

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA
CAMPUS LAGOA DO SINO

Ingrid Aparecida Félix da Silva

Aplicação de sensores eletroquímicos com
(nano)materiais de carbono na área de *Food Safety*:
uma revisão bibliográfica

Buri-SP
2022

Ingrid Aparecida Félix da Silva

Aplicação de sensores eletroquímicos com (nano)materiais de carbono na área de *Food Safety*: uma revisão bibliográfica

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada ao Centro de Ciências da Natureza da Universidade Federal de São Carlos, para obtenção do título de bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Campanhã Vicentini
Co-orientador: Dr. Luís Marcos Cerdeira Ferreira

Buri-SP
2022

Silva, Ingrid Aparecida Félix da

Aplicação de sensores eletroquímicos com (nano)materiais de carbono na área de Food Safety: uma revisão bibliográfica / Ingrid Aparecida Félix da Silva -- 2022.
60f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos, campus Lagoa do Sino, Buri

Orientador (a): Fernando Campanhã Vicentini

Banca Examinadora: Andreia Pereira Matos, Fabiana da Silva Felix

Bibliografia

1. Sensores eletroquímicos. 2. Nanomateriais de carbono. 3. Segurança dos alimentos. I. Silva, Ingrid Aparecida Félix da. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Lissandra Pinhatelli de Britto - CRB/8 7539

INGRID APARECIDA FÉLIX DA SILVA

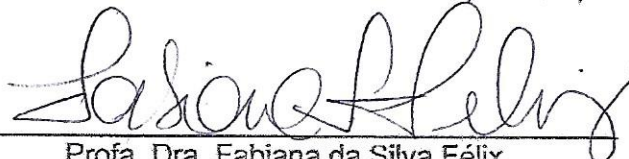
**APLICAÇÃO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS COM (NANO)MATERIAIS DE
CARBONO NA ÁREA DE FOOD SAFETY: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

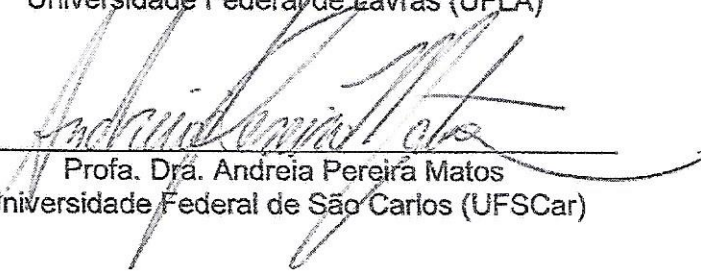
Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como exigência parcial para a
obtenção do grau de Bacharel em
Engenharia de Alimentos na Universidade
Federal de São Carlos.

Aprovado em: 08/04/2022.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Fernando Campanhã Vicentini (Orientador)
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)


Prof. Dra. Fabiana da Silva Félix
Universidade Federal de Lavras (UFLA)


Prof. Dra. Andreia Pereira Matos
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus familiares, principalmente minha mãe que sempre incentivou o estudo e a formação no ensino superior.

AGRADECIMENTO

Agradeço a todos, amigos, professores e familiares, que sempre me apoiaram durante o curso e no desenvolvimento deste trabalho de conclusão.

Ao co-orientador Luís Cerdeira pelo tempo dedicado e paciência para me ajudar na execução das pesquisas, retirando dúvidas e explicando partes essenciais para melhor entendimento dos tópicos tratados. Ao orientador Fernando Campanhã Vicentini pelo acolhimento na minha primeira pesquisa CNPq e pela introdução aos sensores eletroquímicos com tanta maestria.

RESUMO

A segurança alimentar e a segurança dos alimentos (*food safety*) são conceitos extremamente relevantes mundialmente, de forma que são abrangidos em três dos dezessete objetivos de desenvolvimento sustentável da Organização das Nações Unidas (ONU) e tais conceitos partem do direito humano de ter acesso a uma alimentação saudável, suficiente para sobrevivência e segura. A ONU estima números alarmantes de pessoas que adoecem ou falecem devido à alimentos contaminados. Dentre as contaminações têm-se as provindas dos agrotóxicos por intoxicação devido à exposição aguda, das adulterações intencionais dos alimentos que são realizadas a fim de aumentar a produtividade ou até mesmo evitar que o produto seja descartado por inadequação aos padrões estabelecidos pela legislação e prazo de validade; dos alimentos contaminados por microrganismos como fungos e bactérias, podendo causar consequências graves à saúde; e também da migração de componentes das embalagens para os alimentos em níveis indesejáveis. Identificados os riscos à saúde que esses contaminantes podem gerar, é fundamental a existência de técnicas e métodos científicos como meio para a garantia da qualidade do que será consumido. A utilização de sensores eletroquímicos modificados com (nano)materiais de carbono têm se tornado uma abordagem bastante promissora nos últimos anos devido ao baixo custo, facilidade de manuseio e possibilidade de realizar análises *in loco*. Os nanomateriais de carbono compreendem os nanotubos de carbono, grafeno, pontos quânticos, dentre outros; são amplamente utilizados na eletroquímica devido às suas ótimas propriedades físico-químicas como estabilidade química, resistência mecânica e excelente condutividade elétrica. Com o objetivo de revisar as técnicas mais recentes de sensoriamento eletroquímico na área do *food safety* utilizando (nano)materiais de carbono, foi realizada uma revisão a partir de trabalhos acadêmicos pesquisados em bancos de dados utilizando palavras-chaves e período de publicação específicos para que fosse possível encontrar artigos que integram o tema. Notou-se que os nanomateriais de carbono têm grande potencial no sensoriamento eletroquímico, além de apresentarem compatibilidade com tipos variados de materiais inorgânicos como nanopartículas metálicas, fosforeno e óxido de zinco, mas também com materiais orgânicos e biomoléculas como polianilina, aptâmeros e cera de abelha, evidenciando a amplitude de usos e possibilidades de modificações de eletrodos de trabalho, acarretando no desenvolvimento de métodos cada vez mais sensíveis e que contemplem a detecção de uma variedade de contaminantes encontrados na cadeia produtiva de alimentos.

Palavras-chave: Food safety; Contaminantes; Adulterantes; Sensores eletroquímicos; Materiais de carbono.

ABSTRACT

Food safety and food security are extremely relevant concepts worldwide, so they are covered in three of the seventeen sustainable development goals of the United Nations (UN) and such concepts start from the human right to have access to healthy food, sufficient for survival and safe. The UN estimates alarming numbers of people who fall ill or die from contaminated food. Among the contaminations are those from pesticides due to intoxication due to acute exposure, intentional adulterations of foods that are carried out in order to increase productivity or even prevent the product from being discarded due to inadequacy to the standards established by legislation and deadline validity; food contaminated by microorganisms such as fungi and bacteria, which can cause serious health consequences; and also the migration of components from packaging to food at undesirable levels. Having identified the health risks that these contaminants can generate, it is essential to have scientific techniques and methods as a means to guarantee the quality of what will be consumed. The use of electrochemical sensors modified with carbon (nano)materials has become a very promising approach in recent years due to their low cost, ease of handling and the possibility of performing on-site analysis. Carbon nanomaterials include carbon nanotubes, graphene, quantum dots, among others; are widely used in electrochemistry due to their excellent physicochemical properties such as chemical stability, mechanical strength and excellent electrical conductivity. In order to review the most recent electrochemical sensing techniques in the area of food safety using carbon (nano)materials, a review was carried out from academic works searched in databases using specific keywords and publication period so that it was possible to find articles that integrate the theme. It was noted that carbon nanomaterials have great potential in electrochemical sensing, in addition to showing compatibility with different types of inorganic materials such as metallic nanoparticles, phosphorene and zinc oxide, but also with organic materials and biomolecules such as polyaniline, aptamers and beeswax, highlighting the range of uses and possibilities of modification of working electrodes, leading to the development of increasingly sensitive methods that include the detection of a variety of contaminants found in the food production chain.

Keywords: Food safety; Contaminants; Adulterants; electrochemical sensors; Carbon-based materials.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 - Série histórica das vendas totais de agrotóxicos e ingredientes ativos por ano.....	18
Figura 1 – Representação esquemática de uma célula eletroquímica de três eletrodos: (1) eletrodo auxiliar, (2) eletrodo de referência, (3) eletrodo de trabalho	26
Figura 2 – Representação esquemática de um eletrodo impresso	28
Figura 3 – Tipos de voltametrias em gráfico de potencial-tempo	29
Figura 4 – Voltamograma obtido por voltametria cíclica	30
Figura 5 – Voltamograma obtido pela técnica de pulso diferencial, sendo I(2) a corrente faradaica e I(1) a corrente capacitiva	31
Figura 6 – Voltamograma obtido pela técnica de onda quadrada, sendo I(2) a corrente faradaica e I(1) a corrente capacitiva	32
Figura 7 – Circuito de Randles	33
Figura 8 – Diagrama de Nyquist idealizado	34
Figura 9 – Representação esquemática de acordo com a dimensionalidade (3D, 2D, 1D e 0D) do material	36
Figura 10 – Voltamograma cíclico do sensor rGO/DWCNTs/Oct-Fe ₃ O ₄ /Cs/SPAuE na presença de [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} 2 mM a 50 mV/s em diferentes estágios de modificação.....	38
Figura 11 – Voltamograma obtido por SWV de performance do urease/rGO/DWCNTs/Oct-Fe ₃ O ₄ /Cs/SPAuE na presença de uréia 30 mM e diferentes concentrações de glifosato	39
Figura 12 – Voltamograma cíclico do sensor rGO-CuNPs/GCE na presença de K ₃ [Fe(CN) ₆] 1,0 mM e H ₂ SO ₄ 0,1 M a 50 mV/s em diferentes estágios de modificação (a) GCE, (b) rGO/GCE e (c) rGO-CuNPs/GCE.....	40
Figura 13 – Voltamograma obtido por DPV de performance do rGO-CuNPs/GCE na presença de glifosato (0,1 - 1,1 μmol/L) e tampão fosfato 0,2 M (pH 7,0).....	41
Figura 14 - Esquema de modificação do sensor aptâmero/CD-BP/GCE.....	42
Figura 15 - Diagrama de Nyquist para o eletrodo na presença de [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} 1 mM e tampão fosfato 0,1 M (pH 7,4) em diferentes estágios de modificação (a) GCE, (b) CDs-BP/GCE, (c) aptâmero/CDs-BP/GCE e (d) OTA/aptâmero/CDs-BP/GCE na frequência de 0,01 a 100 Hz.....	43
Figura 16 – Diagrama de Nyquist do aptâmero/CD-BP/GCE na presença de OTA (0,1 fg/mL a 10,0 ng/mL) e tampão de fosfato 0,1 M (pH 7,4) na frequência de 0,01 a 100 Hz.....	44
Figura 17 - Esquema de modificação do sensor CDs/ZnO/PANI/aptâmero/SPCE	45
Figura 18- (a) Voltamograma cíclico do sensor CDs/ZnO/PANI/SPCE (b) diagrama de Nyquist em diferentes estágios de modificação na presença de [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} 1,0 mM e KCl 0,1 M	46
Figura 19 – Voltamograma de DPV do CDs/ZnO/PANI/SPCE em diferentes concentrações de ssDNA na presença de tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0)	47
Figura 20 – Validação da seletividade do CDs/ZnO/PANI/SPCE na detecção de microrganismos.....	48
Figura 21 – Esquema de modificação do sensor AuNPs/NDs/aptâmero/MCH	49
Figura 22 – Diagrama de Nyquist do AuNPs/NDs/aptâmero/MCH na presença de diferentes concentrações de BPA e KCl 0,1 M na frequência de 10 ⁻² Hz a 10 ⁵ Hz.....	50
Figura 23 – Voltamograma cíclico do eletrodo na presença de (da esquerda para a direita) K ₃ Fe(CN) ₆ 5 mM e KCl 0,1 M, e de 100 μm BPA e tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0) a 50 mV/s (a) sem modificações, (b) CB/GCE, (c) f-MWCNTs/GCE, (d) CB/f-MWCNTs/GCE	51

Figura 24 – (a) Voltamograma cíclico do CB/f-MWCNTs/GCE na presença de BPA 100 μM e tampão fosfato 0,1 M em diferentes velocidades de varredura, (b) a relação linear entre a corrente de pico e a velocidade de varredura	52
Figura 25 – Voltamograma cíclico do CB/f-MWCNTs/GCE em diferentes concentrações de BPA (0 μM – 100 μM) e tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0) a 50 mV/s	53
Figura 26 - Esquema de modificação do sensor BW-CB/GCE: (1) pesagem da cera de abelha, (2) homogeneização com n-hexano, (3,4) adição de carbon black e homogeneização e (5) modificação do GCE	54
Figura 27 - Voltamograma cíclico do BW-CB/GCE na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 1,0 mM e KCl 0,10 M e velocidade de varredura de 25 mV/s em diferentes estágios de modificação	55
Figura 28 – Voltamograma de pulso diferencial para o sensor BW-CB/GCE em diversos estágios de modificação e na presença do branco ou de PQ $1,0 \times 10^{-5}$ M e tampão acetato 0,10 M (pH 5,0)	56
Figura 29 – Diagrama de Nyquist do BW-CB/GCE em diferentes estágios de modificação na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3}$ M e KCl 0,10 M na frequência de 100 kHz a 10 mHz	56
Figura 30 - Voltamograma de pulso diferencial para o sensor BW-CB/GCE em diferentes concentrações de PQ ($5,0 \times 10^{-7}$ a $7,5 \times 10^{-6}$ mol/L) na presença de tampão acetato 0,10 M (pH 5,6)	57

LISTA DE SIGLAS

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AuNPs – Nanopartículas de ouro, do inglês, *Gold Nanoparticles*
BP – Fosforeno, do inglês, *Black Phosphorene*.
BPA – Bisfenol A, do inglês, *Bisphenol A*
BW – Cera de abelha
CB – Negro de fumo, do inglês, *Carbon Black*
CD – Pontos de carbono, do inglês, *Carbon Dots*
CE – Contra eletrodo
CNTs – Nanotubos de carbono, do inglês, *Carbon Nanotubes*
CQDs – Pontos quânticos de carbono, do inglês, *Carbon Quantum Dots*
CuNPs – Nanopartículas de cobre
DPV – Voltametria de pulso diferencial, do inglês, *Differential Pulse Voltammetry*
DTA – Doenças transmitidas por alimentos
DWCNT - Nanotubos de carbono de parede dupla
EB – Elemento de reconhecimento bioquímico
EIS - Espectroscopia de Impedância Eletroquímica, do inglês, *Electrochemical Impedance Spectroscopy*
ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, do inglês, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
ER – Eletrodo de referência
ET – Eletrodo de trabalho
FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, do inglês, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*
FDA – Administração de Alimentos e Medicamentos, do inglês, *Food and Drug Administration*
FGV – Fundação Getúlio Vargas
f-MWCNTs - Nanotubos de carbono de parede múltipla funcionalizados com ácido carboxílico, do inglês, *Funcionalized Multi-walled Carbon Nanotubes*
GCE – Eletrodo de carbono vítreo, do inglês, *Glassy Carbon Electrode*
GO – Óxido de grafeno, do inglês, *Graphene Oxide*
GQDs – Pontos quânticos de grafeno, do inglês, *Graphene Quantum Dots*
IARC - Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LNH - Linfoma não-Hodgkin
MCH - 6-mercaptop-1-hexanol
MWCNT – Nanotubos de carbono de parede múltipla, do inglês, *Multi-Walled Carbon Nanotubes*
ONU - Organização das Nações Unidas
OTA – Ocratoxina A
PANI – Polianilina
PARA - Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
PNDA - Programa Nacional de Defensivos Agrícolas

rGO – Óxido de grafeno reduzido, do inglês, *reduced Graphene Oxide*
SARS-CoV-2 - Síndrome Respiratória Aguda Grave de Coronavírus 2
SPAu – Eletrodo impresso de ouro, do inglês, *Gold Screen-Printed Electrode*
SPCE – Eletrodo impresso de carbono, do inglês, *Screen-Printed Carbon Electrode*
SPE – Eletrodo impresso, do inglês, *Screen-Printed Electrode*
SWCNT – Nanotubos de carbono de parede simples, do inglês, *Single-Walled Carbon Nanotubes*
SWV - Voltametria de onda quadrada, do inglês, *Square-Wave Voltammetry*
ZEA – Zealona
ZnO – Óxido de zinco

LISTA DE SÍMBOLOS

Ω (ômega)	Símbolo da unidade de medida da resistência elétrica (ohm)
μ (mi)	Símbolo do prefixo micro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1	SEGURANÇA ALIMENTAR E A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS	17
2.2	AGROTÓXICOS E A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS	18
2.3	ADULTERAÇÃO INTENCIONAL E A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS	21
2.4	CONTAMINAÇÃO POR MIGRAÇÃO DE COMPONENTES DA EMBALAGEM E A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS	22
2.5	FUNGOS, BACTÉRIAS E A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS.....	23
2.6	SENSORES ELETROQUÍMICOS MODIFICADOS COM NANO(MATERIAIS) DE CARBONO E SEU POTENCIAL PARA A GARANTIA DA SEGURANÇA DOS ALIMENTOS	26
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
	REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos são uma parte essencial da nossa sobrevivência, com eles obtemos energia e elementos fundamentais para a manutenção do nosso corpo; para além disso, a alimentação suficiente e segura é um direito humano. Ainda, a população no geral confia nas autoridades governamentais e ainda depende que o governo determine parâmetros de qualidade dos alimentos e métodos de fiscalização eficientes para que não ocorram quaisquer tipos de enfermidades provenientes dos alimentos. Porém, milhões de pessoas no mundo ficam doentes e centenas de milhares morrem ao ano devido à alimentos inseguros para consumo [1].

Na história há vários exemplos de incidentes com alimentos contaminados que causaram efeitos nocivos na população. Entre 1971 e 1972, ocorreu no Iraque envenenamento em massa por consumo de sementes revestidas por compostos organomercuriais, consequência do uso de fungicidas para tratamento de infecção de fungos nas sementes ou no solo. Os afetados pela contaminação apresentaram confusão, delírios, alucinações, tremores e convulsões [1].

Em caso mais recente, em 2008, a melamina – composto amplamente utilizado, por exemplo, para a produção de resinas melamina-formaldeído (MF), colas e antichamas, e também na adulteração de leites para falsificar o teor de proteínas devido ao seu alto conteúdo de nitrogênio – foi detectada em lotes de leite produzidos na China e em produtos lácteos nos Estados Unidos, gerando *recall* dos produtos e a hospitalização de mais de 50.000 crianças e mortes, alarmando as autoridades mundiais de saúde [2]. Ainda em anos recentes, em 2011 a Alemanha alertou o mundo sobre um surto de *Escherichia coli* O104:H4 devido à brotos de feno-grego contaminados. Foram reportados casos em mais de 8 países da Europa e América do Norte e contabilizadas 53 mortes [3].

No Brasil, em 2017, houve uma operação policial com o objetivo de determinar produtores e distribuidores de produtos que comercializavam leites e derivados adulterados no estado do Rio Grande do Sul, resultando na denúncia de mais de 167 pessoas e, dentre elas, 16 foram condenadas por adulteração e organização criminosa. Dentre as substâncias encontradas para adulteração estão a ureia e o formol, este último já apontado pela Agência de Vigilância Sanitária (Anvisa) como nocivo à saúde e com potencial cancerígeno [4, 5].

Sob essa óptica, se faz necessário o desenvolvimento de métodos cada vez mais rápidos, confiáveis e baratos na determinação da segurança dos alimentos, já que são bastante necessários para a prevenção, controle e mitigação de surtos causados pelos mais diversos tipos de contaminações. A eletroquímica moderna fornece uma plataforma analítica composta por diversas técnicas eficientes que podem ser associadas a materiais de baixo custo, com possibilidade de análises *in loco* e preparação mínima das amostras. Adicionalmente, os sensores eletroquímicos e seus diferentes métodos de desenvolvimento apresentam uma amplitude de aplicações na indústria alimentícia, principalmente no controle de qualidade, e a utilização de (nano)materiais de carbono vêm sendo uma possibilidade de modificação desses sensores para aprimorar suas características eletroquímicas, como condutividade elétrica e aumento da área superficial do eletrodo, com maior facilidade para o ancoramento de outras espécies químicas utilizadas para o sensoriamento [6].

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma reflexão sobre algumas das possibilidades de contaminação dos alimentos na cadeia produtiva de alimentos como as advindas do uso de agrotóxicos, por adulteração intencional do produto, por migração de compostos da embalagem primária para o alimento, e por contaminação por fungos e bactérias. Ainda, trazer uma revisão de trabalhos acadêmicos decorrentes do desenvolvimento de sensores eletroquímicos modificados com (nano)materiais de carbono para a determinação de tais contaminantes.

2 METODOLOGIA

Para a execução da pesquisa e da revisão, os artigos, trabalhos acadêmicos e publicações foram pesquisados utilizando as palavras-chaves - em inglês e em português - “sensor eletroquímico”, “food safety”, “alimentos”, “contaminante”, “nanomaterial”, “carbono”, e ainda palavras mais específicas de acordo com o contaminante procurado como, “agrotóxico”, “micotoxina”, “adulterante”, “embalagem”, “bactéria”. Além das palavras-chaves, outro critério utilizado para a pesquisa foi o período de publicação entre 2017 a 2022. Os bancos de dados utilizados para a pesquisa foram o *Web of Science* e o *Scholar Google*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 SEGURANÇA ALIMENTAR E A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

Ao se tratar do sistema de alimentação nacional e mundial, a segurança alimentar e a segurança dos alimentos (*food safety*) são termos e princípios bastante relevantes de forma que são abrangidos em três dos dezessete objetivos de desenvolvimento sustentável da Organização das Nações Unidas (ONU). Isto posto, a segurança alimentar prevê, segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, do inglês, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*), a garantia de que toda a população terá acesso a alimentos que satisfaçam as suas necessidades nutricionais para levar uma vida saudável e ativa, portanto, prevenindo a fome, desnutrição, sobrepeso e obesidade [7, 8].

Com o crescimento econômico e aumento da relação entre pequenas e grandes economias do mundo, os padrões alimentares em todo o globo sofrem mudanças constantemente, inclusive na América Latina e Caribe, ocorrendo a ampliação do consumo de alimentos ultraprocessados e diminuição da produção e consumo de alimentos tradicionais, e também aumento da exportação de alimentos para países desenvolvidos [8].

Dessa forma, a preocupação com o acesso à uma alimentação saudável e nutritiva são amplamente tratados, tanto em potências econômicas como os Estados Unidos da América, onde o consumo de forma exagerada de alimentos ultraprocessados vêm sendo estudado a anos como a justificativa da grande incidência de doenças, tais como, obesidade, diabetes mellitus tipo 2 e insuficiência cardíaca, quanto em economias mais pobres, como de muitos países da América Latina e Caribe, na qual a preocupação é quanto a desnutrição aguda e crônica, ao crescimento da ingestão de ultraprocessados e também à fome [9].

No ano de 2020, no seio da pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2 – causador da COVID-19 – o Brasil, assim como o mundo, reencontrou de forma brusca o cenário de profundo desamparo e fome, sendo que o país em anos anteriores já se encontrava em um quadro de estagnação econômica, elevação do emprego informal, crescimento da pobreza e extrema pobreza, e descaso com o sistema de saúde [10].

Ainda em 2020, antes da pandemia de fato atingir o país, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) publicou um relatório onde foi constatado que a informalidade havia batido um recorde, alcançando mais de 41,1% da população

ocupada; e segundo a Fundação Gentúlio Vargas (FGV), em abril de 2021 o país alcançou o pior patamar em número de pessoas na pobreza: cerca de 27,7 milhões pessoas, 12,98% da população brasileira. À vista disso, o novo coronavírus escancarou as desigualdades do Brasil e, com elas, foram evidenciadas a dificuldade da população mais vulnerável em garantir uma alimentação saudável e segura [11, 12].

A pandemia foi um fenômeno onde as consequências não puderam ser previstas e imaginadas pela sociedade no geral, mas por outro lado, o crescimento populacional global já é um fator discutido a um tempo, e também seu impacto na alimentação. Pensando na necessidade de garantir a segurança alimentar em nível mundial e no crescimento da população, a simplificação e aumento da eficiência e eficácia das cadeias alimentares se tornou imprescindível [13]. Estima-se que até 2050 seja alcançado uma população mundial de 9 bilhões de habitantes, sendo que a classe média no mundo chegará a 2,1 bilhões de pessoas, fazendo com que a demanda por alimentos ricos em proteínas, como derivados de leite e carne, possa chegar a ser mais do que dobro das necessidades observadas atualmente [13].

Aliado a esse fato, agências regulamentadoras da produção e/ou distribuição de alimentos governamentais estão constantemente mudando e atualizando leis, o que pode facilitar ou adicionar complexidade às cadeias alimentares, principalmente quando não estão globalmente padronizadas, uma vez que cada país tem diferentes necessidades locais de acordo com a dieta típica da população, clima e mudanças climáticas, nível de renda *per capita* e infraestrutura governamental [13].

Ainda, a antecipada duplicação da demanda mundial por alimentos é considerada o principal motivo para o crescimento de doenças transmitidas por alimentos (DTA) – que são contaminações causadas devido a contaminação microbiana ou parasitária [13]. A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera a ocorrência de DTA uma preocupação para a saúde pública em nível mundial; segundo o mesmo órgão, todos os anos temos mais de 600 milhões de casos doenças por alimentos contaminados em todo o globo, e cerca de 420 mil pessoas chegam a óbito após o consumo de um alimento contaminado [8].

3.2 AGROTÓXICOS E A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

Agrotóxicos são, segundo a Lei Federal nº 7.802 de 11 de julho de 1989:

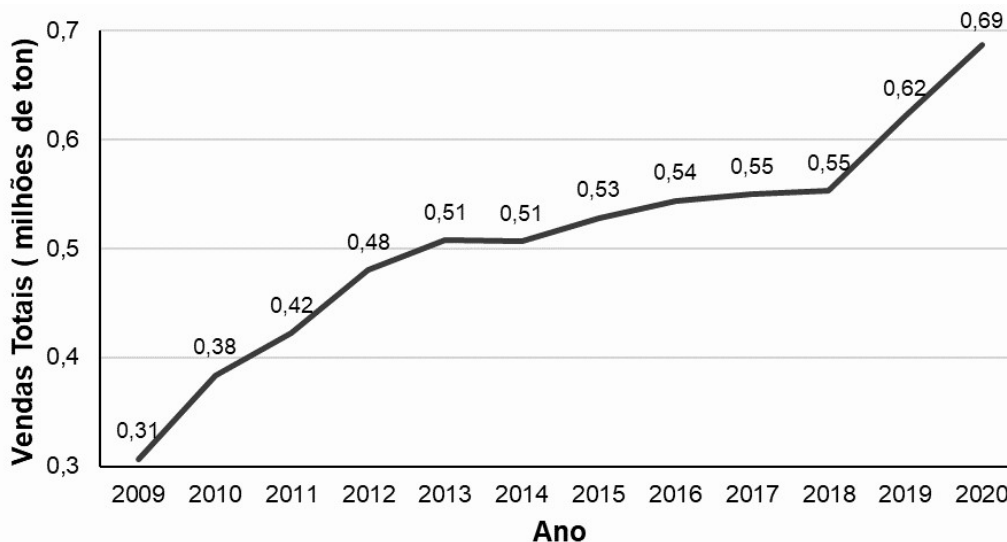
“Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento [14].”

No Brasil, tais substâncias passaram a ser utilizadas na agricultura com tanta amplitude a partir da década de 1970, com a instituição do Programa Nacional de Defensivos Agrícolas (PNDA) – parte da política nacional para modernização da agricultura que estimulou a implantação da indústria de defensivos e de concessão de créditos agrícolas [15]. Hoje, o país se caracteriza como um dos maiores produtores agropecuários do mundo, sendo o quarto maior produtor de grãos – como arroz, cevada, milho e soja – se tornando responsável por 7,8% da produção mundial; e ainda, segundo Peruzzi [16], em cinco anos o país será o maior exportador de grãos do mundo, superando os Estados Unidos.

Já em relação a fruticultura, com uma produção de 79,4 milhões de toneladas em 2019, o Brasil é o terceiro maior produtor do mundo de frutas – principalmente de frutas tropicais como laranja, banana e abacaxi - atrás apenas da Índia e China; e as exportações somam mais de um milhão de toneladas. Devido a magnitude da agropecuária no país, este setor utiliza intensamente insumos químicos, fazendo com que se tornasse o maior consumidor de agrotóxicos do mundo [17].

Em 2020, o país somou cerca de 685 mil toneladas de agrotóxicos e afins - ingredientes ativos – vendidos (comercializados no Brasil), um crescimento de 24,2% em relação a 2018, tornando-se a maior crescente no peso de ativos vendidos entre intervalos de 2 anos desde 2009, período na qual se iniciou o registro (Gráfico 1) [18]. Além disso, neste mesmo ano foram aprovados 493 agrotóxicos, a maior aprovação em toda a história nacional; atualmente, já somam mais de mil aprovações desde o ano de 2019 [19].

Gráfico 1 – Série histórica das vendas totais de agrotóxicos e ingredientes ativos por ano no Brasil



Fonte: Adaptado de Ibama (2021)[18]

Quando se trata de exposição aos agrotóxicos, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) define duas formas gerais: no trabalho, podendo ser através da inalação, contato dérmico ou oral durante a manipulação; ou no ambiente, por meio da pulverização aérea que podem dispersar pelo ambiente contaminando áreas e a população, contato com roupas contaminadas dos trabalhadores rurais, e também através do consumo de água ou alimentos contaminados [20]. Em um relatório de 2018, o Ministério da Saúde estima que 84,2 mil pessoas sofreram intoxicação após exposição a defensivos agrícolas entre o período de 2007 e 2015. Já um ano antes, em 2017, a ONU havia constatado que ocorreram cerca de 200 mil óbitos por ano devido ao envenenamento agudo por pesticidas, em sua maioria trabalhadores e moradores rurais, em sua parte durante a aplicação dos defensivos agrícolas [21].

Além da exposição dos agricultores, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), no período de 2013 a 2015, monitorou 12.051 amostras de 25 alimentos (tais como, alface, arroz, batata, maçã e entre outros) recolhidos em todo o país baseado nos dados de consumo do IBGE e na disponibilidade nos supermercados. Desses alimentos, que representam mais de 70% dos alimentos de origem vegetal consumidos pela população, aproximadamente 20% apresentaram níveis de agrotóxicos acima do que é estabelecido pela legislação, evidenciando que esses contaminantes alcançam também os pontos de vendas urbanos. Ainda foi avaliado a porcentagem dos alimentos que apresentam algum risco agudo à saúde e constatado que 1,11% das amostras eram nocivas [22]. Verifica-se, portanto, a nocividade do uso desenfreado e do contato com os pesticidas para a

saúde humana.

Dentre os ingredientes ativos mais utilizados no Brasil, o glifosato e a malationa (que juntos representam 38,1% das vendas totais de 2020) foram classificados pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC, do inglês, *International Agency for Research on Cancer*) como 2A – provavelmente carcinogênico para seres humanos – e foi evidenciada a sua correlação para a ocorrência de linfoma não-Hodgkin (LNH), câncer mais incidente que tem origem no sistema linfático e que se espalha de uma forma desordenada [23].

De forma geral, a exposição prolongada pode ocasionar outros danos gravíssimos à saúde como alterações no sistema gastrointestinal, imunológico, respiratório, cardiovascular e endócrino; malformação congênita, infertilidade, doença de Parkinson, Alzheimer, reações alérgicas, diabetes e alterações comportamentais [24].

Levando em consideração o uso inevitável e grandioso dos defensivos agrícolas e o número exacerbado de defensivos aprovados no país, é necessário o desenvolvimento de uma sistema eficaz de proteção dos trabalhadores rurais que fazem aplicação e dos seus familiares; e, paralelamente, fortalecimento da fiscalização e desenvolvimento de técnicas para detecção destes e ou de compostos derivados do seu uso (como metais pesados) em água e alimentos, já que foi constatado que a permanência dos agrotóxicos não se limita à área de aplicação, podendo se difundir pelo ambiente [25].

3.3 ADULTERAÇÃO INTENCIONAL E A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

A adulteração de alimentos também é preocupante para a manutenção do *food safety*. Segundo a Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA, do inglês, *Food and Drug Administration*) - órgão de controle e regulamentação de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos - um alimento pode ser considerado adulterado quando é acrescido de substância nociva à saúde e/ou mais barata e de qualidade inferior à do produto, quando a qualidade do alimento está abaixo do padrão regulamentado, quando adicionado de qualquer substância para aumentar a massa ou peso ou para fazer parecer mais valioso [26].

Paralelamente, a lei brasileira nº 9.677, de 2 de julho de 1998, o 272º artigo penaliza o ato de “corromper, adulterar, falsificar ou alterar substância ou produto

alimentício destinado a consumo, tornando-o nocivo à saúde ou reduzindo-lhe o valor nutritivo”, podendo o infrator estar sob pena de reclusão por 4 a 8 anos e multa [27].

As empresas que realizam a adulteração intencional têm como principal motivador a economia: ao acrescentar ao produto algum componente impróprio, o objetivo final é aumentar o rendimento ou o prazo de validade, evitar que o alimento seja descartado por não estar conforme os parâmetros definidos pela legislação, mudar a aparência do produto ou até mesmo para oferecer alguma propriedade ao consumidor de forma enganosa [26]. Conseqüentemente, muitos dos alimentos adulterados passam a oferecer perigo a quem consome, podendo causar alergias e, em casos mais graves, intoxicações agudas ou crônicas que podem levar à morte [26].

Estima-se que 10% dos produtos alimentícios contém algum componente de forma fraudulenta [28]. As adulterações costumam ser realizadas na maioria das vezes em produtos perecíveis, devido à sua susceptibilidade às alterações físico-químicas e microbiológicas – que, conseqüentemente, diminuem o prazo de validade.

O leite é um exemplo de produto alimentício que vem sendo amplamente adulterado, principalmente em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos, podendo, ser acrescido de água e leite desnatado para aumentar o rendimento e volume do produto; leite sintético, uma mistura de água, detergente, óleo e ureia, tipicamente usado para mascarar a adição de água; neutralizantes, antibióticos, peróxido de hidrogênio para inibir a proliferação de microrganismos; detergentes e melamina, substância utilizada para a produção de cola e produtos anti-chamas que contribui para mascarar a baixa concentração de proteínas do leite [29]. Muitas dessas substâncias podem causar ao consumidor cálculo e insuficiência renal, aterosclerose e outros problemas cardíacos, reações alérgicas, gastrite ou até mesmo câncer [29].

3.4 CONTAMINAÇÃO POR MIGRAÇÃO DE COMPONENTES DA EMBALAGEM E A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

Durante o processamento até o consumo, o alimento está sujeito a sofrer diversas contaminações, podendo ser elas físicas, químicas ou microbiológicas. No que se diz respeito à contaminação química, tem aquela que ocorre devido à migração de componentes de embalagens onde o produto está sendo armazenado.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), migração é definida como “a transferência de componentes do material em contato com alimentos para estes produtos, devido à fenômenos físico-químicos” [30].

Para controle de aditivos em materiais plásticos e revestimentos poliméricos em contato com os alimentos se tem uma lista positiva definida e regulamentada pela Anvisa na Resolução da Diretoria Colegiada nº 326, de 3 de dezembro de 2019. Também há a Resolução nº 17 de março de 2008 que dispõe a lista positiva de aditivos para materiais plásticos destinados à elaboração de embalagens e equipamentos em contato com alimentos. Ao fazerem parte destas listas, os aditivos não apresentam riscos à saúde quando respeitam o limite de migração total (é a quantidade máxima admissível de componentes de material em contato com alimentos, transferida aos simulantes sob condições específicas), limite de migração específica (é a quantidade máxima admissível de um componente específico do material em contato com alimentos, transferida aos simulantes, nas condições específicas) e o limite de composição (é a quantidade máxima permitida de um componente particular de interesse toxicológico no material em contato com alimentos) [31, 32].

Um aditivo presente na lista positiva para materiais plásticos em contato com alimentos é o bisfenol A (BPA, do inglês, *Bisphenol A*), um composto barato e durável amplamente utilizado na indústria na produção de embalagens de armazenamento de alimentos como utensílios de cozinha e garrafas feitos de policarbonato – o que levou ao crescimento da exposição ao BPA. A exposição excessiva ao contaminante pode causar diabetes, doenças cardiovasculares, câncer de próstata e de mama, redução da fertilidade e danos ao fígado [33]. No Brasil, a importação e produção de mamadeiras que contenham BPA está proibida desde 2012, contudo, para os outros diversos materiais que tem BPA em sua formulação, a produção ainda é permitida com um limite máximo de migração específica (isto é, a quantidade máxima admissível da substância transferida a um simulante do alimento, em condições específicas de contato) que é de 0,6 mg por kilo de alimento [34, 35].

3.5 FUNGOS, BACTÉRIAS E A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

Os fungos têm papéis fundamentais na cadeia alimentícia como parte integral de vários tipos de processamento, como no caso da produção de cervejas, vinhos, e pães e bolos, ou até mesmo na decomposição de resíduos orgânicos descartados

após a produção de um alimento. Porém, podem se tornar um fator nocivo quando são indesejáveis no processo, causando a deterioração do produto alimentício e até mesmo produzindo micotoxinas. Dentre os principais gêneros de fungos micotóxicos, têm-se o *Penicillium*, *Fusarium* e *Aspergillus* [36].

A FAO estima que anualmente 25% da produção mundial de grãos são contaminadas por micotoxinas; além disso, sabe-se que a presença de fungos e de insetos (que disseminam esporos de fungos) são as principais causas de perdas de grãos armazenados; de modo geral, os fungos produtores de micotoxinas se desenvolvem principalmente em substratos com alto teor de carboidratos [36].

A ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas ou até mesmo inalação dessas podem ser nocivos à saúde humana, sendo que os efeitos crônicos de algumas delas podem ser carcinogênico, estrogênico, hepatóxico, neurotóxico, imunotóxico e interferência na replicação do DNA. As ocratoxinas, produzidas por cepas de *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.*, se apresentam em três tipos diferentes, sendo a ocratoxina A (OTA) a que apresenta maior potencial tóxico por possuir uma molécula de cloro em sua composição, além de ser a mais frequentemente encontrada, principalmente em pães, cereais e café. Devido à sua toxicidade, a OTA apresenta efeitos nefrotóxicos, imunossupressores, teratogênicos e carcinogênicos [36, 37].

As zearalenonas (ZEA), produzidas principalmente por *Fusarium spp.*, ocorrem com mais frequência em milho e seus derivados, arroz, cevada e trigo, conhecida por provocar infertilidade, desenvolvimento precoce das mamas, prolapso vaginal, entre outros efeitos [36]. A patulina, produzida por fungos *Penicillium spp.*, é uma micotoxina resistente a altas temperaturas e é comumente encontrada em produtos armazenados e em suco de maçã; apresenta ação antibiótica, mas também tem sido estudada devido à seus efeitos carcinogênicos [36].

A respeito das bactérias, sabe-se que um dos perigos causados pela contaminação por essas é a desidratação severa por diarreia. De acordo com o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, do inglês, *Centers for Disease Control and Prevention*), agência americana de proteção contra enfermidades, 70% dos casos de diarreia estão relacionadas com bactérias patogênicas como *S. aureus*, *S. typhimurium* e *E. coli*, que podem produzir toxinas que são bastante estáveis em alimentos [38]. Ainda, no Brasil, entre o período de 2000 a 2015 foram identificados mais de 3,4 milhões de casos de internação de hospitalar por diarreia e 72 mil mortes

[39].

Além da diarreia, sintoma comumente causado por DTAs, as bactérias podem causar outras diversas enfermidades que apresentam perigos similares ou muito mais nocivos. A título de exemplo, bactérias do gênero *Salmonella* podem causar doenças como a febre tifóide e entérica, enterocolites (necrose da mucosa intestinal) e salmoneloses; *E. coli* pode causar febre, dores abdominais, cefaléia e fezes com sangue; *S. aureus* pode provocar náuseas e vômito [40]. Para fins de regulamentação, os limite de microrganismos são definidos por categorias de alimentos pela Instrução Normativa nº60, de 23 de dezembro de 2019 do Ministério da Saúde [41].

Portanto, o aumento das relações entre diferentes economias do mundo e da exportação de alimentos advindos de países em desenvolvimento, o crescimento populacional, falta de saneamento básico e fiscalização, o uso de adulterantes, agrotóxicos, a contaminação química e biológica dos alimentos, e o alerta criado pela pandemia de SARS-CoV-2 para a possibilidade de novas crises biológicas mundiais que trazem consigo, além do escancaramento das mazelas e vulnerabilidades em todos países, uma preocupação com a segurança do alimento que está sendo consumido, são algumas das justificativas que tornam o *food safety*, além de um desafio, essencial para a manutenção da saúde pública [13].

Isto posto, é fundamental a existência de técnicas e métodos analíticos como meio para a garantia da qualidade do que será consumido, assegurando que a ingestão dos alimentos não causará nenhum débito à saúde devido a contaminações que poderiam ser evitadas.

Logo, diversas técnicas já foram desenvolvidas para a identificação destes químicos indesejáveis como, por exemplo, no caso dos defensivos agrícolas, tem-se métodos mais tradicionais utilizando cromatografia líquida e gasosa [42], cromatografia de alta eficiência [43], Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA, do inglês, *Enzyme-Linked Immunoabsorbant Assay*) [44], eletroforese capilar [45]; e técnicas mais avançadas como polímero com impressão molecular [46] e sensores eletroquímicos, alguns a serem tratados neste presente trabalho.

Os métodos tradicionais geralmente são bastantes sensíveis, seletivos e apresentam limites de detecção baixos, contudo, são considerados bem trabalhosos, complicados e muito custosos; por outro lado, as técnicas mais avançadas, tais como o sensoriamento eletroquímico, apresentam a vantagem de serem mais rápidas de

se desenvolver, podem ser conduzidas *in loco*, têm baixo custo operacional, alta seletividade e sensibilidade, além de ser considerado ecologicamente viável por produzir pouco resíduo, tornando os sensores eletroquímicos uma excelente alternativa para desenvolvimento de novos métodos para a determinação de diversos tipos de analitos, como no caso de uma diversidade de contaminantes químicos e biológicos, uma vez que a indústria prefere técnicas convenientes, precisas e eficientes [47, 48].

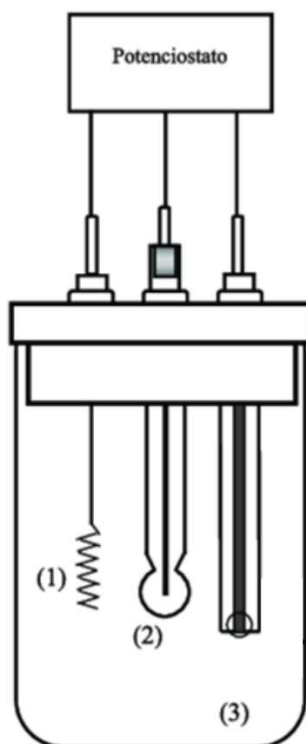
3.6 SENSORES ELETROQUÍMICOS MODIFICADOS COM NANO(MATERIAIS) DE CARBONO E SEU POTENCIAL PARA A GARANTIA DA SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

A eletroquímica consiste no estudo de sistemas onde, por meio de reações de oxido-redução, são capazes de produzir corrente elétrica (células galvânicas) - ou que, ao receberem energia elétrica, promovem o processo de oxido-redução (eletrólise). Portanto, é a área da Química que estuda a transferência de elétrons que gera a transformação de energia química em energia elétrica, e também o inverso [49]. No caso do estudo do sensoriamento eletroquímico, o processo que integra a técnica de construção dos sensores é a eletrólise onde, por meio de diferentes métodos de voltametria e amperometria, ocorre a aplicação de uma diferença de potencial (d.d.p) controlada para que as transferências de elétrons e as medições para determinação da concentração da espécie de interesse ocorram [49].

Os sensores eletroquímicos compreendem um sistema de células eletroquímicas contendo de dois a três eletrodos, uma solução eletrolítica e o analito [50] (Figura 1). O eletrodo de referência (ER) mantém o potencial aplicado na célula constante durante as medições; o eletrodo de trabalho (ET) é um eletrodo constituído de material inerte (como ouro, platina, carbono) onde o analito sofre oxido-redução, enquanto o eletrodo auxiliar ou contra eletrodo (CE) garante que a corrente gerada flua apenas entre o eletrodo referência e o de trabalho [50].

Figura 1 – Representação esquemática de uma célula eletroquímica de três

eletrodos: (1) eletrodo auxiliar, (2) eletrodo de referência, (3) eletrodo de trabalho



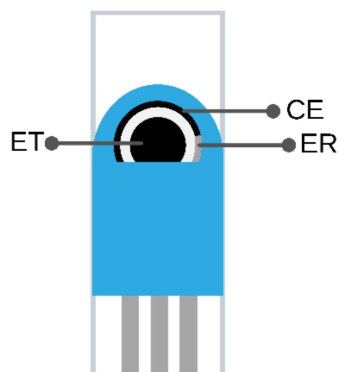
Fonte: Adaptado de Santos, Mendes, Kubota (2004) [51]

Dentre os mais variados tipos de eletrodos de trabalho têm-se o de carbono vítreo (GCE, do inglês *glassy carbon electrode*) e o impresso (SPE, do inglês *screen-printed electrode*). O GCE tem sido amplamente utilizado devido à ampla janela de potencial, facilidade na modificação de sua superfície e possibilidade de ser reutilizado. A fim de aprimorar a performance do eletrodo, uma variedade de métodos de ativação foi desenvolvida como pré-tratamentos eletroquímicos, ultrasonicação, polimento, aquecimento a vácuo e irradiação de laser – que alteram a estrutura da superfície do eletrodo. Estruturalmente, o carbono vítreo é formado por camadas gráficas – compostas por átomos de carbono hibridizados sp^2 – desorganizadas e dispostas em sua grande parte em um padrão hexagonal; as ligações entre os átomos de carbono são covalentes, enquanto entre as camadas ocorre por ligações de van der Waals [52].

Já o SPE, consiste em um pequeno dispositivo que suporta o eletrodo de trabalho (ET), de referência (ER) e contra eletrodo (CE) em uma mesma plataforma (Figura 2); é produzido a partir da impressão camada por camada de um filme

condutor sobre um material suporte inerte (como vidro e cerâmica) e geralmente as tintas impressas utilizadas podem ser, por exemplo, de prata, ouro, platina e carbono (que é composta por grafite); também podem ser aplicados polímeros ligantes e outros aditivos para melhorar a dispersão, impressão e adesividade da tinta [53].

Figura 2 – Representação esquemática de um eletrodo impresso



Fonte: Autoria Própria

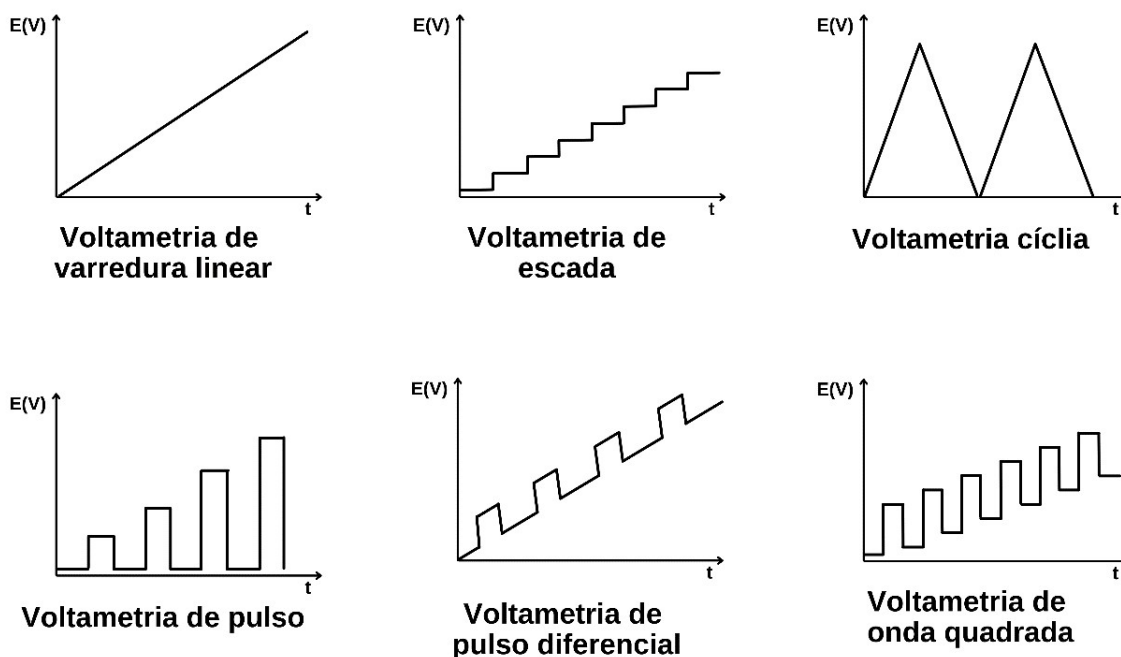
O SPE apresenta a vantagem de ser facilmente produzido em larga escala, pouco custoso, necessitar de um volume reduzido de amostra, principalmente devido à sua estrutura reduzida quando comparado com outros tipos de eletrodo (como o próprio GCE), o que diminui o tamanho do sistema de detecção no qual o eletrodo fará parte. A superfície do SPE pode ser modificada com facilidade, com a possibilidade de atingir uma variedade de melhorias, e o uso desse tipo de eletrodo diminui problemas comuns de eletrodos clássicos de material sólido como processos de limpeza da superfície demorados e efeito de memória [53].

Apesar da variedade de eletrodos de trabalho, o mecanismo de quantificação da espécie química é bastante similar nos sistemas que o integram. A determinação do analito de interesse ocorre a partir do transporte de massa das espécies eletroativas até o eletrodo, que por sua vez, ocorre por difusão (movimento espontâneo dos íons devido ao gradiente de concentração), convecção (que é consequência da movimentação mecânica – agitação ou rotação – resultando em um contato maior entre o analito e o eletrodo) e por migração devido à atração ou repulsão entre os íons. Contudo, a maioria das análises são feitas sem movimentação mecânica (em um sistema estático) e, ainda, a migração pode ser praticamente

desconsiderada devido à alta concentração de íons no eletrólito suporte. Portanto, o transporte de massa mais relevante passa a ser o por difusão. Para caracterização do fenômeno de transporte de massa do sistema eletroquímico existem diferentes técnicas de caracterização do sistema e de detecção e quantificação do analito [50].

Uma das técnicas bastante utilizada para aplicação em sistemas de baixa concentração para caracterização da célula eletroquímica é a voltametria e suas diversas variações. Por meio dela é possível obter informações quantitativas e qualitativas do analito a partir do registro de voltamogramas, que são curvas corrente-potencial obtidas durante a eletrólise da espécie química em questão. Para isso, então, é aplicado um potencial entre o eletrodo de trabalho e o de referência em forma de varredura – variando a uma velocidade constante em função do tempo [54]. Dentre os tipos de voltametria tem-se as técnicas de pulso que enquadram a de escada, de pulso, pulso diferencial, de onda quadrada, e a voltametria cíclica (Figura 3).

Figura 3 – Tipos de voltametriias em gráfico de potencial-tempo

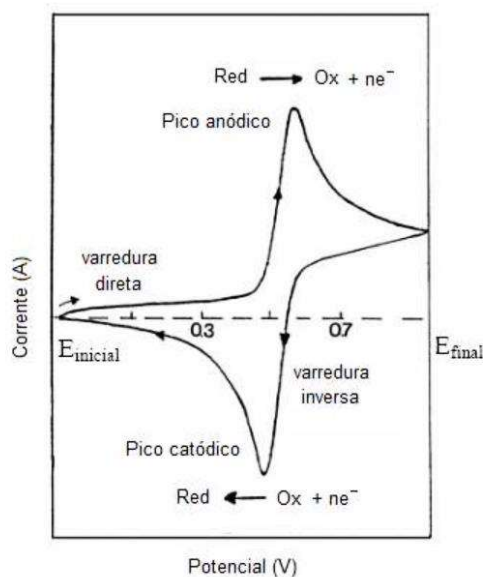


Fonte: Autoria Própria

A voltametria cíclica é a mais comumente utilizada para obter informações qualitativas de um sistema eletroquímico e consiste na aplicação de um potencial de varredura no sentido anódico e catódico (variando na forma de uma onda triangular),

com um potencial inicial na qual não ocorre nenhuma reação de oxido-redução, formando um voltamograma com dois picos de corrente: pico anódico (característico da oxidação) e catódico (formado quando ocorre redução) (Figura 4). Essa técnica de voltametria é amplamente utilizada para constatar o grau de reversibilidade das reações de oxidação e redução [55].

Figura 4 – Voltamograma obtido por voltametria cíclica



Fonte: Placido (2020) [56]

Ao se iniciar a varredura a partir de um potencial inicial onde não ocorrem reações de oxido-redução e pelo sentido positivo (varredura direta), a velocidade de transferência de elétrons é aumentada e, com isso, a corrente também aumenta, gera um pico anódico, até o momento onde a concentração da espécie que está sofrendo as reações começa a diminuir nas proximidades da superfície do eletrodo, e a transferência de massa por difusão não é o suficiente para repor a espécie nesse local [55].

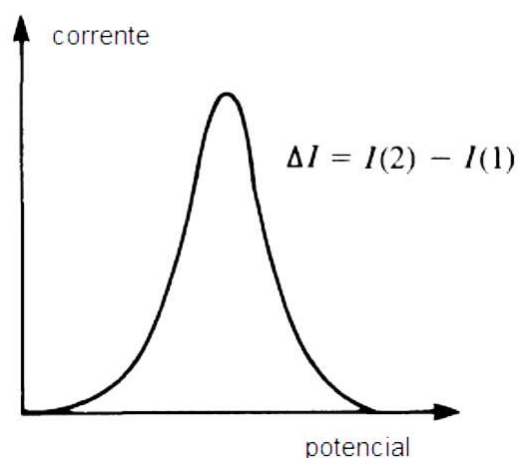
Quando o potencial final é atingido, a varredura passa a ocorrer no sentido inverso (varredura inversa) e, no caso de uma reação reversível (rápida o suficiente para manter as concentrações de equilíbrio dos reagentes e produtos nas proximidades da superfície do eletrodo), os produtos gerados enquanto a varredura direta ocorria são reduzidos na varredura inversa, gerando um pico catódico simétrico. Caso a reação não seja reversível e, com isso, seja mais lenta, a corrente de pico

obtida é menos acentuada. Portanto, a velocidade das transferências de carga é reduzida na medida que a reação vai se tornando irreversível; ainda, quanto mais afastados são os picos anódico e catódico, mais o processo se afasta da reversibilidade [55].

Na voltametria de pulso, a aplicação de potencial é baseada em uma sequência de pulsos, com amplitudes crescentes e tempo de duração constante; durante a aplicação do potencial constante observa-se apenas uma corrente residual causada por oxigênio dissolvido e/ou outras impurezas presentes na solução, e uma corrente capacitiva. Contudo, ao realizar o aumento do potencial através do pulso, a espécie química de interesse sofre redução ou oxidação, gerando uma corrente faradaica que decresce até seu valor mínimo – difusional – dependendo da amplitude de cada pulso [57].

A voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*) apresenta pulsos de amplitude fixa sobrepostos a uma rampa linear e crescente de potencial [58]. A medição da corrente é feita antes e ao final da aplicação do pulso e, posteriormente, são subtraídas, uma vez que a primeira corresponde à corrente capacitiva, e a segunda à corrente faradaica; o voltamograma obtido tem a forma de uma curva gaussiana, e essa técnica é mais sensível que a de pulso e a cíclica, já que permite diminuir a contribuição da corrente capacitiva no sistema (Figura 5) [57].

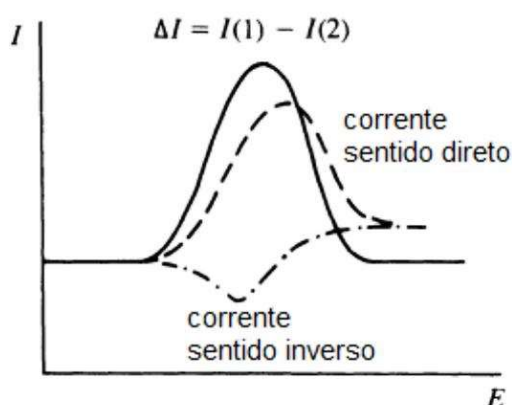
Figura 5 – Voltamograma obtido pela técnica de pulso diferencial, sendo $I(2)$ a corrente faradaica e $I(1)$ a corrente capacitiva



Fonte: Pacheco, Semaan [58]

Na voltametria de onda quadrada, uma onda quadrada de amplitude simétrica é sobreposta a uma rampa de potencial do tipo “escada”; é uma técnica bastante rápida e sensível, possível de obter limites de detecção comparáveis aos das técnicas de cromatografia e espectroscopia, além de realizar uma avaliação cinética do sistema de eletrólise [57]. A corrente é medida duas vezes, a primeira quando a direção do pulso é igual à direção de varredura, e a segunda quando a direção do pulso é diferente da de varredura; o voltamograma obtido por essa técnica pode ser observado na Figura 6 [58].

Figura 6 – Voltamograma obtido pela técnica de onda quadrada, sendo $I(2)$ a corrente faradaica e $I(1)$ a corrente capacitiva



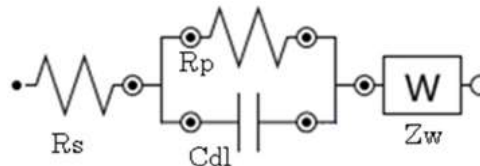
Fonte: Pacheco, Semaan [58]

Outra técnica bastante utilizada para caracterização de sistemas eletroquímicos, mas também para a detecção dos analitos, é a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, do inglês, *Electrochemical Impedance Spectroscopy*) que consiste na resposta de um sistema eletroquímico a uma perturbação (um sinal de pequena amplitude do tipo senoidal de tensão ou corrente alternada); tal resposta, a impedância, equivale a resistência total do capacitor, indutor e da resistência à corrente alternada. Portanto, o principal objetivo da EIS é a descrição do comportamento de um sistema eletroquímico diante da combinação desses componentes elétricos passivos que, com exceção das resistências, têm seus comportamentos influenciados pela frequência [59].

Com isso, aplicando a analogia do circuito elétrico no sistema eletroquímico, a

capacitância é causada pela dupla camada elétrica formada na interface entre o eletrodo e o eletrólito, e a resistência é advinda da solução eletrolítica e associada a transferência de carga. Para realizar a descrição do comportamento de célula eletrolítica de forma simplificada é comumente utilizado o circuito de Randles (Figura 7):

Figura 7 – Circuito de Randles



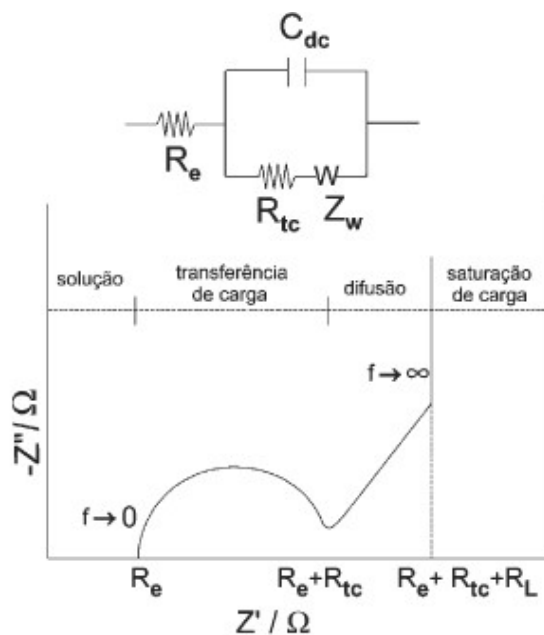
Fonte: Habekost (2021) [59]

Onde, R_s corresponde à resistência eletrolítica, C_{dl} corresponde à capacitância da dupla camada elétrica, R_p à resistência resultante da transferência de cargas e a impedância de Warburg (Z_w) descreve a variação da impedância quando esta é limitada pela difusão. A fórmula utilizada para descrever o módulo da impedância ($|Z|$) é

$$|Z| = \left[R^2 + \frac{1}{(\omega C)^2} \right]^{\frac{-1}{2}}$$

Na qual pode ser dividida em uma parte real R e uma parte imaginária $\frac{1}{\omega C}$. No diagrama de Nyquist, frequentemente empregado na representação gráfica do comportamento do sistema eletroquímico caracterizado pela EIS, os dados de impedância são plotados em função do negativo da impedância imaginária (Z'') pela impedância real (Z') na forma quadrática (os tamanhos dos eixos devem ser iguais e ter o mesmo comprimento) para que não ocorra nenhuma deformação e equívoco na interpretação dos dados (Figura 8) [60].

Figura 8 – Diagrama de Nyquist idealizado



Fonte: Carvalho, Andrade, Bueno (2006) [61]

No sensoriamento eletroquímico, além da possibilidade de caracterização e determinação dos analitos por diversos métodos, é essencial a forma como é realizada a manipulação do eletrodo de trabalho durante o desenvolvimento da técnica. As respostas geradas dependem das características da superfície do eletrodo de trabalho e, para que elas sejam bastante confiáveis e reproduzíveis, é necessário realizar um pré-tratamento eletroquímico da superfície e até mesmo, em alguns casos, mecânico por meio do polimento. Além disso, se o analito de interesse não for eletroativo dentro da janela de potencial de trabalho, o eletrodo pode passar por uma série de modificações por meio da imobilização de compostos orgânicos (como quitosana, anticorpos e enzimas), e/ou inorgânicos através de diversas técnicas: adsorção, ligação covalente, formação de filmes polimérico e deposição, viabilizando a detecção [62].

Quando o eletrodo é modificado por um elemento sensor biológico, como aminoácidos, peptídeos, enzimas e entre outros, o sensoriamento eletroquímico é obtido por um biossensor [62]. [63].

Estes podem ser separados em duas classes: os de medição direta, na qual a reação entre o sensor e o analito pode ser feita diretamente; e os de medição indireta, havendo a necessidade de um ligante intermediário ao analito para realizar a

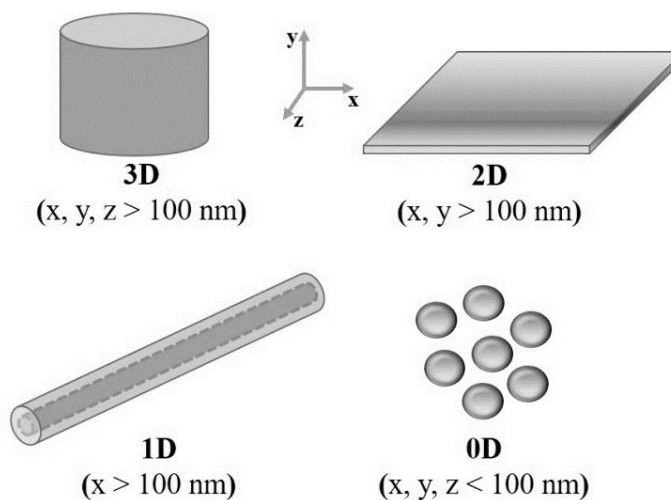
detecção; é onde se enquadram os biossensores eletroquímicos. Os biossensores de medição direta apresentam a vantagem de serem muito mais simples, contudo, a medição indireta permite um sensoriamento muito mais sensível, baixo custo e baixo tempo de operação [64].

Dentre os materiais inorgânicos utilizados nas modificações de sensores, tem-se, por exemplo, nanopartículas metálicas (de cobre, ouro, prata e entre outras) e materiais de carbono (como nanomateriais de carbono, um dos mais utilizados na modificação de sensores eletroquímicos) [62].

Os nanomateriais de modo geral têm atraído a atenção de muitos pesquisadores desde que foram descobertos. É considerado nanomaterial aquele que possui tamanho menor ou igual a 100 nanômetros, e o avanço nas pesquisas sobre esse tipo de material decorre das grandes mudanças físico-químicas que esses promovem e também do aumento da área superficial e, assim, da área de contato e reatividade [65].

Esse tipo de material pode ser classificado quanto ao tipo (metálico, cerâmico ou polimérico), estrutura (cristalina ou amorfa), forma (esférica, cúbica, dodecaédrica, entre outras) e dimensionalidade, sendo definido como 3D quando possui mais de 10^2 nm em todas as direções (x, y, z); 2D quando possui mais de 10^2 nm em duas direções (como o grafeno, um dos primeiros nanomateriais 2D a ser estudado) e assim respectivamente até 0D (tais como os pontos quânticos de carbono), quando em nenhuma das direções o material possui mais de 10^2 nm (Figura 9) [65].

Figura 9 – Representação esquemática de acordo com a dimensionalidade (3D, 2D, 1D e 0D) do material



Fonte: Fachine (2020) [65]

Para a síntese dos nanomateriais, pode ser utilizada a via *top down* ou *bottom up*. *Top down* é abordado quando se parte de matérias com dimensões bastante acima dos nanomateriais - como grafite e carvão ativado – e, por meio de técnicas como, por exemplo, sonicação ou oxidação eletroquímica, esses são reduzidos à escala nanométrica. Já o método *bottom up* consiste na síntese dos nanomateriais a partir de moléculas e polímeros utilizando pirólise assistida por microondas ou métodos solvotérmicos e hidrotérmicos [65].

Dentre os nanomateriais de carbono são compreendidos os nanotubos de carbono, grafeno, pontos quânticos, nanodiamantes e *carbon black*, que são amplamente utilizados na eletroquímica devido às suas ótimas propriedades físico-químicas como estabilidade química, resistência mecânica e excelente condutividade térmica e elétrica [66].

Os nanotubos de carbono (CNTs, do inglês *carbon nanotubes*) são uma estrutura 3D e consistem em uma camada de grafite organizada em uma estrutura tubular e podem ser classificados como nanotubos de carbono de parede simples (SWCNT, do inglês *single-walled carbon nanotube*) ou múltiplas (MWCNT, do inglês *multi-walled carbon nanotube*); estes são excelentes materiais de armazenamento de energia, altamente sensíveis, seletivos e eficientes [65, 67].

O grafeno é a nanoestrutura de carbono 2D de mais destaque; este material possui folhas bidimensionais com aproximadamente 10 nm de espessura e, devido à

sua estrutura, apresenta um módulo de Young bastante elevado, condutividade elétrica de até 6000 S cm^{-1} e uma alta condutividade térmica. O óxido de grafeno (GO, do inglês *graphene oxide*), obtido após a oxidação do material, contém em sua estrutura diversos grupos funcionais, tais como epóxi, carboxila e hidroxila, viabilizando a sua funcionalização [65]. Também é possível remover alguns grupos oxigenados do GO por redução, produzindo óxido de grafeno reduzido (rGO), na qual pode ter sua superfície funcionalizada por interações não covalentes, característica bastante interessante para aplicação em sensores [68].

Os nanotubos e o grafeno se destacam como excelentes materiais a serem utilizados como condutores em sensores e biossensores devido às suas características superiores quando comparadas ao grafite e o carbono vítreo como a alta área superficial e distribuição homogêneas dos sítios eletroquimicamente ativos. Ainda, o grafeno pode ser produzido em um grau de pureza e área superficial maiores quando comparado aos nanotubos; são os materiais mais resistentes e rígidos já descobertos, em termos de tensão e módulo de elasticidade, devido às ligações covalentes sp^2 formada entre os átomos de carbono [68, 69].

Thanh et al (2021) [70] produziram um sensor a partir da modificação de um eletrodo impresso (ou *screen-printed*) de ouro (SPAu) com óxido de grafeno reduzido (rGO), nanotubos de carbono de parede dupla (DWCNTs), além de octaédrico- Fe_3O_4 (Oct- Fe_3O_4), quitosana (Chi) e urease – urease/rGO/DWCNTs/Oct- Fe_3O_4 /Cs/SPAuE - para determinação de glifosato em amostras de água de rios a partir da voltametria cíclica.

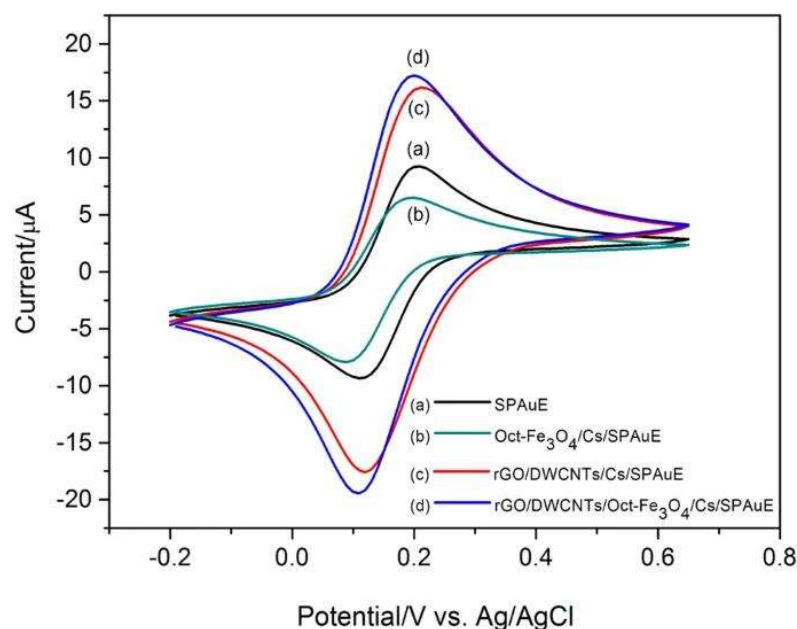
O uso de nanotubos de carbono e óxido de grafeno reduzido simultaneamente é considerado promissor, pois eles promovem uma estrutura carbonácea interconectada muito benéfica para melhorar as respostas eletroquímicas como, redução de potencial aplicado e aumento da corrente de pico [71]. Dentre as partículas de óxido metálico, as partículas de octaédrico- Fe_3O_4 são de baixo custo, fáceis de ser obtidas, baixa toxicidade, boa biocompatibilidade (sendo ideal para a imobilização de enzimas). Além disso, as partículas de octaédrico- Fe_3O_4 apresentam excelente atividade catalítica, tendo o potencial de melhorar ainda mais as respostas eletroquímicas [72].

A quitosana apresenta possui adesividade, hidroflicidade, viabilidade de dopagem, disponibilidade de hidroxila reativa e grupos amina funcionais para

modificações químicas e, assim, foi utilizada no sensor como agente ligante e também para limitar a agregação dos materiais sólidos dispersos [70].

O comportamento do eletrodo em diferentes estágios de modificação empregando $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 2mM como sonda redox foi caracterizado utilizando voltametria cíclica e, observou-se que o eletrodo sem nenhuma modificação (SPAUE) apresentou uma corrente de pico próxima de 10 μA ; após as modificações a corrente de pico passou a ser 18,3 μA (Figura 10) [70].

Figura 10 – Voltamograma cíclico do sensor rGO/DWCNTs/Oct-Fe₃O₄/Cs/SPAUE na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 2 mM a 50 mV/s em diferentes estágios de modificação



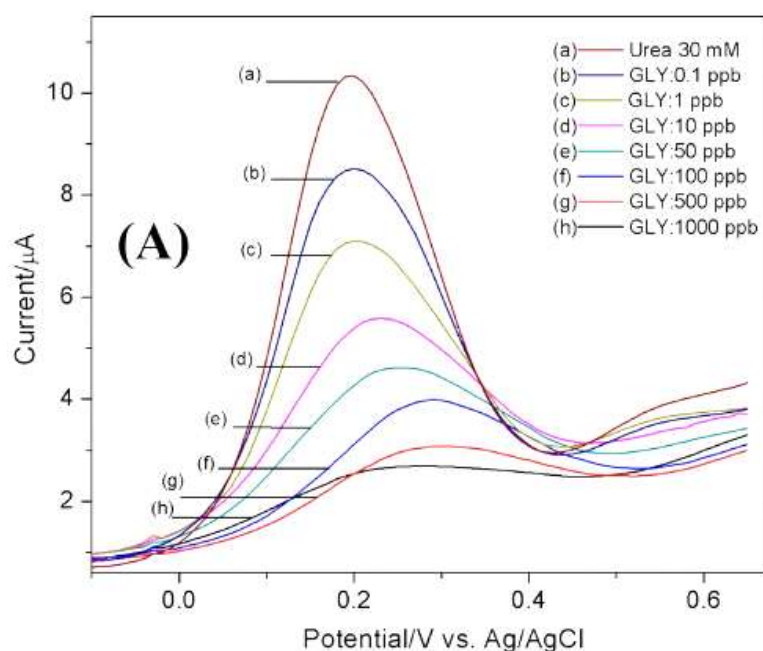
Fonte: Thanh 2021 [70]

Ainda, foi constatado que as modificações provocaram o aumento da área superficial do eletrodo sem modificações para o rGO/DWCNTs/Oct-Fe₃O₄/Cs/SPAUE de 0,0341 cm² para 0,0583 cm² – cerca de 1,7 vezes a área inicial, facilitando adsorção dos analitos na superfície do eletrodo e aumentando a quantidade de sítios catalíticos ativos [70].

Em relação ao mecanismo de inibição para detecção, o glifosato, por ter uma ligação P=O, interage com o centro ativo de íon níquel da urease, inibindo a atividade catalítica desta enzima. Assim, ele atua como um inibidor da ligação uréia-urease e,

como consequência, impede a atividade enzimática. Para investigar a hidrólise da uréia com o sensor urease/rGO/DWCNTs/Oct-Fe₃O₄/Cs/SPAuE, utilizou-se voltametria de onda quadrada (SWV) na presença de uréia (30 mM) após ser incubada em solução de glifosato por 10 minutos. (30 mM). Constatou-se que, a partir do aumento da concentração de glifosato, ocorria a inibição da enzima urease, como pode ser observado na Figura 11 [70].

Figura 11 – Voltamograma obtido por SWV de performance do urease/rGO/DWCNTs/Oct-Fe₃O₄/Cs/SPAuE na presença de uréia 30 mM e diferentes concentrações de glifosato



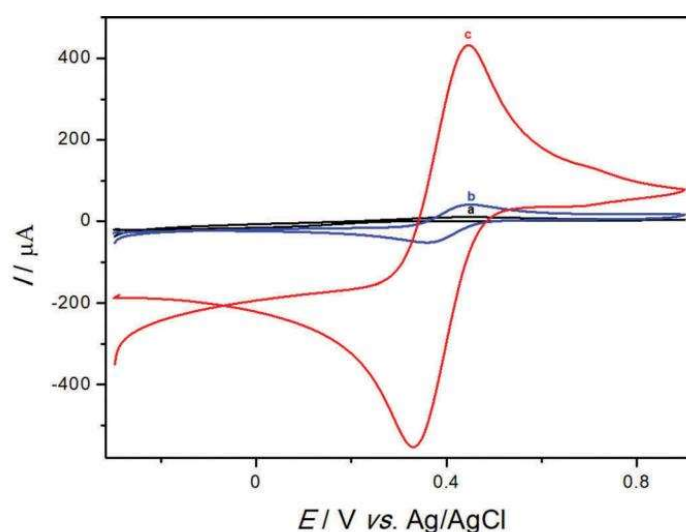
Fonte: Thanh 2021 [70]

O sensoriamento apresentou um limite de detecção de 8×10^{-5} mg/L e faixa linear de concentração de 1×10^{-4} a 1×10^0 mg/L. Além disso, foi identificada com alta reprodutibilidade, após o teste em 5 eletrodos diferentes do mesmo lote de fabricação obtendo um desvio-padrão relativo de 2,14%, e estabilidade (de 93% após 30 dias), tornando-se um sensor bastante promissor para determinação de glifosato [70].

Por um mecanismo similar, Setznagl e Cesariano (2020) [68] desenvolveram um sensor com eletrodo de carbono vítreo (GCE) modificado com nanopartículas de cobre (CuNPs), óxido de grafeno reduzido (rGO) (rGO-CuNPs/GCE) para determinação de glifosato em amostras de água. A partir dos testes utilizando

voltametria cíclica em $K_3[Fe(CN)_6]$ 1,0 mM como sonda redox e H_2SO_4 0,1 M, observou-se que houve um aumento de 10 vezes na altura dos picos anódicos e catódicos do rGO-CuNPs/GCE quando comparado com rGO/GCE, e 40 vezes quando comparado ao GCE somente, mostrando o impacto positivos da combinação dos dois nanomateriais (rGO e CuNPs) e suas contribuições sinérgicas para o aumento da área de superfície do eletrodo (Figura 12).

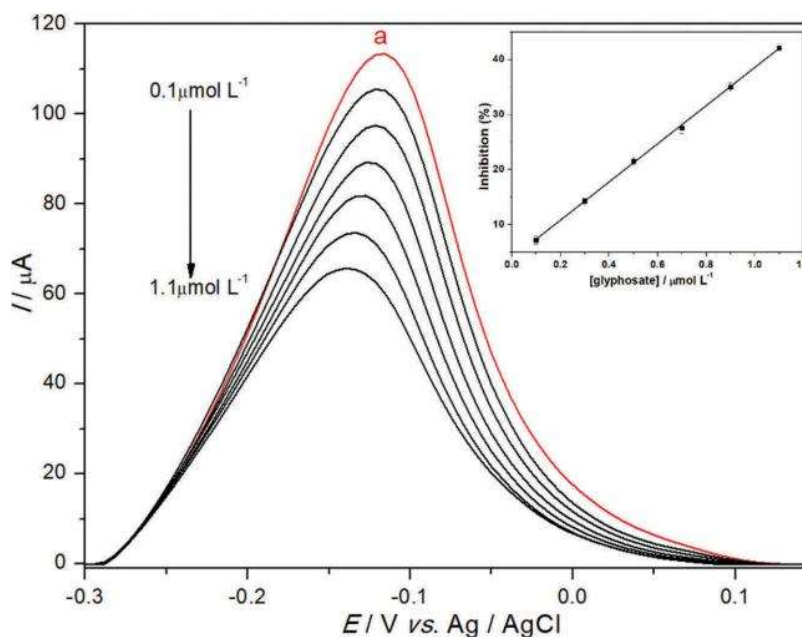
Figura 12 – Voltamograma cíclico do sensor rGO-CuNPs/GCE na presença de $K_3[Fe(CN)_6]$ 1,0 mM e H_2SO_4 0,1 M a 50 mV/s em diferentes estágios de modificação (a) GCE, (b) rGO/GCE e (c) rGO-CuNPs/GCE



Fonte: Setznagl e Cesariano [68]

O mecanismo de determinação do analito é realizado a partir da inibição do cobre pela formação do complexo Cu-glifosato e, por meio da voltametria de pulso diferencial, a inibição do sensor rGO-CuNPs/GCE foi avaliada em 4 diferentes concentrações de glifosato e, posterior, calculadas as taxas de inibição do sensor. O aumento da concentração de glifosato durante a avaliação ocasionou reduções significativas nas correntes de pico devido à inibição do cobre presente no eletrodo (Figura 13) [68].

Figura 13 – Voltamograma obtido por DPV de performance do rGO-CuNPs/GCE na presença de glifosato (0,1 - 1,1 $\mu\text{mol/L}$) e tampão fosfato 0,2 M (pH 7,0)



Fonte: Setznagl e Cesariano [68]

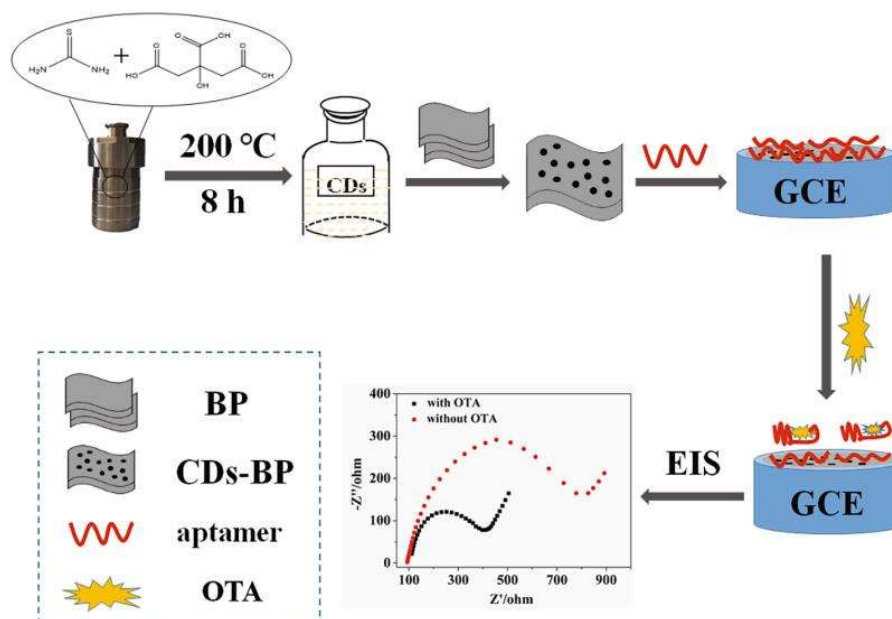
O limite de detecção e faixa linear de concentração encontrados para o sensor foram de 24,7 nM e 10 nM a 110 nM, respectivamente. Pelos estudo de reprodutibilidade foi encontrado um desvio padrão relativo de 0,33%, constatando uma ótima reprodutibilidade [68].

Outro nanomaterial de carbono são os pontos quânticos (CQDs, do inglês *carbon quantum dots*) que estruturalmente podem ser amorfos ou nanocristalino, contém carbono sp^2 e sp^3 ; são uma nanoestrutura zero dimensional que foram descobertas recentemente durante o processo de purificação de nanotubos de carbono; este material pode ser aplicado de diversas formasb como, por exemplo, supercapacitor para armazenamento de energia e eletrocatalisador e seu uso na eletroquímica é vantajoso devido à sua biocompatibilidade, além de ser facilmente sintetizado (em alguns casos) e funcionalizado [65]. Já os pontos quânticos de grafeno (GQDs, do inglês *graphene quantum dots*) também são materiais de carbono 0D e apresentam uma alta solubilidade, estabilidade química, luminescência, biocompatibilidade e baixa citotoxicidade, se tornando uma excelente alternativa para aplicação em diversas áreas de pesquisa [65, 73].

Li *et al.* (2021) [74] desenvolveram um sensor utilizando eletrodo de carbono

vítreo modificado com fosforeno (do inglês, *black phosphorus* - BP) e pontos quânticos de carbono, citado na pesquisa como “pontos de carbono” – *carbon dots*, CD – e aptâmero para determinação de ocratoxina A (OTA) em amostras de trigo e suco de uva (Figura 14).

Figura 14 - Esquema de modificação do sensor aptâmero/CD-BP/GCE



Fonte: Li *et al.* (2021) [74]

O fosforeno é um nanomaterial 2D, apresenta alta atividade química, alta resistência mecânica devido à grande relação superfície-volume, além de ser bastante flexível e apresentar excelentes propriedades de condutividade anisotrópica. Os pontos quânticos se apresentaram como um ótimo material a ser utilizado na pesquisa devido à seu baixo custo, baixa toxicidade, simplicidade na sua síntese, estabilidade química e biocompatibilidade, sendo facilmente passivados por uma variedade de compostos orgânicos e biomoléculas [74].

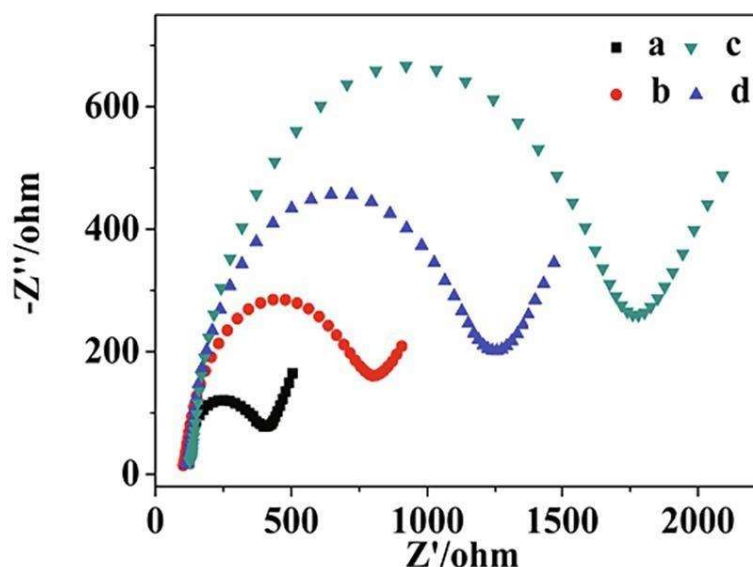
Os aptâmeros são oligonucleotídeos que atuam como um elemento de reconhecimento bioquímico que identificam um analito. Quando ocorre a identificação do analito pelo elemento de reconhecimento, sucede-se reações nas quais têm seus sinais gerados transformados em um sinal mensurável por um transdutor. Os aptassensores, sensores que utilizam aptâmeros, são rápidos, baratos e sensíveis, ainda, têm a capacidade de se ligarem a uma grande variedade de materiais

comparável aos anticorpos, tornando-os excelentes em análises bioanalíticas [74, 75].

Os CDs, após síntese hidrotérmica com tirourea e ácido cítrico à 200°C, adquiriram grupo funcional amino e protonado devido ao pH, enquanto o BP apresentava carga negativa, gerando uma distribuição uniforme quando utilizados em conjunto; assim, a utilização de ambos resultou em uma superfície uniforme de suporte para imobilização dos aptâmeros de OTA – que são adsorvidos por interações fracas (empilhamento π - π), viabilizando a dessorção na presença de OTA [74].

Para caracterização do eletrodo, Li *et al.* (2021) [74] utilizou a EIS com $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 1 mM como sonda redox e tampão fosfato 0,1 M, onde o GCE apresentou resistência de 300,3 Ω , demonstrando a facilidade de transferência de elétrons da sonda redox para o eletrodo. Já as resistências do CD-BP/GCE e aptâmero/CD-BP/GCE foram, respectivamente, 699,1 e 1652,4 Ω evidenciando como as modificações cobriram a superfície do eletrodo e dificultaram a transferência de elétrons. Contudo, ao adicionar 0,1 pg/mL de OTA no sistema, a resistência medida para o aptâmero/CD-BP/GCE diminuiu de 1652,4 para 1144,3 devido ao desprendimento do aptâmero da superfície do eletrodo (Figura 15).

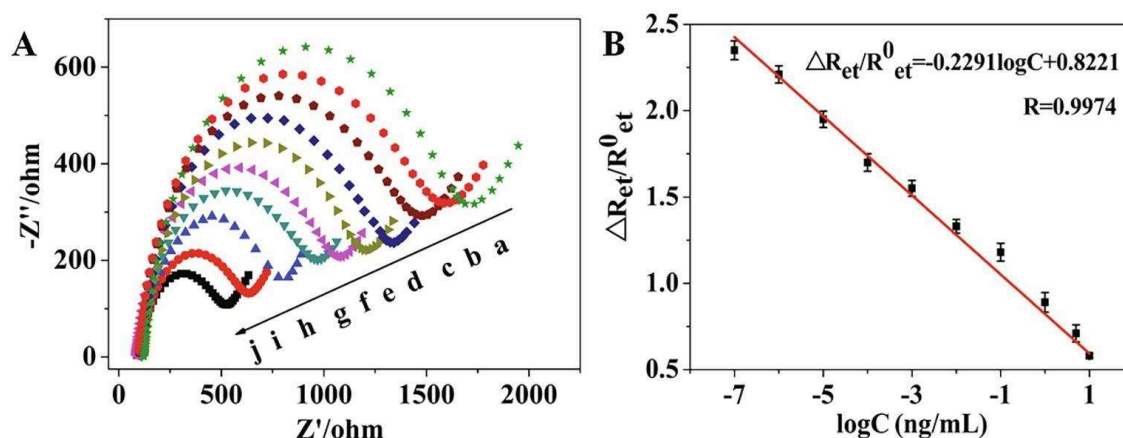
Figura 15 - Diagrama de Nyquist para o eletrodo na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 1 mM e tampão fosfato 0,1 M (pH 7,4) em diferentes estágios de modificação (a) GCE, (b) CDs-BP/GCE, (c) aptâmero/CDs-BP/GCE e (d) OTA/aptâmero/CDs-BP/GCE na frequência de 0,01 a 100 Hz



Fonte: Li *et al.* (2021) [74]

Ainda, o sensor aptâmero/CD-BP/GCE foi disposto no sistema com diferentes concentrações de OTA em presença de tampão de fosfato 0,1 M como eletrólito suporte. A ligação entre o aptâmero e a toxina ocorreu devido ao alto reconhecimento entre ambos e a interação fraca do aptâmetro com a superfície do eletrodo, resultando no desorção do aptâmetro, contribuindo para a diminuição dos valores de resistência. Dessa forma, foi desenvolvido um método de detecção de OTA baseado na mudança do valor de impedância (Figura 16) [74].

Figura 16 – Diagrama de Nyquist do aptâmero/CD-BP/GCE na presença de OTA (0,1 fg/mL a 10,0 ng/mL) e tampão de fosfato 0,1 M (pH 7,4) na frequência de 0,01 a 100 Hz



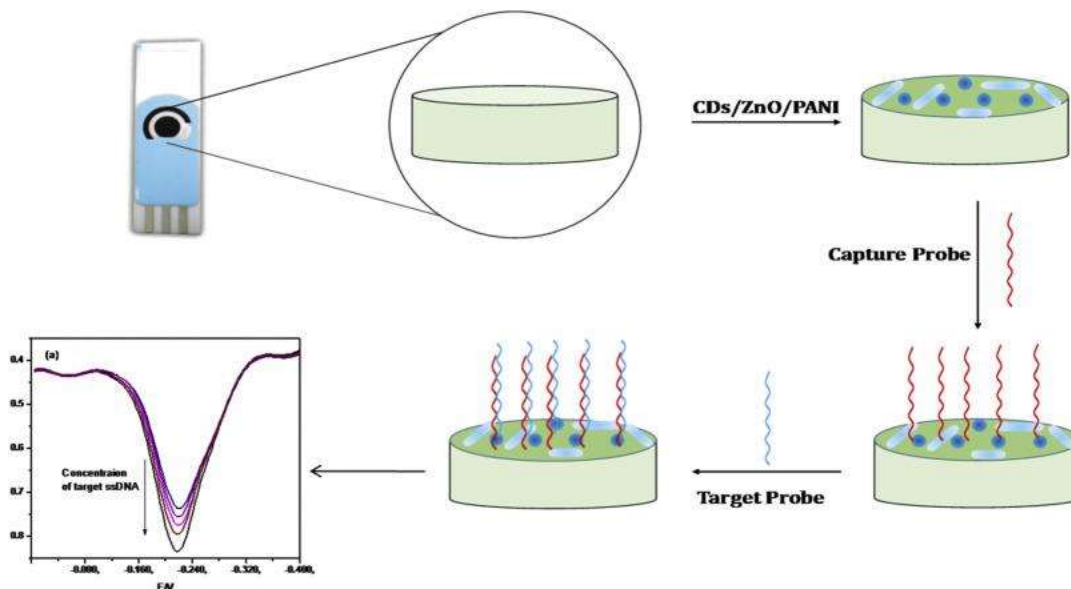
Fonte: Li *et al.* (2021) [74]

A especificidade do sensor foi testada em sistemas contendo OTA, zealersona, aflatoxina B1, e na presença simultânea das três micotoxinas; essas foram escolhidas como interferentes potenciais por coexistirem simultaneamente em alimentos e foi identificado que o sensor reconhece apenas a OTA. Quanto a reprodutibilidade, constatou-se um desvio padrão relativo de 0,91%, confirmando a alta reprodutibilidade do sensor. Ainda, após o teste de armazenamento, verificou-se que o sensor se manteve estável após 15 dias. O sensor aptâmero/CD-BP/GCE apresentou uma faixa linear de concentração bastante ampla, de $1,0 \times 10^{-13}$ – $1,0 \times 10^{-5}$ ng/mL, e um limite de detecção de 3×10^{-14} mg/mL, além de apresentar uma boa reprodutibilidade com um desvio padrão relativo de 0,91% [74].

Por um metodologia similar, Pangajam, Theyagarakan, Dinakaran (2020) [76]

modificaram um eletrodo impresso de carbono (*SPCE*, do inglês, *screen-printed carbon electrode*) utilizando polianilina (PANI) funcionalizada com um aptâmero de reconhecimento do ssDNA de *E. coli*, e também pontos quânticos de carbono (CD) e nanobastões de óxido de zinco (ZnO) para detecção de *E. coli* O157:H7 em amostras de água (Figura 17) [77].

Figura 17 - Esquema de modificação do sensor CDs/ZnO/PANI/aptâmero/SPCE



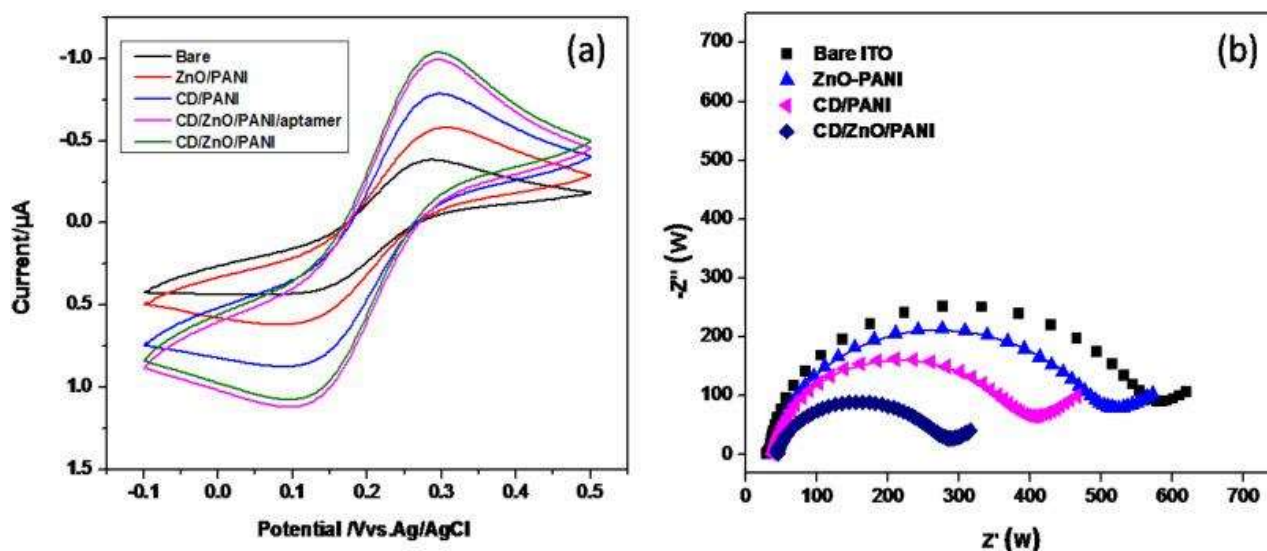
Fonte: Pangajam, Theyagarakan, Dinakaran (2020) [76]

O óxido de zinco (ZnO) é amplamente utilizado devido a sua facilidade de realizar transferência de elétrons na interface entre o eletrodo e a solução, melhorando a sensibilidade do sensor, além do seu custo moderado, baixa toxicidade e estabilidade química [78]. Os CDs foram obtidos por síntese hidrotérmal a 120°C utilizando mel – por esse método, os CDs são compostos de carbono sp^2 e grupos hidroxila e carboxílico em sua superfície, e também são pouco tóxicos [77].

Utilizando voltametria cíclica utilizando $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ 1,0 mM como sonda redox e KCl 0,1 M como eletrólito suporte, foi possível investigar as características das modificações utilizando filme de óxido de índio estanho (ITO, do inglês *indium tin oxide*) como eletrodo, ZnO/PANI, CDs/PANI, CDs/ZnO/PANI/aptâmero, CDs/ZnO/PANI, e observou-se que a modificação CDs/ZnO/PANI resultou em picos anódicos e catódicos maiores devido a sua grande área superficial e condutividade resultante da modificação. Além disso, outro motivo para o melhor desempenho

quando comparada com as outras modificações, é o encapsulamento da polianilina nos nanobastões de ZnO, aumentando a concentração de ZnO e CDs, a distância entre as partículas do polímero é reduzida e a condutividade elétrica aumentada. Também foi realizada uma análise utilizando espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) na qual foi constatado que o eletrodo com filme de ITO sem modificações apresentava mais resistência do que o eletrodo modificado com CDs/ZnO/PANI – a resistência diminuiu de 350 Ω para 161 Ω - sugerindo que as partículas cobriram de forma eficiente o eletrodo [76] (Figura 18).

Figura 18- (a) Voltamograma cíclico do sensor CDs/ZnO/PANI/SPCE (b) diagrama de Nyquist em diferentes estágios de modificação na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 1,0 mM e KCl 0,1 M



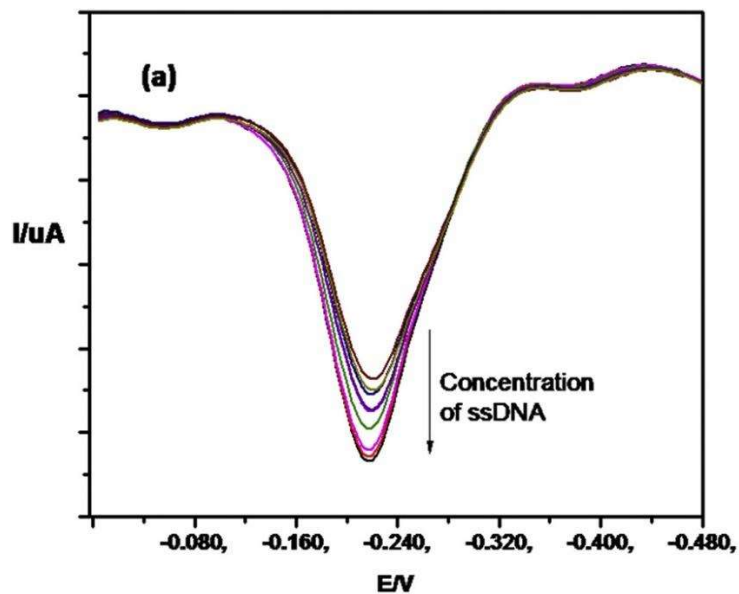
Fonte: Pagajam, Theyagarakan, Dinakaran (2020) [76]

Não é esclarecido na pesquisa a motivação para utilização do eletrodo com filme de ITO durante a aplicação da voltametria cíclica e da espectroscopia de impedância eletroquímica. Contudo, admite-se, neste caso, que os comportamentos eletroquímicos do SPCE e do eletrodo com filme de ITO não apresentaram diferenças significativas, uma vez que a resposta do sensor é majoritariamente dependente dos materiais modificadores.

Durante a determinação de *E. coli* utilizando voltametria de pulso diferencial (DPV) do CDs/ZnO/PANI/SPCE, observou-se que a corrente de pico de redução aumentou na medida em que a concentração do analito a ser determinado, ssDNA

de *E. coli* O157:H7, também aumentava (Figura 19).

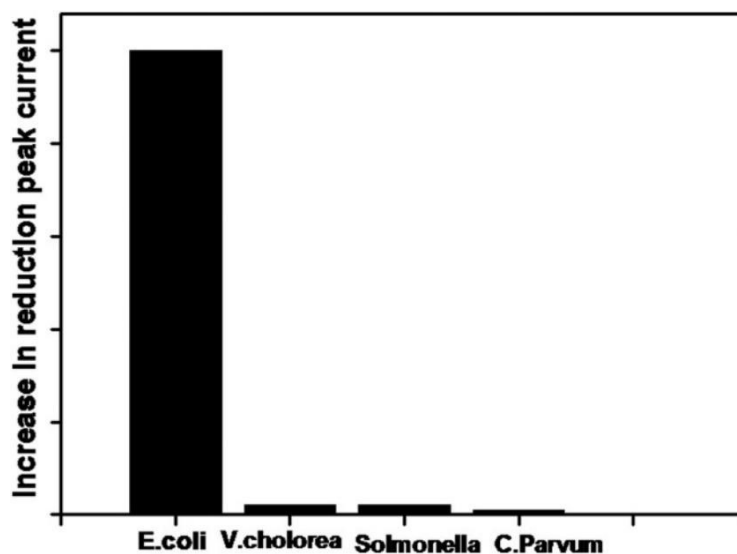
Figura 19 – Voltamograma de DPV do CDs/ZnO/PANI/SPCE em diferentes concentrações de ssDNA na presença de tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0)



Fonte: Pagajam, Theyagarakan, Dinakaran (2020) [76]

A pesquisa cita que, comparando com outros métodos reportados para a detecção de *E. coli*, é a que apresenta o menor limite de detecção - de $1,3 \times 10^{-18}$ M – evidenciando a sensibilidade da técnica utilizada, e uma faixa linear de detecção de $1,3 \times 10^{-18}$ a 10×10^{-12} M, além de ter sido identificada uma boa seletividade quando comparada com a detecção de outros microrganismos (*Vibrio cholerae*, *Salmonella sp.* e *Cryptosporidium parvum*) (Figura 20) [76]. Assim, foi validado o uso eficiente do sensor com CDs/ZnO/PANI/SPCE utilizando DPV para detecção de *E. coli*. O157:H7.

Figura 20 – Validação da seletividade do CDs/ZnO/PANI/SPCE na detecção de microrganismos

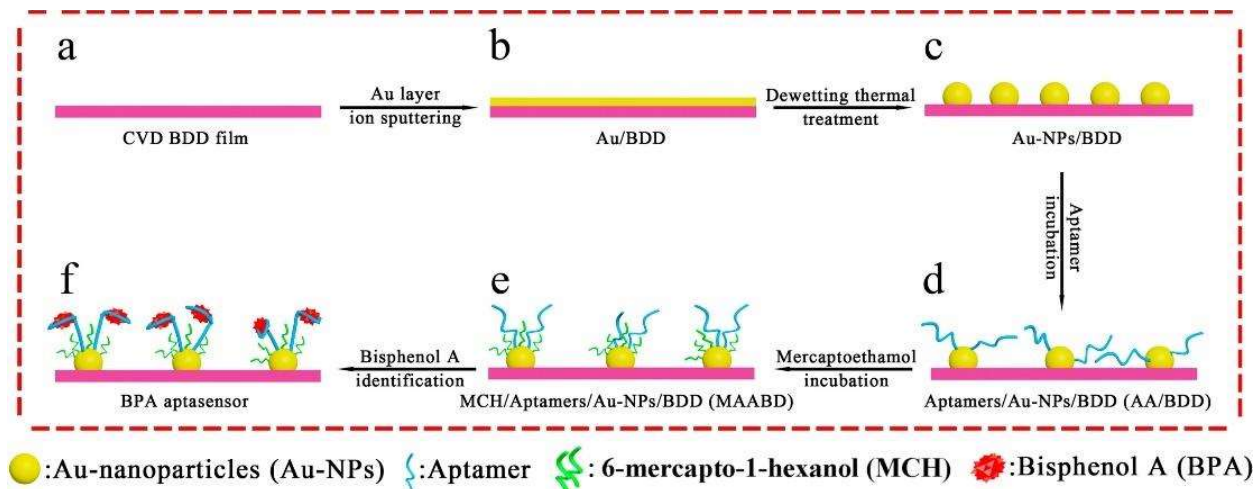


Fonte: Pagajam, Theyagarakan, Dinakaran (2020) [76]

Os nanodiamantes (NDs) consistem em diamante de carbono sp^3 cristalizado e dopado com boro, e são bastante similares aos CQDs, possuem ótima fotoestabilidade, biocompatibilidade e baixa toxicidade. Ainda, são amplamente utilizados como marcadores fluorescentes para imagens *in vitro* de estruturas e biomarcadores; apresentam alta condutividade térmica e resistência mecânica, grande janela de potencial, estabilidade química e grande diâmetro [65, 79].

Yibo, Junsong, Hongdong (2017) [80] desenvolveram um sensor baseado em nanopartículas de ouro (AuNPs) e nanodiamantes (NDs), e modificado com aptâmetro sintético de fita simples com modificação tiol e 6-mercapto-1-hexanol (MCH) para detecção de bisfenol A (BPA) em amostras de leite (Figura 21).

Figura 21 – Esquema de modificação do sensor AuNPs/NDs/aptâmero/MCH

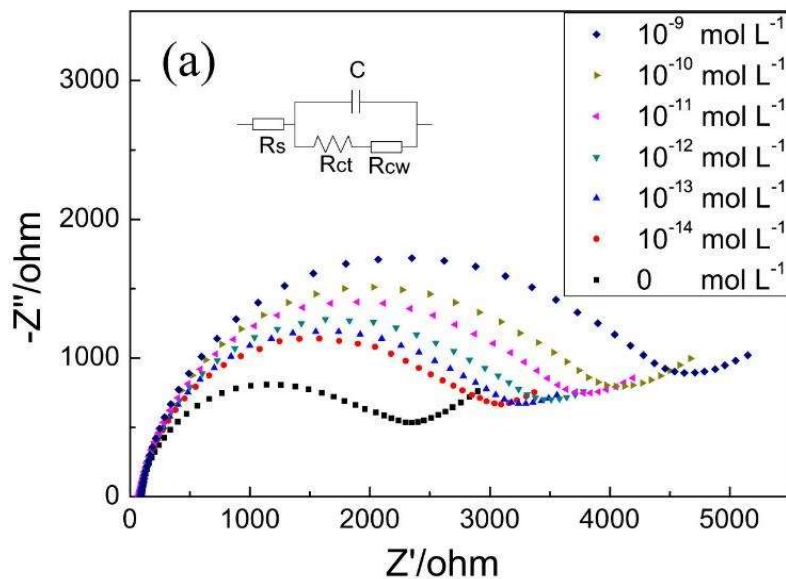


Fonte: Yibo, Junsong, Hongdong (2017) [80]

As nanopartículas de ouro (AuNPs) atuam na melhoria da transferência de elétrons, aumento da área superficial e sensibilidade do sensor. Já utilização de moléculas de MCH teve como objetivo preencher os espaços expostos de AuNPs onde não havia aptâmeros ligados, evitando a adsorção inespecífica, o que é útil para sustentar os aptâmeros verticalmente evitando a adsorção aleatória do BPA. Com isso, a utilização de MCH resultou em uma melhora da estabilidade e sensibilidade em até 2 ordens de magnitude do que sem o composto [80].

Para avaliar o desempenho do sensor AuNPs/NDs/aptâmero/MCH na detecção de BPA, foi utilizada a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS), por uma técnica similar a de Li *et al.* (2021) [74], e identificou-se aumento da resistência na medida em que a concentração de BPA aumentava devido à alta afinidade entre o aptâmetro e o composto (Figura 22).

Figura 22 – Diagrama de Nyquist do AuNPs/NDs/aptâmero/MCH na presença de diferentes concentrações de BPA e KCl 0,1 M na frequência de 10^{-2} Hz a 10^5 Hz



Fonte: Yibo, Junsong, Hongdong (2017) [80]

O sensor exibiu boa linearidade na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-14}$ a $1,0 \times 10^{-9}$ M e um limite de detecção de $7,2 \times 10^{-15}$ M, e ainda apresentou um desvio padrão relativo menor que 9,2% quando utilizado em amostras de leite, mostrando uma boa reprodutibilidade. Ao final da pesquisa, o sensor se mostrou bastante sensível, com alta capacidade de reconhecimento do analito e excelente eletroatividade [80].

O negro de fumo (CB, do inglês *carbon black*) é um material de carbono de bastante destaque no desenvolvimento de sensores eletroquímicos devido às suas numerosas vantagens: exibe excelente condutividade elétrica, é dispersível em solventes, possui muitos sítios de defeito, baixíssimo custo, grande área superficial, alta estabilidade física e química e capacidade de aumentar a velocidade das transferências de elétrons. Suas propriedades variam de acordo com os métodos de produção, podendo ser por combustão de óleo na presença de ar, combustão direta de combustíveis fósseis ou decomposição térmica do metano. Estruturalmente, possui microestruturas que contêm camadas hexagonais paralelas separadas por uma distância maior do que a que ocorre no grafite [81].

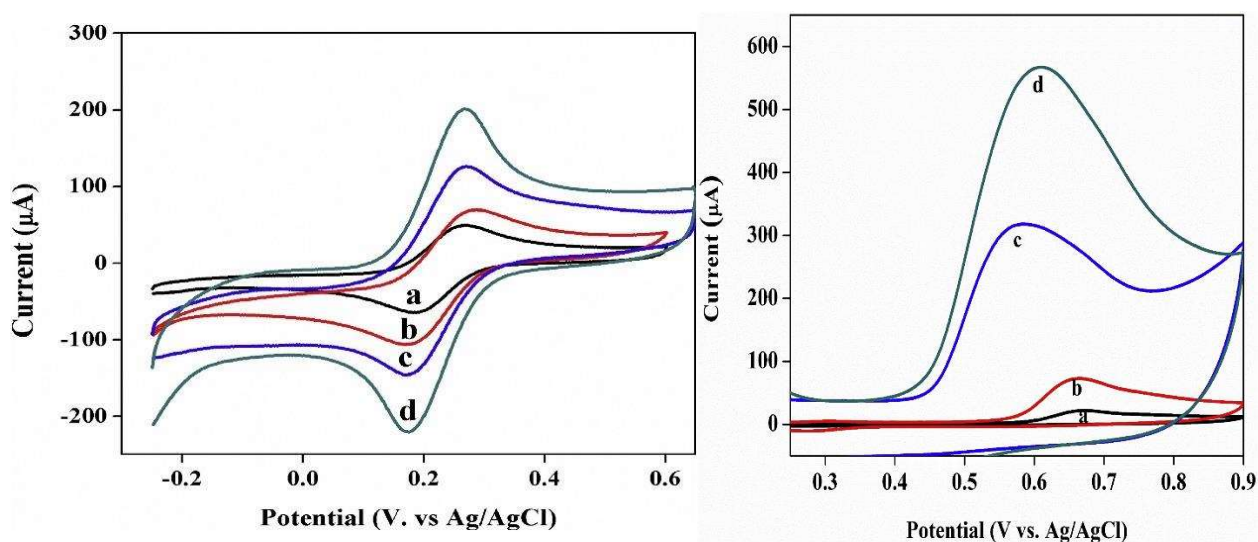
O CB é formado majoritariamente por carbono e hidrogênio, porém podem ser encontrados na sua superfície alguns grupos funcionais como oxigênio, nitrogênio,

enxofre e halogênios. O oxigênio, dentre os grupos funcionais, é o que mais interfere nas propriedades físico-químicas do CB, interferindo na molhabilidade, dispersibilidade, condutividade, entre outros; o oxigênio pode ser identificado no material a partir do processo utilizado para a produção do CB, mas também podem ser adicionados à sua estrutura a partir de métodos de funcionalização [81].

Thamilselvan, Rajagopal, Suryanarayanan (2019) [82] desenvolveram um sensor para determinação de BPA com eletrodo de carbono vítreo modificado com CB e nanotubos de carbono de parede múltipla funcionalizados com ácido carboxílico (f-MWCNTs).

A caracterização eletroquímica foi realizada utilizando voltametria cíclica com $K_3Fe(CN)_6$ 5 mM como sonda redox e KCl 0,1 M como eletrólito suporte, foi realizada a caracterização do eletrodo nos diferentes estágios de modificação – eletrodo sem modificação (GCE), CB/GCE, CNT/GCE, CB/f-MWCNTs/GCE (Figura 23).

Figura 23 – Voltamograma cíclico do eletrodo na presença de (da esquerda para a direita) $K_3Fe(CN)_6$ 5 mM e KCl 0,1 M, e de 100 μ M BPA e tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0) a 50 mV/s (a) sem modificações, (b) CB/GCE, (c) f-MWCNTs/GCE, (d) CB/f-MWCNTs/GCE



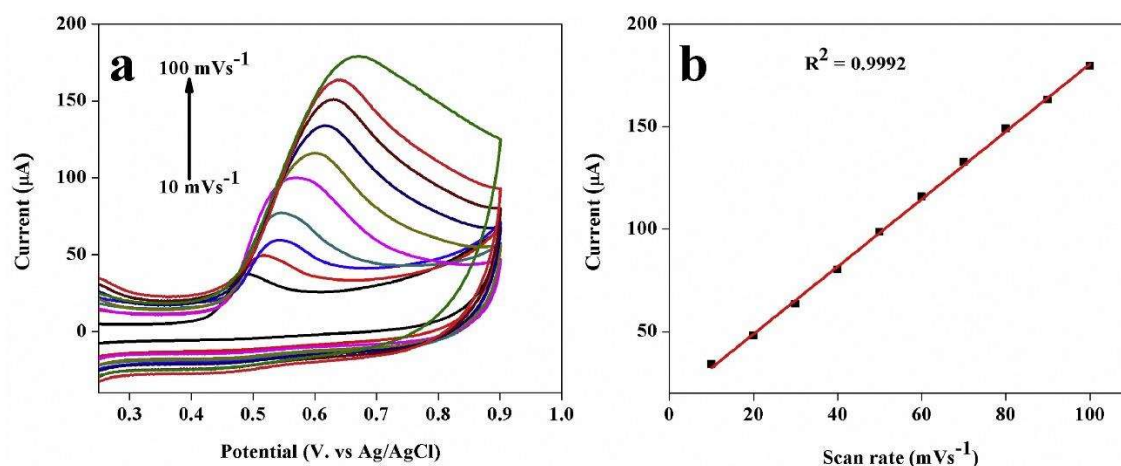
Fonte: Thamilselvan, Rajagopal, Suryanarayanan (2019) [82]

Notou-se que a corrente de pico anódica obtida com o CB/GCE foi de 67 μ A, enquanto no eletrodo sem modificações a corrente constatada foi 48 μ A,

demonstrando um aumento de aproximadamente 1,4 vezes; com f-MWCNTs/GCE a corrente de pico passou a ser 169 μA , aumento de aproximadamente 3,5 vezes em relação ao GCE; e com o CB/f-MWCNTs/GCE a corrente de pico observada foi de 279 μA , aumento de 5,8 vezes em relação ao GCE. O grande aumento da corrente de pico entre o GCE e CB/f-MWCNTs/ evidencia como os nanotubos de parede múltipla e o *carbon black* têm grande influência no aumento da área superficial do sensor; o f-MWCNTs tem um grande papel na condutividade elétrica e porosidade, aumentando a molhabilidade do sensor, facilitando a transferência de elétrons na superfície do eletrodo [82].

Os pesquisadores realizaram um estudo da variação da corrente de pico com o aumento da velocidade de varredura (Figura 24).

Figura 24 – (a) Voltamograma cíclico do CB/f-MWCNTs/GCE na presença de BPA 100 μM e tampão fosfato 0,1 M em diferentes velocidades de varredura, (b) a relação linear entre a corrente de pico e a velocidade de varredura



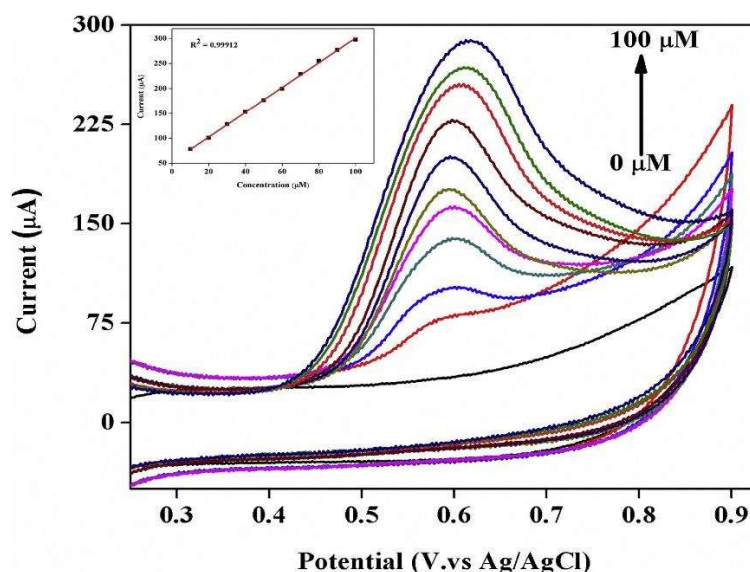
Fonte: Thamilselvan, Rajagopal, Suryanarayanan (2019) [82]

Assim, observou-se o aumento da corrente de pico anódica na medida que aumentava a velocidade de varredura. A partir da curva de calibração e sua equação, foi concluído que a oxidação eletroquímica do BPA no eletrodo poderia ser um método de difusão controlada [82].

Ainda utilizando a técnica de voltametria cíclica, mas com o CB/f-MWCNTs/GCE e BPA 100 μM como analito e 0,1 M tampão fosfato (Figura 25), foi observado o aumento da corrente de pico anódica na medida em que a concentração

do analito também aumenta; a faixa linear de concentração e o limite de detecção obtidos foi respectivamente de 0,1 a 130 μM e 0,08 μM . No teste de repetibilidade, o eletrodo modificado atingiu um desvio padrão relativo de 3,5% e, no teste de estabilidade, após 20 dias armazenados, 93% da corrente inicial é mantido. Assim, é evidenciada a possibilidade de utilizar o sensor CB/f-MWCNTs/GCE para determinação de BPA com alta sensibilidade, repetibilidade e estabilidade [82].

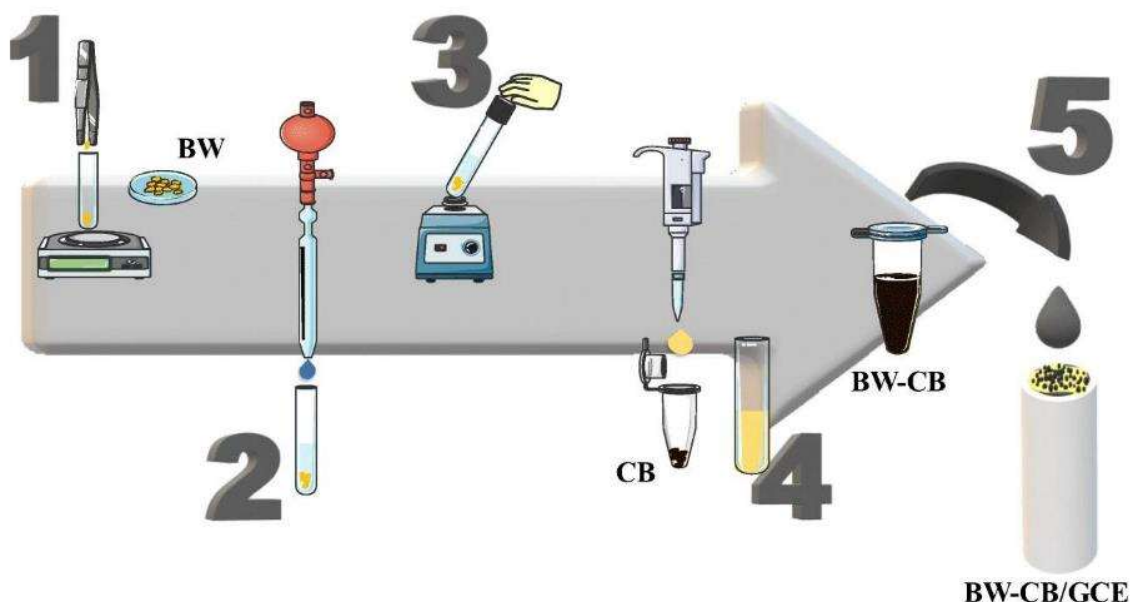
Figura 25– Voltamograma cíclico do CB/f-MWCNTs/GCE em diferentes concentrações de BPA (0 μM – 100 μM) e tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0) a 50 mV/s



Yibo, Junsong, Hongdong (2017) [80], citado anteriormente, obteve resultados superiores na detecção de BPA utilizando eletrodo AuNPs/NDs/aptâmero/MCH, uma vez que a faixa linear de concentração determinada foi de $1,0 \times 10^{-14}$ a $1,0 \times 10^{-9}$ M e o limite de detecção de $7,2 \times 10^{-15}$ M – muito menores do que a pesquisa utilizando *carbon black* – evidenciando como o uso em conjunto de nanopartículas metálicas e de carbono (no caso, nanodiamantes), e o aptâmetro resultou em um sensor sensível e seletivo.

E por fim, Souza *et al.* (2021) [83] elaboraram um sensor utilizando eletrodo de carbono vítreo (GCE) modificado com biofilme de cera de abelha (BW, do inglês *beewax*) com *carbon black* (CB) para detecção de paraquat (PQ) – um herbicida amplamente utilizado e nocivo à saúde – em amostras de mel de *Apis mellifera* (Figura 26).

Figura 26 - Esquema de modificação do sensor BW-CB/GCE: (1) pesagem da cera de abelha, (2) homogeneização com n-hexano, (3,4) adição de *carbon black* e homogeneização e (5) modificação do GCE

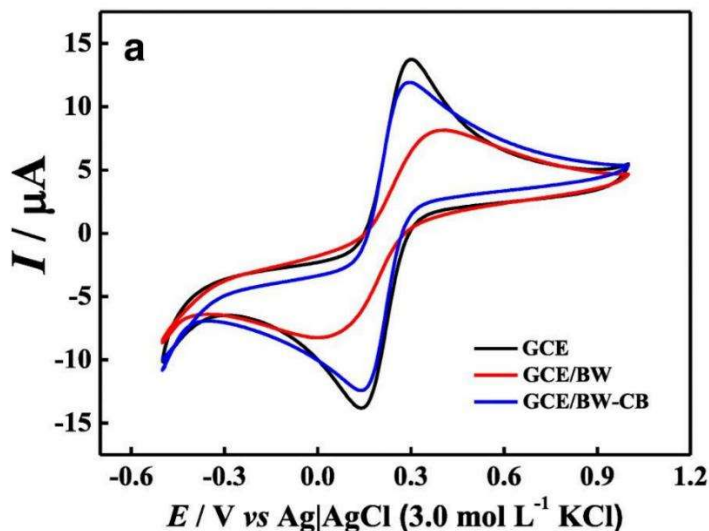


Fonte: Souza *et al.* (2021) [83]

A cera de abelha é um biopolímero amplamente estudado e utilizado como biofilme, por exemplo, no revestimento de alimentos (como frutas, colaborando na preservação das mesmas), na medicina e como anticorrosivo. No que diz respeito à modificação de sensores, a cera de abelha dispersa facilmente, realizando a incorporação de forma homogênea dos materiais, resistência à água e mecânica depois de seca, é biodegradável, renovável e não tóxico [84].

Para caracterização do BW-CB/GCE, foi utilizada voltametria cíclica em presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 1,0 mM como sonda redox e como eletrólito suporte KCl 0,10 M, e a área superficial determinada para o sensor foi 2 vezes maior quando compara com o eletrodo sem modificações (GCE), apesar da área eletroativa determinada para o eletrodo modificado com BW-CB foi de $0,018 \text{ cm}^2$, enquanto para o GCE foi de $0,037 \text{ cm}^2$ e isso provavelmente ocorre devido ao fato de a cera de abelha diminuir a exposição dos sítios condutivos do eletrodo, uma vez que ela é um material que não-condutivo (Figura 27) [83].

Figura 27 - Voltamograma cíclico do BW-CB/GCE na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 1,0 mM e KCl 0,10 M e velocidade de varredura de 25 mV/s em diferentes estágios de modificação

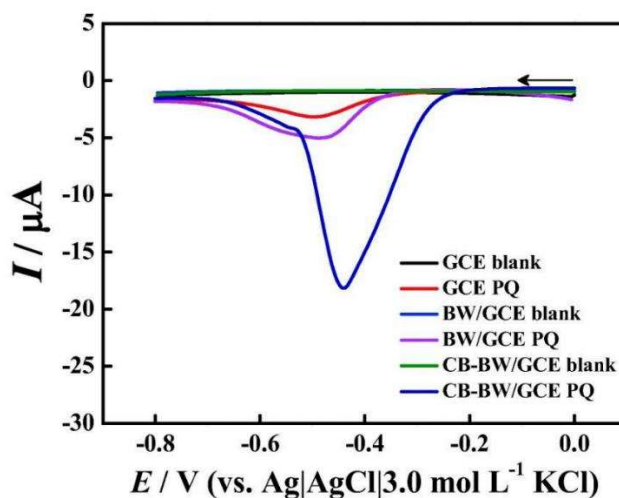


Fonte: Souza *et al.* (2021) [83]

Embora a eletroatividade tenha sido diminuída, o uso da cera é essencial para a imobilização do *carbon black* na superfície [83].

A caracterização utilizando voltametria cíclica e a detecção por meio da voltametria de pulso diferencial, ambos na presença de $1,0 \times 10^{-5}$ M de paraquat e tampão acetato 0,10 M como eletrólito suporte, foram baseadas no monitoramento da redução de PQ^{2+} para PQ^+ . Com a voltametria cíclica foi observado um grande aumento da corrente de pico do eletrodo sem modificações para o modificado com cera de abelha e *carbon black*. Contudo, na voltametria de pulso diferencial, o aumento da corrente de pico foi muito mais evidente já que é mais sensível que a cíclica, e o aumento da corrente é atribuído à habilidade de adsorção da cera e de condutividade do *carbon black* (Figura 28) [83].

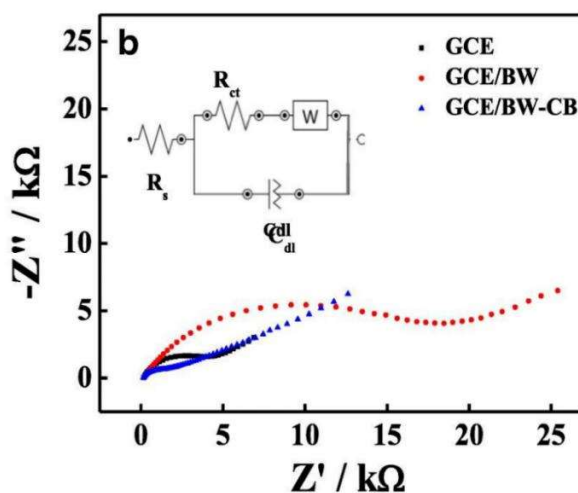
Figura 28 – Voltamograma de pulso diferencial para o sensor BW-CB/GCE em diversos estágios de modificação e na presença do branco ou de PQ $1,0 \times 10^{-5}$ M e tampão acetato 0,10 M (pH 5,0)



Fonte: Souza *et al.* (2021) [83]

Utilizando espectroscopia de impedância eletroquímica na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3}$ M como sonda redox e KCl 0,10 M como eletrólito suporte, foi possível identificar aumento significativo nos valores de resistência entre o GCE e BW/GCE (houve um aumento de $4,5 \pm 0,1$ k Ω para $21,7 \pm 4,0$ k Ω , respectivamente) provavelmente causada pela condutividade nula da cera de abelha. Contudo, o BW-CB/GCE apresentou a menor resistência (de $3,2 \pm 0,1$ k Ω) (Figura 29) [83].

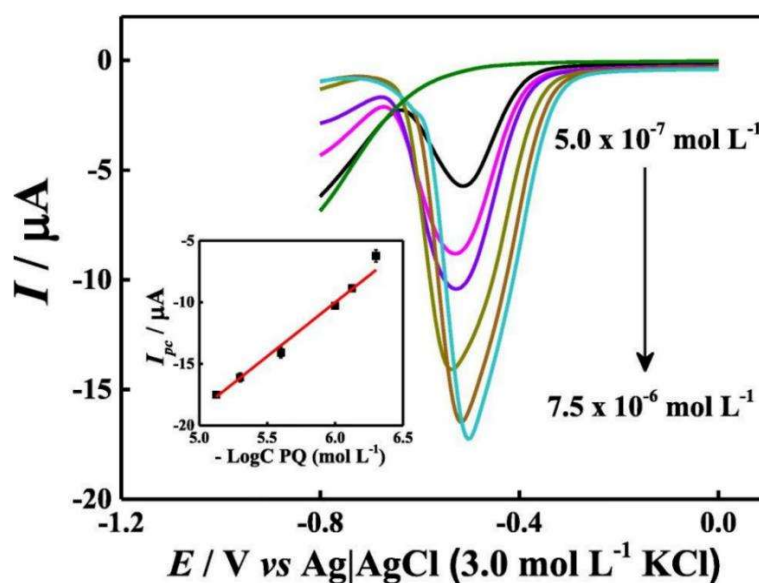
Figura 29 – Diagrama de Nyquist do BW-CB/GCE em diferentes estágios de modificação na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3}$ M e KCl 0,10 M na frequência de 100 kHz a 10 mHz



Fonte: Souza *et al.* (2021) [83]

Empregando a voltametria de pulso diferencial foi identificada a correlação entre a concentração de paraquat e a intensidade da corrente faradaica: a corrente de pico aumentava de acordo com o aumento da concentração do analito em função logarítmica (Figura 20).

Figura 30 - Voltamograma de pulso diferencial para o sensor BW-CB/GCE em diferentes concentrações de PQ ($5,0 \times 10^{-7}$ a $7,5 \times 10^{-6}$ mol/L) na presença de tampão acetato 0,10 M (pH 5,6)



Fonte: Souza *et al.* (2021) [83]

Para o sensor, foi identificado uma faixa linear de concentração de $5,0 \times 10^{-7}$ a $7,5 \times 10^{-6}$ M. Evidencia-se a possibilidade de utilização de cera de abelha para imobilização de *carbon black* na superfície de eletrodos de carbono vítreo e seus benefícios, como uniformidade, e o aprimoramento da sensibilidade causada pela modificação [83].

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A segurança dos alimentos é um direito humano essencial de extrema relevância, e com ela está alinhado o compromisso governamental de garantir que o alimento consumido pela população seja seguro e, portanto, respeite os limites máximos de resíduos de contaminantes - principalmente químicos e biológicos - e também os limites de presença de microorganismos, e que sejam livres de qualquer

adulteração que lesem o consumidor quanto a qualidade do produto e/ou que possam oferecer algum risco à sua saúde. Isto posto, a eletroquímica, e consigo os sensores e biossensores eletroquímicos, se apresentam como uma técnica excelente de detecção e quantificação de tais contaminantes a partir da utilização de diferentes materiais de modificação.

Dentre esses materiais, os baseados em carbono, essencialmente os nanomateriais, foram identificados como excelentes opções de aprimoramento de sensores devido à eficiência, baixo custo de aquisição, seletividade, alta condutividade elétrica, alta área superficial, possibilidade de funcionalização, estabilidade química e resistência mecânica.

Observou-se que estes têm compatibilidade com diversos tipos de materiais inorgânicos como nanopartículas metálicas, fosforeno e óxido de zinco, mas também com materiais orgânicos tais como polianilina, aptâmeros e cera de abelha, mostrando a versatilidade deste material. Assim, nota-se que diversos trabalhos que apresentaram como objetivo a determinação de contaminantes em amostras alimentícias ou de água utilizando nanomateriais de carbono obtiveram ótimas respostas, com bons limites de detecção e faixas lineares de concentração, bem como alto índice de repetibilidade e estabilidade. Por fim, é possível concluir que a utilização de sensores eletroquímicos modificados com materiais de carbono é uma ótima opção para o sensoriamento de contaminantes que podem representar algum risco à saúde como o glifosato, zealona, bisfenol A, e microrganismos como *E. coli*.

Ademais, os nanomateriais derivados de carbono são bastante versáteis e utilizados em muitas áreas de conhecimento como, por exemplo, na química, medicina e biomedicina, e até eletrônica, e suas propriedades ainda estão sendo muito estudadas, já que não são conhecidas em sua totalidade (principalmente para os pontos quânticos de carbono, que são uma descoberta recente), podendo ampliar o espectro de aplicações analíticas desse tipo de material. Assim, existe ainda uma gama de possibilidades e novas funcionalizações de eletrodos com nanomateriais de carbono que ainda são pouco encontrados na literatura recente para detecção de contaminantes químicos e biológico, como o fulereno C₆₀, nanocebolas e nanofibras de carbono, sendo assim, possivelmente os novos passos para o desenvolvimento de outros tipos de sensores eletroquímicos com nanomateriais de carbono na área do *food safety*.

REFERÊNCIAS

1. Fung, F., H.-S. Wang, and S. Menon, *Food safety in the 21st century*. Biomedical Journal, 2018. **41**(2): p. 88-95.
2. Guo, Z., et al., *A Electrochemical Sensor for Melamine Detection Based on Copper-Melamine Complex Using OMC Modified Glassy Carbon Electrode*. Food Analytical Methods, 2018. **11**(2): p. 546-555.
3. Yeni, F., et al., *Most Common Foodborne Pathogens and Mycotoxins on Fresh Produce: A Review of Recent Outbreaks*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016. **56**(9): p. 1532-1544.
4. Milhorce, F., *Não é só com carne: leite com ureia e óleo em vez de azeite estão entre fraudes de alimentos no Brasil*. BBC News Brasil, 2017.
5. Câncer, I.N.d. *Formol*. 2022 [cited 2022; Available from: <https://www.inca.gov.br/exposicao-no-trabalho-e-no-ambiente/solventes/formol>.
6. Zeng, L., et al., *Electrochemical sensors for food safety*. 2018.
7. Walls, H., et al., *Food security, food safety & healthy nutrition: are they compatible?* Global Food Security, 2019. **21**: p. 69-71.
8. News, O. *Agências da ONU alertam para aumento da fome na América Latina e Caribe*. 2017; Available from: <https://news.un.org/pt/story/2017/10/1596941-agencias-da-onu-alertam-para-aumento-da-fome-na-america-latina-e-caribe>.
9. Seligman, H.K. and S.A. Berkowitz, *Aligning Programs and Policies to Support Food Security and Public Health Goals in the United States*. Annu Rev Public Health, 2019. **40**: p. 319-337.
10. Lima, L.G.J.P.-A.R.d.G.d.T., *Covid-19 e ampliação da fome: uma crítica ao sistema alimentar global sob a mundialização do capital*. 2020. **21**(2): p. 333-358.
11. Nitahara, A., *IBGE: aumenta emprego formal e informal, mas cai rendimento médio*. 2021, Agência Brasil: Agência Brasil.
12. Brasil, C.I.d., *FGV: mais pobres sofrem maior impacto na pandemia*. Agência Brasil, 2021.
13. King, T., et al., *Food safety for food security: Relationship between global megatrends and developments in food safety*. Trends in Food Science & Technology, 2017. **68**: p. 160-175.
14. BRASIL, *LEI Nº 7.802 DE 11 DE JULHO DE 1989*. 1989, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA - MAGR; MINISTÉRIO DO INTERIOR - MINTER; GABINETE MILITAR DA PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA.
15. Lopes, C.V.A. and G.S.C.d.J.S.e.d. Albuquerque, *Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática*. 2018. **42**: p. 518-534.
16. Peruzzi, P. *Embrapa: Brasil será maior exportador de grãos do mundo em cinco anos*. Agência Brasil 2021; Available from: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2021-03/embrapa-brasil-sera-maior-exportador-de-graos-do-mundo-em-cinco-anos>.
17. Embrapa, *Simpósio mostra avanços da fruticultura brasileira*. 2020.
18. IBAMA. *Painéis de informações de agrotóxicos*. 2021 01/24/2022 [cited 2022 01/16]; Available from: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos#Painel-comercializacao>.
19. Grigori, P., *Bolsonaro bate o próprio recorde: 2020 é o ano com maior aprovação de agrotóxicos da história*. Repórter Brasil.
20. INCA. *Causas e Prevenção - Agrotóxico*. 2021 08/24/2021 [cited 2022 01/17]; Available from: <https://www.inca.gov.br/exposicao-no-trabalho-e-no-ambiente/agrotoxicos>.
21. Vasconcelos, Y.J.P.F., São Paulo, ano, *Agrotóxicos na berlinda*. 2018. **19**.
22. (Brasil), A.N.d.V.S., *Consumo e saúde : agrotóxicos e alimentos : qualidade e segurança*. 2017.
23. Organization, W.H. *IARC Monographs Volume 112: evaluation of five*

- organophosphate insecticides and herbicides*. 2015 [cited 2022 02/25]; Available from: <https://www.iarc.who.int/news-events/iarc-monographs-volume-112-evaluation-of-five-organophosphate-insecticides-and-herbicides/>.
24. Ródio, G.R., et al., *Exposição a agrotóxicos e suas consequências para a saúde humana*. 2021. **10**(8): p. e43010817526-e43010817526.
 25. Busato, M.A., et al., *Uso e manuseio de agrotóxicos na produção de alimentos da agricultura familiar e sua relação com a saúde e o meio ambiente*. 2019. **1**: p. 1-9.
 26. Bansal, S., et al., *Food adulteration: Sources, health risks, and detection methods*. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017. **57**(6): p. 1174-1189.
 27. BRASIL, *LEI Nº 9.677, DE 2 DE JULHO DE 1998*. 1998.
 28. Santos, C.S.d., et al., *Fraud in Food Products*. Research, Society and Development, 2020. **9**(10): p. e3289108692.
 29. Pardeshi, S.J.I.J.o.S.D. and Research, *Food adulteration: Injurious adulterants and contaminants in foods and their health effects and its safety measures in India*. 2019. **4**(6): p. 231-232.
 30. Lima, T.A.d.S., *Perguntas & Respostas: Materiais em contato com alimentos*, Anvisa, Editor. 2020.
 31. de Andrade, A.P., et al., *Contaminação de alimentos pela migração de componentes de embalagens: Casos de ocorrência*. 2021. **10**(2): p. e39710211411-e39710211411.
 32. Saúde, M.d., *RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 326, DE 3 DE DEZEMBRO DE 2019*. 2019: Diário Oficial da União.
 33. Jiang, L., I. Santiago, and J. Foord, *A comparative study of fouling-free nanodiamond and nanocarbon electrochemical sensors for sensitive bisphenol A detection*. *Carbon*, 2021. **174**: p. 390-395.
 34. Saúde, B.M.d. *Bisfenol A*. 2020 [cited 2022 03/21]; Available from: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/alimentos/bisfenol-a>.
 35. Saúde, M.d., *RESOLUÇÃO Nº 17, DE 17 DE MARÇO DE 2008*. 2008: Diário Oficial da União.
 36. Arruda, A.D. and A.J.R. Beretta, *Micotoxinas e seus efeitos à saúde humana: revisão de literatura*. 2019. **51**(4): p. 286-9.
 37. Eskola, M., A. Altieri, and J.J.W.M.J. Galobart, *Overview of the activities of the European Food Safety Authority on mycotoxins in food and feed*. 2018. **11**(2): p. 277-289.
 38. Xu, Y., et al., *Recent advancement in nano-optical strategies for detection of pathogenic bacteria and their metabolites in food safety*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021: p. 1-19.
 39. Kuiava, V.A., et al., *Hospitalização e taxas de mortalidade por diarreia no Brasil: 2000-2015*. 2019. **12**(2): p. e30022-e30022.
 40. de Melo, E.S., et al., *Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil*. 2018. **12**: p. 131.
 41. Saúde, M.d., *INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019*. 2019: Diário Oficial da União.
 42. Hadian, Z., S. Eslamizad, and H.J.I.j.o.p.r.I. Yazdanpanah, *Pesticide residues analysis in Iranian fruits and vegetables by Gas Chromatography-Mass Spectrometry*. 2019. **18**(1): p. 275.
 43. Moreno-González, D., et al., *Multi-residue pesticide analysis in virgin olive oil by nanoflow liquid chromatography high resolution mass spectrometry*. 2018. **1562**: p. 27-35.
 44. Hongsibsong, S., et al., *Monitoring of the organophosphate pesticide chlorpyrifos in vegetable samples from local markets in Northern Thailand by developed immunoassay*. 2020. **17**(13): p. 4723.
 45. Attig, J.B., et al., *Ionic liquid and magnetic multiwalled carbon nanotubes for extraction of N-methylcarbamate pesticides from water samples prior their determination by capillary electrophoresis*. 2021. **226**: p. 122106.

46. Qader, B., et al., *A Molecular Imprinted Polymer Sensor for Biomonitoring of Fenamiphos Pesticide Metabolite Fenamiphos Sulfoxide*. 2021. **33**(5): p. 1129-1136.
47. Samsidar, A., et al., *A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs*. 2018. **71**: p. 188-201.
48. Manikandan, V.S., B. Adhikari, and A.J.A. Chen, *Nanomaterial based electrochemical sensors for the safety and quality control of food and beverages*. 2018. **143**(19): p. 4537-4554.
49. da Silva Araujo, M.E., et al., *ELETROQUÍMICA*. 2021. **7**(10): p. 1478-1483.
50. Monteiro, M., J. Santos Júnior, and E.J.R.V.d.Q. Sussuchi, *Eletroquímica: Eletrodos Modificados e suas Potencialidades*. 2020. **12**: p. 1145-1160.
51. Santos, D., R. Mendes, and L. Kubota, *Aplicações de QCM, EIS e SPR na investigação de superfícies e interfaces para o desenvolvimento de (bio)sensores*. Química Nova, 2004. **27**.
52. Zhao, Q.-L., et al., *Surface structure-related electrochemical behaviors of glassy carbon electrodes*. Electrochemistry Communications, 2008. **10**(2): p. 181-185.
53. Taleat, Z., A. Khoshroo, and M. Mazloum-Ardakani, *Screen-printed electrodes for biosensing: a review (2008–2013)*. Microchimica Acta, 2014. **181**(9): p. 865-891.
54. Aleixo, L.M.J.R.C., *Voltametria: conceitos e técnicas*. 2003(3): p. 1-21.
55. Setznagl, S., *Desenvolvimento e caracterização de dispositivo eletroquímico baseado em nanopartículas de cobre suportadas sobre grafeno para para detecção do herbicida glifosato*. 2018.
56. Placido, D., et al., *PROPRIEDADES ELETROQUÍMICAS DE FILMES ELETROCRÔMICOS FLEXÍVEIS DE PENTÓXIDO DE VANÁDIO (V₂O₅)*. 2020. **12**(1).
57. Souza, D.d., S.A. Machado, and L.A.J.Q.N. Avaca, *Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos*. 2003. **26**(1): p. 81-89.
58. Pacheco, W.F., et al., *Voltametrias: Uma breve revisão sobre os conceitos*. 2013. **5**(4): p. 516-537.
59. Habekost, A.J.W.J.o.C.E., *Fundamentals and Applications of Electrochemical Impedance Spectroscopy - A Didactic Perspective*. 2021. **9**(1): p. 14-21.
60. Ribeiro, J.J.R.V.d.Q., *Espectroscopia de Impedância Eletroquímica: Uma ferramenta nas investigações eletroquímicas*. 2020. **12**(6).
61. Carvalho, L.A.d., A.R.d. Andrade, and P.R.J.Q.N. Bueno, *Espectroscopia de impedância eletroquímica aplicada ao estudo das reações heterogêneas em ânodos dimensionalmente estáveis*. 2006. **29**(4): p. 796-804.
62. Camila Carvalho Alves, M.K.L.C., Arnaldo César Pereira, *Sensores Eletroquímicos à Base de Diferentes Materiais Voltados para a Determinação de Pesticidas*. Revista Virtual de Química, 2020. **12**: p. 1599-1625.
63. Coulet, P.R.J.B.p. and applications, *What is a Biosensor?* 2019: p. 1-6.
64. Salomão, P.E.A.J.R., Society and Development, *Produção e Aplicação de Biosensores: Uma Breve Revisão*. 2018. **7**(3): p. e1373282.
65. Fechine, P.B.A., *Avanços no desenvolvimento de nanomateriais*. 2020.
66. Li, Z., et al., *Carbon-based functional nanomaterials: Preparation, properties and applications*. Composites Science and Technology, 2019. **179**: p. 10-40.
67. Raphey, V.R., et al., *Advanced biomedical applications of carbon nanotube*. Materials Science and Engineering: C, 2019. **100**: p. 616-630.
68. Setznagl, S. and I. Cesarino, *Copper nanoparticles and reduced graphene oxide modified a glassy carbon electrode for the determination of glyphosate in water samples*. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2022. **102**(1): p. 293-305.
69. Choudhary, N., S. Hwang, and W.J.H.o.n.p. Choi, *Carbon nanomaterials: a review*. 2014: p. 709-769.
70. Thanh, C.T., et al., *Electrochemical Sensor Based on Reduced Graphene Oxide/Double-Walled Carbon Nanotubes/Octahedral Fe₃O₄/Chitosan Composite for Glyphosate Detection*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology,

2021. **106**(6): p. 1017-1023.
71. Ghalkhani, M., S. Shahrokhian, and M. Navabi, *Development of an electrochemical sensor based on (rGO-CNT) nanocomposite for raloxifene analysis*. Materials Chemistry and Physics, 2021. **263**: p. 124131.
 72. Dağcı Kiranşan, K., M. Aksoy, and E. Topçu, *Flexible and freestanding catalase-Fe₃O₄/reduced graphene oxide paper: Enzymatic hydrogen peroxide sensor applications*. Materials Research Bulletin, 2018. **106**: p. 57-65.
 73. Hoang, V.C., K. Dave, and V.G. Gomes, *Carbon quantum dot-based composites for energy storage and electrocatalysis: Mechanism, applications and future prospects*. Nano Energy, 2019. **66**: p. 104093.
 74. Li, K., et al., *Ultrasensitive and label-free electrochemical aptasensor based on carbon dots-black phosphorus nanohybrid for the detection of Ochratoxins A*. Microchemical Journal, 2021. **168**: p. 106378.
 75. NEVES, G.B.C., *Desenvolvimento de aptassensor eletroquímico para diagnóstico do câncer de mama tipo HER2*. 2019.
 76. Pangajam, A., K. Theyagarajan, and K. Dinakaran, *Highly sensitive electrochemical detection of E. coli O157:H7 using conductive carbon dot/ZnO nanorod/PANI composite electrode*. Sensing and Bio-Sensing Research, 2020. **29**: p. 100317.
 77. Ladrón-de-Guevara, A., et al., *Reduced graphene oxide/polyaniline electrochemical supercapacitors fabricated by laser*. Applied Surface Science, 2019. **467-468**: p. 691-697.
 78. Napi, M.L.M., et al., *Electrochemical-Based Biosensors on Different Zinc Oxide Nanostructures: A Review*. 2019. **12**(18): p. 2985.
 79. Kumar, S., et al., *Nanodiamonds: Emerging face of future nanotechnology*. Carbon, 2019. **143**: p. 678-699.
 80. Ma, Y., J. Liu, and H. Li, *Diamond-based electrochemical aptasensor realizing a femtomolar detection limit of bisphenol A*. Biosensors and Bioelectronics, 2017. **92**: p. 21-25.
 81. Ibáñez Redín, G.G., *Funcionalização e caracterização do carbon black vulcan XC-72R para aplicações em biossensores baseados em inibição enzimática*. 2016.
 82. Thamilselvan, A., V. Rajagopal, and V. Suryanarayanan, *Highly sensitive and selective amperometric determination of BPA on carbon black/f-MWCNT composite modified GCE*. Journal of Alloys and Compounds, 2019. **786**: p. 698-706.
 83. de Souza, D.C., et al., *Electrochemical Sensor Based on Beeswax and Carbon Black Thin Biofilms for Determination of Paraquat in Apis mellifera Honey*. Food Analytical Methods, 2021. **14**(3): p. 606-615.
 84. de Oliveira, P.R., et al., *Use of beeswax as an alternative binder in the development of composite electrodes: an approach for determination of hydrogen peroxide in honey samples*. Electrochimica Acta, 2021. **390**: p. 138876.