV. Os espectros de GV apresentam bandas, tais como a vibração assimétrica e simétrica de COO^- em éter a 1730 e 1450 cm^{-1} , respectivamente; as vibrações C-O-C e C-O a 1240 e 1150 cm^{-1} (Akartasse *et al.*, 2017). Devido às possíveis interações GP e GV, a banda C=O da tinta, a 1731 cm^{-1} , diminuiu. Além disso, é possível observar bandas comuns entre os três espectros: a 3421 cm^{-1} de N-H e bandas O-H , atribuídas a ligações de hidrogênio; bandas C=C a 1636 cm^{-1} referentes a alcenos; bandas C-C a 1386 cm^{-1} , referindo-se a alcanos e C-H bandas a 613 cm^{-1} , referindo-se a aromáticos (fora do plano de flexão).

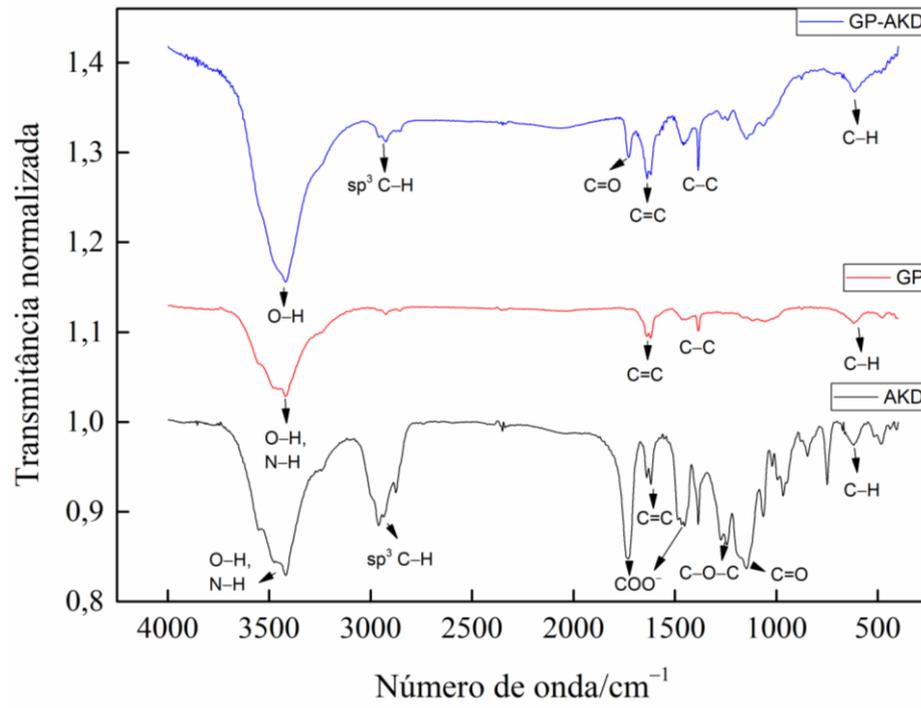


Figura 25. Espectros de FTIR de GP-GV (azul), GP (vermelho) e GV (preto)

A fim de avaliar adequadamente o comportamento eletroquímico do dispositivo GP-GV/PET, o sensor foi testado com voltametria cíclica com $0,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ equimolar, em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, na qual se pode observar um pico anódico de $21,6 \mu\text{A}$, em $0,39 \text{ V}$ e um pico catódico de $21,4 \mu\text{A}$, em $0,12 \text{ V}$ (Figura 26). A relação I_a/I_c calculada é 1,0 e a separação pico a pico corresponde a 510 mV .

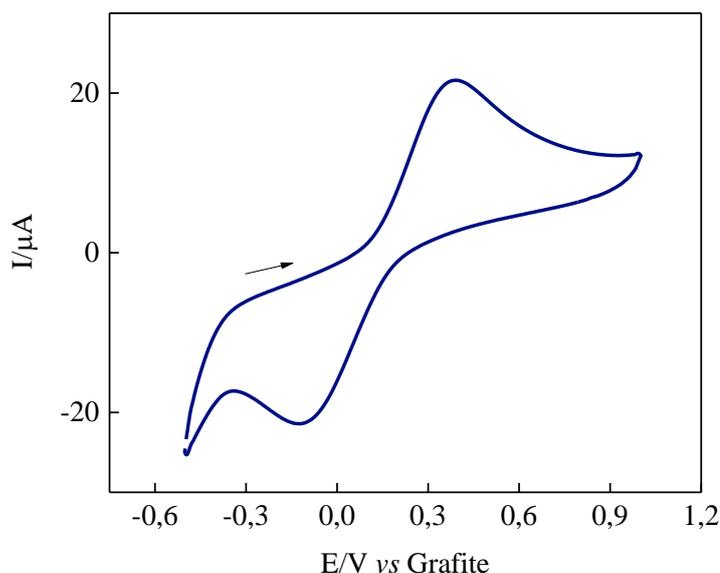


Figura 26. Voltamograma cíclico de GP-GV/PET em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ equimolar $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

A área eletroativa do eletrodo de trabalho foi estimada por voltametria cíclica (Figura 27) baseada na equação de Randles-Sevcik (Equação 1) em velocidades de varredura variando de 50 a 160 mV s^{-1} usando $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ equimolar $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ como sonda, em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A área eletroativa obtida foi $3,0 \times 10^{-3} \text{ cm}^2$. Orzari et al. (2018) obteve uma área eletroativa de $2,0 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$, tal resultado pode ser devido ao dispositivo ser composto apenas de grafite a lápis sobre papelão corrugado (Orzari *et al.*, 2018). Neste estudo, grafite pode ter sido perdido ao pintar os sensores além do problema do papelão absorver a amostra. Já, Andreotti et al. (2019) ao desenvolver um dispositivo impresso, com uma tinta composta por esmalte para unhas e grafite em pó, conseguiram uma área eletroativa de $0,45 \text{ cm}^2$ (De Araujo Andreotti *et al.*, 2019). A partir da tinta, Andreotti et al. (2019) pode reter grafite em sua composição, aumentando assim, a área eletroativa do dispositivo. O substrato também interfere de maneira significativa, pois o PET não absorve a amostra e é quimicamente inerte. Ao comparar as áreas eletroativas de GP-NP/PET e GP-GV/PET observamos uma diferença, o primeiro têm $4,5 \times 10^{-1} \text{ cm}^2$, já, o segundo possui $3,0 \times 10^{-3}$. Tal diferença pode ser atribuída ao polímero utilizado.

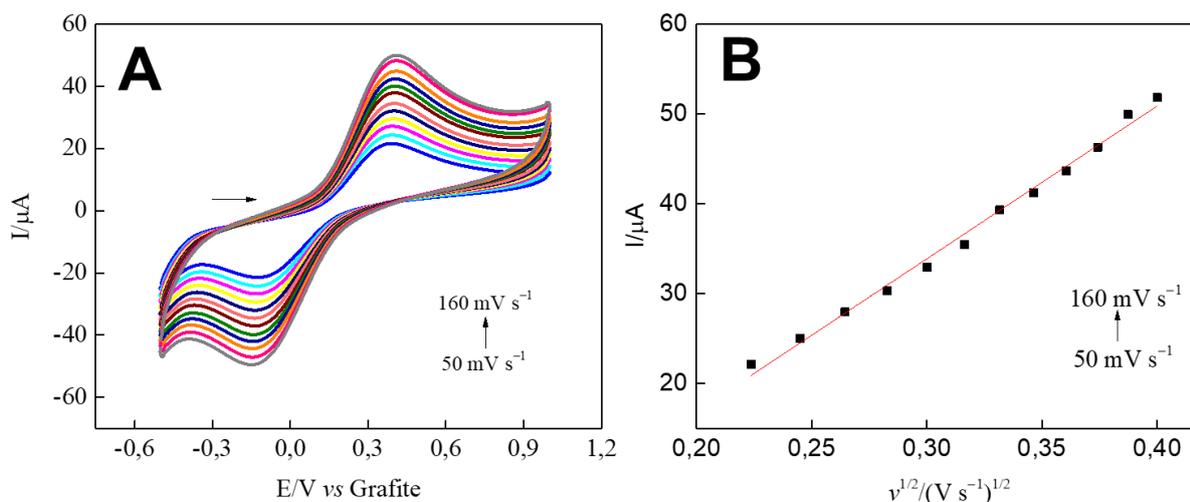


Figura 27. (A) Voltametria cíclica do dispositivo GP-GV/PET na presença de solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ equimolar $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, variando as velocidades de varredura de 50 a 160 mV s^{-1} (B) Gráfico de pontos I_p vs $v^{1/2}$.

A partir desses dados, seguiu-se os ensaios para avaliar seu potencial de aplicação como um sensor voltamétrico para a determinação de E3.

2. Determinação eletroquímica de E3 com eletrodo descartável GP-GV/PET

2.1. Comportamento eletroquímico de E3

Como descrito anteriormente, a detecção de EDCs é de importância emergente, e, entre eles, o E3 é destacado devido à sua associação inerente com o ciclo de reprodução humana e a assistência à saúde da gravidez. Com tal alvo, o dispositivo desenvolvido foi aplicado em sua detecção, também como prova de conceito. O comportamento eletroquímico da molécula foi analisado por voltametria cíclica em solução fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,4) na presença de E3 $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ (Figura 28). É possível observar um pico anódico de $3,0 \mu\text{A}$ em $0,53 \text{ V}$.

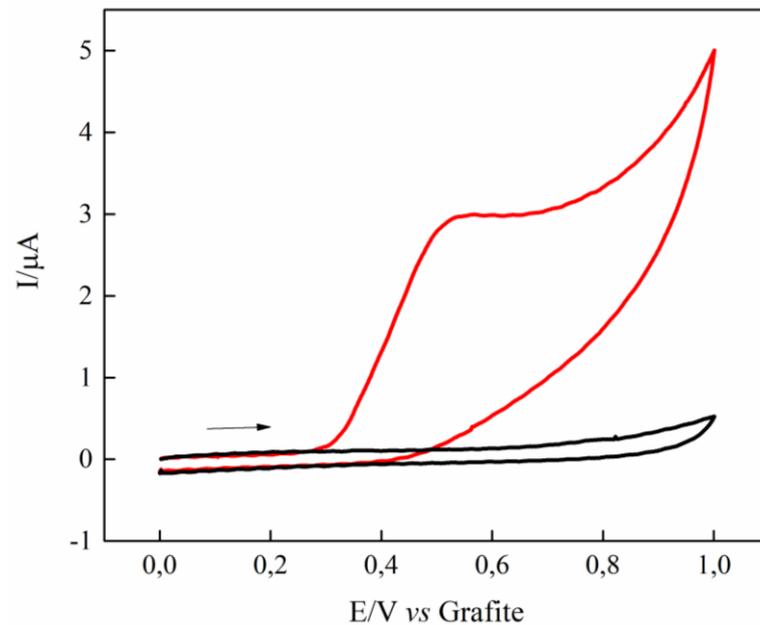


Figura 28. Voltamogramas cíclicos de GP-GV/PET com solução fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,4) (•) e $E3 \ 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (●), $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$

Considerando a semelhança entre o perfil de voltametria cíclica do estriol com dos demais hormônios femininos, suas estruturas moleculares e seus comportamentos eletroquímicos, podemos ilustrar o seu mecanismo de oxidação, representado na Figura 28 (Santos, 2013)

A oxidação eletroquímica do estriol, em um processo de transferência que envolve o mesmo número de elétrons e prótons, demonstra um comportamento característico para oxidação de compostos fenólicos que, em sua estrutura, contenham um grupo hidroxila (Figura 29). Portanto, há na oxidação do estriol uma transferência de dois elétrons, e, conseqüentemente, há formação um íon fenóxido (Cesarino *et al.*, 2015).

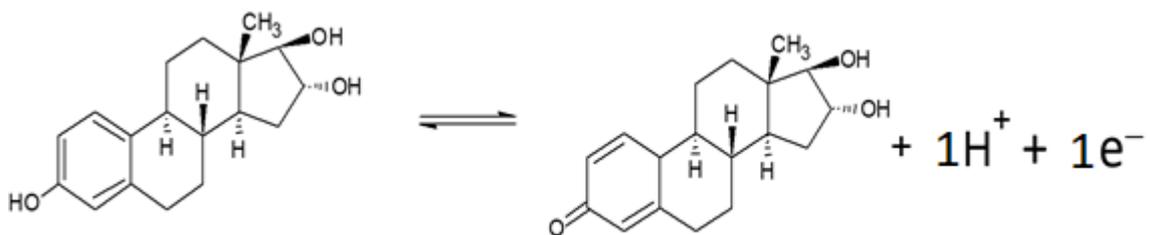


Figura 29: Mecanismo eletroquímico proposto para a oxidação do estriol

Em seguida, foi determinada a melhor técnica voltamétrica para a detecção do analito; como mostrado na Figura 30, voltametria de onda quadrada (SWV) e voltametria de pulso

diferencial (DPV) foram testadas usando tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,7) na presença de E3 $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A técnica de SWV apresentou um pico de corrente anódica de $0,7 \mu\text{A}$, a $0,51 \text{ V}$. Os testes de ambas as técnicas foram efetuados a partir dos parâmetros padrões oferecidos pelo *software* NOVA 2.1.3, tendo, para SWV, uma velocidade de varredura (ν) de 125 mV s^{-1} e para DPV $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$.

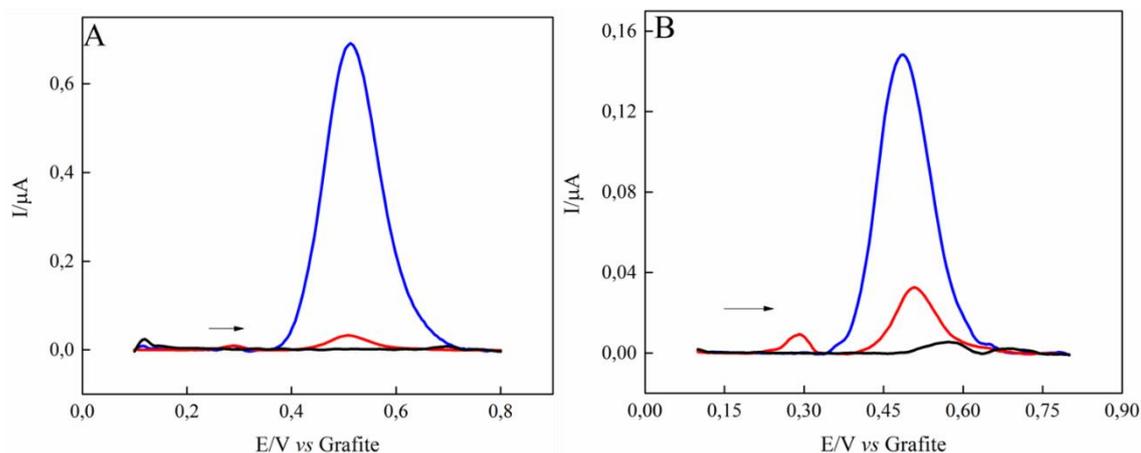


Figura 30. Voltamogramas obtidos com GP-GV/PET na presença de E3 $10 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (•) e $10 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (•) em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,7) (•); DPV: $a = 25 \text{ mV}$, tempo de modulação = 50 ms , $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$; SWV: $f = 25 \text{ Hz}$, $t = 40 \text{ ms}$. (A) Voltametria de onda quadrada. (B) Voltametria de pulso diferencial

Dado esses parâmetros, e considerando a característica de cinética rápida para SWV, temos que quanto maior a velocidade com que acontece a varredura dos potenciais, maior é a corrente obtida. Além disso, a técnica de pulso diferencial, conhecida por ser de cinética lenta, dificilmente conseguiria apresentar um voltamograma sem distorções em ν maiores que 30 mV s^{-1} , e, como o gráfico da comparação entre as duas técnicas demonstra (Figura 31), técnicas com velocidades maiores apresentam um voltamograma com correntes de picos maiores, fazendo com que a SWV fosse a técnica escolhida para a detecção de E3.

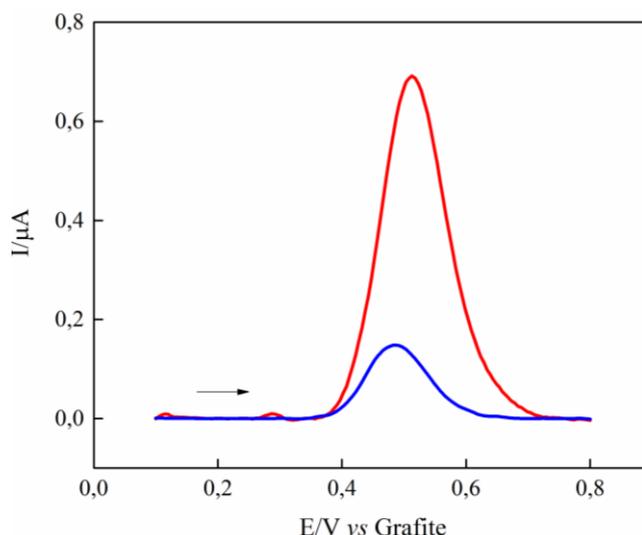


Figura 31. Comparação entre as técnicas de DPV (•) e SWV (•). Voltamogramas de onda quadrada obtidos com GP-GV/PET na presença de E3 $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,7); DPV: $a = 25 \text{ mV}$, tempo de modulação = 50 ms , $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$; SWV: $f = 25 \text{ Hz}$, $t = 40 \text{ ms}$.

2.2.Otimização dos parâmetros de voltametria de onda quadrada

Para SWV, faz-se necessária a otimização de quatro parâmetros, sendo eles: frequência, amplitude, step e pH do meio. Na análise de frequência, foram estudados os valores de 10 a 100 Hz em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,7) na presença de E3 $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 32); os valores de amplitude e step foram os padrões disponibilizados pelo *software* NOVA 2.1.3, sendo 20 mV e 5 mV , respectivamente. É possível notar um aumento na corrente conforme há um aumento da frequência. A frequência escolhida foi a de 90 Hz por apresentar a maior corrente de pico, além de um desvio padrão menor das triplicatas se comparadas com as demais frequências de corrente elevada.

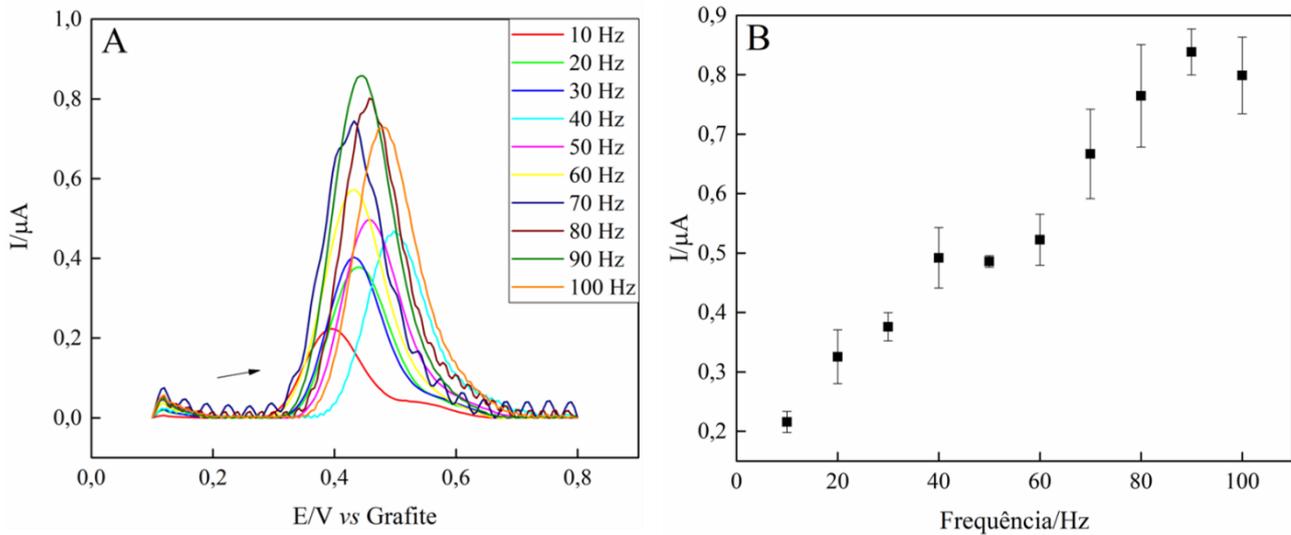


Figura 32. (A) Voltamogramas de onda quadrada de GP-GV/PET em presença de E3 1×10^{-3} mol L⁻¹ e tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,7) para as frequências 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 Hz; step = 5 mV, amplitude = 20 mV. (B) I/μA vs Frequência/Hz.

O segundo parâmetro analisado foi a amplitude, sendo estudado os valores em 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mV, como mostra a Figura 33. Nota-se um aumento nas correntes de pico com o aumento da amplitude de pulso. A amplitude escolhida foi a de 80 mV por apresentar uma das maiores correntes de picos dentre as demais e um desvio padrão menor das triplicas. O fato do pico estar presente no potencial ideal também foi um diferencial na escolha, dado que as amplitudes de 70 e 90 também apresentaram correntes de picos maiores, porém com desvios do potencial ideal.

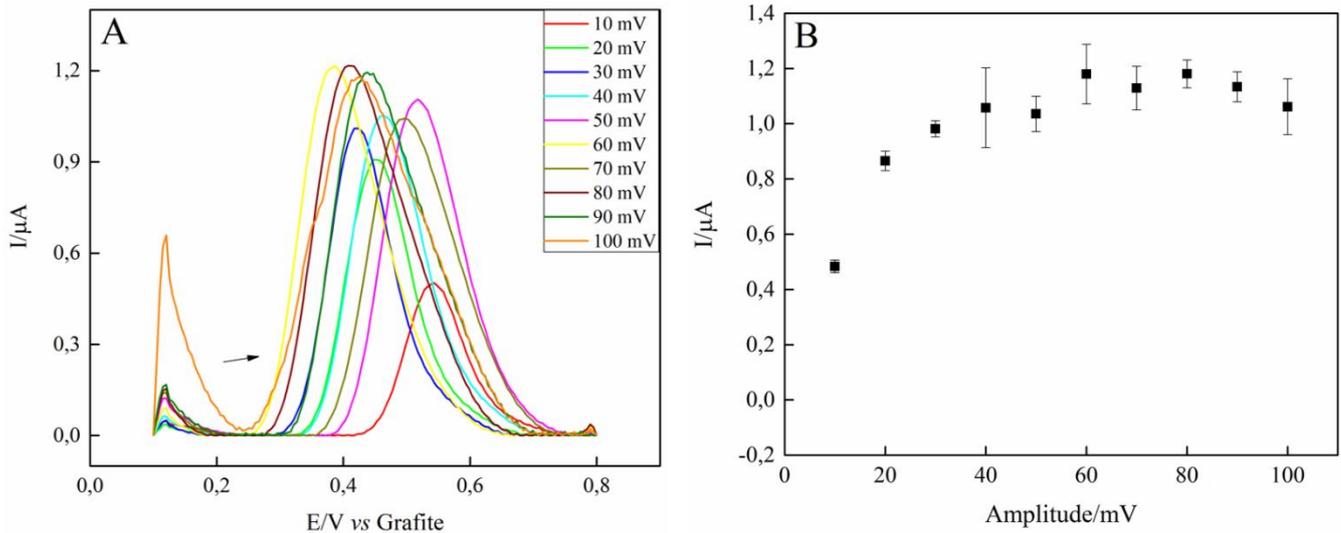


Figura 33. (A) Voltamogramas de onda quadrada de GP-GV/PET em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,7) na presença de E3 1 × 10⁻⁵ mol L⁻¹ para as amplitudes 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mV; step = 5 mV, frequência = 90 Hz. (B) I/μA vs Amplitude/mV.

Em seguida, foram estudados os valores de step com frequência e amplitudes já otimizados, 90Hz e 80mV, respectivamente. Os valores estudados foram de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 mV. Foi possível observar vários valores tendo o potencial deslocado durante as medidas, como mostra Figura 34A, porém, dentro das triplicatas era possível se obter voltamogramas no potencial referente ao E3. Mesmo não sendo a maior corrente e tendo o potencial deslocado do ideal, o valor de 9 mV foi escolhido por apresentar picos de reprodução parecidas, com desvio padrão significativamente menor que o de 10mV, que apresenta maior corrente de pico.

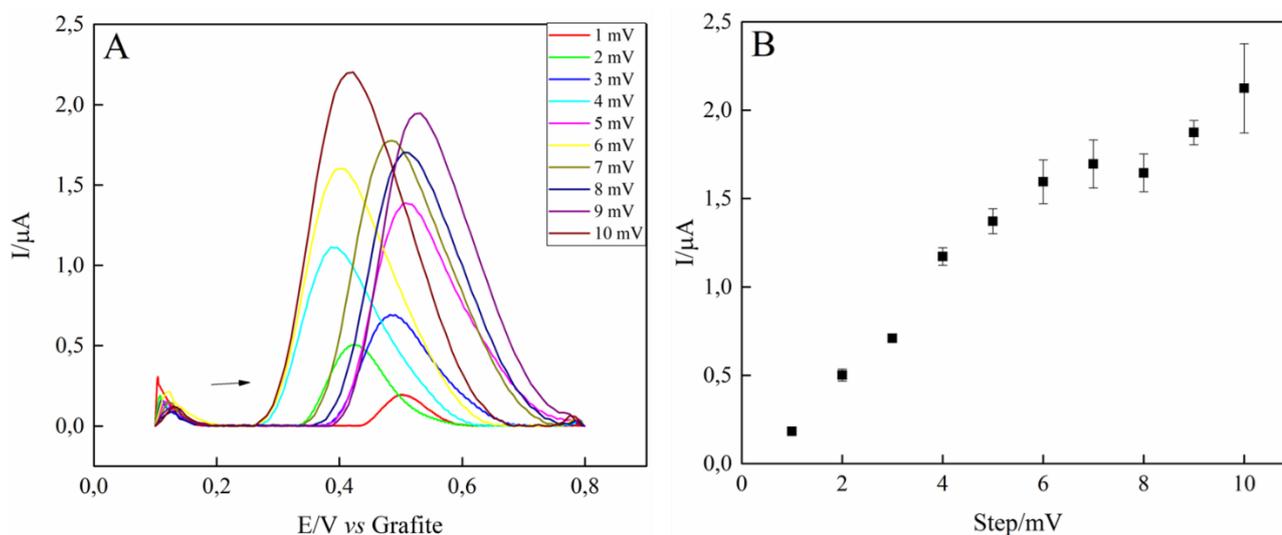


Figura 34. (A) Voltamogramas de onda quadrada de GP-GV/PET em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,7) na presença de E3 1 × 10⁻⁵ mol L⁻¹ e para os steps de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 mV; frequência = 90 Hz, amplitude = 80 mV. (B) I/μA vs Step/mV.

Por fim, foram estudados os valores de pH do meio a fim de se obter a melhor condição para detecção do E3. Assim, com frequência, amplitude e step já otimizados, estudou-se os valores de pH 5,6; 6,4; 7,3; 8,6 e 9,1, onde é possível observar uma maior corrente de pico no pH 6,4. A figura 35 demonstra a influência do pH do meio para o analito, sendo possível observar uma diminuição da corrente de pico a medida que o meio passa de ácido para básico, mais especificamente a partir do pH 7,3 no qual temos uma diminuição considerável da corrente de pico, além da tendência de deslocamento do potencial para valores menos positivos (pH 8,6 e 9,1). Essa tendência gerada na relação entre pH, corrente de pico e potencial para E3 foi observado em literatura quando detectaram E3 por amperometria em um eletrodo de diamante dopado com boro por (Santos *et al.*, 2010).

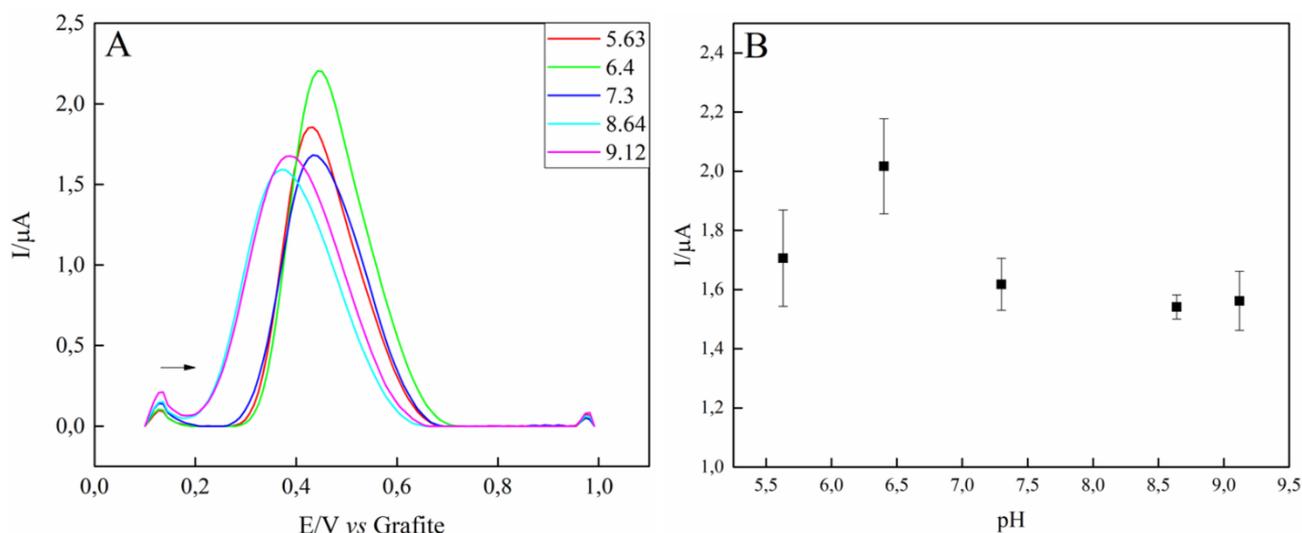


Figura 35. (A) Voltamogramas de onda quadrada de GP-GV/PET em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ na presença de E3 1 × 10⁻³ mol L⁻¹ e para diferentes valores de pH; frequência = 90 Hz, amplitude = 80 mV, step = 9mV. (B) I/μA vs pH.

2.2.1. Construção da curva analítica e detecção de E3 em amostras

A curva de calibração para estriol foi construída após a otimização dos parâmetros utilizando o eletrodo proposto. Concentrações crescentes de E3 na faixa de 0,1 × 10⁻⁶ a 8,0 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ (Figura 36) foram adicionadas a uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,4). É possível observar uma relação linear direta entre a concentração do analito e a resposta da corrente elétrica, correspondendo à equação $I_p (\mu A) = 2.244 \times 10^{-7} + 0.1971 C_{E3} (\mu mol L^{-1})$, com R² de 0,993. Um limite de detecção (LOD) de 0,08 × 10⁻³ mol L⁻¹ calculado utilizando três vezes o desvio padrão do sinal em branco (n = 5) dividido pelo declive da curva de calibração (LOD = 3,0 × SD_{blank}/slope). Os estudos de reprodutibilidade do GP-GV/PET foram realizados utilizando condições previamente otimizadas em solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,4) na presença de E3 8,0 × 10⁻⁶ mol L⁻¹. O desvio padrão relativo calculado (RSD), com n = 7, é igual a 3,41%.

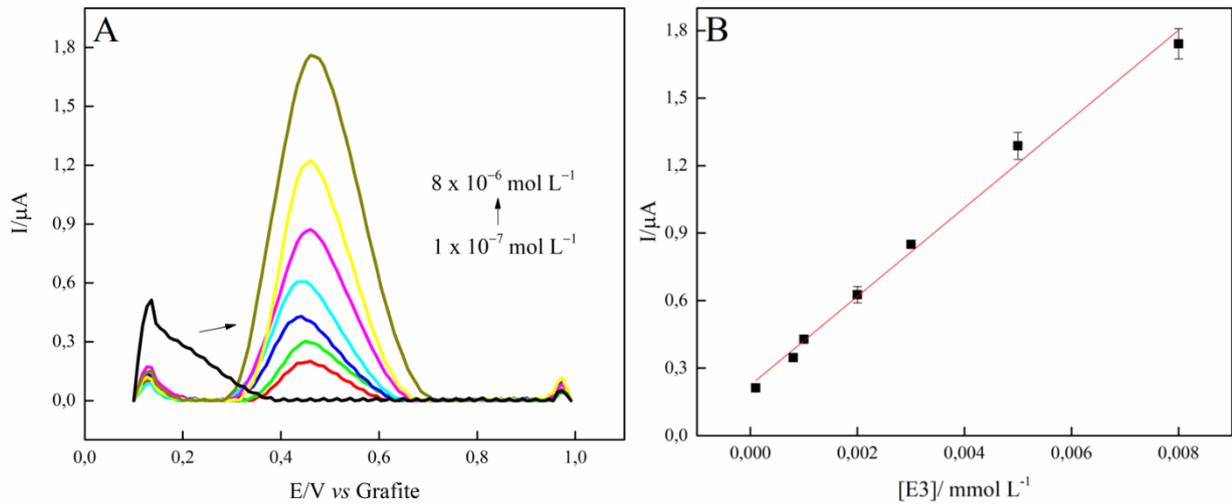


Figura 36. (C) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,4) (•) em diferentes concentrações de E3, variando de $0,1$ (•) a $8,0$ (•) $\mu\text{mol L}^{-1}$. (D) Curva analítica obtida para E3 com o dispositivo GP–GV/PET

Para verificar a aplicabilidade de GP-GV/PET, a análise foi realizada para detecção de E3 em amostras fortificadas de água de distribuição e duas amostras farmacêuticas, sendo o comprimido e o creme vaginal. A amostra de creme e comprimido foram avaliada para demonstrar que o sensor proposto pode ser aplicado na avaliação da qualidade de produtos farmacêuticos. O creme vaginal é um medicamento para uso intravaginal, tendo vários excipientes para cada $1,0 \text{ mg}$ de E3 nele contido. O comprimido é um medicamento para uso oral, contendo $2,0 \text{ mg}$ de E3 (Tabela 1).

Além disso, a água de distribuição foi testada para demonstrar que o sensor proposto pode ser aplicado na análise de controle ambiental. A distribuição de água foi obtida no campus da UFSCar - Araras / SP. A Tabela 1 mostra as concentrações variando de $85,7\%$ a $93,11\%$, demonstrando que o dispositivo proposto pode ser utilizado para análise dessas amostras.

Tabela 8: Determinação de E3 pelo dispositivo GP-GV/PET

Água de distribuição			
Amostra	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Porcentagem (%)
A	0,8	0,7	93,1%
B	5,0	4,3	85,6%
Creme vaginal			
Amostra	Rotulado (mg/g)	Detecção (mg/g)	Erro (%)
C	1,0	0,90	-10,0
D	1,0	0,89	-11,2
Comprimido			
Amostra	Rotulado (mg/g)	Detecção (mg/g)	Erro (%)
E	2,0	1,92	-4,00

O GP-GV/PET foi comparado a outros trabalhos da literatura, conforme apresentado na Tabela 2. Raymundo-Pereira et al. (2017) modificaram a superfície de um eletrodo de carbono vítreo a partir de nanobolas de negro de fumo decoradas com nanopartículas de prata. Os autores obtiveram condutividade e área eletroativa aumentada, em comparação com o eletrodo de carbono vítreo nu e eletrodo de carbono vítreo modificado com nanobolas com negro de fumo, tendo uma faixa linear de $2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e um LOD de $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Ochiai et al. (2017) demonstraram a versatilidade de dispositivos eletroanalíticos baseados em fios (TED) construídos usando fio de aço como o canal de solução e superfície de um SPE modificados com nanotubos de carbono para detectar estriol em amostras farmacêuticas de $5,3 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Foi desenvolvido um sensor baseado em carbono vítreo modificado com em óxido de grafeno reduzido e com nanopartículas de prata para a oxidação do estriol. Os autores alcançaram um LOD de $2,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, aplicado com sucesso na determinação de estriol em amostras de água de torneira e urina sintética (Donini *et al.*, 2018). Um filme condutor

estável para detecção de estriol usando óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de ouro e amido de batata foi proposto por Jodar et al (2018), obtendo uma faixa linear de $1,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a $2,2 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com um limite de detecção de $4,8 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Os trabalhos selecionados apresentam algumas semelhanças, como o uso de materiais de carbono, detecção de E3 e/ou descartabilidade. Pode-se destacar o desempenho adequado do dispositivo aqui relatado, que possui faixa linear e LOD satisfatórios, além da facilidade de produção e baixo custo relativo.

Tabela 9: Comparação entre o presente estudo e outros estudos da literatura para a determinação do E3

Eletrodos	Faixa linear (mol L⁻¹)	LOD (mol L⁻¹)	Referências
CNB/AgNP	$0,7 \times 10^{-7}$ a $3,0 \times 10^{-6}$	$1,6 \times 10^{-7}$	(Raymundo-Pereira <i>et al.</i> , 2017)
μ TED	$1,0 \times 10^{-6}$ a 1×10^{-3}	$5,3 \times 10^{-8}$	(Ochiai, Letícia M <i>et al.</i> , 2017)
rGO-AgNps	$1,0 \times 10^{-8}$ a $3,0 \times 10^{-6}$	$2,1 \times 10^{-8}$	(Donini <i>et al.</i> , 2018)
RGO-GNPs-PS/GCE	$2,2 \times 10^{-7}$ a $1,5 \times 10^{-6}$	$4,8 \times 10^{-7}$	(Jodar <i>et al.</i> , 2018)
GP-GV/PET	1×10^{-7} to $8,0 \times 10^{-6}$	$8,0 \times 10^{-8}$	Este trabalho

CNB/AgNP: eletrodos de carbono vítreo com nanobolas de negro de carbono decoradas com nanopartículas de prata; **μ TED**: dispositivos eletroanalíticos baseados em fios construídos com um fio de algodão como o canal de solução e superfície de eletrodos impressos em tela modificados com nanotubos de carbono; **rGO–AgNPs**: óxido de grafeno reduzido modificado com nanopartículas de prata; **RGO–GNPs–PS/GCE**: eletrodo de carbono vítreo com óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de ouro e fécula de batata.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho relata o desenvolvimento de dois novos dispositivos eletroquímicos baseados em duas tintas condutoras diferentes, aplicadas sobre PET como substrato. Ambas as tintas demonstraram ser simples e fáceis de preparar. Os dispositivos finais foram morfológicamente e eletroquimicamente caracterizado por MEV, FTIR, EIS e voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial. Todas essas análises sugerem propriedades satisfatórias, sem o impedimento da condutância elétrica.

A tinta desenvolvida GP-NP é interessante para a aplicação em sensores descartáveis. Ainda líquida GP-NP apresenta-se homogênea e, após a secagem a mesma não quebra e não craquela, demonstrando-se flexível para o substrato utilizado no estudo (PET). A caracterização por MEV do dispositivo descartável GP-NP/PET revela que a tinta possui uma superfície homogênea, rugosa e porosa, características que ajudam a aumentar a área superficial do eletrodo. A análise da tinta por FTIR demonstrou a presença alguns grupos em comum entre GP, NP e a tinta do GP-NP. Obtivemos a área eletroativa de $0,45 \text{ cm}^2$. Após as otimizações dos parâmetros da SWV ($f = 70 \text{ Hz}$, $a = 70 \text{ mV}$, $step = 6 \text{ mV}$), do pH para 3,5 e $t = 40 \text{ s}$, o GP-NP/PET foi aplicado para a determinação de HQ, EP e 5-HT. O GP-NP/PET apresentou uma resposta linear na faixa de concentração de $5,0 \times 10^{-6}$ a $10 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de $1,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para HQ; $5,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de $0,31 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para epinefrina, e $1,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de $0,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para serotonina. Conclui-se que o sensor proposto pode ser aplicado para a detecção de HQ em amostras ambientais e farmacêutica, além de exibir baixo custo relativo e fácil construção. O dispositivo, testado como prova de conceito para EP e 5-HT, obteve dados valiosos, o que indica a viabilidade deste trabalho. Com os resultados obtidos, ao longo da construção fácil, o presente trabalho expõe o notável uso de tintas condutoras baseadas em NP em eletroquímica.

A tinta desenvolvida GP-GV também se apresentou homogênea, não quebrando durante o manuseio do dispositivo, demonstrando-se flexível para o substrato utilizado no estudo (PET). A caracterização por MEV do dispositivo descartável GP-GV/PET revela que a tinta possui uma superfície homogênea, rugosa e porosa, características que ajudam a aumentar a área superficial do eletrodo, assim como o dispositivo GP-NP/PET. A análise da tinta por FTIR demonstrou a presença alguns grupos em comum entre GP, GV e a tinta do GP-GV. Obtivemos a área eletroativa de $2,0 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$. Após as otimizações dos parâmetros da SWV ($f = 90 \text{ Hz}$,

$a = 80$ mV, $step = 9$ mV), do pH para 6,4 e $t = 40$ s, o GP-GV/PET foi aplicado para a determinação de E3. O GP-NP/PET apresentou uma resposta linear na faixa de concentração de 0,1 a $8,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ com um LOD de 0,08 μ mol L⁻¹. A avaliação do dispositivo em amostras farmacêuticas e ambientais demonstrou grande eficiência do sensor. Com os resultados obtidos, o presente trabalho mostrou um novo uso efetivo de tintas à base de GV, nunca relatado em aplicações sensoriais anteriores.

CAPÍTULO 7

PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente trabalho abre possibilidades para o estudo aprofundado das tintas já desenvolvidas. Também incentiva ao desenvolvimento de novas tintas condutoras com materiais simples e de baixo custo relativo, utilizando diferentes tipos de polímeros e substratos, considerando componentes acessíveis e de baixa toxicidade.

Referências Bibliográficas

ADAMS, R. N. Carbon paste electrodes. **Analytical chemistry**, v. 30, n. 9, p. 1576-1576, 1958. ISSN 0003-2700.

AKARTASSE, N. et al. Natural product based composite for extraction of arsenic (III) from waste water. **Chemistry Central Journal**, v. 11, n. 1, p. 33, 2017. ISSN 1752-153X.

APETREI, I. M.; APETREI, C. Study of different carbonaceous materials as modifiers of screen-printed electrodes for detection of catecholamines. **IEEE Sensors Journal**, v. 15, n. 6, p. 3094-3101, 2015. ISSN 1530-437X.

ARAGÓ, M. et al. Simultaneous determination of hydroquinone, catechol and resorcinol by voltammetry using graphene screen-printed electrodes and partial least squares calibration. **Talanta**, v. 160, p. 138-143, 2016. ISSN 0039-9140.

ARDUINI, F. et al. High performance electrochemical sensor based on modified screen-printed electrodes with cost-effective dispersion of nanostructured carbon black. **Electrochemistry Communications**, v. 12, n. 3, p. 346-350, 2010. ISSN 1388-2481.

ARDUINI, F. et al. Effective electrochemical sensor based on screen-printed electrodes modified with a carbon black-Au nanoparticles composite. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 212, p. 536-543, 2015. ISSN 0925-4005. Disponível em: < [//www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400515002245](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400515002245) >.

ASHLEY, K. Developments in electrochemical sensors for occupational and environmental health applications. **Journal of Hazardous Materials**, v. 102, n. 1, p. 1-12, 2003. ISSN 0304-3894.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, N. Tintas para edificações não Industriais - Terminologia. **ABNT**, 1993.

AUDET, M.; DESCARRIES, L.; DOUCET, G. Quantified regional and laminar distribution of the serotonin innervation in the anterior half of adult rat cerebral cortex. **Journal of chemical neuroanatomy**, v. 2, n. 1, p. 29-44, 1989. ISSN 0891-0618.

BARRIOS, S. B. Síntese de resinas alquídicas via catálise enzimática. 2008.

BARRY, R. C. et al. Nanotechnology-based electrochemical sensors for biomonitoring chemical exposures. **Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology**, v. 19, n. 1, p. 1, 2009. ISSN 1559-064X.

BEITOLLAHI, H. et al. NiFe₂O₄ Nanoparticles Modified Screen Printed Electrode for Simultaneous Determination of Serotonin and Norepinephrine. **ANALYTICAL & BIOANALYTICAL ELECTROCHEMISTRY**, v. 10, n. 11, p. 1399-1413, 2018. ISSN 2008-4226.

BOGENSCHUTZ, A.; KRAHL, P. Metal-containing screen printing mixtures for electronic circuits. **Metall**, v. 22, n. 6, p. 595-599, 1968.

BRODIE, B. B.; SHORE, P. A. A concept for a role of serotonin and norepinephrine as chemical mediators in the brain. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 66, n. 3, p. 631-642, 1957. ISSN 0077-8923.

BRUCKE, F. **Suprarenin synthesis by F. Stolz** 1954.

BULEANDRA, M. et al. Screen-printed Prussian Blue modified electrode for simultaneous detection of hydroquinone and catechol. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 203, p. 824-832, 2014/11/01/2014. ISSN 0925-4005. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400514008715>>.

BUZNIKOV, G. A. The biogenic monoamines as regulators of early (pre-nervous) embryogenesis: new data. In: (Ed.). **Plasticity and Regeneration of the nervous system**: Springer, 1991. p.33-48.

CALAÇA, G. N. et al. Simultaneous Electroanalytical Determination of Depigmenting Agents in Skin-Whitening Products. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 162, n. 12, p. H847-H851, 2015. ISSN 0013-4651.

CESARINO, I.; CINCOTTO, F. H.; MACHADO, S. A. A synergistic combination of reduced graphene oxide and antimony nanoparticles for estriol hormone detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 210, p. 453-459, 2015. ISSN 0925-4005.

CESARINO, I.; HÜMMELGEN, I. A. An additional tool towards overcoming absence of specificity of carbon nanostructure-based electrochemical sensors—application to estriol and estradiol detection and distinction. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 19, p. 3045-3050, 2015.

CHEGOLYA, A.; SHEVCHENKO, V.; MIKHAILOV, G. The formation of polyethylene terephthalate in the presence of dicarboxylic acids. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 17, n. 3, p. 889-904, 1979. ISSN 1542-9369.

CHEN, H. et al. Study on the toxic effects of diphenol compounds on soil microbial activity by a combination of methods. **Journal of Hazardous Materials**, v. 167, n. 1, p. 846-851, 2009/08/15/2009. ISSN 0304-3894. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389409001010>>.

CHEN, T. S.; HUANG, K. L. Effect of operating parameters on electrochemical degradation of estriol (E3). **Int J Electrochem Sci**, v. 8, p. 6343-6353, 2013.

CINCOTTO, F. H. et al. Reduced graphene oxide-Sb₂O₅ hybrid nanomaterial for the design of a laccase-based amperometric biosensor for estriol. **Electrochimica Acta**, v. 174, p. 332-339, 2015. ISSN 0013-4686.

CLARK, C. T.; WEISSBACH, H.; UDENFRIEND, S. 5-Hydroxytryptophan decarboxylase: preparation and properties. **Journal of Biological Chemistry**, v. 210, n. 1, p. 139-148, 1954. ISSN 0021-9258.

COHEN, S. L. A function for estriol during human pregnancy—a hypothesis. **Clinical biochemistry**, v. 18, n. 2, p. 85-87, 1985. ISSN 0009-9120.

CÔTÉ, F. et al. Maternal serotonin is crucial for murine embryonic development. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 1, p. 329-334, 2007. ISSN 0027-8424.

COUTO, R.; LIMA, J.; QUINAZ, M. Recent developments, characteristics and potential applications of screen-printed electrodes in pharmaceutical and biological analysis. **Talanta**, v. 146, p. 801-814, 2016. ISSN 0039-9140.

CUARTERO, M. et al. Rubber-based substrates modified with carbon nanotubes inks to build flexible electrochemical sensors. **Analytica Chimica Acta**, v. 827, p. 95-102, 2014. ISSN 0003-2670.

DARHSTROM, A. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. **Acta Physiol Scand**, v. 62, n. 232, p. 5-55, 1964.

DAVISON, A. Basic neurochemistry: molecular, cellular, and medical aspects. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**, v. 52, n. 8, p. 1021, 1989.

DE ARAUJO ANDREOTTI, I. A. et al. Disposable and flexible electrochemical sensor made by recyclable material and low cost conductive ink. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 840, p. 109-116, 2019/05/01/ 2019. ISSN 1572-6657. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572665719302206> >.

DE GANS, B. J.; DUINEVELD, P. C.; SCHUBERT, U. S. Inkjet printing of polymers: state of the art and future developments. **Advanced Materials**, v. 16, n. 3, p. 203-213, 2004. ISSN 1521-4095.

DIAS, I. et al. Determination of epinephrine at a screen-printed composite electrode based on graphite and polyurethane. **Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques**, v. 8, n. 1, 2017.

DONINI, C. A. et al. Reduced graphene oxide modified with silver nanoparticles for the electrochemical detection of estriol. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 809, p. 67-73, 2018. ISSN 1572-6657.

DU, H. et al. A voltammetric sensor based on graphene-modified electrode for simultaneous determination of catechol and hydroquinone. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 650, n. 2, p. 209-213, 2011. ISSN 1572-6657.

ENGUITA, F. J.; LEITÃO, A. L. Hydroquinone: environmental pollution, toxicity, and microbial answers. **BioMed research international**, v. 2013, 2013. ISSN 2314-6133.

FABRE, V.; HAMON, M. Mechanisms of action of antidepressants: new data from escitalopram. **L'Encephale**, v. 29, n. 3 Pt 1, p. 259-265, 2003. ISSN 0013-7006.

FAVARO, P.; BODE, P.; DE NADAI FERNANDES, E. Trace elements in nail polish as a source of contamination of nail clippings when used in epidemiological studies. **Journal of radioanalytical and nuclear chemistry**, v. 264, n. 1, p. 61-65, 2005. ISSN 0236-5731.

FERGUSON-MYRTHIL, N. Vasopressor use in adult patients. **Cardiology in review**, v. 20, n. 3, p. 153-158, 2012. ISSN 1061-5377.

FERREIRA, A. P. G. et al. Characterization of graphite-polyurethane composites used as electrode materials. **Brazilian Journal of Thermal Analysis**, v. 3, n. 3-4, p. 55-62, 2014. ISSN 2316-9842.

FISHER, C.; SEYMOUR, R.; MARK, H. **Organic Coatings, Their Origin and Development**: Elsevier, London 1990.

FLORY, P. J. **Principles of polymer chemistry**. Cornell University Press, 1953. ISBN 0801401348.

FREW, J. E. et al. Amperometric biosensor for the rapid determination of salicylate in whole blood. **Analytica Chimica Acta**, v. 224, p. 39-46, 1989. ISSN 0003-2670.

GAN, P.; COMPTON, R. G.; FOORD, J. S. The voltammetry and electroanalysis of some estrogenic compounds at modified diamond electrodes. **Electroanalysis**, v. 25, p. 2423-2434, 2013.

GOLDMAN, L.; GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica Rio de Janeiro. **Editora McGraw-Hill**, 2003.

GOMEZ, F. J. V. et al. Screen-printed electrodes modified with carbon nanotubes or graphene for simultaneous determination of melatonin and serotonin. **Microchimica Acta**, v. 182, n. 11-12, p. 1925-1931, 2015. ISSN 0026-3672.

GORDON, M. Good's theory of cascade processes applied to the statistics of polymer distributions. **Proc. R. Soc. Lond. A**, v. 268, n. 1333, p. 240-256, 1962. ISSN 0080-4630.

GUARDIAN, T. A million bottles a minute: world's plastic binge 'as dangerous as climate change'. **The Guardian**, 2017. Disponível em: < <https://www.theguardian.com/environment/2017/jun/28/a-million-a-minute-worlds-plastic-bottle-binge-as-dangerous-as-climate-change> >.

GUERRA, R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. **Chemosphere**, v. 44, n. 8, p. 1737-1747, 2001. ISSN 0045-6535.

HARE, C. H. Protective coatings: fundamentals of chemistry and composition. **C. H. Hare, Technology Publishing Co., Pittsburgh(1994),(514**, 1994.

HARPER, H. A.; RODWELL, V. W.; MAYES, P. A. **Manual de química fisiológica**. 1980. ISBN 9684261292.

HAYASHI, T. et al. Estriol (E3) replacement improves endothelial function and bone mineral density in very elderly women. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 55, n. 4, p. B183-B190, 2000. ISSN 1079-5006.

HAYAT, A.; MARTY, J. L. Disposable screen printed electrochemical sensors: Tools for environmental monitoring. **Sensors**, v. 14, n. 6, p. 10432-10453, 2014.

HEBEDA, C. B. et al. Intracellular mechanisms of hydroquinone toxicity on endotoxin-activated neutrophils. **Archives of toxicology**, v. 86, n. 11, p. 1773-1781, 2012. ISSN 0340-5761.

HLAING, N. N.; OO, M. M. Manufacture of alkyd resin from castor oil. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v. 48, p. 155-161, 2008.

HOFLAND, A. Alkyd resins: From down and out to alive and kicking. **Progress in organic coatings**, v. 73, n. 4, p. 274-282, 2012. ISSN 0300-9440.

HUANG, H. et al. Amperometric sensing of hydroquinone using a glassy carbon electrode modified with a composite consisting of graphene and molybdenum disulfide. **Microchimica Acta**, v. 184, n. 12, p. 4803-4808, 2017. ISSN 0026-3672.

HUANG, L. et al. Graphene-based conducting inks for direct inkjet printing of flexible conductive patterns and their applications in electric circuits and chemical sensors. **Nano Research**, v. 4, n. 7, p. 675-684, 2011. ISSN 1998-0124.

HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical sensors: definitions and classification. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 1247-1250, 1991. ISSN 1365-3075.

HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical sensors: definitions and classification. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 1247-1250, 01/01/2009 2009.

HUMPHREY, J.; JAQUES, R. The histamine and serotonin content of the platelets and polymorphonuclear leucocytes of various species. **The Journal of physiology**, v. 124, n. 2, p. 305-310, 1954. ISSN 1469-7793.

IBÁÑEZ-REDÍN, G. et al. Low-cost screen-printed electrodes based on electrochemically reduced graphene oxide-carbon black nanocomposites for dopamine, epinephrine and paracetamol detection. **Journal of colloid and interface science**, v. 515, p. 101-108, 2018. ISSN 0021-9797.

IORIZZO, M.; PIRACCINI, B. M.; TOSTI, A. Nail cosmetics in nail disorders. **Journal of cosmetic dermatology**, v. 6, n. 1, p. 53-58, 2007. ISSN 1473-2165.

IOVIENO, N. et al. Second-tier natural antidepressants: review and critique. **Journal of affective disorders**, v. 130, n. 3, p. 343-357, 2011. ISSN 0165-0327.

ISHIKO, O. et al. Hormone replacement therapy plus pelvic floor muscle exercise for postmenopausal stress incontinence. A randomized, controlled trial. **The Journal of reproductive medicine**, v. 46, n. 3, p. 213-220, 2001. ISSN 0024-7758.

JODAR, L. V. et al. Electrochemical sensor for estriol hormone detection in biological and environmental samples. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 22, n. 5, p. 1431-1438, May 01 2018. ISSN 1433-0768. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s10008-017-3726-9> >.

KEITH, L. H. **Compilation of EPA's sampling and analysis methods**. CRC Press, 1996. ISBN 1420050613.

LEADBITTER, J. et al. Packaging materials: 1. Polyethylene terephthalate (PET) for food packaging applications.-(v. 3): Polypropylene as a packaging material for foods and beverages.-(v. 4): Polyethylene for food packaging applications.-(v. 5): Polyvinyl chloride (PVC) for food packaging applications.-(v. 6): Paper and board for food packaging applications. 2000.

LEE, J.-S.; YANG, E. J.; KIM, I. S. Hydroquinone-induced apoptosis of human lymphocytes through caspase 9/3 pathway. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 6, p. 6737-6743, 2012. ISSN 0301-4851.

LEELAWATTANA, R. et al. The oxidative metabolism of estradiol conditions postmenopausal bone density and bone loss. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 15, n. 12, p. 2513-2520, 2000. ISSN 0884-0431.

LEVITZ, M.; YOUNG, B. K. Estrogens in pregnancy. In: (Ed.). **Vitamins & Hormones**: Elsevier, v.35, 1978. p.109-147. ISBN 0083-6729.

LI, Q. et al. Inhibition of Human T Lymphoblast Proliferation by Hydroquinone. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 139, n. 2, p. 317-323, 1996/08/01/ 1996. ISSN 0041-008X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X96901714> >.

LIU, M. et al. A disposable amperometric sensor for rapid detection of serotonin in the blood and brain of the depressed mice based on Nafion membrane-coated colloidal gold screen-printed electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 640, n. 1-2, p. 1-7, 2010. ISSN 1572-6657.

MAHMOUDI MOGHADDAM, H. et al. Fabrication of a nanostructure based electrochemical sensor for voltammetric determination of epinephrine, uric acid and folic acid. **Electroanalysis**, v. 27, n. 11, p. 2620-2628, 2015. ISSN 1040-0397.

MATTHEWS, D. et al. Pen-sized digital 30-second blood glucose meter. **The Lancet**, v. 329, n. 8536, p. 778-779, 1987. ISSN 0140-6736.

MENDES, R. K.; CERVINI, P.; CAVALHEIRO, É. T. G. The use of a graphite–castor oil polyurethane composite electrode for the determination of hydroquinone in photographic developers. **Talanta**, v. 68, n. 3, p. 708-712, 2006. ISSN 0039-9140.

MENDES, R. K.; CLARO-NETO, S.; CAVALHEIRO, E. T. G. Evaluation of a new rigid carbon–castor oil polyurethane composite as an electrode material. **Talanta**, v. 57, n. 5, p. 909-917, 2002/07/03/ 2002. ISSN 0039-9140. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914002001224> >.

MICHAELSON, I. A.; WHITTAKER, V. The subcellular localization of 5-hydroxytryptamine in guinea pig brain. **Biochemical pharmacology**, v. 12, n. 2, p. 203-211, 1963. ISSN 0006-2952.

MISEV, T. A. Calculating technique for formulating alkyd resins. **Progress in organic coatings**, v. 21, n. 1, p. 79-99, 1992. ISSN 0300-9440.

MORAES, F. C. D. Nanotubos de carbono no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. 2010.

MORIARTY, M. et al. Development of a nano-electrospray MSn method for the analysis of serotonin and related compounds in urine using a LTQ-orbitrap mass spectrometer. **Talanta**, v. 90, p. 1-11, 2012. ISSN 0039-9140.

NEWBERG, A. B. et al. Low brain serotonin transporter binding in major depressive disorder. **Psychiatry Research: Neuroimaging**, v. 202, n. 2, p. 161-167, 2012. ISSN 0925-4927.

OBA, Y.; LONE, N. A. Mortality benefit of vasopressor and inotropic agents in septic shock: a Bayesian network meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of critical care**, v. 29, n. 5, p. 706-710, 2014. ISSN 0883-9441.

OCHIAI, L. M. et al. Electroanalytical thread-device for estriol determination using screen-printed carbon electrodes modified with carbon nanotubes. **Sensors and Actuators B**, v. 241, p. 978-984, 2017.

OCHIAI, L. M. et al. Electroanalytical thread-device for estriol determination using screen-printed carbon electrodes modified with carbon nanotubes. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 241, p. 978-984, 2017. ISSN 0925-4005.

OGATA, T. et al. CO₂ gas sensor using β -Al₂O₃ and metal carbonate. **Journal of materials science letters**, v. 5, n. 3, p. 285-286, 1986. ISSN 0261-8028.

OLIVEIRA, C. et al. Photodegradation behaviour of estriol: An insight on natural aquatic organic matter influence. **Chemosphere**, v. 159, p. 545-551, 2016. ISSN 0045-6535.

ORZARI, L. O. et al. Disposable electrode obtained by pencil drawing on corrugated fiberboard substrate. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 264, p. 20-26, 2018. ISSN 0925-4005.

PALCHETTI, I. et al. Disposable electrochemical sensor for rapid determination of heavy metals in herbal drugs. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 32, n. 2, p. 251-256, 2003. ISSN 0731-7085.

PATTON, T. C. Alkyd resin technology. 1962.

PAVIA, D. et al. Infrared spectroscopy. **Introduction to spectroscopy**, v. 4, 2001.

PEASTON, R. T.; WEINKOVE, C. Measurement of catecholamines and their metabolites. **Annals of clinical biochemistry**, v. 41, n. 1, p. 17-38, 2004. ISSN 0004-5632.

PHILLIPS, C. et al. The effect of graphite and carbon black ratios on conductive ink performance. **Journal of Materials Science**, v. 52, n. 16, p. 9520-9530, 2017. ISSN 0022-2461.

PIERSON, H. O. **Handbook of carbon, graphite, diamonds and fullerenes: processing, properties and applications**. William Andrew, 2012. ISBN 0815517394.

PILZ, C. F. Emulsão alquídica: estudo do processo de inversão e do uso de um emulsionante biodegradável sobre as propriedades físico-químicas. 2016.

PRABAKAR, S. R.; NARAYANAN, S. S. Surface modification of amine-functionalised graphite for preparation of cobalt hexacyanoferrate (CoHCF)-modified electrode: an amperometric sensor for determination of butylated hydroxyanisole (BHA). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, n. 7-8, p. 2107-2115, 2006. ISSN 1618-2642.

RAPPORT, M. M.; GREEN, A. A.; PAGE, I. H. Crystalline serotonin. **Science**, v. 108, n. 2804, p. 329-330, 1948. ISSN 0036-8075.

RAVINDRANATH, K.; MASHELKAR, R. Polyethylene terephthalate—I. Chemistry, thermodynamics and transport properties. **Chemical Engineering Science**, v. 41, n. 9, p. 2197-2214, 1986. ISSN 0009-2509.

RAYMUNDO-PEREIRA, P. A. et al. Sensitive detection of estriol hormone in creek water using a sensor platform based on carbon black and silver nanoparticles. **Talanta**, v. 174, p. 652-659, 2017. ISSN 0039-9140.

REID, G.; BICK, M. Pharmacologically active substances in serum. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, v. 20, n. 1, p. 33-46, 1942. ISSN 0004-945X.

ROMÃO, W.; SPINACÉ, M. A.; PAOLI, M.-A. D. Poli (tereftalato de etileno), PET: uma revisão sobre os processos de síntese, mecanismos de degradação e sua reciclagem. **Polímeros**, 2009. ISSN 0104-1428.

SACIOTO, T. R.; CERVINI, P.; CAVALHEIRO, É. T. Simultaneous Voltammetric Determination of Zn (II), Pb (II), Cu (II), and Hg (II) in Ethanol Fuel Using an Organofunctionalized Modified Graphite-

Polyurethane Composite Disposable Screen-Printed Device. **Electroanalysis**, v. 26, n. 12, p. 2664-2676, 2014. ISSN 1040-0397.

SACILOTO, T. R.; CERVINI, P.; GOMES CAVALHEIRO, É. T. New screen printed electrode based on graphite and polyurethane composite for the determination of acetaminophen. **Analytical Letters**, v. 46, n. 2, p. 312-322, 2013. ISSN 0003-2719.

SAITO, S.; KAMIYAMA, J. **Adrenaline: isolated 111 years ago by an energetic Japanese scientist, Jokichi Takamine** 2011.

SALIMI, A.; ALIZADEH, V.; COMPTON, R. G. Disposable amperometric sensor for neurotransmitters based on screen-printed electrodes modified with a thin iridium oxide film. **Analytical sciences**, v. 21, n. 11, p. 1275-1280, 2005. ISSN 0910-6340.

SAMIE, H. A.; ARVAND, M. RuO₂ nanowires on electrospun CeO₂-Au nanofibers/functionalized carbon nanotubes/graphite oxide nanocomposite modified screen-printed carbon electrode for simultaneous determination of serotonin, dopamine and ascorbic acid. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 782, p. 824-836, 2019. ISSN 0925-8388.

SANTOS, K. D. Determinação eletroanalítica dos hormônios estriol e estrona em amostras de formulações farmacêuticas, fluidos biológicos e alimentos. 2013.

SANTOS, K. D. et al. Electroanalytical determination of estriol hormone using a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, v. 80, n. 5, p. 1999-2006, 2010. ISSN 0039-9140.

SHAW, K.; TURNER, J.; DEL MAR, C. Are tryptophan and 5-hydroxytryptophan effective treatments for depression? A meta-analysis. **Australian and New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 36, n. 4, p. 488-491, 2002. ISSN 0004-8674.

SHEIKH, A. et al. Adrenaline (epinephrine) for the treatment of anaphylaxis with and without shock. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 4, 2008. ISSN 1465-1858.

SIDEL. 5 razões que tornam o PET a melhor escolha de material de embalagem sustentável. Disponível em: < <http://www.sidel.pt/sobre-a-sidel/m%C3%ADdia/inline-magazine/5-raz%C3%B5es-que-tornam-o-pet-a-melhor-escolha-de-material-de-embalagem-sustent%C3%A1vel> >. Acesso em: 05/08.

SILVA, L. P.; LOURENCAO, B. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Simultaneous voltammetric determination of amlodipine besylate and hydrochlorothiazide in synthetic urine samples using a boron-doped diamond electrode. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 801-806, 2015. ISSN 0100-4042.

SPEROFF, L. Alternative therapies for postmenopausal women. **The Management of the menopause**, p. 325, 2003.

- STRADIOTTO, N. R.; YAMANAKA, H.; ZANONI, M. V. B. Electrochemical sensors: a powerful tool in analytical chemistry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 159-173, 2003. ISSN 0103-5053.
- ŠVANCARA, I. et al. Carbon paste electrodes in facts, numbers, and notes: a review on the occasion of the 50-years jubilee of carbon paste in electrochemistry and electroanalysis. **Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis**, v. 21, n. 1, p. 7-28, 2009. ISSN 1040-0397.
- TAKAHASHI, K. et al. Safety and efficacy of oestriol for symptoms of natural or surgically induced menopause. **Human Reproduction**, v. 15, n. 5, p. 1028-1036, 2000. ISSN 1460-2350.
- TALEAT, Z.; KHOSHROO, A.; MAZLOUM-ARDAKANI, M. Screen-printed electrodes for biosensing: a review (2008–2013). **Microchimica Acta**, v. 181, n. 9, p. 865-891, 2014/07/01 2014. ISSN 1436-5073. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00604-014-1181-1> >.
- TERTIŞ, M. et al. Highly selective electrochemical detection of serotonin on polypyrrole and gold nanoparticles-based 3D architecture. **Electrochemistry Communications**, v. 75, p. 43-47, 2017. ISSN 1388-2481.
- THIYAGARAJAN, N. et al. Disposable electrochemical sensors: A mini review. **Electrochemistry Communications**, v. 38, p. 86-90, 2014. ISSN 1388-2481.
- THOMAS, M. P.; POTTER, B. V. The structural biology of oestrogen metabolism. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 137, p. 27-49, 2013. ISSN 0960-0760.
- TROJANOWICZ, M. Impact of nanotechnology on design of advanced screen-printed electrodes for different analytical applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 84, p. 22-47, 2016. ISSN 0165-9936.
- TSUTSUI, T. et al. Benzene-, catechol-, hydroquinone-and phenol-induced cell transformation, gene mutations, chromosome aberrations, aneuploidy, sister chromatid exchanges and unscheduled DNA synthesis in Syrian hamster embryo cells. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 373, n. 1, p. 113-123, 1997. ISSN 0027-5107.
- TURLEJSKI, K. Evolutionary ancient roles of serotonin: long-lasting regulation of activity and development. **Acta neurobiologiae experimentalis**, v. 56, p. 619-636, 1996. ISSN 0065-1400.
- UMAR, A. et al. Fabrication and characterization of a highly sensitive hydroquinone chemical sensor based on iron-doped ZnO nanorods. **Dalton Transactions**, v. 44, n. 48, p. 21081-21087, 2015. ISSN 1477-9226. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/C5DT03364K> >.
- UPAN, J. et al. Flow injection amperometric sensor with a carbon nanotube modified screen printed electrode for determination of hydroquinone. **Talanta**, v. 146, p. 766-771, 2016. ISSN 0039-9140.

VALENTINI, F. et al. Highly selective detection of epinephrine at oxidized single-wall carbon nanohorns modified screen printed electrodes (SPEs). **Biosensors and Bioelectronics**, v. 59, p. 94-98, 2014. ISSN 0956-5663.

VELMURUGAN, M. et al. Electrochemical preparation of activated graphene oxide for the simultaneous determination of hydroquinone and catechol. **Journal of colloid and interface science**, v. 500, p. 54-62, 2017. ISSN 0021-9797.

WANG, J.; TIAN, B. Screen-printed stripping voltammetric/potentiometric electrodes for decentralized testing of trace lead. **Analytical Chemistry**, v. 64, n. 15, p. 1706-1709, 1992. ISSN 0003-2700.

WANG, S.-M.; SU, W.-Y.; CHENG, S.-H. A simultaneous and sensitive determination of hydroquinone and catechol at anodically pretreated screen-printed carbon electrodes. **Int. J. Electrochem. Sci**, v. 5, n. 11, p. 1649-1664, 2010.

WANG, Y. et al. A disposable electrochemical sensor for simultaneous determination of norepinephrine and serotonin in rat cerebrospinal fluid based on MWNTs-ZnO/chitosan composites modified screen-printed electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 65, p. 31-38, 2015. ISSN 0956-5663.

WATSON, C. S.; JENG, Y.-J.; KOCHUKOV, M. Y. Nongenomic actions of estradiol compared with estrone and estriol in pituitary tumor cell signaling and proliferation. **The FASEB Journal**, v. 22, n. 9, p. 3328-3336, 2008. ISSN 0892-6638.

WELLE, F. Twenty years of PET bottle to bottle recycling—an overview. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 55, n. 11, p. 865-875, 2011. ISSN 0921-3449.

WISSLER, M. Graphite and carbon powders for electrochemical applications. **Journal of Power Sources**, v. 156, n. 2, p. 142-150, 2006. ISSN 0378-7753.

WOLFGANG, G. et al. **Sensors, Chemical and Biochemical Sensors**. John Wiley & Sons, 2008. ISBN 3527620737.

YANG, E. J. et al. The pro-apoptotic effect of hydroquinone in human neutrophils and eosinophils. **Toxicology in Vitro**, v. 25, n. 1, p. 131-137, 2011. ISSN 0887-2333.

YANG, W.; WANG, C. Graphene and the related conductive inks for flexible electronics. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 4, n. 30, p. 7193-7207, 2016.

YOSHIMOTO, T. et al. Degradation of estrogens by *Rhodococcus zopfii* and *Rhodococcus equi* isolates from activated sludge in wastewater treatment plants. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 70, n. 9, p. 5283-5289, 2004. ISSN 0099-2240.

ZIEHER, L.; DE ROBERTIS, E. Subcellular localization of 5-hydroxytryptamine in rat brain. **Biochemical pharmacology**, v. 12, n. 6, p. 596-598, 1963. ISSN 0006-2952.

ZUCKER, M. B. A study of the substances in blood serum and platelets which stimulate smooth muscle. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 142, n. 1, p. 12-26, 1944. ISSN 0002-9513.