

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**MESTRADO EM QUÍMICA**

Cassiano Cunha de Souza

Desenvolvimento de novas plataformas eletroquímicas de baixo custo para o monitoramento de amoxicilina em amostras de origem farmacêutica e alimentícia

Juiz de Fora  
2024

Cassiano Cunha de Souza

Desenvolvimento de novas plataformas eletroquímicas de baixo custo para o monitoramento de amoxicilina em amostras de origem farmacêutica e alimentícia

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

Orientador: Prof. Dr. Renato Camargo Matos

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

Juiz de Fora

2024

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

Cunha de Souza, Cassiano .

Desenvolvimento de novas plataformas eletroquímicas de baixo custo para o monitoramento de amoxicilina em amostras de origem farmacêutica e alimentícia / Cassiano Cunha de Souza. -- 2024.

79 p.

Orientador: Renato Camargo Matos

Coorientador: Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, ICE/Engenharia. Programa de Pós-Graduação em Química, 2024.

1. Eletrodo de papel . 2. Amoxicilina. 3. Tinta condutiva. 4. Grafeno induzido a laser. 5. Impressora 3D. I. Camargo Matos, Renato , orient. II. Alejandro Abarza Muñoz, Rodrigo, coorient. III. Título.

Cassiano Cunha de Souza

**Desenvolvimento de novas plataformas eletroquímicas de baixo custo para o monitoramento de amoxicilina em amostras de origem farmacêutica e alimentícia**

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

**Aprovada em 21 de fevereiro de 2024**

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz – Coorientador  
Universidade Federal de Uberlândia

---

Prof. Dra. Celly Mieko Shinohara Izumi - Examinadora  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Prof. Dr. Tiago Almeida Silva – Examinador  
Universidade Federal de Viçosa



Documento assinado eletronicamente por Renato Camargo Matos, Professor(a), em 21/02/2024, às 17:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por Rodrigo Alejandro Abarza Munoz, Usuário Externo, em 21/02/2024, às 17:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por Tiago Almeida Silva, Usuário Externo, em 21/02/2024, às 17:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por Celly Mieko Shinohara Izumi, Professor(a), em 21/02/2024, às 17:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf ([www2.ufjf.br/SEI](http://www2.ufjf.br/SEI)) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador 1659092 e o código CRC 2A0AC901.

Dedico este trabalho ao meu pai e minha madrasta, Cosme e Cristina. Ambos me ensinaram a fazer de mim uma fortaleza para que eu pudesse enfrentar os mais hercúleos desafios na vida terrena.

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente, eu gostaria de agradecer a mim mesmo porque não desisti de materializar um sonho tão caro: tornar-me cientista.

Agradeço ao meu pai e a minha madrasta, Cosme e Cristina. Eles me ensinaram o valor do trabalho, da integridade e da honestidade. Estes valores eu trago comigo na minha prática científica. Além disso, sempre viabilizaram uma vida exclusiva de estudos para mim.

Agradeço ao professor Renato por me aceitar em seu grupo de pesquisa. Renato se tornou um grande exemplo de cientista para mim, pela sua incrível capacidade de compreender, abarcar e alavancar o potencial das peculiaridades que cada um de seus alunos traz consigo. Eu serei eternamente grato por sua amizade e companheirismo absolutos, bem como por enxergar em mim um pesquisador em potencial.

Agradeço à professora Maria Auxiliadora pela sua inexorável paciência em compartilhar comigo seu vasto conhecimento. Igualmente, ela demonstrou uma paciência e preocupação ímpar em construir a minha formação dentro da Química Analítica, o que é impagável. Levo comigo uma grande amiga e professora.

Agradeço ao professor Rodrigo Muñoz por confiar em meu trabalho, mesmo sem me conhecer pessoalmente. O professor Rodrigo sempre mobilizou seu conhecimento para sanar minhas dúvidas e disponibilizou infraestrutura em prol da minha formação, o que foi crucial para concretizar o presente trabalho.

Agradeço aos meus amigos de laboratório Guilherme, Thalles, Wallace, Raylla, Gabriela, Elysander, Mayane e Esther. As publicações que compartilhamos traduzem uma parcela ínfima do crescimento e acolhimento que experienciei no NUPIS. A partir de vocês, genuinamente aprendi a conviver com o diferente. Neste movimento pendular de compreender o outro, pude compreender mais sobre mim mesmo.

Agradeço aos meus amigos: Nathalia, Rebeca, Maria Eduarda, Beatriz, Carol, Damaris, Sara, Isabela, Caio, Luiz Eduardo, José Ângelo e Camila. Estas pessoas são uma firme de rede apoio que, mesmo quando titubeei, me lembraram da minha capacidade em executar grandes atos e me apoiaram das mais diversas formas. Amigos são os irmãos que encontramos fora do vínculo sanguíneo.

Agradeço também, as agências de fomento CAPES, CNPq e FAPEMIG por todo apoio financeiro concedido durante a minha graduação e pós-graduação.

O correr da vida embrulha tudo. A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem. (João Guimarães Rosa. 1986. Grande sertão: veredas. p. 448).

## RESUMO

No âmbito deste estudo, foram desenvolvidas duas plataformas eletroquímicas de baixo custo, usando eletrodo de papel e eletrodo gerado por gravação a laser, para a quantificação da amoxicilina em amostras de leite integral, comprimidos e urina sintética. O eletrodo de papel foi construído utilizando-se papel de filtro e tinta condutiva. Este sistema demonstrou não apenas reprodutibilidade nas medições, mas também uma ampla faixa linear de trabalho. A tinta condutiva a base de esmalte, acetona e grafite foi formulada de modo a otimizar a sua composição em relação à porcentagem de material condutivo. Destaca-se uma diferença significativa na performance do sensor diante da esfoliação mecânica de sua superfície, com uma redução de aproximadamente 30% em sua resistividade à transferência de carga. As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) indicam um aumento na homogeneidade da superfície e uma melhora na exposição dos sítios eletroativos após o processo, medido por espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). Um método utilizando voltametria de pulso diferencial foi otimizado, resultando em uma resposta linear do sensor para a amoxicilina na faixa de 29,8 a 126,7  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Em testes com amostras reais, sob um ensaio de adição e recuperação, alcançou-se valores de recuperação entre 90% e 103%, com um limite de detecção de 8  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Além disso, não foram observadas interferências significativas no sinal analítico na presença de outros fármacos clinicamente relevantes. O eletrodo gerado por gravação a laser na faixa visível foi construído de maneira acessível, com alta escalabilidade e reprodutibilidade. As análises por EIE, MEV e RAMAN revelaram uma superfície porosa com morfologias de grafeno contendo abundantes sítios eletroativos. Notavelmente, essa plataforma apresentou uma resistividade à transferência de carga inferior quando comparada a um eletrodo comercial de carbono vítreo. Desenvolveu-se um método eletroanalítico por meio da voltametria de pulso diferencial, com uma faixa de trabalho de 14,9 a 126,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e um limite de detecção da ordem de 4,9  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Ao ser aplicado em amostras farmacêuticas e alimentícias, em um ensaio de adição e recuperação, obteve-se valores de recuperação variando de 86% a 104%. Em resumo, ambas as plataformas representam alternativas promissoras para a análise das amostras propostas, apresentando faixas de trabalho na ordem micromolar, com precisão e exatidão adequadas, além de escalabilidade promissora.

Palavras-chave: Eletrodo de papel; Amoxicilina; Tinta condutiva; Grafeno induzido por laser; Impressora 3D; Sensores de poliimida.

## ABSTRACT

Within the scope of this study, two low-cost electrochemical platforms were meticulously engineered for the quantification of amoxicillin in samples of whole milk, tablets, and synthetic urine. The paper electrode not only evinced reproducibility in measurements but also exhibited an expansive linear working range. A conductive ink was formulated, employing base enamel, acetone, and graphite powder, with scrupulous attention to optimizing its composition concerning the percentage of conductive material. A noteworthy discrepancy in sensor performance was discerned upon the mechanical exfoliation of its surface, resulting in an approximate 30% reduction in its charge transfer resistance. Scanning electron microscopy analyses revealed an augmentation in surface homogeneity and an enhancement in the exposure of electroactive sites post-process. A method utilizing differential pulse voltammetry was refined, yielding a linear sensor response within the range of 29.8 to 126.7  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . In real sample tests, under an addition and recovery assay, recovery values ranging from 90% to 103% were attained, with a detection limit of 8  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Furthermore, no substantive interferences were discerned in the analytical signal in the presence of other clinically relevant pharmaceuticals. The visible laser-engraved electrode was meticulously constructed with accessibility, high scalability, and reproducibility in mind. Analyses through EIS, SEM, and RAMAN unveiled a porous surface with graphene morphologies housing abundant electroactive sites. Notably, this platform exhibited a diminished charge transfer resistance when juxtaposed with a commercial glassy carbon electrode. An electroanalytical method employing differential pulse voltammetry was devised, achieving a working range of 14.9 to 126.2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  and a detection limit in the order of 4.9  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . When applied to pharmaceutical and food samples, in an addition and recovery assay, recovery values fluctuated between 86% and 104%. In summation, both platforms epitomize promising alternatives for the analysis of the proposed samples, featuring micromolar order working ranges, coupled with precision, accuracy, and auspicious scalability.

Keywords: Paper electrode; Amoxicillin; Conductive ink; Laser-induced graphene; 3D printer; Polyimide sensors

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Números de publicações envolvendo dispositivos eletroanalíticos a base de papel (ePAD) encontrados na base de dados Science Direct no período de 2020-2023. Palavras-chave: “electrochemical paper based devices”.....	20
<b>Figura 2:</b> Molécula de amoxicilina. ....	23
<b>Figura 3:</b> Esquema representativo do sinal de excitação da voltametria de pulso diferencial. ....	28
<b>Figura 4:</b> Esquema ilustrativo da confecção do ePAD.....	32
<b>Figura 5:</b> Sensor a base de papel e tinta condutiva antes (A) e após (B) polimento com indicação de inserção na célula eletroquímica. ....	32
<b>Figura 6:</b> (A) Representação da máquina de impressão a laser visível. (B) Esquema do eletrodo e-LIG com medidas correspondentes de altura e diâmetro. ....	33
<b>Figura 7:</b> Voltamogramas cíclicos dos ePADs (A) antes do polimento e (B) após o polimento com diferentes composições de tinta na presença de 1 mmol L <sup>-1</sup> de K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] em meio de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> . Imagens de MEV do eletrodo antes (C) e após o (D) em 250x de magnificação. Imagens de MEV do eletrodo antes (E) e após o (F) em 20.000x de magnificação. ....	37
<b>Figura 8:</b> Espectro RAMAN do ePAD ( $\lambda = 633$ nm).....	38
<b>Figura 9:</b> Diagramas de Nyquist para o eletrodo a base de papel antes e após o polimento. Condição: ferricianeto de potássio (1 mmol L <sup>-1</sup> em meio a 100 mmol L <sup>-1</sup> de KCl), potencial aplicado de 0,31 V (vs Ag/AgCl <sub>(s)</sub> , KCl <sub>(sat.)</sub> ), 10 mV de amplitude.....	39
<b>Figura 10:</b> Voltamogramas cíclicos da AMX 555 $\mu$ mol L <sup>-1</sup> em tampão BR e tampão fosfato para estudo da força iônica do meio. ....	40
<b>Figura 11:</b> Mecanismo de oxidação da amoxicilina.....	41
<b>Figura 12:</b> (A) Voltamogramas cíclicos da AMX 555 $\mu$ mol L <sup>-1</sup> em tampão fosfato (0,1 mol L <sup>-1</sup> ) em valores de pH variando de 5,0 a 9,0 e a relação da corrente de pico com o pH para o ePAD. Gráfico inserido I <sub>p</sub> x pH exibindo dependência da corrente de pico com o pH do meio. (B) Efeito do pH do eletrólito no potencial de oxidação da AMX.....	41
<b>Figura 13:</b> Estudo de transporte de massa para amoxicilina no ePAD, variando a velocidade de varredura de (a) 50 a (h) 250 mV s <sup>-1</sup> . Gráfico inserido exibe a relação de linearidade entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura. ....	43

<b>Figura 14:</b> Estudo de otimização do incremento de potencial (A) e da amplitude (B) da voltametria de pulso diferencial em meio de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AMX em tampão fosfato (pH = 7; 100 $\text{mmol L}^{-1}$ ) e tempo de modulação de 50 ms.....	44
<b>Figura 15:</b> Voltamogramas de pulso diferencial par a curva analítica da AMX usando ePAD com concentrações variando de 29,8 a 126,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ . O gráfico inserido mostra a correlação entre a corrente de pico e a concentração de AMX. Condições: Tampão fosfato (0,1 $\text{mol L}^{-1}$ , pH = 7) como eletrólito suporte, eletrodo de referência – Ag/AgCl <sub>(s)</sub> , KCl <sub>(sat.)</sub> , degrau de potencial 8 mV e amplitude 80 mV.....	45
<b>Figura 16:</b> Voltamogramas de pulso diferencial para estudo de repetibilidade (n = 7) do ePAD para 50 (A) e 100 (B) $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AMX. Condições: Tampão fosfato (0.1 $\text{mol L}^{-1}$ , pH = 7) como eletrólito suporte, eletrodo de referência – Ag/AgCl <sub>(s)</sub> , KCl <sub>(sat.)</sub> , degrau de potencial 8 mV e amplitude 80 mV.....	46
<b>Figura 17:</b> Estudos de interferência conduzidos razão de 1:1 com relação a concentração de AMX e ampicilina (AMP), cloranfenicol (CHL), paracetamol (PCT), dipirona (DIP), clavulanato de potássio (CLV) e ácido amoxicílico (AAC). Condições: Tampão fosfato (0,1 $\text{mol L}^{-1}$ , pH = 7) como eletrólito suporte, eletrodo de referência – Ag/AgCl <sub>(s)</sub> , KCl <sub>(sat.)</sub> , degrau de potencial 8 mV e amplitude 80 mV.....	48
<b>Figura 18:</b> Espectro Raman do e-LIG ( $\lambda = 532 \text{ nm}$ ) .....	49
<b>Figura 19:</b> (A) Diagramas de Nyquist do ECV (linha preta) e do e-LIG (linha vermelha) na presença de 5 $\text{mmol L}^{-1}$ de ferricianeto de potássio em meio de KCl 1 $\text{mol L}^{-1}$ . Condições de EIE: potencial aplicado de 0,20 V (ECV) e 0,25 V (e-LIG), amplitude de 10 mV e faixa de frequência variando de 50.000 Hz a 0,1 Hz. (B) Voltamogramas de VC para o experimento de EIE no e-LIG e no ECV com a sonda redox de ferricianeto de potássio (5 $\text{mmol L}^{-1}$ em meio de KCl 1 $\text{mol L}^{-1}$ ). .....	50
<b>Figura 20:</b> Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de um eletrodo e-LIG (A) magnificação de 5.000 vezes e (B) magnificação de 10.000 vezes .....	51
<b>Figura 21:</b> (A) Voltamogramas de DPV para o estudo de pH do comportamento eletroquímico de AMX (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) na superfície de e-LIG na faixa de 5,0 a 9,0 utilizando tampão fosfato (100 $\text{mmol L}^{-1}$ ). Condições instrumentais: amplitude = 80 mV e degrau de potencial = 8 mV. (B) Correlação linear entre o potencial de pico e os valores de pH para AMX (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) com coeficiente angular de 89,2 $\text{mV pH}^{-1}$ . .....	52
<b>Figura 22:</b> Voltamogramas de VC para a avaliação do regime de transporte de massa da AMX (500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) com velocidade de varredura variando de (a) 25 a (f) 250 $\text{mV s}^{-1}$	

em tampão fosfato ( $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 9,0$ ). O gráfico inserido mostra a correlação linear ( $R^2 = 0,992$ ) entre a corrente e a raiz quadrada da velocidade de varredura. .... 53

**Figura 23:** Medidas de DPV para a otimização do tempo de modulação variando de 10 a 70 ms. O gráfico inserido mostra os valores de corrente de pico para cada valor de tempo de modulação. (B) Voltamogramas de DPV para a otimização do potencial de etapa variando de 2 a 10 mV. O gráfico inserido mostra os valores de corrente de pico para cada valor de potencial de etapa. (C) Voltamogramas de DPV para a otimização da amplitude variando de 10 a 100 mV. O gráfico inserido mostra os valores de corrente de pico para cada valor de potencial de etapa. AMX  $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , tampão fosfato ( $\text{pH} = 9,0$ ,  $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ), eletrodo de referência Ag|AgCl|KCl<sub>(sat.)</sub>. .... 54

**Figura 24:** Voltamogramas de DPV obtidos para a curva de calibração analítica de AMX com concentrações variando de  $14,9$  a  $126,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  em PBS ( $\text{pH} = 9,0$ ;  $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ). O gráfico inserido mostra a relação linear ( $R^2 = 0,997$ ) entre a concentração de AMX e a corrente de pico. Condições: Tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 9$ ) como eletrólito suporte, eletrodo de referência – Ag|AgCl|KCl<sub>(sat.)</sub>, degrau de potencial 10 mV, amplitude 80 mV e tempo de modulação de 50 ms. .... 55

**Figura 25:** Estudo de interferência na proporção de 1:1 de AMX e ampicilina (AMP), cloranfenicol (CHL), paracetamol (PCT), dipirona (DYP), clavulanato de potássio (CLV) com soluções padrão ( $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Condições: Tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 9$ ) como eletrólito suporte, eletrodo de referência – Ag|AgCl|KCl<sub>(sat.)</sub>, degrau de potencial 10 mV, amplitude 80 mV e tempo de modulação de 50 ms. .... 57

**Figura 26:** (A) Curva analítica da AMX obtida no HPLC-DAD faixa de  $30 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  até  $130 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Condições: coluna C18 de fase reversa. Fase móvel composta por acetonitrila (ACN) e solução aquosa de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ( $\text{pH} = 2,50$ ) (ACN/ $\text{H}_3\text{PO}_4$  - 20:80 v/v). (B) Cromatogramas das amostras de urina sintética fortificadas com  $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . (C) Cromatogramas das amostras de formulação farmacêutica fortificadas com  $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  ..... 59

**Figura 27:** (A) Curva analítica da AMX obtida no HPLC-DAD faixa de  $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  até  $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Condições: coluna C18 de fase reversa. Fase móvel composta por acetonitrila (ACN) e solução aquosa de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ( $\text{pH} = 2,50$ ) (ACN/ $\text{H}_3\text{PO}_4$  - 20:80 v/v). (B) Cromatogramas das amostras de urina sintética fortificadas com  $15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $30 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . (C) Cromatogramas das amostras de formulação farmacêutica fortificadas com  $15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $30 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  ..... 60

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores de recuperação para determinação de AMX em formulação farmacêutica, urina sintética e leite via utilizando o ePAD (n = 3).....	47
Tabela 2: Valores de recuperação para a determinação de AMX em amostras de leite, comprimidos farmacêuticos e urina sintética usando e-LIG por DPV (n = 3).....	56
Tabela 3: Resultados obtidos para determinação de AMX com o ePAD em formulação farmacêutica e urina sintética via HPLC-DAD (n = 3). .....	59
Tabela 4: Resultados obtidos para determinação de AMX com o e-LIG em formulação farmacêutica e urina sintética via HPLC-DAD (n = 3). .....	60
Tabela 5: Comparação dos métodos desenvolvidos com outros métodos eletroanalíticos reportados na literatura. ....	62

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AMP = ampicilina;  
AMX = amoxicilina tri-hidratada;  
AuNPs = nanopartículas de ouro;  
CHL = cloranfenicol;  
CLV = clavulanato de potássio;  
CPE = do inglês “eletrodo de pasta de carbono”;  
C-TAB = do inglês “brometo de cetrimônio”;  
DAD = do inglês “arranjo de diodos”;  
DIP = dipirona;  
EBT = negro de eriocromo-T;  
ECV = eletrodo de carbono vítreo;  
EIE = espectroscopia de impedância eletroquímica;  
e-LIG = eletrodo de grafeno induzido à laser;  
ePAD = eletrodo de papel;  
ErGO = óxido de grafeno reduzido;  
GIL = grafeno induzido a laser;  
GLU = glutaraldeído;  
HPLC = do inglês “cromatografia líquida de alta eficiência”;  
MIP = do inglês “polímero molecularmente impresso”;  
MS = espectroscopia de massas;  
P6LC = Printex 6L Carbon;  
PCT = paracetamol;  
PdNPs = nanopartículas de paládio;  
PEDOT:PSS = sulfonato de poliestireno;  
PES = polietersulfona;  
PET = polietileno tereftalato;  
PGA = ácido poliglutâmico;  
PI = poliimida;  
QDs = do inglês “pontos quânticos”;  
SPCE = do inglês “eletrodos de carbono impressos em estêncil”;  
TiO<sub>2</sub>-1%Co = dióxido de titânio-cobalto (1,0% m/m);  
VC = voltametria cíclica;  
VOD = voltametria de onda quadrada;

VPD = voltametria de pulso diferencial;

ZnO-NRs = do inglês “nanobastões de óxido de zinco”;

## Sumário

1. Introdução .....	16
1.1 Considerações gerais .....	16
1.2 Técnicas eletroanalíticas .....	17
1.3 Sensores a base de papel ou material plástico .....	18
1.4 Grafeno induzido a laser (GIL) .....	22
1.5 Beta-lactâmicos .....	23
1.6 Antibióticos como contaminantes em produtos de origem animal.....	24
1.8 Detecção eletroquímica de amoxicilina .....	26
1.9 Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) .....	27
2. Objetivos.....	29
2.1 Objetivo geral .....	29
2.2 Objetivos específicos.....	29
3. Materiais e métodos.....	29
3.1 Reagentes e soluções .....	29
3.2 Amostras e tratamento das amostras .....	30
3.3 Instrumentação .....	30
3.4 Otimização da tinta condutiva e confecção dos eletrodos de papel (ePAD).....	31
3.5 Construção do eletrodo à base de grafeno induzido a laser (e-LIG).....	32
3.6 Medidas eletroquímicas.....	34
3.6.1 Medidas eletroquímicas utilizando o ePAD.....	34
3.6.2 Medidas eletroquímicas utilizando o e-LIG.....	34
4. Resultados e discussão .....	35
4.2 Comportamento eletroquímico da amoxicilina sobre a superfície do ePAD.....	39
4.3 Otimização dos parâmetros instrumentais da voltametria de pulso diferencial....	43
4.4 Construção da curva analítica e repetibilidade do método.....	44
4.5 Aplicação em amostras reais e interferentes .....	46
4.6 Caracterização da superfície do e-LIG.....	48

4.7 Avaliação do comportamento eletroquímico da AMX na superfície de e-LIG.....	51
4.8 Otimização dos parâmetros instrumentais da voltametria de pulso diferencial.....	53
4.9 Construção da curva analítica com o e-LIG e repetibilidade do método.....	54
4.10 Aplicação em amostras reais e estudo de interferentes.....	56
4.11 Comparação com a cromatografia líquida (HPLC-DAD).....	58
4.12 Comparação com outros métodos eletroanalíticos.....	60
4.13 Comparação entre o ePAD e o e-LIG.....	64
5 Conclusão.....	64
5.1 Perspectivas futuras.....	66
6. Referências.....	66
Apêndice A.....	75
Apêndice B.....	77

## 1. Introdução

### 1.1 Considerações gerais

Os métodos eletroquímicos de análise desempenham um papel fundamental no domínio da química analítica, explorando as propriedades elétricas das substâncias para fornecer informações precisas sobre sua composição e concentração. Essas técnicas se baseiam em reações de oxirredução, onde ocorre a transferência de elétrons na interface entre um eletrodo e a solução (WANG, 2006b). A medição da corrente elétrica ou da diferença de potencial resultante dessas reações possibilita a quantificação de espécies químicas, mesmo em concentrações extremamente reduzidas. Em razão de sua elevada sensibilidade e adaptabilidade, os métodos eletroquímicos encontram uma ampla variedade de aplicações em diversos contextos, que vão desde a análise de compostos orgânicos e inorgânicos até o monitoramento de processos biológicos (GANESANA et al., 2017) e ambientais (POZA-NOGUEIRAS et al., 2019).

Os antibióticos também podem se tornar contaminantes em alimentos, representando uma ameaça adicional à saúde pública (KANTIANI et al., 2010). A presença de resíduos de antibióticos em produtos alimentícios pode ocorrer devido ao uso indiscriminado desses medicamentos na agricultura, pecuária e aquicultura, visando o controle de doenças e o aumento da produção. A exposição crônica a esses resíduos pode resultar na seleção de bactérias resistentes nos alimentos (MALIK; BHATTACHARYYA, 2019), bem como no trato gastrointestinal humano, aumentando o risco de infecções difíceis de tratar (PATANGIA et al., 2022).

Portanto, além de representarem um desafio significativo na segurança alimentar, os resíduos de antibióticos também contribuem para a disseminação da resistência bacteriana, tornando crucial a implementação de medidas eficazes de monitoramento e controle. Nesse contexto, os métodos eletroquímicos emergem como uma ferramenta valiosa para a detecção de resíduos de antibióticos em alimentos (DE FARIA et al., 2021a), fornecendo uma abordagem sensível e precisa para garantir a qualidade e a segurança dos produtos alimentícios.

As metodologias de baixo custo baseadas em técnicas eletroquímicas são uma solução promissora para detectar e quantificar resíduos de antibióticos no ambiente e em alimentos. Esses métodos, que empregam materiais acessíveis como grafite de lapiseira (KUMAR NAIK et al., 2022), pasta de carbono (JAVANSHIRI-GHASEMABADI; SADEGHI, 2023) e até mesmo grafeno gerado via laser, oferecem uma abordagem

acessível e eficaz para monitorar contaminantes emergentes, contribuindo para a segurança alimentar e a saúde pública. No entanto, é crucial garantir a validação e a padronização dessas técnicas, além de integrá-las adequadamente em programas de monitoramento regulatórios para mitigar os riscos associados à disseminação de antibióticos.

## 1.2 Técnicas eletroanalíticas

A primeira aplicação de um método eletroanalítico foi reportada por Gibbs e colaboradores que quantificou o teor de cobre em amostras de moedas de níquel e cobre por meio da eletrogravimetria. Posteriormente, esse método foi aprimorado com os trabalhos de Luckow para determinação seletiva do metal, com o uso de eletrodo rotativo por Klobukov, já a eletrogravimetria a potencial controlado foi desenvolvida por Sands e Fischer. Além de representar um avanço científico importante para o século XIX, a eletrogravimetria desempenhou um papel fundamental no desenvolvimento industrial europeu. Desde então, os métodos eletroanalíticos têm conquistado espaço como técnicas instrumentais robustas e eficazes. Destacam-se também a proposição dos eletrodos de vidro para  $\text{H}_3\text{O}^+$  por MacInnes, Dole e Nikolsky, bem como a introdução do conceito de pH por Sorensen, como avanços tecnológicos proporcionados pela eletroanalítica. Em 1958, Jaroslav Heyrovsky recebeu o Prêmio Nobel em Química “por suas descobertas e desenvolvimento de métodos polarográficos de análise” (LUBERT; KALCHER, 2010)

Assim, os métodos eletroanalíticos correlacionam características físico-químicas de sistemas químicos com medidas quantitativas, baseando-se nas propriedades elétricas intrínsecas de reações de oxirredução. Desse modo, torna-se viável monitorar espécies químicas orgânicas e inorgânicas em seus mais diversos estados de oxidação através da medida da diferença de potencial ou corrente associados às reações redox na interface eletrodo-solução. Destacam-se os baixos níveis de detecção e quantificação das técnicas eletroquímicas, o que as tornam atrativas para resolução de um amplo espectro de problemas analíticos. Além disso, uma vez que a instrumentação disponível avançou, é possível realizar medidas *in situ*, dispondo de portabilidade e eficiência em regiões remotas (WANG, 2006a).

As técnicas eletroquímicas podem ser divididas entre interfaciais e não interfaciais. Assim, as técnicas não interfaciais acompanham processos que ocorrem no seio da solução, enquanto as interfaciais acompanham os processos que ocorrem na interface eletrodo-solução. Entre as técnicas interfaciais, existem aquelas que trabalham

com controle do potencial aplicado: voltametria, amperometria, eletrogravimetria e a coulometria a potencial constante. Por outro lado, existem técnicas que trabalham com corrente constante, como a eletrogravimetria e as titulações coulométricas. Frente a diversidade de aplicações, destaca-se a voltametria, capaz de quantificar traços de analitos em um vasto número de matrizes distintas com elevada sensibilidade. (DE FARIA et al., 2021b)

Os métodos voltamétricos são operados em células eletroquímicas compostas por três eletrodos, nas quais uma rampa de potencial ou potencial fixo podem ser aplicados entre o eletrodo de referência e o eletrodo de trabalho. A eletrólise do analito ocorre sobre a superfície do eletrodo de trabalho, de modo que o incremento de corrente gerado é proporcional a concentração da espécie sobre o sensor. Essa corrente é registrada entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar, a fim de não gerar perturbações no eletrodo de referência (COMPTON; BANKS, 2007).

A sensibilidade dos métodos voltamétricos são provenientes dos materiais utilizados na confecção do eletrodo de trabalho, visando facilitar a transferência eletrônica e amplificação do sinal analítico. Ademais, a antecipação do potencial no qual ocorre a oxidação para valores mais próximos de zero mitiga a oxidação paralela de interferentes, o que confere seletividade aos métodos voltamétricos. Portanto, o conjunto de técnicas voltamétricas é atrativo para aplicações analíticas, oferecendo características adequadas para uma análise de rotina.

Um dos desafios da análise química é a diminuição dos custos instrumentais, de modo a tornar os métodos mais acessíveis e mantê-los igualmente robustos. Assim, sensores de baixo custo vêm sendo investigados (STEFANO et al., 2022), como aqueles feitos à base de grafite de lapiseira (ALVES et al., 2021), pasta de carbono (ARABALI et al., 2016), grafeno gerado via laser de CO<sub>2</sub> (YOON et al., 2020), tinta condutiva de grafite (LISBOA et al., 2021), eletrodos auto-adesivos (ORZARI et al., 2019), eletrodo composto com suporte 3D (DE OLIVEIRA et al., 2023), dentre outros, e têm sido amplamente aplicados em amostras de matrizes distintas, indicando a viabilidade dos sistemas de baixo custo.

### 1.3 Sensores a base de papel ou material plástico

Atualmente, dentre os substratos para construção de novos sensores eletroquímicos, o papel dispõe de propriedades interessantes como flexibilidade, capilaridade, baixo custo, facilidade de modificação, liberdade de *design* e gramaturas

variadas. Esse conjunto de características faz com que ele seja atrativo para sensoriamento remoto de diversas espécies, bem como para propor sistemas microfluídicos (OZER; MCMAHON; HENRY, 2020).

Os papéis de filtro e de cromatografia são os mais utilizados na construção de novos sensores, visto que a maioria dos outros tipos de papéis passa por algum processamento como branqueamento ou revestimento. As substâncias adicionadas podem prejudicar a imobilização de reagentes ou gerar sinais de fundo muito intensos, interferindo em medidas analíticas adequadas (YAMADA et al., 2015)

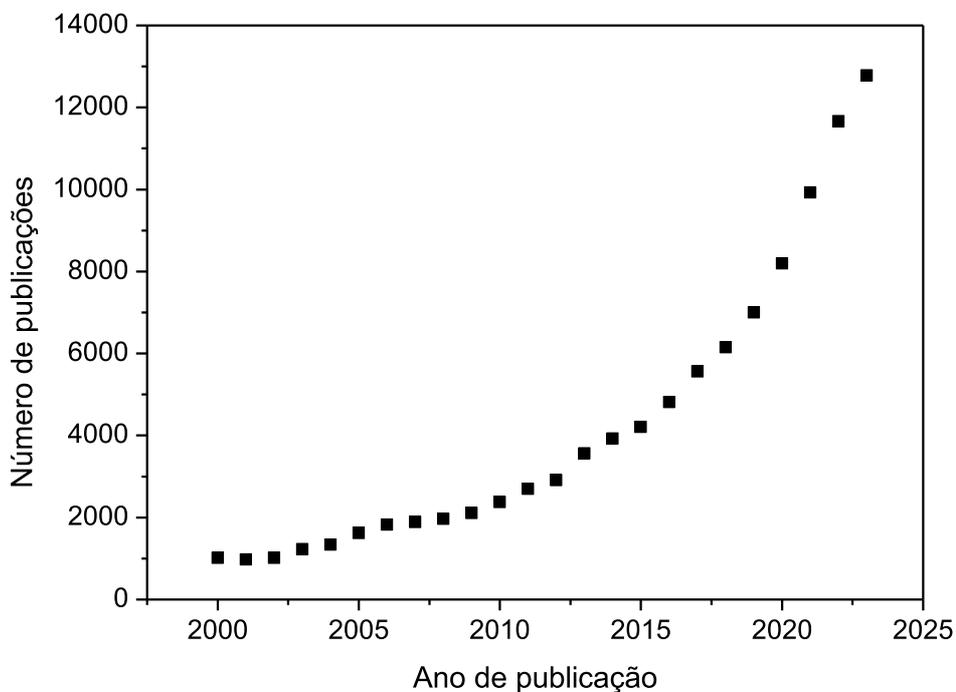
Destaca-se a microestrutura porosa e a rede de fibras formada pela celulose como características vantajosas, uma vez que viabilizam o escoamento de soluções aquosas via capilaridade sobre o substrato. Desta forma, torna-se factível implementar canais microfluídicos com fluxos bem definidos sobre o papel. Adicionalmente, a adsorção de agentes mascarantes, quelantes e biomoléculas pode ser realizada, incluindo etapas de pré-concentração e tratamento de amostra na plataforma analítica (CHANNON et al., 2019).

Em busca de melhorar a performance analítica de substratos de papel, a literatura especializada vem abarcando uma série de evidências que corrobora protocolos de ligação covalente entre o papel e alguns modificadores a partir da funcionalização dos grupos hidroxila da celulose em aldeídos e grupos epóxi, de modo a inserir lipase (GIRELLI; SALVAGNI; TAROLA, 2012), glucose oxidase (STÖLLNER; SCHELLER; WARSINKE, 2002), sêrum bovino (HONG et al., 2018) e tirosinase (SOLTANI FIROOZ et al., 2017). Estes protocolos garantem maior estabilidade para os biosensores e estabelecem a seletividade que as análises clínicas demandam.

Nas últimas duas décadas, houve um aumento acentuado de publicações envolvendo sensores a base de papel, indicando a sua popularização e interesse da comunidade científica em aplicá-lo (Figura 1).

**Figura 1:** Número de publicações envolvendo dispositivos eletroanalíticos a base de papel (ePAD) encontrados na base de dados Science Direct no período de 2020-2023.

Palavras-chave: “electrochemical paper based devices”.



Fonte: Elaborado pelo autor

Alternativamente, para produção de sensores de papel, aplicam-se tintas condutivas. Essas tintas têm em sua composição um material condutivo, um material polimérico para garantir a dispersão dos outros componentes e um solvente. A proporção de solvente para os outros componentes da tinta é otimizada de modo a assegurar um tempo de secagem que não gere fraturas, mas também não molhe o papel ao ponto de inutilizá-lo (CAMARGO et al., 2021). Atualmente, sensores de papel já foram aplicados em amostras biológicas (SHRIVAS et al., 2020), amostras de produtos animais (WANG et al., 2017b) e fármacos (LEE et al., 2016). Ainda assim, esse tipo de sistema exibe baixo custo e versatilidade. Em muitas situações é viável adicionar modificadores às tintas, visando a melhora do sinal analítico do sensor.

Dentre a diversidade de técnicas para criar as trilhas condutivas sobre o papel, as técnicas de impressão a jato de tinta, pintura com stencil ou pincel, serigrafia e pintura com grafite são as mais frequentemente aplicadas (ATAIDE et al., 2020). A serigrafia

é um método robusto que utiliza uma máscara em um tecido ou filme fotográfico para o desenho do sensor, assim o material condutivo é depositado sobre essa máscara (GARCÍA-MIRANDA FERRARI; ROWLEY-NEALE; BANKS, 2021). A impressão à jato de tinta utiliza impressoras com o design construído digitalmente e deposita o material condutivo sobre o papel de forma automatizada. A vantagem deste procedimento é a ampla gama de materiais que podem ser incorporados ao sensor através da tinta ou mesmo sendo adicionados camada por camada em um cenário de alta escalabilidade (SOUSA et al., 2024).

No entanto, tanto a serigrafia quanto a impressão à jato de tinta são metodologias custosas, demandam treinamento e equipamentos específicos para sua produção. Por outro lado, a pintura com stencil, pincel ou uso do grafite são metodologias mais acessíveis, visto que a primeira utiliza um stencil adesivo sobre o papel para dar o formato do sensor, enquanto o uso do pincel aplica a tinta condutiva sobre toda superfície (ATAIDE et al., 2020). A utilização do grafite consiste em desenhar com um lápis as trilhas condutivas e, sucessivamente, ir depositando camadas do grafite sobre o substrato. No entanto, esta abordagem é limitada pela baixa reprodutibilidade dos sensores (ATAIDE et al., 2022).

Embora os sensores possam ser impermeabilizados parcialmente, a sua permeabilidade pode ser um limitante para a sua performance analítica. Se o papel for totalmente molhado, o sensor pode ser inutilizado pela perda de contato elétrico. Desse modo, reportam-se na literatura trabalhos com materiais poliméricos como o acetato de celulose (LI et al., 2005), fita adesiva (DE OLIVEIRA et al., 2020), polietileno tereftalato (PET) (WANG et al., 2019), entre outros (LANZALACO; MOLINA, 2020). Os materiais plásticos e poliméricos se assemelham ao papel em flexibilidade para construção do sensor. Ademais, esses materiais são impermeáveis e também permitem fácil modificação da superfície.

Uma das potencialidades das plataformas à base de papel foi demonstrada pelo grupo australiano de Ghosale e colaboradores (GHOSALE et al., 2017) que reportaram o desenvolvimento de um sensor a base de papel fotográfico para detecção de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em águas residuais. A tinta condutiva utilizada para produção do eletrodo de trabalho foi produzida através da obtenção de nanopartículas de prata em presença de ácido ascórbico e revestidas por octilamina. O eletrodo de trabalho foi confeccionado usando uma suspensão das nanopartículas em clorofórmio aplicada com

uma caneta esferográfica (PE/AgNP-OA). O sensor exibiu uma larga faixa de trabalho ( $1,7 \mu\text{mol L}^{-1}$  -  $30 \text{ mmol L}^{-1}$ ) e um limite de detecção de  $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

#### 1.4 Grafeno induzido a laser (GIL)

O grafeno é um material bidimensional, de camada fina, constituído por átomos de carbono  $\text{sp}^2$  dispostos numa estrutura hexagonal. Desde o reporte pioneiro de Geim e Novoselov (NOVOSELOV et al., 2004) sobre o seu isolamento através da esfoliação mecânica do grafite, houve um esforço mundial para investigar as suas propriedades mecânicas e elétricas. Neste sentido, a sua grande área superficial e a rápida cinética de transferência de elétrons são características favoráveis para aplicações eletroquímicas, seja para armazenamento de energia (JI et al., 2016) ou para plataformas de detecção (ROWLEY-NEALE et al., 2018).

Ao longo das últimas duas décadas, desenvolveu-se um considerável número de métodos de produção de grafeno. Metodologias sintéticas como a deposição de vapor, crescimento epitaxial, a esfoliação micromecânica e a redução em fase líquida do óxido de grafeno são destacadas como as estratégias mais comuns (WHITENER; SHEEHAN, 2014). Ademais, é possível produzir grafeno através da redução do óxido de grafeno sob luz UV, em condições térmicas ou químicas (WHITENER; SHEEHAN, 2014).

Recentemente, o grupo de Tour reportou um trabalho (YE; JAMES; TOUR, 2019) no qual incidiu-se um feixe de laser de  $\text{CO}_2$  na região do infravermelho em um filme de poliimida comercial. Observou-se que uma estrutura de grafeno 3D foi gerada, denominada de grafeno induzido a laser (GIL). Esse procedimento envolve a conversão fototérmica de átomos de carbono  $\text{sp}^3$  em átomos de carbono  $\text{sp}^2$  através da irradiação a laser de  $\text{CO}_2$  (HUANG et al., 2020b). O GIL tem sido gerado com sucesso utilizando vários polímeros, incluindo a polianilina (PANI) (LIN et al., 2014) e a polietersulfona (PES) (GETACHEW; BERGSMAN; GROSSMAN, 2020). A versatilidade na concepção do GIL e a capacidade de obter diversas morfologias de grafeno podem ser controladas através do ajuste de parâmetros como a fonte de radiação, os níveis de energia, a densidade de pulsos e os ciclos do laser (HUANG et al., 2020b).

No entanto, uma das limitações das fontes de laser de infravermelho é a dimensão do seu feixe. Objetivando-se sobrepujar esta limitação espacial, têm sido utilizadas fontes de radiação visível para criar o GIL, o que resulta na produção do material de alta resolução a partir de feixes menores. Isto não só facilita a miniaturização de plataformas analíticas com características semelhantes às aquelas produzidas na região do

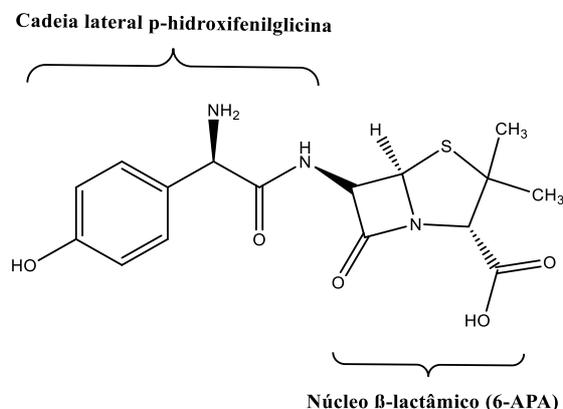
infravermelho, como também é uma abordagem mais econômica (STANFORD et al., 2020).

### 1.5 Beta-lactâmicos

Os beta-lactâmicos são um conjunto de moléculas de ação antibacteriana de amplo espectro, cuja característica estrutural em comum é o anel  $\beta$ -lactâmico (Figura 2). Esse anel é composto por três átomos de carbono e uma amida, no qual pode haver uma cadeia lateral ou outro anel condensado à estrutura. Essa porção da molécula é a principal responsável pela efetividade desses compostos, atuando diretamente na inibição da síntese da parede celular bacteriana (LIMA et al., 2020). Por conseguinte, ocorre lise e morte celular. O primeiro beta-lactâmico foi observado por Alexander Fleming em 1928, a penicilina G, a qual era aplicada em ferimentos de guerra durante a 2ª Guerra Mundial. Tendo em vista a sua diversidade estrutural, os beta-lactâmicos são classificados de acordo com o anel principal e os grupos químicos adjacentes em: penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos (PAGE, 2012).

As penicilinas são o grupo mais antigo dentre os beta-lactâmicos. Ao passo que foram introduzidas em clínica, ocorrendo o surgimento de cepas bacterianas resistentes. Assim, novas estratégias sintéticas para sua derivação foram necessárias. Desse modo, as penicilinas podem ser divididas em naturais ou semi-sintéticas. Uma penicilina semi-sintética de largo espectro com uso recorrente para o tratamento de gonorreia, otite média e pneumonia é a amoxicilina (Figura 2) (RANG H.P., 2007). Esse fármaco exibe uma cadeia lateral *p*-hidroxifenilglicina (POHFG) ligada ao núcleo  $\beta$ -lactâmico (6-APA). A secreção tubular é a sua principal via de excreção quando administrada oralmente.

**Figura 2:** Molécula de amoxicilina.



Fonte: Elaborado pelo autor

Antibióticos contabilizam uma grande parcela dos medicamentos comercializados atualmente, observando-se um aumento do seu consumo em países mais pobres, em especial fármacos como ampicilina e amoxicilina (BROWNE et al., 2021). Somando-se ao fato do constante desenvolvimento de resistência bacteriana, é de grande relevância conduzir um programa de vigilância que monitore amostras farmacêuticas e seus usos, visando assegurar controle de qualidade, vigência com as regulamentações atuais e também a avaliação do seu potencial como contaminante emergente em matrizes aquáticas (BILAL et al., 2020).

#### 1.6 Antibióticos como contaminantes em produtos de origem animal

Os antimicrobianos vêm sendo encontrados como resíduos em alimentos, especialmente em produtos de origem animal. Na produção leiteira, o manejo adequado do gado é fundamental para garantir a qualidade dos insumos. Os antibióticos podem se tornar resíduos no leite pelo desrespeito ao período de carência e excreção dos antibióticos, o que pode variar de acordo com a forma de administração do medicamento, dosagem, classe do antibiótico e estado da glândula mamária. Além disso, há também o uso de medicação por períodos prolongados ou de forma “preventiva”, bem como a adição no produto final para mitigar a proliferação bacteriana e aumentar o tempo de prateleira (DAMÉ SAYÃO LOBATO; GIL DE LOS SANTOS, 2020).

Tendo em vista que o Brasil é o terceiro maior produtor de leite do mundo (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2022), com produção na ordem dos bilhões de litros anualmente, o monitoramento desses compostos torna-se relevante em termos de saúde pública e segurança alimentar. Dentre os antibióticos aplicados na veterinária, os beta-lactâmicos são os mais utilizados, com destaque para ampicilina e a amoxicilina (KORB et al., 2011). Os impactos na saúde do consumidor surgem a partir do desenvolvimento de cepas bacterianas resistentes, bem como os processos de hipersensibilização e alergias (DAYAN, 1993). Em países como Irã, Kenya e Estados Unidos, os antimicrobianos já foram identificados em amostras de leite (KISSELL et al., 2013; KOSGEY; SHITANDI; MARION, 2018; MOGHADAM, 2016). No Brasil, mesmo após tratamento térmico, observou-se a presença de antibióticos em amostras de leite coletadas no Paraná (NOVAES et al., 2017).

A preocupação em estabelecer programas de monitoramento dos resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal existe desde a década de 70, com o

surgimento do Programa Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Carnes (PNCRBC). Após uma série adequações, atualmente Plano de Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC / Animal) do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) monitora e analisa anualmente amostras de produtos de origem animal, como leite, carne e ovos em laboratórios nas suas instalações. Os ensaios conduzidos verificam se as amostras estão em conformidade com os limites máximos de resíduos (LMRs), assegurados pela Instrução Normativa nº 162, de 1º de julho de 2022. De acordo com esta legislação, definiu-se um LMR de 4 µg/L para leite bovino.

### 1.7 Metodologias para detecção e quantificação da amoxicilina

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (BRASILEIRA, 2019), a amoxicilina é quantificada em insumos farmacêuticos através da iodometria. Esse ensaio é aplicado para todos os antibióticos penicilâmicos, o que implica em baixa seletividade frente aos análogos da classe. Além disso, a sensibilidade é dependente da visualização do ponto de viragem da titulação. Na literatura, reportam-se metodologias que utilizam cromatografia líquida de alta eficiência para o doseamento da amoxicilina em amostras farmacêuticas ((DOUŠA; HOSMANOVÁ, 2005; LEBELLE; WILSON; LAURIAULT, 1980), colorimetria (AKHOND; ABSALAN; ERSHADIFAR, 2015) e eletroforese capilar (GARCÍA-CAMPAÑA et al., 2009).

Metodologias utilizando a cromatografia líquida são frequentemente aplicadas para detecção e quantificação de amoxicilina em amostras de leite (DE MARCO et al., 2017). Nesse caso, destaca-se a demanda por um tratamento de amostra que pode incluir uma etapa de extração, com objetivo de conservar a estrutura do analito e mitigar os interferentes da matriz.

Sürücü e colaboradores (SÜRÜCÜ et al., 2022) reportaram a detecção simultânea de cloranfenicol e amoxicilina utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD) em amostras de leite. O analito foi extraído com o procedimento de ponto nuvem, na presença do surfactante polietileno glicol (PEG-6000) em pH 7. Esse tipo de extração utiliza do ponto de turvação/nuvem dos surfactantes quando expostos a condições de temperatura ou pressão acima do seu ponto crítico. Desse modo, formam-se duas fases isotrópicas, o que permite a pré-concentração do analito e a sua extração. Nesse trabalho, quatro amostras de leite cru foram fortificadas em dois níveis de concentração (100 e 300 ng L<sup>-1</sup>). Observaram-se valores de recuperação entre 94% - 107%.

O grupo do Wang (WANG et al., 2017a) desenvolveu uma metodologia para detecção de amoxicilina e seus metabólitos principais em tecidos de aves utilizando a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas com ionização por eletrospray em Tandem (UPLC-ESI/MS/MS). Neste trabalho, as amostras de tecido animal foram moídas, homogeneizadas, suspensas com penicilina V como padrão interno ( $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e centrifugadas. Após a adição de água e acetonitrila (1:1 v/v), a amostra foi extraída por meio de um processo de homogeneização seguido por lavagem e extração ultrassônica em acetonitrila. O sobrenadante resultante foi combinado com soluções de acetato de amônio e diclorometano saturado, visando a remoção de gorduras. Após uma etapa de purificação e concentração por liofilização, a amostra foi reconstituída em acetonitrila, filtrada e submetida à análise por UPLC-ESI/MS/MS. Realizou-se um ensaio de adição e recuperação em quatro níveis (1,5, 25, 50 e  $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), no qual os valores de recuperação variaram na faixa de 75% – 102%.

O grupo de Reem Y. Shahin (MAHMOUD et al., 2022) elaborou metodologias fluorométricas e colorimétricas utilizando pontos quânticos de carbono co-dopados com cobre e nitrogênio (Cu, N@CQDs) para quantificação de amoxicilina. Empregou-se o Cu, N@CQDs como catalisador semelhante à peroxidase na plataforma de acoplamento oxidativo da amoxicilina (AMX) com 4-aminoantipirina (4-NH<sub>2</sub>-APE) na presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, resultando na formação de um cromógeno quinonimina rosa. No método colorimétrico, a intensidade de absorção cresceu linearmente na faixa de concentração de 4,3 – 110,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Já no método fluorométrico, a emissão do Cu, N@CQDs diminuiu proporcionalmente à adição de AMX na concentração de 0,2 – 120,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Esta plataforma foi aplicada na determinação de AMX em cápsulas farmacêuticas, soro humano, leite e amostras de água. O ensaio de adição e recuperação foi realizado em dois níveis de concentração (10 e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) para as duas metodologias, com recuperações entre 95% – 104%.

### 1.8 Detecção eletroquímica de amoxicilina

A detecção por métodos eletroquímicos da amoxicilina vêm sendo reportada na literatura em eletrodos comerciais com superfícies modificadas e não modificadas (HRIOUA et al., 2021). Valenga e colaboradores reportaram (VALENGA et al., 2020) o uso de um eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido e Nafion (ECV/rGO-Nafion) para quantificação de amoxicilina em amostras de água de rio utilizando a voltametria de onda quadrada (VOD). O sensor foi modificado pelo

gotejamento de uma suspensão do rGO sobre sua superfície e, após secagem, gotejamento de uma solução de Nafion. O eletrodo modificado exibiu uma faixa linear de  $1,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  –  $5,4 \mu\text{mol L}^{-1}$  e limite de detecção de  $0,36 \mu\text{mol L}^{-1}$ . O estudo de adição e recuperação para duas amostras de água de rio distintas, em três níveis de concentração ( $2,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $3,6 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $4,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), resultou em uma faixa de recuperação de 97% a 107%.

O grupo de Pandey (SHARMA; JAIN; PANDEY, 2023) reportou o uso de um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanofibras de carbono (CFE) para detecção simultânea de amoxicilina e clavulanato em amostras de serum humano e formulação farmacêutica aplicando a VOD. Desse modo, o sensor foi modificado com o gotejamento de uma solução de CFE e seco a temperatura ambiente. A faixa de trabalho linear do sensor foi de  $0,6 \mu\text{mol L}^{-1}$  até  $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ , com limite de detecção de  $0,098 \mu\text{mol L}^{-1}$ . As amostras foram fortificadas em três níveis de concentração ( $1,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $2,4 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). O método proposto demonstrou valores de recuperação de 98% até 100,5%.

Zamani *et al* (OJANI; RAOOF; ZAMANI, 2012) aplicaram um eletrodo de pasta de carbono (EPC) com um filme do complexo Ni(II)-curcumina (EPC/Ni-CR) para quantificação da amoxicilina em amostras de formulação farmacêutica e urina por cronoamperometria. A modificação foi preparada através da eletropolimerização de um complexo precursor de amônia-Ni(II) em meio alcalino sob excesso de curcumina. O EPC/Ni-CR exibiu faixa linear de trabalho de 8 até  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ , com limite de detecção de  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Os valores de recuperação para as amostras variaram na faixa de 98% até 105,1%.

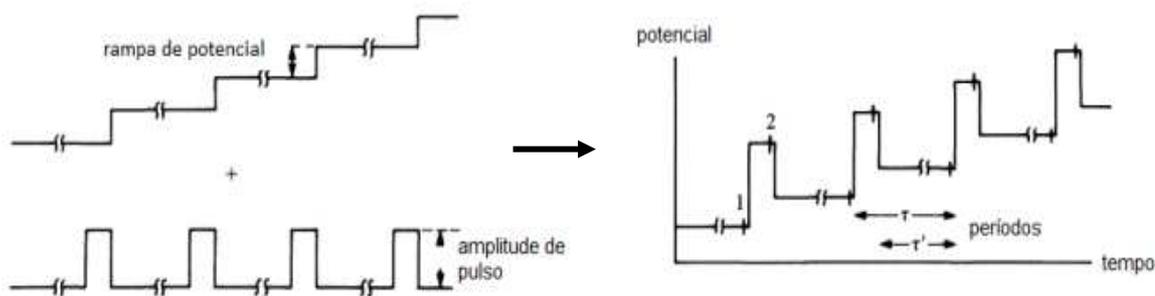
### 1.9 Voltametria de Pulso Diferencial (VPD)

A voltametria é uma técnica eletroanalítica que consiste em aplicar um potencial que varia com o tempo e medir a corrente resultante da aplicação desse potencial. A corrente resultante possui dois componentes: a corrente faradaica e a corrente capacitiva. A corrente faradaica é advinda do processo redox do analito que ocorre na superfície do eletrodo e é proporcional à concentração da espécie de interesse. Por outro lado, a corrente capacitiva é resultado da formação da dupla camada elétrica, uma resposta das moléculas da solução vizinhas ao eletrodo que têm seus dipolos orientados frente ao processo de polarização do eletrodo de trabalho. Desse modo, forma-se um capacitor sobre a sua superfície (STOJEK, 2010).

Ao longo do desenvolvimento das técnicas eletroanalíticas, objetivou-se mitigar a contribuição da corrente capacitiva, de modo que a corrente total fosse resultante da corrente faradaica. Nesse panorama, investigou-se a forma como a aplicação do potencial (sinal de excitação) impactava esse processo. As técnicas de pulso surgem como uma alternativa a diminuição da corrente capacitiva. Nessa modalidade, o potencial é aplicado na forma de pulsos, degraus de potencial fixos ou variáveis. Tanto a componente faradaica quanto a componente capacitiva decaem exponencialmente. A corrente faradaica é proporcional à raiz quadrada do coeficiente de difusão. No entanto, a diminuição do valor de corrente é consideravelmente menos acentuada para a corrente faradaica. Assim, ao medirmos a corrente total no tempo adequado, isto é, antes do pulso e ao final do pulso, torna-se razoável estabelecer que a corrente resultante sofre menor influência da corrente capacitiva (COMPTON; BANKS, 2007).

As técnicas de pulso mais populares são a voltametria de pulso diferencial (VPD) e a voltametria de onda quadrada (VOD). A voltametria de pulso diferencial consiste na aplicação de uma série de pulsos de mesmo valor (amplitude) sobre uma rampa de potencial (degrau de potencial ou incremento de potencial). Na VPD, a corrente é medida no começo do pulso ( $S_1$ ) e ao final do pulso ( $S_2$ ), de maneira a equacionar a corrente capacitiva e subtrair sua contribuição da corrente total. Finalmente, a corrente é altura de pico da gaussiana dada como sinal instrumental. A Figura 3 esquematiza o modo como o sinal de excitação é aplicado (PACHECO et al., 2013).

**Figura 3:** Esquema representativo do sinal de excitação da voltametria de pulso diferencial.



Fonte: Adaptado de (PACHECO et al., 2013)

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo geral

Desenvolver um método voltamétrico para quantificação de amoxicilina em amostras de origem farmacêutica e alimentícia aplicando eletrodos a base de papel e material polimérico com tinta condutiva de grafite.

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a viabilidade da construção de eletrodos de trabalho com base em substratos poliméricos ou de papel;
- Caracterizar os eletrodos utilizando a microscopia de varredura eletrônica (MEV) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE);
- Estudar o comportamento eletroquímico da amoxicilina (AMX), bem como o efeito de diferentes eletrólitos suporte, efeito do pH do eletrólito suporte e o regime de transporte de massa;
- Desenvolver e otimizar as condições instrumentais para determinação de AMX utilizando técnicas voltamétricas;
- Avaliar as figuras de méritos inerentes ao método desenvolvido;
- Aplicar o método para amostras de formulações farmacêuticas e alimentícia de diferentes origens;
- Comparar os resultados obtidos com a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

## 3. Materiais e métodos

### 3.1 Reagentes e soluções

Os padrões analíticos de amoxicilina tri-hidratada (AMX), ampicilina (AMP), dipirona (DIP), paracetamol (PCT), cloranfenicol (CHL) e clavulanato de potássio (CLV) foram obtidos da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA). O ácido amoxilóico (AAC) foi preparado de acordo com um procedimento previamente publicado (MITCHELL et al., 2014). O grafite em pó foi adquirido da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA). O material polimérico utilizado no trabalho foi um esmalte base para unha obtido da Risqué (São Paulo, Brasil). Acetona, metanol, fosfato de sódio monobásico, fosfato de sódio dibásico, hidróxido de sódio, cloreto de potássio, ácido nítrico e ferrocianeto de potássio foram adquiridos da Vetec Química Fina Ltda. (Rio de Janeiro, Brasil). As folhas de poliimida ( $\phi$  0.125 mm) foram obtidas da Vemar (Sorocaba, Brasil).

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada (Milli-Q – Quantum EX) com resistividade maior ou igual a 18 MΩ cm. Os tampões Britton-Robson (BR) (ácido fosfórico, ácido bórico e ácido acético – 0,1 mol L<sup>-1</sup>) e fosfato (fosfato de sódio dibásico e fosfato de sódio monobásico – 0,1 mol L<sup>-1</sup>) foram utilizados como eletrólito suporte. Os respectivos valores de pH dos eletrólitos suportes foram ajustados com soluções de NaOH (2,00 mol L<sup>-1</sup>) e HCl (2,00 mol L<sup>-1</sup>). A solução estoque de AMX foi preparada com 20% (v/v) de metanol e 80% (v/v) do tampão fosfato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH = 7).

### 3.2 Amostras e tratamento das amostras

As amostras de leite foram obtidas no comércio local de Juiz de Fora, Minas Gerais. As amostras foram diluídas dez vezes em um balão volumétrico de 5,00 mL com tampão fosfato (0,1 mol L<sup>-1</sup>; pH = 7). A urina sintética foi preparada seguindo um protocolo publicado na literatura (LAUBE; MOHR; HESSE, 2001), com concentrações de CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 1,1 g L<sup>-1</sup>, NaCl 2,9 g L<sup>-1</sup>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2,2 g L<sup>-1</sup>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,4 g L<sup>-1</sup>, KCl 1,6 g L<sup>-1</sup>, NH<sub>4</sub>Cl 1,0 g L<sup>-1</sup> e ureia de 25 g L<sup>-1</sup>. Essas amostras foram diluídas dez vezes em um balão volumétrico de 5,00 mL com tampão fosfato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH = 7).

As amostras farmacêuticas (500 mg de AMX por comprimido) foram obtidas em farmácias locais de Juiz de Fora, Minas Gerais. Pesou-se uma massa de aproximadamente 8 mg do fármaco em um balão de 10,00 mL e diluiu-se com 80% de tampão fosfato (v/v) e 20% de metanol (v/v). Os excipientes da amostra eram croscarmelose sódica, estereato de magnésio e talco.

### 3.3 Instrumentação

Para a realização de todas as medidas eletroquímicas utilizou-se um potenciostato µAutolab Type III (EcoChemie, Utrecht, Holanda) e um potenciostato PGSTAT-128N (Utrecht, Holanda) interfaceados a um microcomputador pelo software Nova, versão 2.1.6 (Metrohm Autolab B.V, Utrecht, Holanda). Empregou-se uma célula eletroquímica composta de um eletrodo de trabalho de papel com tinta condutiva ou poliimida gravado à laser, um eletrodo de Ag/AgCl, KCl<sub>(sat)</sub> e um eletrodo de platina como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente. A aquisição e tratamento dos dados foi realizada pelo NOVA 2.14 e Origin 2019b, respectivamente. A célula eletroquímica utilizada foi de politetrafluoroetileno com dimensões de 2,5 cm de diâmetro, 3,0 cm de altura e 15 ml

de volume total para as medidas feitas com o eletrodo de papel, enquanto um béquer de 5 ml foi utilizado como célula eletroquímica para as medidas feitas com o eletrodo à base de grafeno induzido a laser.

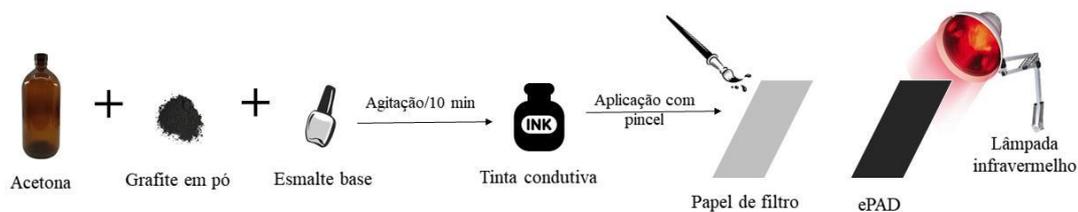
A morfologia das superfícies dos eletrodos de trabalho foi avaliada com um microscópio eletrônico de varredura modelo Hitachi TM 3000 combinado com EDS (Bruker) para análise dispersiva de raios-X e um microscópio modelo Vega 3 da Tescan (República Tcheca) e operado a 20 kV. Os espectros Raman foram adquiridos usando um espectrômetro Bruker SENTERRA e um detector CCD, com excitação a laser operando em um comprimento de onda de 532 nm e 633 nm e potência de 50 mW.

Os métodos propostos foram comparados com a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando o equipamento da marca Shimadzu, modelo Prominence UFLC, equipado com software LC solution, coluna C18 Shim-Pack XR-ODS (3,0 mm x 75mm x 2,2 $\mu$ m), amostrador automático (SIL-20A UFLC) e detector espectrofotométrico UV-Vis (SPD-20A UFLC). As medidas de pH foram feitas usando um potenciômetro da Digimed DM 20 e um eletrodo combinado de vidro (Metrohm) calibrado com soluções tampão Merck de pH 4,00 e pH 7,00.

#### 3.4 Otimização da tinta condutiva e confecção dos eletrodos de papel (ePAD)

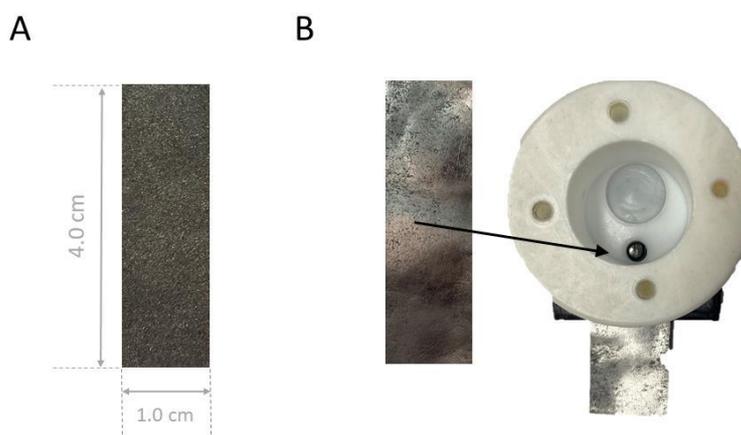
A composição da tinta condutiva foi otimizada em termos das proporções de grafite e esmalte, de modo a obter a resposta que indicasse maior sensibilidade e melhor perfil voltamétrico da sonda redox de comportamento bem definido de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  (1 mmol L<sup>-1</sup> em 100 mmol L<sup>-1</sup> de KCl) por voltametria cíclica, com velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>. Desse modo, variou-se a composição da tinta entre 20:80 até 70:30 (% m/m) de grafite e esmalte em 1g de massa total, adicionando-se 2 mL de acetona e agitando por 10 minutos. Retângulos de papel de filtro (Whatman) (1 cm x 4 cm) foram pintados com auxílio de um pincel, como reportado pelo grupo (LISBOA et al., 2021) e outros autores (BATISTA DEROCO et al., 2020). Os retângulos foram expostos a uma luz de infravermelho (Phillips IR250CH) por 10 minutos (Figura 4). Após devidamente secos, os eletrodos foram polidos com lixas de granulometrias variadas (1200 e 2000 grt) até que fosse observado um aspecto brilhante. A resposta do sensor foi avaliada antes e após o polimento. Os eletrodos foram posicionados na parte inferior de uma célula eletroquímica na qual a área geométrica foi delimitada utilizando um *o-ring* por um círculo de 0,4 cm de diâmetro (Figura 5).

**Figura 4:** Esquema ilustrativo da confecção do ePAD.



Fonte: Elaborado pelo autor

**Figura 5:** Sensor a base de papel e tinta condutiva antes (A) e após (B) polimento com indicação de inserção na célula eletroquímica.



Fonte: Elaborado pelo autor

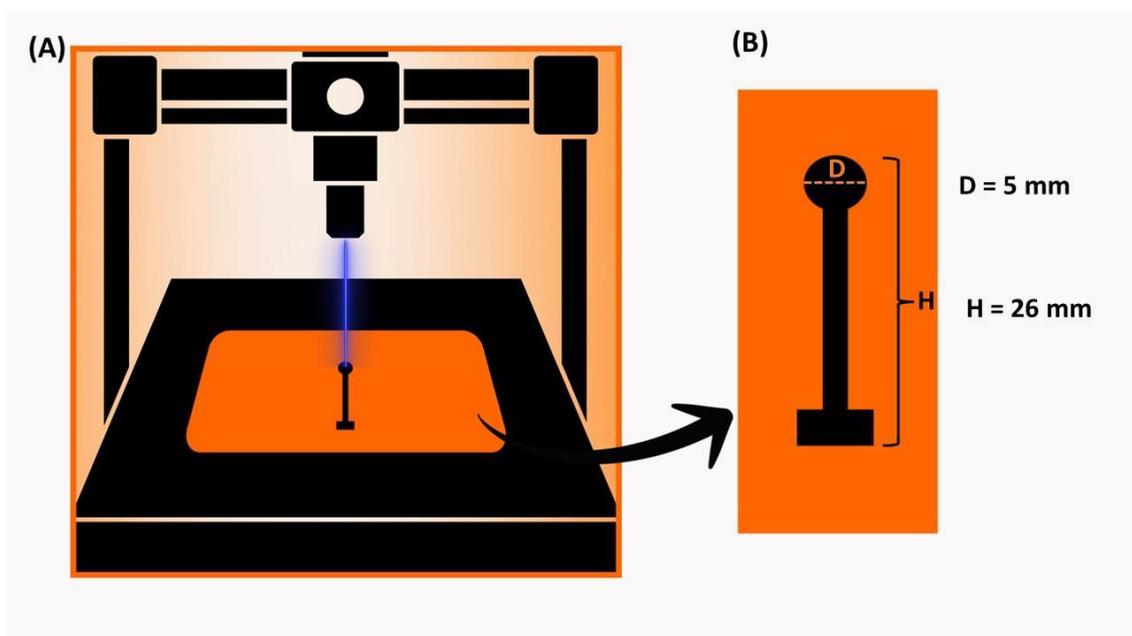
### 3.5 Construção do eletrodo à base de grafeno induzido a laser (e-LIG)

Os eletrodos à base de grafeno induzido a laser foram construídos nas dependências do Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica (NUPE), na Universidade Federal de Uberlândia (UFU) em Minas Gerais. Desse modo, a construção da instrumentação para gravação a laser foi descrita previamente na literatura (DIAS et al., 2022). Em resumo, a fonte de laser visível (3,5 W; 405-450 nm, da Eleksmaker) foi fixada no manipulador de uma impressora 3D Hypercube em um arranjo Core-XY (substituindo o extrusor de filamento geralmente presente em impressoras FDM), conforme ilustrado na Figura 6A. O comprimento de onda máximo de emissão da fonte de laser visível foi medido com um espectrômetro UV-Vis Ocean Optic JAZ (Ocean Insight, EUA) e o valor

de 449,2 nm foi obtido. A folha de PI foi posicionada na cama de calor da impressora FDM (30 cm x 30 cm) para fabricar os eletrodos.

Os sensores de e-LIG foram fabricados de acordo com parâmetros otimizados estabelecidos previamente (DIAS et al., 2022). Esses parâmetros são configurados no software da máquina. A potência do laser visível foi ajustada precisamente para 24% (~ 0,84 W), com uma velocidade de deslocamento de 20 mm s<sup>-1</sup>. Além disso, o caminho do laser utilizou uma separação fixa de 0,05 mm entre linhas paralelas. O processo de ablação a laser foi inicialmente utilizado para delinear o design do eletrodo, chamado de corte a laser. Posteriormente, durante o processo de preenchimento do e-LIG, o feixe de laser foi direcionado uniformemente de um lado para o outro, conhecido como caminho de preenchimento. O design do e-LIG adotado para este estudo engloba uma área geométrica de 0,20 cm<sup>2</sup>, conforme mostrado na Figura 6B. O eletrodo teve seu caminho condutivo coberto com esmalte base para isolamento elétrico e apenas a área arredondada foi utilizada como superfície de trabalho. Em seguida, ele foi colocado em solução dentro de um béquer de vidro de 5 ml para posteriores medidas.

**Figura 6:** (A) Representação da máquina de impressão a laser visível. (B) Esquema do eletrodo e-LIG com medidas correspondentes de altura e diâmetro.



Fonte: Elaborado pelo autor

### 3.6 Medidas eletroquímicas

A influência da composição do eletrólito suporte foi avaliada usando duas soluções tampão distintas: fosfato e Britton-Robison ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 7$ ). Aplicou-se a voltametria cíclica com uma solução de AMX ( $555 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

#### 3.6.1 Medidas eletroquímicas utilizando o ePAD

Para avaliação do efeito de pH no processo de oxidação da AMX, a voltametria cíclica foi utilizada variando o potencial de 0 a  $+1,2 \text{ V}$  (vs  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{s})}$ ,  $\text{KCl}_{(\text{sat.})}$ ) com velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ , em três ciclos. Foi utilizada a mesma solução padrão de AMX com concentração de  $555 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , em meio de tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) como eletrólito suporte, variando os valores de pH entre 5,0 e 9,0. Além disso, a mesma técnica foi utilizada para avaliar o regime de transporte de massa da AMX, onde o pH ótimo foi utilizado, e a velocidade de varredura da técnica foi variada entre 50 e  $250 \text{ mV s}^{-1}$ , usando a AMX em meio de tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 7$ ). As medições de EIE foram realizadas usando a sonda eletroquímica ferricianeto de potássio ( $5 \text{ mmol L}^{-1}$ ) em KCl ( $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ ) como eletrólito suporte, com uma faixa de frequência de 50.000 a  $0,1 \text{ Hz}$ , amplitude de sinal de  $10 \text{ mV}$  e 10 pontos de dados por frequência.

As condições instrumentais para a determinação de AMX por voltametria de pulso diferencial (VPD) foram otimizadas utilizando solução padrão de AMX com concentração na célula eletroquímica de  $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , também em tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 7$ ). Os parâmetros degrau de potencial ( $1$  a  $12 \text{ mV}$ ) e amplitude ( $10$  a  $100 \text{ mV}$ ) foram avaliados. Uma vez definidas tais condições, as mesmas foram utilizadas para realização de um estudo de repetibilidade de sinal, utilizando a mesma concentração, e também, foi construída uma curva analítica utilizando soluções padrão de AMX, com uma faixa linear de  $29,8$  a  $126,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ .

#### 3.6.2 Medidas eletroquímicas utilizando o e-LIG

A otimização do valor de pH do eletrólito suporte foi realizada por meio de medidas de VPD com uma solução de AMX ( $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) usando um tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), variando o pH na faixa de 5,0 a 9,0. Foi aplicado um potencial de 0 a  $+0,9 \text{ V}$  (vs  $\text{Ag}/\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat.})}$ ), utilizando o método otimizado para o ePAD (amplitude =  $80 \text{ mV}$ ;

degrau de potencial = 8 mV; tempo de modulação: 50 ms). O regime de transporte de massa foi avaliado com medidas de voltametria cíclica, com uma velocidade de varredura variando de 25 a 250 mV s<sup>-1</sup> e uma concentração de AMX de 500 µmol L<sup>-1</sup>. As medições de EIE foram realizadas usando as mesmas condições dos experimentos com o ePAD.

Medidas de VPD foram realizadas para otimizar os parâmetros instrumentais: amplitude (10 - 100 mV), degrau de potencial (2 - 10 mV) e tempo de modulação (10 - 70 ms), com uma solução de AMX de 50 µmol L<sup>-1</sup>. Uma curva de calibração externa foi construída dentro da faixa de concentração de 14,6 a 126,2 µmol L<sup>-1</sup>. Em todos os experimentos, o eletrólito suporte foi o tampão PBS (pH = 9,0; 100 mmol L<sup>-1</sup>).

## 4. Resultados e discussão

### 4.1 Otimização da tinta condutiva e caracterização da superfície do ePAD.

A tinta condutiva de grafite foi otimizada em função da razão de material condutivo (grafite) e material polimérico (esmalte) na faixa de 20:80 até 70:30 (% m/m: grafite/esmalte) antes e após o polimento com lixa d'água. A sonda eletroquímica [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>/[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> (1 mmol L<sup>-1</sup> em 100 mmol L<sup>-1</sup> de KCl) foi empregada para avaliar a resposta do sensor. Nesse contexto, observou-se que para porcentagens de grafite maiores que 70% o sensor não exibiu corrente mensurável. A ausência do sinal é decorrente da superfície nessas proporções apresentar um aspecto craquelado, característico de pouco material polimérico. Logo, o contato elétrico torna-se inviável.

Antes do polimento, o eletrodo de proporção 20:80 (% m/m: grafite/esmalte) exibiu a maior densidade de corrente (razão da corrente de pico pela área eletroativa do eletrodo), indicado na Figura 7A. Tendo em vista que nessa proporção há menor quantidade de grafite sobre a superfície, possivelmente esse resultado é decorrente das medidas terem sido conduzidas em uma parte do eletrodo com acúmulo de material condutivo. Adicionalmente, o perfil voltamétrico da sonda não estava bem definido em todas as proporções estudadas.

Após o polimento, os valores de densidade de corrente aumentaram ao passo que se aumentou a proporção do material condutivo, como indicado na Figura 7B. Destaca-se um perfil voltamétrico bem definido em todas as proporções testadas. Desta forma, o polimento com lixa apresenta-se como um protocolo simples e necessário para melhora na resposta dos sensores a base de papel e tinta condutiva. O eletrodo de proporção 70:30 (% m/m: grafite/esmalte) (2,25 mA/mm<sup>2</sup>) exibiu valores de densidade de corrente

menores do que o eletrodo de proporção 60:40 (% m/m: grafite/esmalte) (3,81 mA/mm<sup>-2</sup>). Isso ocorreu porque nessas proporções já era possível observar pequenas fraturas na superfície do sensor, o que dificultou o contato elétrico e diminuiu a densidade de corrente. Levando em consideração as informações de densidade de corrente e perfil voltamétrico supracitadas, concluiu-se que o eletrodo de proporção 60:40 (% m/m: grafite/esmalte) polido era o mais adequado para as análises subsequentes da amoxicilina.

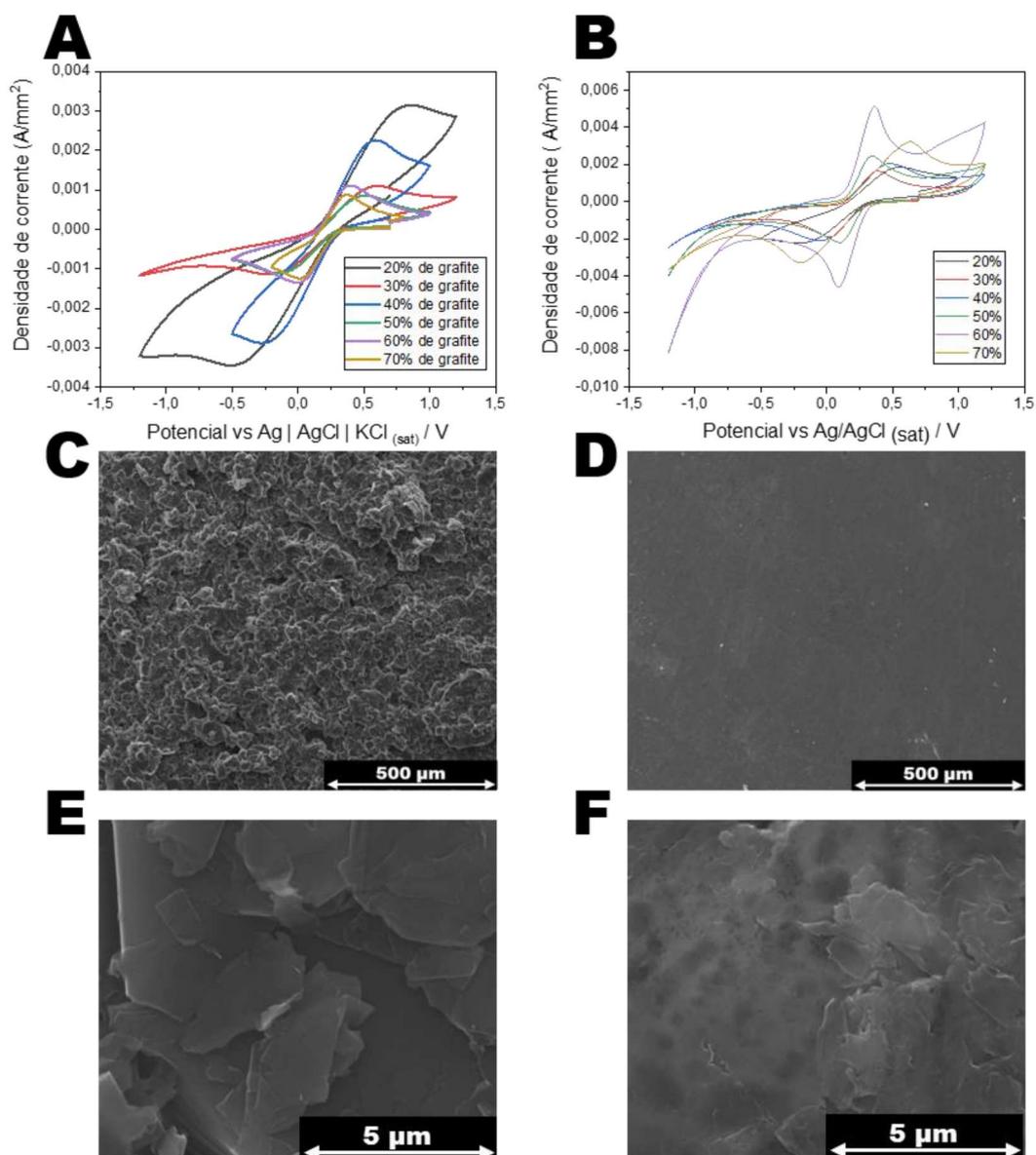
Aplicou-se a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para avaliar a superfície do papel de filtro, bem como antes e após o polimento. Previamente ao polimento, foi possível observar as folhas de grafite empilhadas não homoganeamente sobre a superfície do papel, indicado nas Figuras 7C e 7E. Após o polimento (Figuras 7D e 7F), observou-se uma superfície mais homogênea, com sulcos provenientes do desgaste causado pelo tratamento mecânico. Esse tratamento teve como principal função a retirada da camada mais superficial do esmalte, de modo a expor os sítios ativos do material condutor.

A área eletroativa do sensor também foi avaliada através da equação de Cottrel (Equação 1) (COELHO; LUIZ; MACHADO, 2021) utilizando a cronoamperometria na presença da sonda redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  (1 mmol L<sup>-1</sup> em 100 mmol L<sup>-1</sup> de KCl). Desse modo, aplica-se o potencial de redução da sonda somado a 100 mV, previamente definido por voltametria cíclica, por 10 s. Nesse contexto, estimou-se a área do eletrodo não polido em (15,98 ± 0,67) mm<sup>2</sup> e a do eletrodo polido em (9,96 ± 0,68) mm<sup>2</sup>.

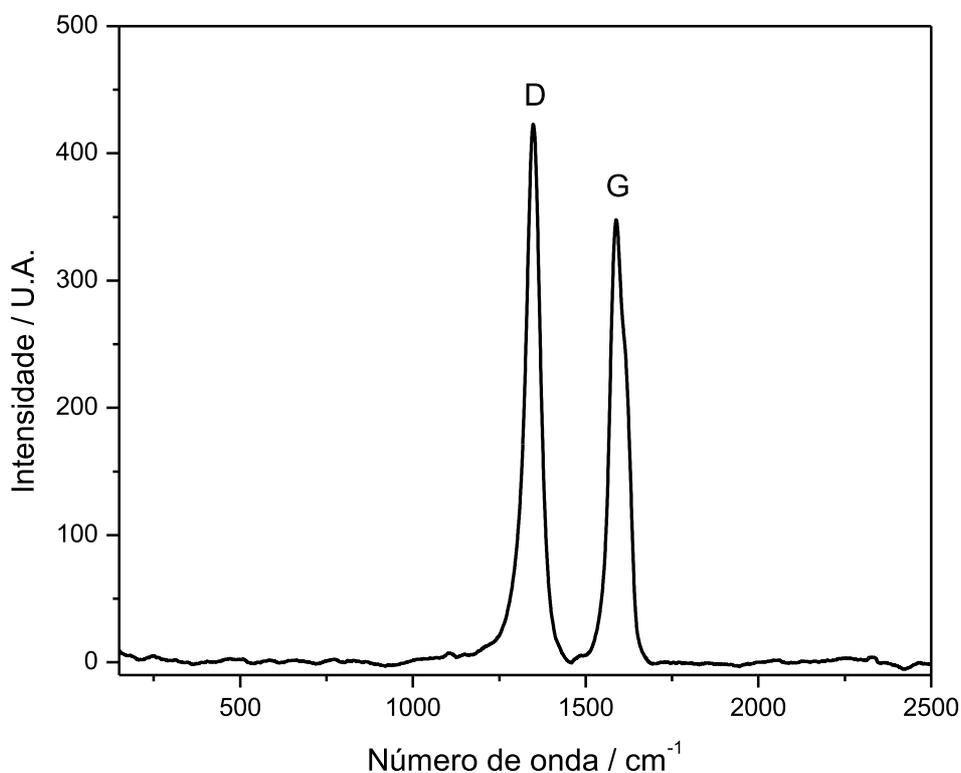
$$\text{Equação 1} \quad I_t = \frac{nFAC^0 D^{1/2}}{\pi^{1/2} t^{1/2}}$$

Onde:  $I_t$  = corrente a um tempo  $t$ ,  $n$  = número de elétrons,  $F$  = constante de Faraday,  $A$  é a área do eletrodo,  $C^0$  é a concentração das espécies oxidadas e  $D$  é o coeficiente de difusão das espécies oxidadas.

**Figura 7:** Voltamogramas cíclicos dos ePADs (A) antes do polimento e (B) após o polimento com diferentes composições de tinta na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  em meio de  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Imagens de MEV do eletrodo antes (C) e após o (D) em 250x de magnificação. Imagens de MEV do eletrodo antes (E) e após o (F) em 20.000x de magnificação.



Fonte: Elaborado pelo autor

**Figura 8:** Espectro Raman do ePAD ( $\lambda = 633 \text{ nm}$ )

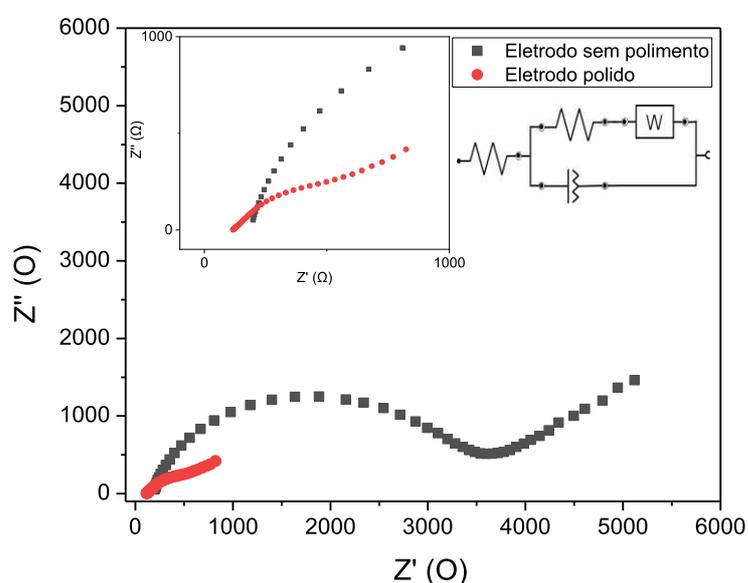
Fonte: Elaborado pelo autor

O espectro RAMAN do ePAD exibiu duas bandas características do grafite: a banda D em  $1350 \text{ cm}^{-1}$  e a banda G em  $1582 \text{ cm}^{-1}$ . A banda G é característica do espalhamento de um fônon de primeira ordem, indicando grafite cristalina em configuração do tipo  $sp^2$ . Por outro lado, a banda D é característica de defeitos estruturais. De modo qualitativo, obteve-se uma razão entre os sinais  $I_D/I_G$  de 1,20. Assim, indica-se que há maior intensidade na banda D, o que sugere que há densidade de defeitos estruturais no material. (ROSCHER; HOFFMANN; AMBACHER, 2019).

As medidas de espectroscopia de impedância (EIE) foram realizadas para avaliar a resistência à transferência de carga na superfície do ePAD antes e após o polimento. Desse modo, tornou-se viável avaliar se o polimento da superfície ofereceu alguma vantagem em termos de sinal analítico. Na Figura 9 estão dispostos os diagramas de Nyquist, na qual há a simulação do semicírculo do diagrama de Nyquist. O valor da

resistência a transferência de carga para o eletrodo não polido foi de 2980,30  $\Omega$ , enquanto para o eletrodo polido foi de 110,33  $\Omega$ . Desse modo, é factível sugerir que a esfoliação mecânica, além de homogeneizar a superfície do eletrodo, contribui para a queda na resistividade do sensor.

**Figura 9:** Diagramas de Nyquist para o eletrodo a base de papel antes e após o polimento. Condição: ferricianeto de potássio ( $1 \text{ mmol L}^{-1}$  em meio a  $100 \text{ mmol L}^{-1}$  de KCl), potencial aplicado de 0,31 V (vs Ag/AgCl<sub>(s.)</sub>, KCl<sub>(sat.)</sub>), 10 mV de amplitude região de frequência de 10.000 Hz a 0,1 Hz.



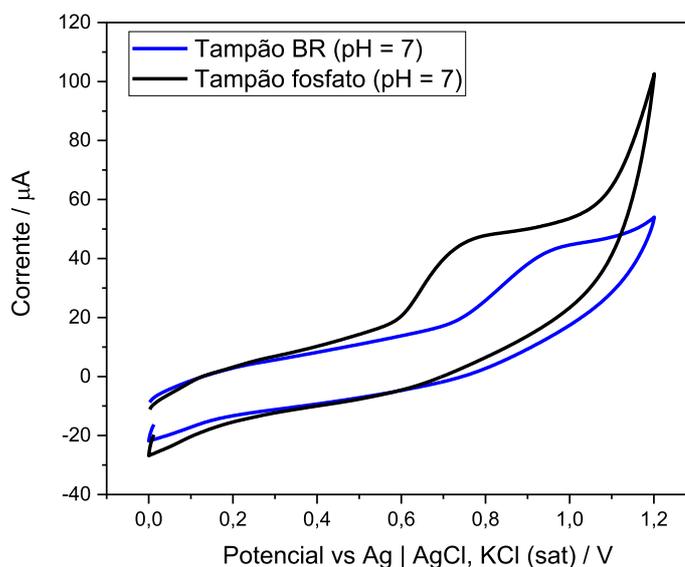
Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.2 Comportamento eletroquímico da amoxicilina sobre a superfície do ePAD

Investigou-se a influência da força iônica do meio em relação a oxidação da AMX, com dois eletrólitos suporte distintos (tampão BR e tampão fosfato –  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH = 7) (Figura 10) e uma concentração em célula da AMX de  $555 \mu\text{mol L}^{-1}$  por voltametria cíclica. Em tampão BR, observou-se uma onda voltamétrica irreversível em aproximadamente +0,95 V. Em meio de tampão fosfato, o pico de oxidação característico da AMX foi observado em aproximadamente +0,69 V. O tampão fosfato foi selecionado para os estudos subsequentes, levando em consideração que esse foi o eletrólito suporte no qual observou-se maior sensibilidade e menor potencial de oxidação da AMX. Esse

eletrólito já foi aplicado por outros grupos na proposição de sensores eletroquímicos para quantificação da amoxicilina (HRIQUA et al., 2021).

**Figura 10:** Voltamogramas cíclicos da AMX  $555 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão BR e tampão fosfato para estudo da força iônica do meio.



Fonte: Elaborado pelo autor

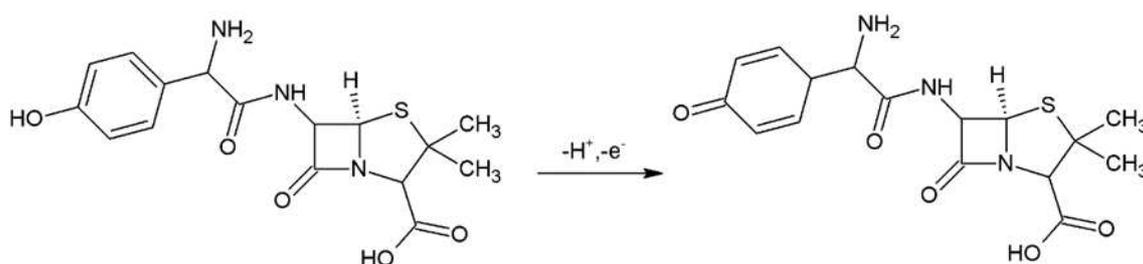
A AMX possui três valores de  $pK_a$ : 2,8, correspondendo ao grupo  $-\text{COOH}$ ; 7,3, correspondendo ao substituinte  $-\text{NH}_2$ ; e 9,6, correspondendo ao grupo  $\text{OH}$  da porção fenólica (HANCU et al., 2016). Assim, a estrutura molecular é afetada por alterações no valor de  $\text{pH}$  do eletrólito de suporte. Além disso, em valores de  $\text{pH}$  acima de 10,0, AMX é rapidamente degradada, enquanto em valores de  $\text{pH}$  abaixo de 2,0, ela é transformada em ácido amoxicilínico (ARANDA; RIVAS, 2022). A fim de avaliar o efeito do  $\text{pH}$  sobre o processo de oxidação eletroquímica da AMX sobre a superfície do ePAD, medidas de voltametria cíclica foram realizadas utilizando solução padrão de AMX, com concentração na célula de  $555 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ).

Nesse estudo verificou-se um deslocamento do potencial de oxidação para regiões mais catódicas quando o meio se tornava mais alcalino. Adicionalmente, a corrente proveniente da oxidação da amoxicilina aumentou em meios mais alcalinos. Observou-se uma relação de linearidade entre os valores de  $\text{pH}$  e potencial de pico da oxidação da AMX ( $R^2 = 0,995$ ), com coeficiente angular de  $56,2 \text{ mV pH}^{-1}$ . Esse valor é próximo a

resposta Nerstiniana ( $59 \text{ mV pH}^{-1}$ ), portanto, um número igual de prótons e elétrons está envolvido na oxidação da amoxicilina sobre a superfície do ePAD. Esse comportamento é típico da oxidação da porção fenólica da molécula (WONG et al., 2020).

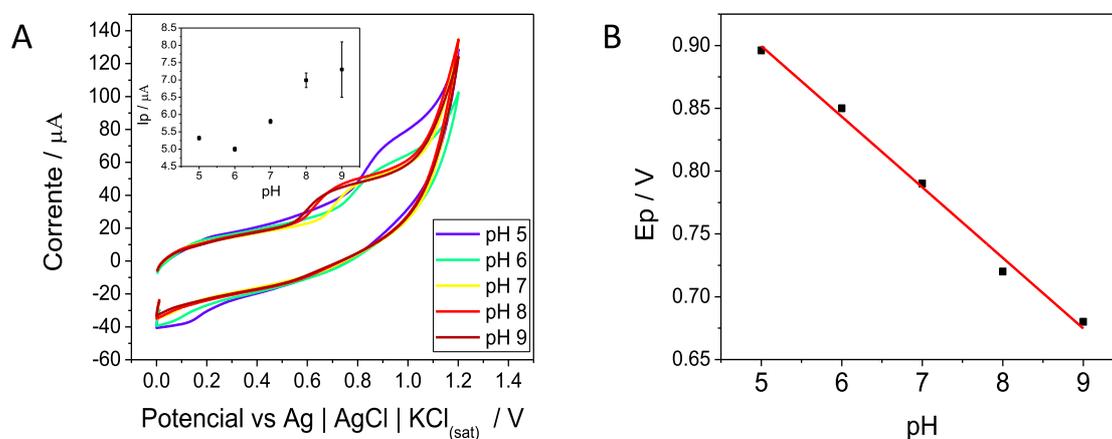
Portanto, o mecanismo proposto para a eletro-oxidação da AMX na superfície do ePAD é mostrado na Figura 11. Destaca-se que esse resultado foi coerente com outros trabalhos descritos na literatura que aplicam sensores a base de carbono para análise da AMX (HRIOUA et al., 2021). Embora a corrente de pico mais alta foi observada em  $\text{pH} = 9$ , o sinal não foi reproduzível nesse  $\text{pH}$ . Sendo assim, o  $\text{pH} = 7$  foi selecionado como o mais adequado para análise.

**Figura 11:** Mecanismo de oxidação da amoxicilina



Fonte: Elaborado pelo autor

**Figura 12:** (A) Voltamogramas cíclicos da AMX  $555 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) em valores de  $\text{pH}$  variando de 5,0 a 9,0 e a relação da corrente de pico com o  $\text{pH}$  para o ePAD. Gráfico inserido  $I_p \times \text{pH}$  exibindo dependência da corrente de pico com o  $\text{pH}$  do meio. (B) Efeito do  $\text{pH}$  do eletrólito no potencial de oxidação da AMX.



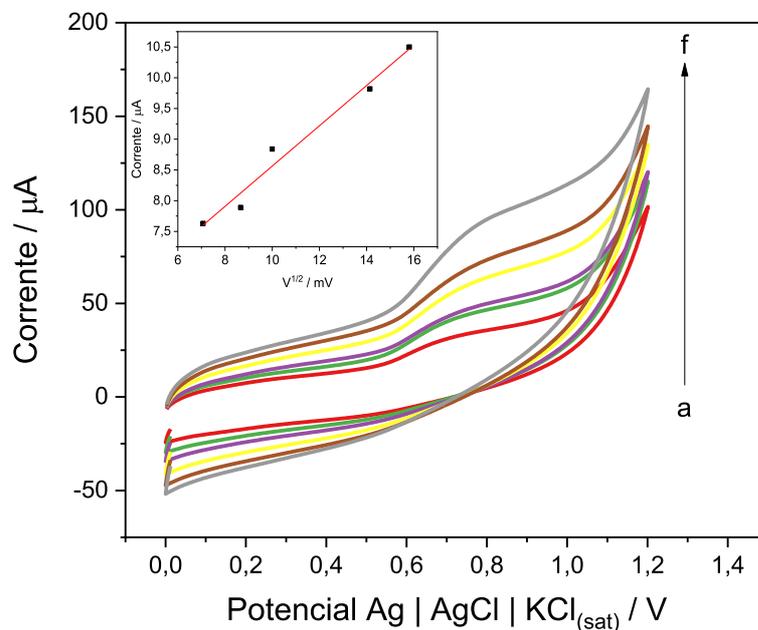
Fonte: Elaborado pelo autor

O transporte de massa da AMX ( $555 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) sobre a superfície do ePAD foi avaliado através da voltametria cíclica variando-se a velocidade de varredura no intervalo de 50 (a) até 250 (f)  $\text{mV s}^{-1}$ , como pode ser visto na Figura 13. Observou-se uma relação linear entre a raiz quadrada da velocidade de varredura e a corrente de pico ( $R^2 = 0.977$ ). Levando em consideração a equação de Randles-Sevick para sistemas irreversíveis (Equação 2) (SARAKATSANOU; KARASTOGIANNI; GIROUSI, 2023), essa relação linear é um indicativo que o transporte de massa sobre a superfície do eletrodo é mediado majoritariamente por um processo difusional.

$$\text{Equação 2} \quad I_p = \pm 0.496 \sqrt{\alpha n'} n F A C \sqrt{\frac{n F D v}{R T}}$$

Onde:  $n$  = número de elétrons na reação eletroquímica,  $I_p$  = corrente de pico do processo eletroquímico,  $F$  = constante de Faraday ( $\text{C mol}^{-1}$ ),  $v$  = velocidade de varredura ( $\text{V s}^{-1}$ ),  $R$  = constante universal dos gases,  $T$  = temperatura (K),  $A$  = área eletroativa do eletrodo ( $\text{cm}^2$ ),  $D$  = coeficiente de difusão ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ),  $\alpha$  = coeficiente de transferência (geralmente assumido como próximo de 0,5),  $n'$  = número de elétrons transferidos antes da etapa determinante da taxa,  $C$  = concentração das espécies oxidadas ( $\text{mol L}^{-1}$ )

**Figura 13:** Estudo de transporte de massa para amoxicilina no ePAD, variando a velocidade de varredura de (a) 50 a (h) 250  $\text{mV s}^{-1}$ . Gráfico inserido exibe a relação de linearidade entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura.



Fonte: Elaborado pelo autor

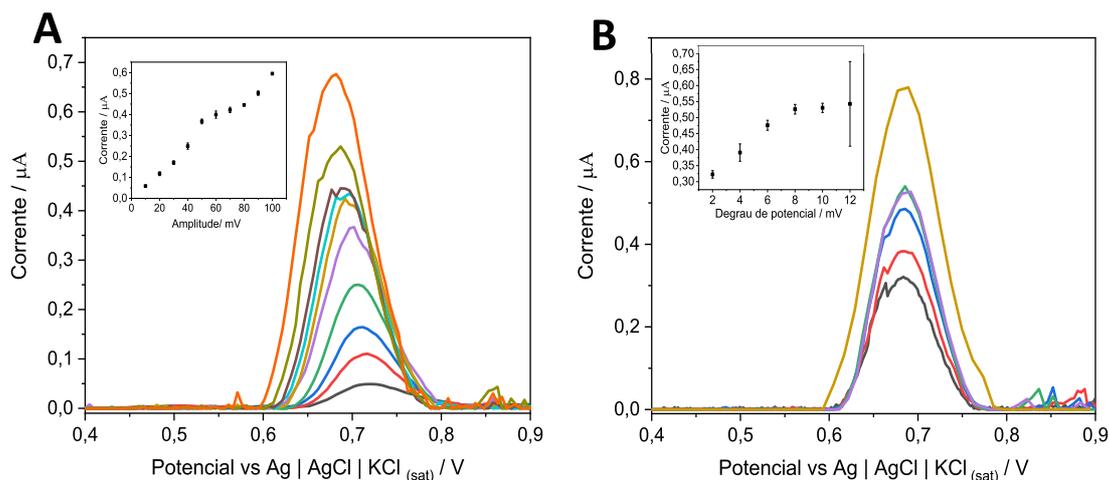
#### 4.3 Otimização dos parâmetros instrumentais da voltametria de pulso diferencial

Um método baseado na voltametria de pulso diferencial (VPD) foi desenvolvido, no qual os parâmetros experimentais da técnica foram otimizados com uma solução de AMX ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). O perfil voltamétrico, a resolução do sinal e a resposta analítica foram considerados na escolha dos parâmetros da técnica. Desse modo, variou-se o degrau de potencial (incremento de potencial) de 1 a 12 mV e a amplitude de 10 a 100 mV. O aumento do degrau foi acompanhado de um aumento linear da corrente até 8 mV. Após esse valor, observaram-se valores de corrente estáveis, como mostra a Figura 14A. Logo, 8 mV foi o valor escolhido para o degrau de potencial.

No que tange os valores de amplitude, observou-se um aumento de corrente até 40 mV. Após esse valor, o aumento foi menos significativo no intervalo de 40 até 80 mV e para valores acima de 80 mV voltou a ter um aumento de corrente mais significativo. Embora o maior valor de corrente tenha sido observado em 100 mV, nesta amplitude de

pulso ocorreu também perda no perfil voltamétrico e precisão. Portanto, 80 mV foi o valor definido como adequado para o parâmetro instrumental.

**Figura 14:** Estudo de otimização do incremento de potencial (A) e da amplitude (B) da voltametria de pulso diferencial em meio de  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de AMX em tampão fosfato ( $\text{pH} = 7$ ;  $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ) e tempo de modulação de 50 ms.



Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.4 Construção da curva analítica e repetibilidade do método.

Utilizando as condições instrumentais otimizadas, foi possível construir uma curva analítica para amoxicilina usando tampão fosfato ( $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} 7,0$ ), variando a concentração das soluções padrão de  $29,8$  a  $126,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ , como pode ser observado na Figura 15. Assim, observou-se uma faixa linear nas concentrações escolhidas, que apresentou satisfatório ajuste linear ( $R^2 = 0,996$ ) e regressão linear modelada pela Equação 3.

Adicionalmente, conduziu-se um estudo de repetibilidade ( $n = 7$ ) sob as condições otimizadas em dois níveis de concentração ( $50$  e  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) para estimar a precisão do método desenvolvido. Assim, observou-se um desvio padrão relativo de  $1,2\%$  e  $2,8 \%$  para os dois níveis (Figura 16), respectivamente. Este resultado sugere que o sensor proposto mostrou excelente precisão utilizando o método otimizado.

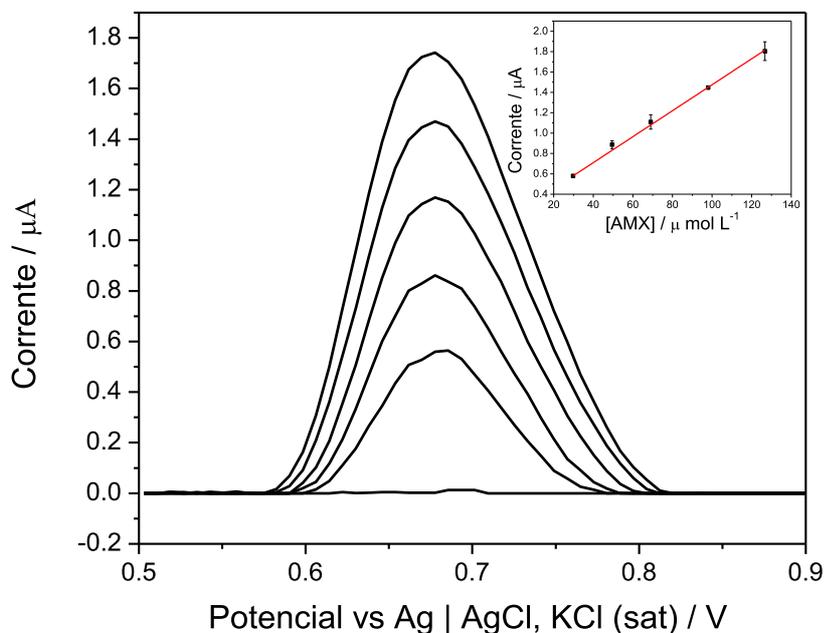
$$\text{Equação 3 } I_p = (0,0124 \pm 0,0004) (\mu\text{A L mol}^{-1}) C_{AMX} + (0,2409 \pm 0,0293)(\mu\text{A})$$

Onde:  $I_p$  = corrente de pico ( $\mu\text{A}$ ),  $C_{AMX}$  = concentração de amoxicilina ( $\text{mol L}^{-1}$ )

A equação de regressão linear foi aplicada para calcular os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de acordo com as recomendações da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC). As expressões para o cálculo do LQ e do LD são dadas pelas Equações 4 e 5, respectivamente, onde  $sB$  é o desvio padrão das medições em branco ( $n = 10$ ) e  $A$  é o coeficiente angular da curva analítica. Os valores de LD e LQ obtidos foram de 8 e  $23,6 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente.

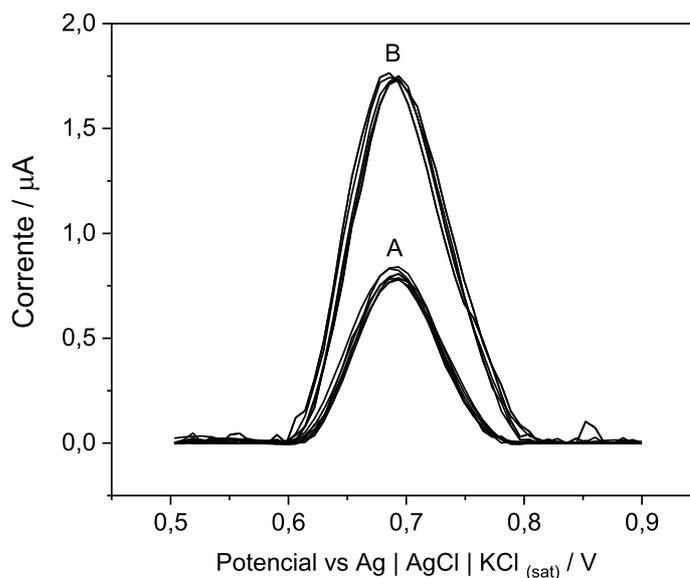
$$\text{Equação 4 } LD = \frac{3,3sB}{A} \quad \text{Equação 5 } LQ = \frac{10 sB}{A}$$

**Figura 15:** Voltamogramas de pulso diferencial par a curva analítica da AMX usando ePAD com concentrações variando de  $29,8$  a  $126,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ . O gráfico inserido mostra a correlação entre a corrente de pico e a concentração de AMX. Condições: Tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 7$ ) como eletrólito suporte, eletrodo de referência –  $\text{Ag/AgCl}_{(s)}$ ,  $\text{KCl}_{(\text{sat.})}$ , degrau de potencial  $8 \text{ mV}$  e amplitude  $80 \text{ mV}$ .



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

**Figura 16:** Voltamogramas de pulso diferencial para estudo de repetibilidade ( $n = 7$ ) do ePAD para 50 (A) e 100 (B)  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de AMX. Condições: Tampão fosfato ( $0.1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 7$ ) como eletrólito suporte, eletrodo de referência –  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{s})}$ ,  $\text{KCl}_{(\text{sat})}$ , degrau de potencial 8 mV e amplitude 80 mV.



Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.5 Aplicação em amostras reais e interferentes

Tendo em vista o uso recorrente da amoxicilina na saúde humana e veterinária, amostras de leite integral, formulação farmacêutica e urina sintética foram analisadas para avaliar a performance do sensor. No entanto, para a formulação farmacêutica foi possível ser quantificada a amoxicilina, na qual obteve-se um resultado de  $(538 \pm 37) \text{ mg}$  de AMX por comprimido. Realizou-se um teste- $t$  para comparar o resultado obtido por VPD com o valor informado pelo fabricante, com nível de confiança de 95%. Os resultados estão em concordância, visto que o  $t_{\text{calculado}}$  é menor que o  $t_{\text{tabelado}}$  (1,1780 e 4,303, respectivamente).

As três amostras foram dopadas em dois níveis de fortificação (50 e  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) para avaliar a exatidão do método. Os valores de recuperação variaram na faixa de 90 até 103% (Tabela 1). Os resultados do ensaio de adição e recuperação, portanto, demonstram que o sensor possui exatidão adequada para análise das amostras dentro da faixa de trabalho na qual exibiu resposta linear.

**Tabela 1:** Valores de recuperação para determinação de AMX em formulação farmacêutica, urina sintética e leite via utilizando o ePAD (n = 3).

<b>Amostras</b>	<b>Adicionado (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>Encontrado (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>Formulação farmacêutica</b>	0	$99 \pm 9$	-
	50	$146 \pm 12$	$92 \pm 8$
	100	$200 \pm 2$	$100 \pm 2$
<b>Urina</b>	0	< LD	-
	50	$47 \pm 3$	$93 \pm 5$
	100	$103 \pm 9$	$103 \pm 9$
<b>Leite</b>	0	< LD	-
	50	$45 \pm 1$	$90 \pm 1$
	100	$92 \pm 6$	$93 \pm 6$

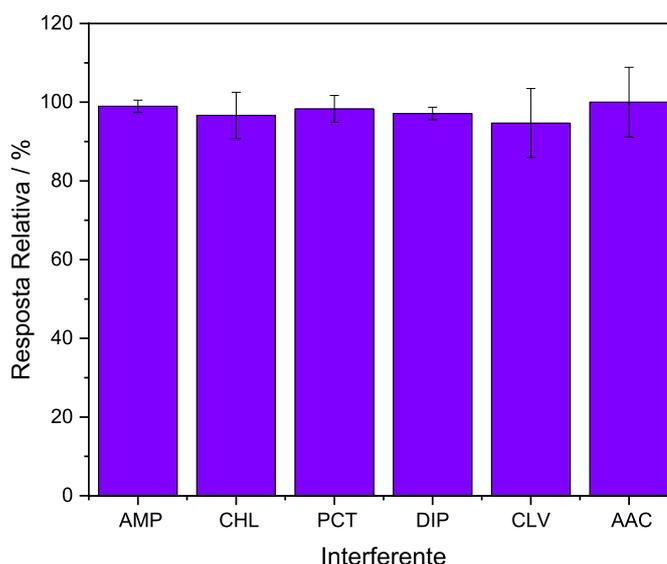
Fonte: Elaborado pelo autor

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a Comissão Europeia, a Fundação Japonesa de Pesquisa em Química dos Alimentos e a Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA) estabelecem um limite de resíduos máximo de amoxicilina em leite de  $0,009 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Já o Ministério de Agricultura da República Popular da China estabelece um valor máximo de  $0,024 \mu\text{mol L}^{-1}$  (DE FARIA et al., 2021a).

Um estudo com possíveis interferentes foi conduzido para investigar a seletividade do método desenvolvido associado ao ePAD. A amoxicilina pode ser prescrita com outros fármacos, como anti-inflamatórios e analgésicos como o paracetamol (PCT) ou a dipirona (DIP). Adicionalmente, o leite pode conter múltiplos contaminantes emergentes, como o cloranfenicol (CHL) e ampicilina (AMP). A amoxicilina é comumente associada ao clavulanato (CLV). Destaca-se ainda que um componente da metabolização da amoxicilina é o ácido amoxicilílico (AAC). O estudo de interferentes foi conduzido com soluções de  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ , na proporção de 1:1. A resposta relativa para a AMX variou de 95 até 100%, como visto na Figura 17. A baixa

variação da resposta relativa corrobora para que o sensor seja considerado seletivo para a AMX frente aos analitos testados.

**Figura 17:** Estudos de interferência conduzidos razão de 1:1 com relação a concentração de AMX e ampicilina (AMP), cloranfenicol (CHL), paracetamol (PCT), dipirona (DIP), clavulanato de potássio (CLV) e ácido amoxicílico (AAC). Condições: Tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 7$ ) como eletrólito suporte, eletrodo de referência –  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{s})}$ ,  $\text{KCl}_{(\text{sat.})}$ , degrau de potencial 8 mV e amplitude 80 mV.



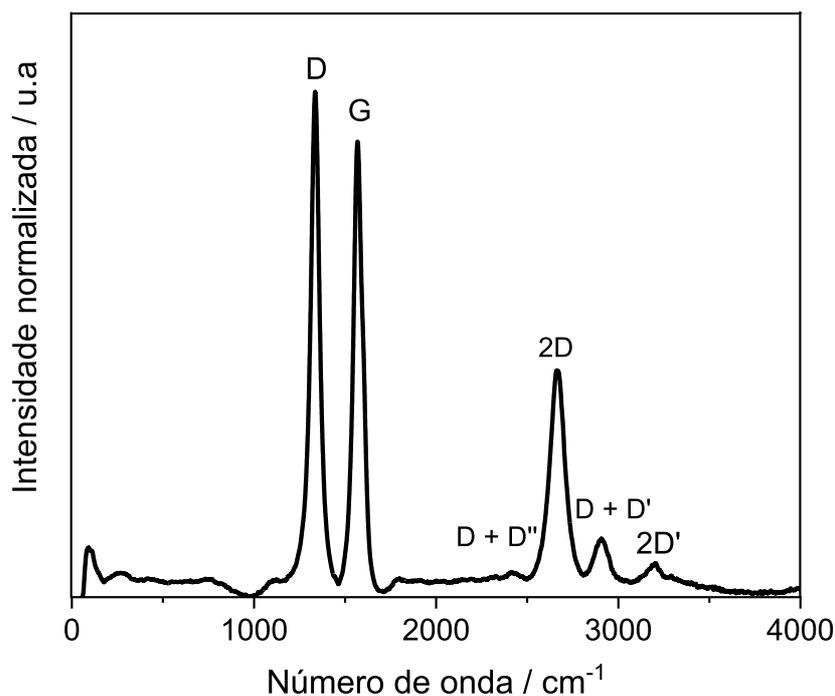
Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.6 Caracterização da superfície do e-LIG

Os espectros Raman (mostrados na Figura 18) obtidos da superfície do e-LIG exibiram diversas bandas características discerníveis. Incluem-se a banda G em  $1565 \text{ cm}^{-1}$ , a banda D ( $1345 \text{ cm}^{-1}$ ), 2D ( $2650 \text{ cm}^{-1}$ ), D + D'' ( $2400 \text{ cm}^{-1}$ ) e D + D' ( $2915 \text{ cm}^{-1}$ ). A banda G representa a disposição planar de átomos de carbono  $\text{sp}^2$  dentro da estrutura do grafeno, enquanto as bandas D são indicativas de defeitos decorrentes de desordem na estrutura de rede (ROSCHER; HOFFMANN; AMBACHER, 2019). Além disso, a presença de heteroátomos, possivelmente provenientes da atmosfera oxidante durante a produção do GIL, foi indicada pelos sobretons característicos observados (D + D'' e D + D') (FERRARI; BASKO, 2013). É interessante salientar que um padrão espectral

semelhante foi observado para LIG formado a partir de outras fontes de laser (HUANG et al., 2020).

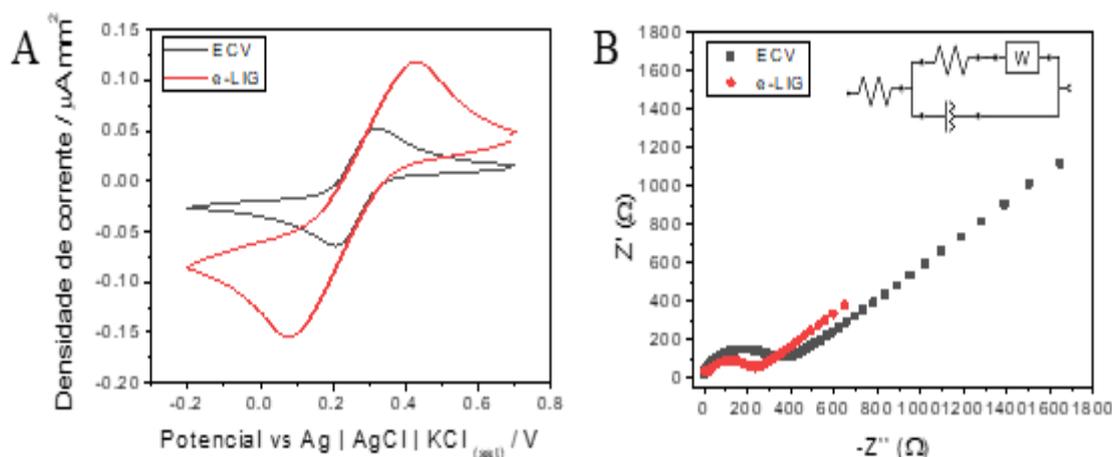
**Figura 18:** Espectro Raman do e-LIG ( $\lambda = 532$  nm)



Fonte: Elaborado pelo autor

O desempenho eletroquímico do e-LIG foi avaliado por meio de medidas de CV e EIS (Figuras 19B e A, respectivamente), comparando-o com um eletrodo comercial de carbono vítreo (ECV). O desempenho do e-LIG usando a sonda redox de ferricianeto/ferrocianeto foi significativamente superior ao observado para o ECV. No e-LIG, houve uma maior razão  $I_o/I_r$  (0,96 vs 1,04), bem como uma menor resistência de transferência de carga ( $R_{ct}$ ). A estimativa de  $R_{ct}$  para o e-LIG foi de 225  $\Omega$ , inferior ao valor obtido para o ECV, que foi de 395  $\Omega$ . Essa diferença sugere que o processo de oxidação na superfície do sensor proposto é mais fácil, provavelmente devido à formação de materiais carbonáceos derivados do grafeno.

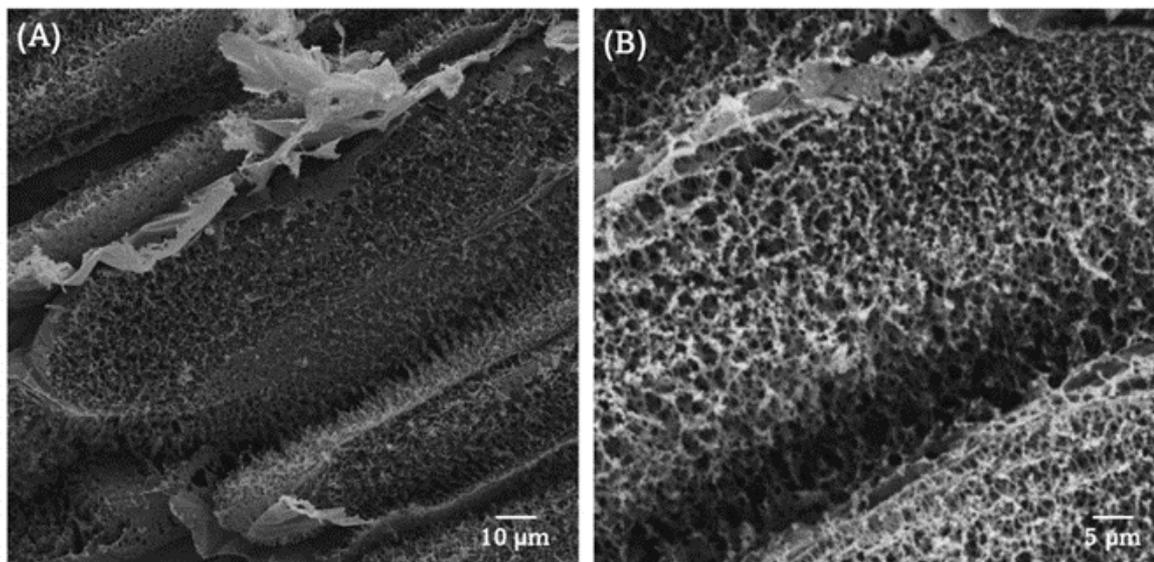
**Figura 19:** (A) Diagramas de Nyquist do ECV (linha preta) e do e-LIG (linha vermelha) na presença de  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  de ferricianeto de potássio em meio de  $\text{KCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$ . Condições de EIE: potencial aplicado de  $0,20 \text{ V}$  (ECV) e  $0,25 \text{ V}$  (e-LIG), amplitude de  $10 \text{ mV}$  e faixa de frequência variando de  $50.000 \text{ Hz}$  a  $0,1 \text{ Hz}$ . (B) Voltamogramas de VC para o experimento de EIE no e-LIG e no ECV com a sonda redox de ferricianeto de potássio ( $5 \text{ mmol L}^{-1}$  em meio de  $\text{KCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$ ).



Fonte: Elaborado pelo autor

A construção dos eletrodos de e-LIG acontece em condições ambientes, com a presença de oxigênio e umidade. Essas condições ambientais promovem a formação de gases durante o processo de geração de grafeno em temperaturas elevadas. Esse processo resulta no desenvolvimento de uma estrutura porosa, como descrito em pesquisas anteriores (SANTOS et al., 2021) e visível nas imagens de SEM apresentadas nas Figuras 20A e 20B. Além disso, é evidente a presença de uma rede tridimensional interconectada, uma configuração morfológica similar a superfícies carbonáceas tipo grafeno obtidas usando diferentes comprimentos de onda de laser (SETTU; LAI; LIAO, 2021; VAUGHAN et al., 2020). A existência dessa estrutura porosa, aliada à presença abundante de morfologias de grafeno com bordas ricas, oferece sítios eletroativos altamente acessíveis, potencializando a resposta eletroquímica do sensor proposto.

**Figura 20:** Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de um eletrodo e-LIG (A) magnificação de 5.000 vezes e (B) magnificação de 10.000 vezes

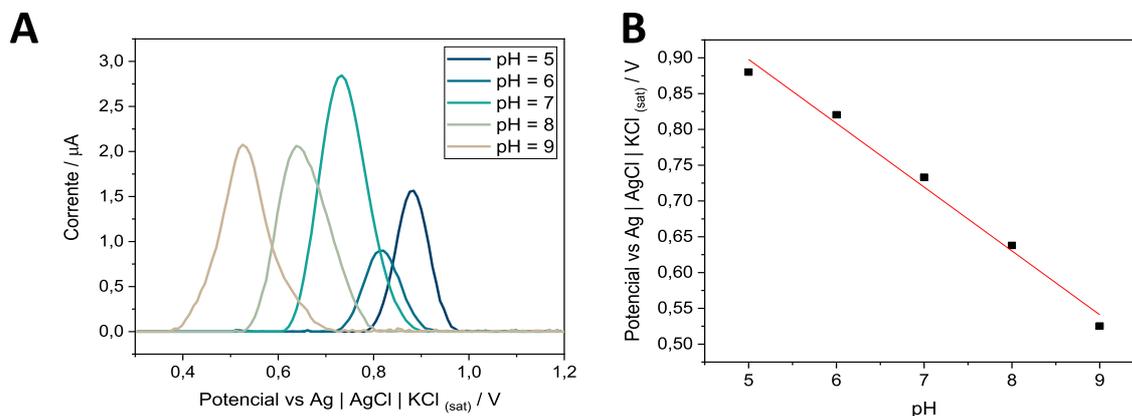


Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.7 Avaliação do comportamento eletroquímico da AMX na superfície de e-LIG

O efeito do pH no processo de oxidação do AMX ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) foi avaliado empregando medidas de VPD em tampão fosfato ( $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ) com faixa de pH de 5,0 a 9,0, conforme mostrado na Figura 21. Os resultados indicaram uma mudança significativa no potencial de oxidação em direção a valores mais catódicos à medida que o pH aumentava. A corrente de pico atingiu seu valor mais alto em pH 7,0. Apesar disso, o pH 9,0 foi escolhido como valor ótimo para análise devido ao seu potencial de oxidação mais próximo de zero, embora o valor de corrente de pico seja 30% menor quando comparado ao pH = 7. Essa escolha é baseada no objetivo de mitigar a oxidação paralela de agentes interferentes. A regressão linear entre os valores de pH e o potencial de oxidação mostrou uma inclinação de  $89,2 \text{ mV pH}^{-1}$  (Figura 21B), relativamente próxima de uma resposta Nerstiniana. Portanto, sugere-se que há o mesmo número de prótons e elétrons envolvidos no processo de oxidação da AMX sobre a superfície do e-LIG.

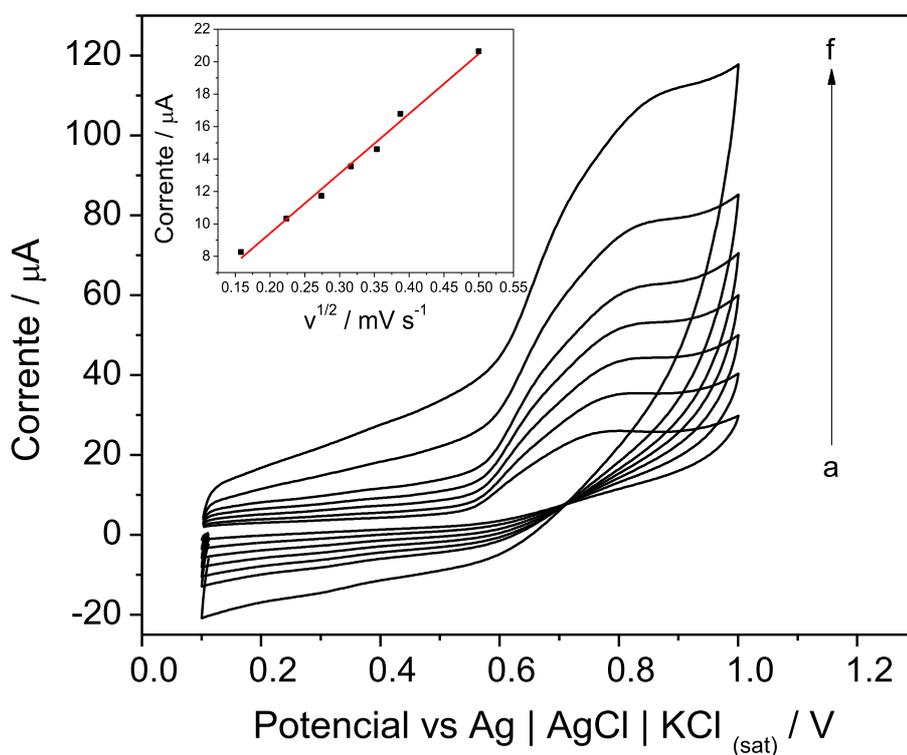
**Figura 21:** (A) Voltamogramas de DPV para o estudo de pH do comportamento eletroquímico de AMX ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) na superfície de e-LIG na faixa de 5,0 a 9,0 utilizando tampão fosfato ( $100 \text{mmol L}^{-1}$ ). Condições instrumentais: amplitude = 80 mV e degrau de potencial = 8 mV. (B) Correlação linear entre o potencial de pico e os valores de pH para AMX ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) com coeficiente angular de  $89,2 \text{mV pH}^{-1}$ .



Fonte: Elaborado pelo autor

O transporte de massa da AMX ( $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) foi avaliado por meio de medidas de VC, variando-se a velocidade de varredura de 25 a 250  $\text{mV s}^{-1}$ . A regressão linear entre a raiz quadrada da velocidade de varredura e a corrente de pico apresentou uma relação linear ( $R^2 = 0,992$ ). Ao considerar a equação de Randles-Sevick, tornou-se possível sugerir que o regime de transporte de massa da AMX na superfície de e-LIG é controlado por processos de difusão.

**Figura 22:** Voltamogramas de VC para a avaliação do regime de transporte de massa da AMX ( $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) com velocidade de varredura variando de (a) 25 a (f)  $250 \text{ mV s}^{-1}$  em tampão fosfato ( $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 9,0$ ). O gráfico inserido mostra a correlação linear ( $R^2 = 0,992$ ) entre a corrente e a raiz quadrada da velocidade de varredura.



Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.8 Otimização dos parâmetros instrumentais da voltametria de pulso diferencial

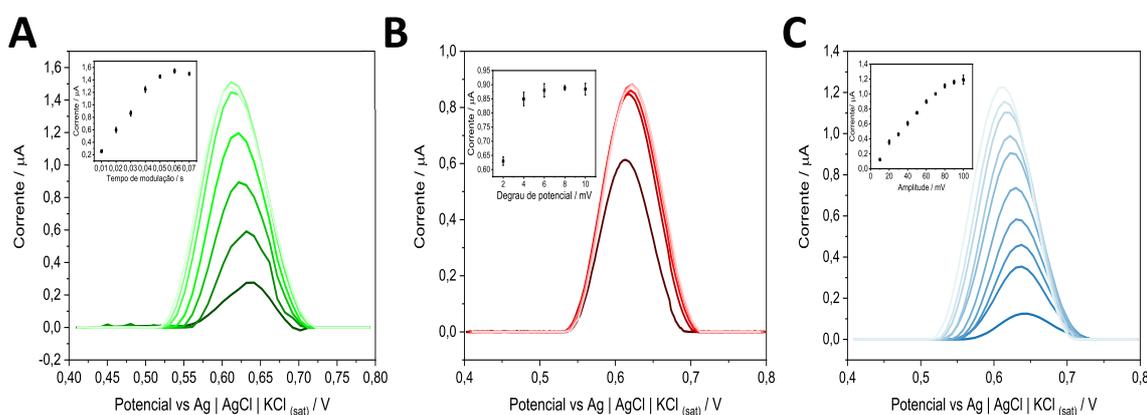
Os parâmetros instrumentais do método voltamétrico foram estudados com o objetivo de alcançar as condições mais apropriadas para a análise. Neste caso, considerou-se a precisão, a resolução do sinal e o perfil voltamétrico como propriedades para escolha dos valores instrumentais. Nesse contexto, esses parâmetros foram avaliados nos seguintes intervalos: amplitude (10 – 100 mV), degrau de potencial (*step*) (2 – 10 mV) e tempo de modulação (10 – 70 ms).

A amplitude do pulso está relacionada à resolução do sinal (WANG, 2006b). Para

valores até 70 mV, não foi observado um aumento significativo na corrente de pico, enquanto houve alargamento do pico (Figura 23A). Nesse caso, foi selecionado 80 mV como o valor de amplitude mais adequado para análise. Por outro lado, o potencial de passo e o tempo de modulação estão relacionados à frequência analítica (WANG, 2006b). Para valores de potencial de passo até 4 mV, houve um platô na corrente de pico, como mostrado na Figura 23B.

Portanto, 10 mV foi selecionado para melhorar a frequência analítica sem perda no sinal. Além disso, o tempo de modulação apresentou uma tendência crescente na corrente de pico até 50 ms, além do qual não foi observado ganho notável na corrente (Figura 23C). Assim, 50 ms foi escolhido como o tempo de modulação para o método.

**Figura 23:** Medidas de DPV para a otimização do tempo de modulação variando de 10 a 70 ms. O gráfico inserido mostra os valores de corrente de pico para cada valor de tempo de modulação. (B) Voltamogramas de DPV para a otimização do potencial de etapa variando de 2 a 10 mV. O gráfico inserido mostra os valores de corrente de pico para cada valor de potencial de etapa. (C) Voltamogramas de DPV para a otimização da amplitude variando de 10 a 100 mV. O gráfico inserido mostra os valores de corrente de pico para cada valor de potencial de etapa. AMX  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ , tampão fosfato (pH = 9,0,  $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ), eletrodo de referência Ag|AgCl|KCl<sub>(sat.)</sub>.



Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.9 Construção da curva analítica com o e-LIG e repetibilidade do método

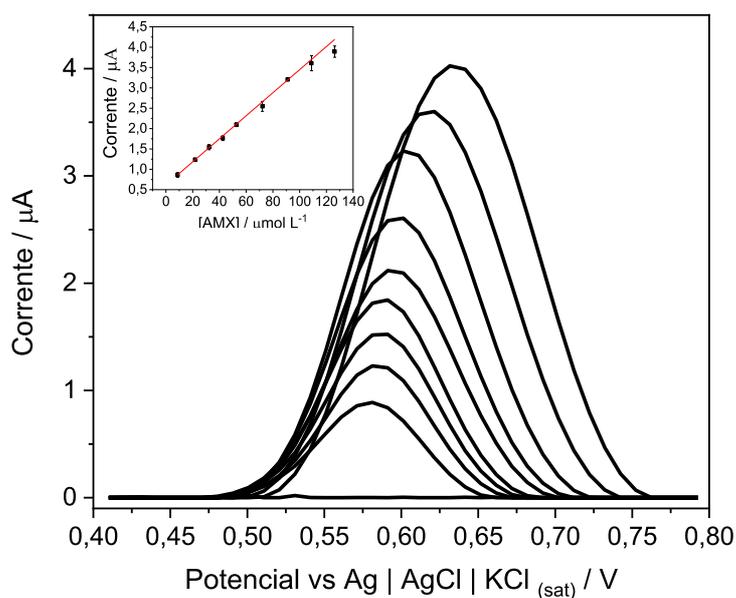
Foi construída uma curva analítica com concentrações de AMX variando de 14,9 a  $126,2 \mu\text{mol L}^{-1}$  para avaliar a resposta analítica do sensor, conforme mostrado na Figura

24. Foi obtida uma resposta linear adequada ( $R^2 = 0,997$ ) com um ajuste expresso pela seguinte equação:

$$\text{Equação 5 } I_p = (0,0283 \pm 0,0005) (\mu\text{A L mol}^{-1}) C_{AMX} (0,6173 \pm 0,0422)(\mu\text{A}).$$

Onde:  $I_p$  = corrente de pico ( $\mu\text{A}$ );  $C_{AMX}$  = concentração de amoxicilina ( $\text{mol L}^{-1}$ )

**Figura 24:** Voltamogramas de DPV obtidos para a curva de calibração analítica de AMX com concentrações variando de 14,9 a 126,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em PBS (pH = 9,0; 100  $\text{mmol L}^{-1}$ ). O gráfico inserido mostra a relação linear ( $R^2 = 0,997$ ) entre a concentração de AMX e a corrente de pico. Condições: Tampão fosfato (0,1  $\text{mol L}^{-1}$ , pH = 9) como eletrólito suporte, eletrodo de referência – Ag|AgCl|KCl<sub>(sat.)</sub>, degrau de potencial 10 mV, amplitude 80 mV e tempo de modulação de 50 ms.



Fonte: Elaborado pelo autor

Além disso, foram conduzidos estudos de repetibilidade do sinal ( $n = 5$ ) em dois níveis de fortificação: 15  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 30  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . O desvio padrão relativo (RSD) para ambos os níveis foi de 5% e 7%, respectivamente. Esses resultados indicam que a precisão

das medidas do sensor é satisfatória para fins de quantificação em ambos os níveis. A equação de regressão linear foi aplicada para estimar os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de acordo com a recomendação da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (MOCÁK et al., 1997), de acordo com as Equações 4 e 5. Os valores de LD e LQ foram de  $4,9 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $14,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente.

#### 4.10 Aplicação em amostras reais e estudo de interferentes

A AMX, juntamente com outros medicamentos penicilânicos, tem sido amplamente utilizado tanto na pecuária leiteira quanto na saúde humana para o tratamento de infecções bacterianas. Diante desse uso extensivo, torna-se crucial avaliar minuciosamente a viabilidade analítica do sensor. Para este fim, algumas amostras, incluindo leite integral, urina sintética e comprimidos farmacêuticos, foram submetidas à análise utilizando e-LIG como eletrodo de trabalho (Tabela 2). Além disso, as amostras foram enriquecidas em dois níveis de fortificação distintos ( $15 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), com o objetivo de avaliar a exatidão do método. Os resultados obtidos ( $n = 3$ ) para a determinação de AMX em formulações farmacêuticas foram  $(395,15 \pm 0,33)$  mg, o que está de acordo com as informações fornecidas pelos fabricantes. Os valores de recuperação observados variaram de 86 a 104% nessas amostras, confirmando a exatidão do sensor nas concentrações especificadas.

**Tabela 2:** Valores de recuperação para a determinação de AMX em amostras de leite, comprimidos farmacêuticos e urina sintética usando e-LIG por DPV ( $n = 3$ ).

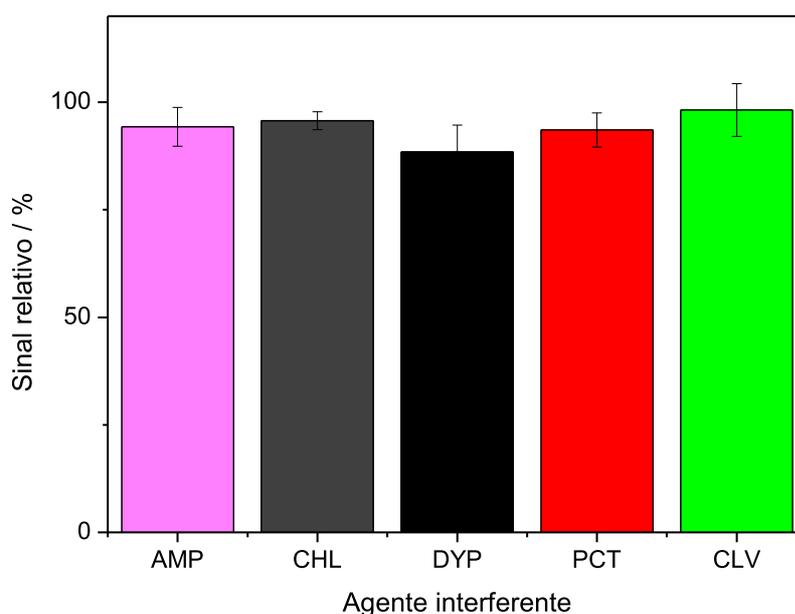
<b>Amostras</b>	<b>Adicionado (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>Encontrado (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>Formulação farmacêutica</b>	0	$12 \pm 1$	-
	15	$27 \pm 1$	$103 \pm 6$
	30	$43 \pm 3$	$103 \pm 8$
<b>Urina</b>	0	< LD	-
	15	$16 \pm 3$	$104 \pm 10$
	30	$30 \pm 2$	$100 \pm 4$
<b>Leite</b>	0	< LD	-
	15	$13 \pm 2$	$86 \pm 5$
	30	$29 \pm 3$	$96 \pm 9$

Fonte: Elaborado pelo autor

Além disso, um experimento de interferência foi conduzido para avaliar a influência da oxidação de outros medicamentos na sobre o sinal da AMX. Medicamentos como analgésicos e antibióticos de outras classes frequentemente são prescritos juntamente com AMX para uma ampla variedade de condições médicas. Nesse sentido, medidas de VPD foram obtidas na presença de CHL, DYP, CHL, AMP, PCT e CLV. Foi utilizado uma razão entre o agente interferente e AMX de 1:1, com concentração de  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Uma resposta relativa na faixa de 88% a 98% foi alcançada, como mostrado na Figura 25. Observou-se uma pequena interferência no sinal de AMX quando analisada na presença de DYP, devido à sua oxidação em um potencial próximo. No entanto, é essencial enfatizar que DYP não é tipicamente encontrado em formulações farmacêuticas usadas em conjunto com AMX, nem é utilizado em aplicações de saúde em gado leiteiro (DAVIS et al., 2009). Diante desse contexto, a interferência observada não compromete a confiabilidade analítica do sensor para as amostras pretendidas.

**Figura 25:** Estudo de interferência na proporção de 1:1 de AMX e ampicilina (AMP), cloranfenicol (CHL), paracetamol (PCT), dipirona (DYP), clavulanato de potássio (CLV) com soluções padrão ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Condições: Tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 9$ ) como eletrólito suporte, eletrodo de referência –  $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat.})}$ , degrau de potencial 10 mV, amplitude 80 mV e tempo de modulação de 50 ms.



Fonte: Elaborado pelo autor

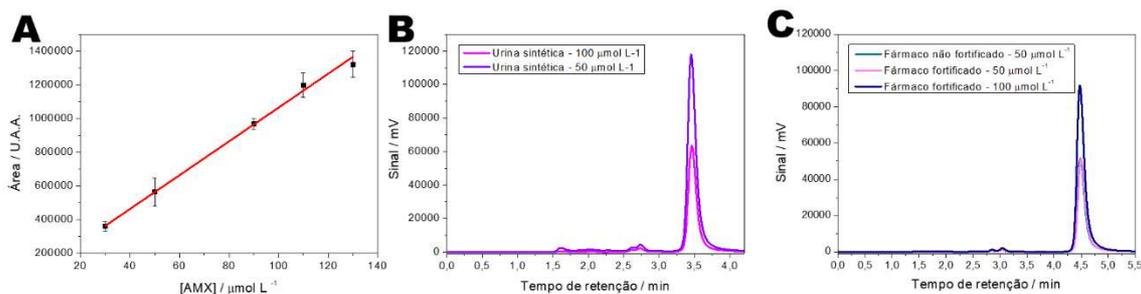
#### 4.11 Comparação com a cromatografia líquida (HPLC-DAD)

No intuito de comparar os resultados obtidos com o ePAD, as amostras de urina e formulação farmacêutica também foram analisadas através da cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD), usando dois comprimentos de onda (225 e 230 nm). Para esta análise utilizou-se uma coluna C18 de fase reversa, com fase móvel composta por acetonitrila (ACN) e solução aquosa de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (pH = 2,50) (ACN/H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> - 20:80 v/v). O experimento foi conduzido em modo isocrático, no qual construiu-se uma curva analítica de faixa de 30 μmol L<sup>-1</sup> até 130 μmol L<sup>-1</sup> (Figura 26A). Desse modo, um estudo de adição e recuperação foi conduzido nos mesmos níveis de concentração (nível baixo: 50 μmol L<sup>-1</sup> e nível alto: 100 μmol L<sup>-1</sup>) (Figura 26B).

A Tabela 2 também dispõe os dados referentes a essa análise, na qual realizou-se uma comparação estatística com teste-*t* pareado em um nível de confiança de 95%. O valor do *t*<sub>calculado</sub> (1,297) é menor que o valor do *t*<sub>tabelado</sub> (2,200). Portanto, não há diferença significativa entre os valores obtidos pelos métodos eletroanalítico e cromatográfico.

De modo semelhante, procedeu-se com as mesmas condições de análise para os resultados obtidos com o e-LIG. Construiu-se uma curva analítica de 10 μmol L<sup>-1</sup> até 100 μmol L<sup>-1</sup>. Neste caso, as amostras de urina e formulação farmacêutica foram fortificadas em dois níveis de concentração (nível baixo: 15 μmol L<sup>-1</sup> e nível alto: 30 μmol L<sup>-1</sup>). Observou-se um sinal em 1,93 min, atribuído a uma possível contaminação durante o preparo da fase móvel. No entanto, visto que não houve co-eluição com o pico da AMX, não houve interferência na análise. Desse modo, observou-se uma faixa de recuperação de 89% - 108 %. O teste-*t* pareado em um nível de confiança de 95% revelou um valor de *t*<sub>calculado</sub> (1,659) menor que o *t*<sub>tabelado</sub> (2,364). Logo, não há diferença significativa entre os valores obtidos.

**Figura 26:** (A) Curva analítica da AMX obtida no HPLC-DAD faixa de  $30 \mu\text{mol L}^{-1}$  até  $130 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Condições: coluna C18 de fase reversa. Fase móvel composta por acetonitrila (ACN) e solução aquosa de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ( $\text{pH} = 2,50$ ) ( $\text{ACN}/\text{H}_3\text{PO}_4 - 20:80 \text{ v/v}$ ). (B) Cromatogramas das amostras de urina sintética fortificadas com  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ . (C) Cromatogramas das amostras de formulação farmacêutica fortificadas com  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$



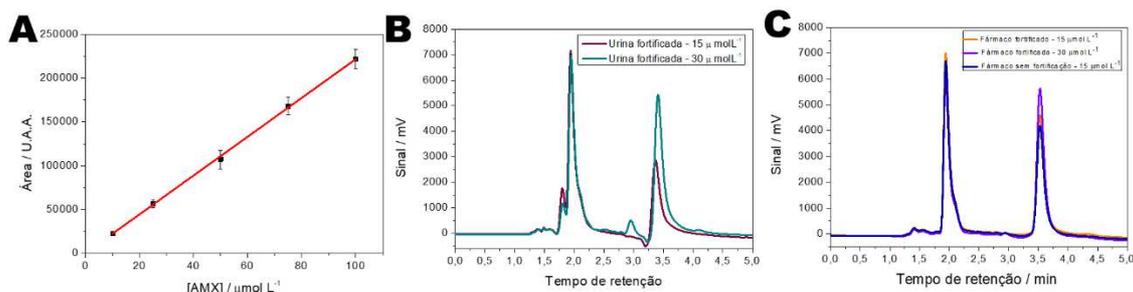
Fonte: Elaborado pelo autor

**Tabela 3:** Resultados obtidos para determinação de AMX com o ePAD em formulação farmacêutica e urina sintética via HPLC-DAD ( $n = 3$ ).

Amostra	Recuperação por VPD (%)	Recuperação por HPLC (%)
Fármaco fortificado - nível baixo	$92 \pm 8$	$101 \pm 5$
Fármaco fortificado - nível alto	$100 \pm 2$	$97 \pm 4$
Urina sintética fortificada - nível baixo	$93 \pm 5$	$92 \pm 6$
Urina sintética fortificada - nível alto	$103 \pm 9$	$98 \pm 9$

Fonte: Elaborado pelo autor

**Figura 27:** (A) Curva analítica da AMX obtida no HPLC-DAD faixa de  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  até  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Condições: coluna C18 de fase reversa. Fase móvel composta por acetonitrila (ACN) e solução aquosa de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (pH = 2,50) (ACN/ $\text{H}_3\text{PO}_4$  - 20:80 v/v). (B) Cromatogramas das amostras de urina sintética fortificadas com  $15 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ . (C) Cromatogramas das amostras de formulação farmacêutica fortificadas com  $15 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $30 \mu\text{mol L}^{-1}$



Fonte: Elaborado pelo autor

**Tabela 4:** Resultados obtidos para determinação de AMX com o e-LIG em formulação farmacêutica e urina sintética via HPLC-DAD (n = 3).

Amostra	Recuperação por VPD (%)	Recuperação por HPLC (%)
Fármaco fortificado - nível baixo	$91 \pm 6$	$101 \pm 4$
Fármaco fortificado - nível alto	$95 \pm 8$	$97 \pm 2$
Urina sintética fortificada - nível baixo	$104 \pm 10$	$109 \pm 6$
Urina sintética fortificada - nível alto	$100 \pm 4$	$98 \pm 8$

#### 4.12 Comparação com outros métodos eletroanalíticos

O sensor desenvolvido foi comparado com outras metodologias eletroanalíticas já reportadas na literatura, como indicado na Tabela 3. Inicialmente, a faixa de trabalho linear e o LD do ePAD e do eLIG são similares a de outros sensores propostos.

Assim, observa-se o uso de eletrodos comerciais, como o eletrodo de carbono vítreo cujo custo é consideravelmente maior do que o eletrodo de papel com tinta condutiva. O uso de modificadores sobre os eletrodos tradicionais é recorrente para melhora da sensibilidade, principalmente na análise de antibióticos (SARAKATSANOU;

KARASTOGIANNI; GIROUSI, 2023). Outros trabalhos recentes aplicam materiais como nanopartículas de ouro (AuNPs) e nanopartículas de paládio (PdNPs) na detecção da AMX. Ainda assim, a superfície apresentada com esfoliação mecânica do ePAD exibe sensibilidade similar.

Por fim, o uso de um método simplificado de preparação de amostras envolvendo diluição, combinado com um sistema de produção acessível, contribui significativamente para alcançar uma maior capacidade analítica.

**Tabela 5:** Comparação dos métodos desenvolvidos com outros métodos eletroanalíticos reportados na literatura.

Sensor	Método	LD ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Faixa Linear ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Amostras	Referência
C-TAB/CPE	VC	3,0	5,0 – 150,0	Amostras farmacêuticas	(HAREESHA et al., 2022)
QDs-P6LC- PEDOT:PSS/G CE	VOD	0,05	0,90 – 69,0	Leite e urina sintética	(WONG et al., 2020)
AuNPs/PdNPs/ ErGO/GCE	VOD	9,0	30,0 – 350,0	Urina humana	(KUMAR; ROSY; GOYAL, 2017)
ZnO- NRs/Gold/GC E	VC	19	5,0 – 250,0	Amostras farmacêuticas	(HATAMIE et al., 2015)
ePAD	VPD	7,78	29,8 – 126,7	Leite, urina sintética e formulação farmacêutica	Este trabalho
PGA/GLU/GC E	VOD	0,92	2 - 25	Urina humana	(SANTOS; BERGAMINI; ZANONI, 2008)
LIG/PEDOT/E BT-MIP	VOD	0,0119	0,05 - 100	Água	(MARQUES et al., 2020)

TiO <sub>2</sub> - 1%Co/SPCE	VOD	5,8	20 - 150	Amostras farmacêuticas	(SOUZA et al., 2023)
e-LIG	VPD	4,9	14,9 – 126,2	Amostras farmacêuticas, urina sintética e leite	Este trabalho

CPE: eletrodo de pasta de carbono; C-TAB: brometo de cetrimônio; QDs: pontos quânticos de telureto de cádmio; P6LC: Printex 6L Carbon; PEDOT:PSS: sulfonato de poliestireno; GCE: eletrodo de carbono vítreo; AuNPs: nanopartículas de ouro; PdNPs: nanopartículas de paládio ; ErGO: óxido de grafeno eletroquimicamente reduzido; ZnO-NRs: *nanorods* de óxido de zinco; PGA: ácido poliglutâmico; GLU: glutaraldeído; LIG/PEDOT/EBT-MIP: eletrodo de grafeno induzido por laser modificado com polímero impresso molecularmente baseado na eletropolimerização do preto de eriocromo T; TiO<sub>2</sub>-1%Co/SPCE: eletrodos de carbono impressos em estêncil modificados com nanocompósito baseado em dióxido de titânio-cobalto (1,0% m/m); ePAD: eletrodo de papel; VOD: voltametria de onda quadrada; VPD: voltametria de pulso diferencial; CV: voltametria cíclica.

#### 4.13 Comparação entre o ePAD e o e-LIG

Os eletrodos à base de papel e os eletrodos à base de grafeno induzidos a laser representam avanços significativos dentro do campo da análise química, cada um oferecendo vantagens distintas. O ePAD apresenta uma natureza flexível, biodegradável e de baixo custo, tornando-o ideal para aplicações descartáveis e em dispositivos portáteis. Por outro lado, o e-LIG destaca-se pela sua excepcional condutividade elétrica, área superficial elevada e alta estabilidade química, principalmente quando associado aos materiais flexíveis. Assim, há um desempenho superior em termos de desempenho analítico e durabilidade em aplicações mais exigentes, como análise de espécies em baixas concentrações. Embora ambos os tipos de eletrodos tenham suas vantagens específicas, a escolha entre eles dependerá das necessidades particulares da aplicação em questão, equilibrando considerações de desempenho, custo e durabilidade.

### 5 Conclusão

No presente trabalho foram propostos dois novos métodos eletroanalíticos usando sensores de baixo custo para determinação de amoxicilina em três matrizes distintas. Um dos sensores foi construído utilizando uma tinta condutiva a base de grafite em pó, acetona e esmalte base. A composição da tinta foi otimizada em função da porcentagem (m/m) de material condutivo. Adicionalmente, analisou-se a diferença do sinal analítico antes e depois de um tratamento mecânico (esfoliação com lixa d'água) do sensor após a aplicação da tinta condutiva, em presença de uma sonda redox bem estabelecida. Observou-se que o eletrodo na proporção de 60:40 (% m/m: grafite/esmalte) polido exibiu o melhor perfil voltamétrico. Portanto, essas foram as condições de construção do sensor estabelecidas.

A superfície do ePAD foi caracterizada tanto por EIE quanto por MEV. Nesse sentido, destaca-se que antes do polimento era possível visualizar pelas imagens do MEV a distribuição desigual das folhas de grafite empilhadas sobre a superfície, decorrente do processo de pintura. Após o polimento, visualizou-se uma superfície mais homogênea e com sulcos causados pelo tratamento mecânico. As medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica indicaram uma queda na resistividade do sensor após o polimento, corroborando que esse tratamento expõe os sítios eletroativos do grafite e melhora a transferência de elétrons na superfície do eletrodo.

O método desenvolvido por voltametria de pulso diferencial foi aplicado para

quantificação de amoxicilina em amostras de leite, urina sintética e formulação farmacêutica. Ensaios de adição e recuperação foram conduzidos em dois níveis de concentração, nos quais obtiveram-se valores de recuperação na faixa de 90-103%. A repetibilidade da resposta analítica foi medida em ambos os níveis de fortificação, com desvio padrão menor que 4%. Os valores de desvio padrão nesse nível sugerem que o sensor detém consistência entre as medidas, logo, precisão apropriada para fins analíticos.

Além disso, as características singulares da superfície do sensor e-LIG possibilitaram observar uma antecipação do sinal de oxidação de AMX em comparação com os outros sensores relatados, o que demonstra que não apenas seu desempenho analítico é promissor, mas também que suas características morfológicas são adequadas para monitorar espécies complexas de difícil oxidação. O sensor e-LIG foi fabricado utilizando instrumentação de baixo custo e requer menos recursos do que sensores semelhantes produzidos com equipamentos mais caros.

De igual modo, otimizou-se com eficácia um método de VPD e aplicado às amostras em questão. Este método revelou uma resposta linear robusta em uma faixa de concentração de 14,9 a 126,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , apresentando uma detectabilidade na ordem de micromolar (4,9  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). É crucial salientar que a análise demonstrou interferências mínimas de medicamentos coadministrados frequentemente com a amoxicilina (AMX). As vantagens notáveis incluem custos de produção reduzidos e um processo simplificado de fabricação do eletrodo, especialmente benéficos em aplicações clínicas e de segurança alimentar. O método utilizando um eletrodo de grafeno induzido por laser (e-LIG) para a análise de amoxicilina, representa uma opção promissora e pragmática para procedimentos analíticos de rotina. Ele tem o potencial de aprimorar significativamente a eficiência e a economicidade na quantificação de amoxicilina em diversas áreas analíticas

Os métodos foram comparados com a cromatografia líquida de alta eficiência em um nível de 95% de confiança e, assim, não houve diferenças significativas entre os resultados. Ademais, a fim de investigar a seletividade dos métodos, avaliou-se a influência de outras substâncias como paracetamol, dipirona, ácido amoxilóico e clavulanato sobre a resposta dos sensores frente à amoxicilina. Os resultados mostraram uma variação menor que 10% no sinal analítico. Essa pequena variação endossa que os sensores exibem sensibilidade adequada para análise desse analito.

Na literatura especializada já foram reportados outros sensores e métodos eletroquímicos para análise da amoxicilina. Em termos das matrizes analisadas, o método proposto neste trabalho se assemelha aos outros reportados. A faixa linear de trabalho e os limites de detecção também são semelhantes. No entanto, destaca-se que o processo de produção do ePAD é consideravelmente mais simples, representando um ganho em frequência analítica quando comparado com superfícies modificadas.

### 5.1 Perspectivas futuras

Considerando os estudos conduzidos por este trabalho, torna-se viável estabelecer um monitoramento contínuo de amostras de origem animal e farmacêutica. Nesse caso, uma perspectiva factível seria a aplicação de ambos os sistemas em amostras provenientes do gado leiteiro em tratamento com a amoxicilina. Levando em consideração os valores atuais de LD e LQ frente ao limite de resíduo mínimo do antibiótico na matriz láctea, é possível utilizá-lo como ferramenta de *screening* para seleção de amostras contaminadas e, assim, encaminha-las para outras técnicas. Esse tipo de protocolo reduz consideravelmente os custos no controle de qualidade, uma vez que não se torna necessário analisar todas as amostras pelas técnicas mais onerosas. No entanto, a busca por modificações que contemplem valores menores de LD e LQ como a deposição de nanopartículas metálicas ou incorporação de outros materiais condutivos à tinta pode resultar em uma poderosa ferramenta para quantificação em campo. Adicionalmente, a aplicação em amostras de urina real como um posterior estudo representa uma linha viável a ser seguida, facilitando às possibilidades de análises clínicas.

## 6. Referências

- AKHOND, M.; ABSALAN, G.; ERSHADIFAR, H. Highly sensitive colorimetric determination of amoxicillin in pharmaceutical formulations based on induced aggregation of gold nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 143, p. 223–229, maio 2015.
- ALVES, G. F. et al. Disposable Pencil Graphite Electrode for Ciprofloxacin Determination in Pharmaceutical Formulations by Square Wave Voltammetry. **Electroanalysis**, v. 33, n. 2, p. 543–549, 20 fev. 2021.

ARABALI, V. et al. Bisphenol A Analysis in Food Samples Using Modified Nanostructure Carbon Paste Electrode as a Sensor. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 6, p. 1763–1769, 14 jun. 2016.

ARANDA, F. L.; RIVAS, B. L. REMOVAL OF AMOXICILLIN THROUGH DIFFERENT METHODS, EMPHASIZING REMOVAL BY BIOPOLYMERS AND ITS DERIVATIVES. AN OVERVIEW. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 67, n. 3, p. 5643–5655, set. 2022.

ATAIDE, V. N. et al. Electrochemical paper-based analytical devices: ten years of development. **Analytical Methods**, v. 12, n. 8, p. 1030–1054, 2020.

ATAIDE, V. N. et al. Review—A Pencil Drawing Overview: From Graphite to Electrochemical Sensors/Biosensors Applications. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 169, n. 4, p. 047524, 1 abr. 2022.

BATISTA DEROCO, P. et al. **Paper-based electrochemical sensing devices**. 1. ed. [s.l.] Elsevier B.V., 2020. v. 89

BILAL, M. et al. Antibiotics traces in the aquatic environment: persistence and adverse environmental impact. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 13, p. 68–74, fev. 2020.

BRASILEIRA, F. Farmacopeia. v. I, 2019.

BROWNE, A. J. et al. Global antibiotic consumption and usage in humans, 2000–18: a spatial modelling study. **The Lancet Planetary Health**, v. 5, n. 12, p. e893–e904, dez. 2021.

CAMARGO, J. R. et al. Development of conductive inks for electrochemical sensors and biosensors. **Microchemical Journal**, v. 164, p. 105998, maio 2021.

CHANNON, R. B. et al. Critical Components and Innovations in Paper-Based Analytical Devices. In: **Paper-based Diagnostics**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 47–87.

COELHO, D.; LUIZ, G.; MACHADO, S. Estimating the Electrochemically Active Area: Revisiting a Basic Concept in Electrochemistry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2021.

COMPTON, R. G.; BANKS, C. E. **Understading Voltammetry**. Third Edit ed. [s.l.] World Scientific, 2007.

DAMÉ SAYÃO LOBATO, C. L.; GIL DE LOS SANTOS, J. R. Resíduos De Antibióticos No Leite: Causas E Impactos Para a Indústria E Saúde Pública. **Science And Animal Health**, v. 7, n. 3, p. 232–250, 2020.

DAVIS, J. L. et al. Update on drugs prohibited from extralabel use in food animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 235, n. 5, p. 528–534, 1 set. 2009.

DAYAN, A. D. Allergy to antimicrobial residues in food: assessment of the risk to man. **Veterinary Microbiology**, v. 35, n. 3–4, p. 213–226, jun. 1993.

DE FARIA, L. V. et al. Electrochemical methods for the determination of antibiotic residues in milk: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1173, 2021a.

DE FARIA, L. V. et al. Electrochemical methods for the determination of antibiotic residues in milk: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1173, p. 338569, ago. 2021b.

DE MARCO, B. A. et al. Characteristics, Properties and Analytical Methods of Amoxicillin: A Review with Green Approach. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 47, n. 3, p. 267–277, 4 maio 2017.

DE OLIVEIRA, G. C. M. et al. A new disposable electrochemical sensor on medical adhesive tape. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 24, n. 10, p. 2271–2278, 24 out. 2020.

DE OLIVEIRA, W. B. V. et al. Cost-Effective Electrodes for Dopamine Monitoring Based On 3D-Printed Support Combined with Composite Material. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 170, n. 2, p. 027508, 1 fev. 2023.

DIAS, A. G. C. et al. Affordable equipment to fabricate laser - induced graphene electrodes for portable electrochemical sensing. **Microchimica Acta**, 2022.

DOUŠA, M.; HOSMANOVÁ, R. Rapid determination of amoxicillin in premixes by HPLC. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 37, n. 2, p. 373–377, fev. 2005.

EMBRAPA GADO DE LEITE. Anuário do leite 2022: Pecuária leiteira de precisão. **Anuário do leite 2022**, p. 59, 2022.

FERRARI, A. C.; BASKO, D. M. Raman spectroscopy as a versatile tool for studying the properties of graphene. **Nature Nanotechnology**, v. 8, n. 4, p. 235–246, 4 abr. 2013.

GANESANA, M. et al. Analytical Techniques in Neuroscience: Recent Advances in Imaging, Separation, and Electrochemical Methods. **Analytical Chemistry**, v. 89, n. 1, p. 314–341, 3 jan. 2017.

GARCÍA-CAMPAÑA, A. M. et al. Applications of capillary electrophoresis to the determination of antibiotics in food and environmental samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 395, n. 4, p. 967–986, 2009.

GARCÍA-MIRANDA FERRARI, A.; ROWLEY-NEALE, S. J.; BANKS, C. E. Screen-printed electrodes: Transitioning the laboratory in-to-the field. **Talanta Open**, v. 3, p. 100032, ago. 2021.

GHOSALE, A. et al. Low-Cost Paper Electrode Fabricated by Direct Writing with Silver Nanoparticle-Based Ink for Detection of Hydrogen Peroxide in Wastewater. **Analytical Chemistry**, v. 89, n. 1, p. 776–782, 3 jan. 2017.

GIRELLI, A. M.; SALVAGNI, L.; TAROLA, A. M. Use of lipase immobilized on cellulose support for cleaning aged oil layers. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2012.

HANCU, G. et al. Simultaneous determination of amoxicillin and clavulanic acid in pharmaceutical preparations by capillary zone electrophoresis. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 2, p. 281–286, jun. 2016.

HAREESHA, N. et al. Electrochemical sensing of antibiotic drug amoxicillin in the presence of dopamine at simple and selective carbon paste electrode activated with cetyltrimethylammonium bromide surfactant. **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, v. 153, n. 1, p. 31–38, 16 jan. 2022.

HATAMIE, A. et al. Fabrication and characterization of highly-ordered Zinc Oxide nanorods on gold/glass electrode, and its application as a voltammetric sensor. **Electrochimica Acta**, v. 174, p. 1261–1267, ago. 2015.

HONG, W. et al. Improvement in the Reproducibility of a Paper-based Analytical Device (PAD) Using Stable Covalent Binding between Proteins and Cellulose Paper.

**Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 23, n. 6, p. 686–692, 17 nov. 2018.

HRIOUA, A. et al. Recent advances in electrochemical sensors for amoxicillin detection in biological and environmental samples. **Bioelectrochemistry**, v. 137, p. 107687, fev. 2021.

HUANG, L. et al. Laser - Induced Graphene : En Route to Smart Sensing. **Nano-Micro Letters**, v. 12, n. 1, p. 1–17, 2020.

JAVANSHIRI-GHASEMABADI, J.; SADEGHI, S. Facile fabrication of an electrochemical sensor for the determination of two sulfonamide antibiotics in milk, honey and water samples using the effective modification of carbon paste electrode with graphitic carbon nitride and manganese oxide nanostructure. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 120, p. 105294, jul. 2023.

KANTIANI, L. et al. Emerging food contaminants: a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 398, n. 6, p. 2413–2427, nov. 2010.

KISSELL, L. W. et al. Occurrence of flunixin residues in bovine milk samples from the USA. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 30, n. 9, p. 1513–1516, set. 2013.

KORB, A. et al. Riscos Para a Saúde Humana Do Uso De Antibióticos Na. v. 4, n. 1, p. 21–36, 2011.

KOSGEY, A.; SHITANDI, A.; MARION, J. W. Antibiotic Residues in Milk from Three Popular Kenyan Milk Vending Machines. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 98, n. 5, p. 1520–1522, 9 maio 2018.

KUMAR, N.; ROSY; GOYAL, R. N. Gold-palladium nanoparticles aided electrochemically reduced graphene oxide sensor for the simultaneous estimation of lomefloxacin and amoxicillin. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 243, p. 658–668, maio 2017.

KUMAR NAIK, T. S. S. et al. Low cost, trouble-free disposable pencil graphite electrode sensor for the simultaneous detection of hydroquinone and catechol. **Materials Chemistry and Physics**, v. 278, p. 125663, fev. 2022.

LANZALACO, S.; MOLINA, B. G. Polymers and Plastics Modified Electrodes for Biosensors: A Review. **Molecules**, v. 25, n. 10, p. 2446, 24 maio 2020.

LAUBE, N.; MOHR, B.; HESSE, A. Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines. **Journal of Crystal Growth**, v. 233, n. 1–2, p. 367–374, nov. 2001.

LEBELLE, M. J.; WILSON, W. L.; LAURIAULT, G. High-performance liquid chromatographic determination of amoxicillin in pharmaceutical dosage forms. **Journal of Chromatography A**, v. 202, n. 1, p. 144–147, dez. 1980.

LEE, S. H. et al. Determination of acetaminophen using functional paper-based electrochemical devices. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 232, p. 514–522, set. 2016.

LI, S. et al. Preparation of PbO nanoparticles by microwave irradiation and their application to Pb(II)-selective electrode based on cellulose acetate. **Materials Chemistry and Physics**, v. 90, n. 2–3, p. 262–269, abr. 2005.

LIMA, L. M. et al.  $\beta$ -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 208, p. 112829, dez. 2020.

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

LUBERT, K. H.; KALCHER, K. **History of electroanalytical methods. Electroanalysis**Wiley-VCH Verlag, , 2010.

MAHMOUD, A. M. et al. Double-signal quantification of amoxicillin based on interaction with 4-aminoantipyrine at copper and nitrogen co-doped carbon quantum dots as an artificial nanozyme. **Microchimica Acta**, v. 189, n. 5, p. 183, 8 maio 2022.

MALIK, B.; BHATTACHARYYA, S. Antibiotic drug-resistance as a complex system driven by socio-economic growth and antibiotic misuse. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 9788, 5 jul. 2019.

MARQUES, A. C. et al. Laser-Induced Graphene-Based Platforms for Dual Biorecognition of Molecules. **ACS Applied Nano Materials**, v. 3, n. 3, p. 2795–2803, 27 mar. 2020.

MITCHELL, S. M. et al. pH and temperature effects on the hydrolysis of three  $\beta$ -lactam

antibiotics: Ampicillin, cefalotin and cefoxitin. **Science of The Total Environment**, v. 466–467, p. 547–555, jan. 2014.

MOCAK, J. et al. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: Application to voltammetric and stripping techniques (Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 297–328, 28 fev. 1997.

MOGHADAM, M. M. Evaluation of Antibiotic Residues in Pasteurized and Raw Milk Distributed in the South of Khorasan-e Razavi Province, Iran. **JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH**, 2016.

NOVAES, S. F. DE et al. Residues of veterinary drugs in milk in Brazil. **Ciência Rural**, v. 47, n. 8, 2017.

OJANI, R.; RAOOF, J.-B.; ZAMANI, S. A novel voltammetric sensor for amoxicillin based on nickel–curcumin complex modified carbon paste electrode. **Bioelectrochemistry**, v. 85, p. 44–49, jun. 2012.

ORZARI, L. O. et al. A novel disposable self-adhesive inked paper device for electrochemical sensing of dopamine and serotonin neurotransmitters and biosensing of glucose. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 138, p. 111310, ago. 2019.

OZER, T.; MCMAHON, C.; HENRY, C. S. Advances in Paper-Based Analytical Devices. **Annual Review of Analytical Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 85–109, 12 jun. 2020.

PACHECO, W. F. et al. Voltammetry: A Brief Review About Concepts. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, 2013.

PAGE, M. G. P. Beta-Lactam Antibiotics. In: **Antibiotic Discovery and Development**. Boston, MA: Springer US, 2012. p. 79–117.

PATANGIA, D. V. et al. Impact of antibiotics on the human microbiome and consequences for host health. **MicrobiologyOpen**, v. 11, n. 1, 13 fev. 2022.

POZA-NOGUEIRAS, V. et al. Double benefit of electrochemical techniques: Treatment and electroanalysis for remediation of water polluted with organic compounds. **Electrochimica Acta**, v. 320, p. 134628, out. 2019.

RANG H.P., D. M. M. Rang & Dale Farmacologia. 2007.

ROSCHER, S.; HOFFMANN, R.; AMBACHER, O. Determination of the graphene–graphite ratio of graphene powder by Raman 2D band symmetry analysis. **Analytical Methods**, v. 11, n. 9, p. 1224–1228, 2019.

SANTOS, D. P.; BERGAMINI, M. F.; ZANONI, M. V. B. Voltammetric sensor for amoxicillin determination in human urine using polyglutamic acid/glutaraldehyde film. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 133, n. 2, p. 398–403, ago. 2008.

SANTOS, N. F. et al. IR and UV Laser-Induced Graphene: Application as Dopamine Electrochemical Sensors. **Advanced Materials Technologies**, v. 6, n. 6, 15 jun. 2021.

SARAKATSANO, C.; KARASTOGIANNI, S.; GIROUSI, S. Promising Electrode Surfaces, Modified with Nanoparticles, in the Sensitive and Selective Electroanalytical Determination of Antibiotics: A Review. **Applied Sciences**, v. 13, n. 9, p. 5391, 26 abr. 2023.

SETTU, K.; LAI, Y.-C.; LIAO, C.-T. Carbon nanotube modified laser-induced graphene electrode for hydrogen peroxide sensing. **Materials Letters**, v. 300, p. 130106, out. 2021.

SHARMA, S.; JAIN, R.; PANDEY, A. Carbon nanofiber-based voltammetric sensor for the simultaneous quantification of  $\beta$ -Lactum antibiotics as amoxicillin and clavunate potassium. **Materials Research Bulletin**, v. 165, p. 112295, set. 2023.

SHRIVAS, K. et al. Smartphone coupled with paper-based chemical sensor for on-site determination of iron(III) in environmental and biological samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 412, n. 7, p. 1573–1583, 13 mar. 2020.

SOLTANI FIROOZ, N. et al. Direct introduction of amine groups into cellulosic paper for covalent immobilization of tyrosinase: support characterization and enzyme properties. **Cellulose**, v. 24, n. 3, p. 1407–1416, 10 mar. 2017.

SOUSA, L. R. et al. Office paper and laser printing: a versatile and affordable approach for fabricating paper-based analytical devices with multimodal detection capabilities. **Lab on a Chip**, 2024.

SOUZA, L. K. A. et al. Disposable sensor based on carbon electrodes modified with cobalt-doped titanium dioxide nanocrystals for electrochemical detection of amoxicillin. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 942, p. 117587, ago. 2023.

STEFANO, J. S. et al. Different approaches for fabrication of low-cost electrochemical

sensors. **Current Opinion in Electrochemistry**, v. 32, p. 100893, 2022.

STOJEK, Z. The Electrical Double Layer and Its Structure. In: **Electroanalytical Methods**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010. p. 3–9.

STÖLLNER, D.; SCHELLER, F. W.; WARSINKE, A. Activation of Cellulose Membranes with 1,1'-Carbonyldiimidazole or 1-Cyano-4-dimethylaminopyridinium tetrafluoroborate as a Basis for the Development of Immunosensors. **Analytical Biochemistry**, v. 304, n. 2, p. 157–165, maio 2002.

SÜRÜCÜ, B. et al. Application of cloud point extraction for residues of chloramphenicol and amoxicillin in milk samples by HPLC–DAD. **European Food Research and Technology**, v. 248, n. 2, p. 437–445, 1 fev. 2022.

VALENGA, M. G. P. et al. Development and validation of voltammetric method for determination of amoxicillin in river water. **Analytica Chimica Acta**, v. 1138, p. 79–88, nov. 2020.

VAUGHAN, E. et al. Visible Laser Scribing Fabrication of Porous Graphitic Carbon Electrodes: Morphologies, Electrochemical Properties, and Applications as Disposable Sensor Platforms. **ACS Applied Electronic Materials**, v. 2, n. 10, p. 3279–3288, 27 out. 2020.

WANG, B. et al. Quantitative Analysis of Amoxicillin, Amoxicillin Major Metabolites, and Ampicillin in Chicken Tissues via Ultra-Performance Liquid Chromatography–Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 10, p. 3292–3305, 19 out. 2017a.

WANG, J. **Analytical Electrochemistry, Third Edition**. [s.l.: s.n.].

WANG, J. **Analytical Electrochemistry**. [s.l.] Wiley, 2006b.

WANG, P. et al. Development of a paper-based, inexpensive, and disposable electrochemical sensing platform for nitrite detection. **Electrochemistry Communications**, v. 81, p. 74–78, ago. 2017b.

WANG, Y. et al. A thin film polyethylene terephthalate (PET) electrochemical sensor for detection of glucose in sweat. **Talanta**, v. 198, p. 86–92, jun. 2019.

WHITENER, K. E.; SHEEHAN, P. E. Graphene synthesis. **Diamond and Related**

**Materials**, v. 46, p. 25–34, jun. 2014.

WONG, A. et al. A new electrochemical platform based on low cost nanomaterials for sensitive detection of the amoxicillin antibiotic in different matrices. **Talanta**, v. 206, p. 120252, jan. 2020.

YAMADA, K. et al. Paper-Based Inkjet-Printed Microfluidic Analytical Devices. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 54, n. 18, p. 5294–5310, 27 abr. 2015.

YOON, H. et al. A chemically modified laser-induced porous graphene based flexible and ultrasensitive electrochemical biosensor for sweat glucose detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 311, p. 127866, maio 2020.

## Apêndice A

Publicações durante o período de mestrado

1. **DE SOUZA, Cassiano Cunha**; LISBOA, Thalles Pedrosa; DE OLIVEIRA, Wallace Burger Veríssimo; *et al.* Simple strategy for the detection of the amoxicillin antibiotic in different matrices using a low-cost paper electrode. **Talanta**, p. 124050, 2022.
2. **DE SOUZA, Cassiano Cunha**; ALVES, Guilherme Figueira; LISBOA, Thalles Pedrosa; *et al.* Low-cost paper-based electrochemical sensor for the detection of ciprofloxacin in honey and milk samples. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 112, p. 104700, 2022.
3. SANTOS OLIVEIRA, R. et al. Sustainable device based on reduced graphene oxide and carbon black 3D printed for sensitive monitoring of paracetamol. **Electroanalysis**, v. 35, n. 12.
4. B. V. DE OLIVEIRA, W. et al. Chemometric tools applied to silver nanoparticles electrodeposition in 3D-printed disposable device for the determination of sulfamethoxazole in different samples by voltammetry. **Microchemical Journal**, v. 193, p. 109091.
5. LISBOA, T. P. et al. Simultaneous monitoring of amoxicillin and paracetamol in synthetic biological fluids using a 3D printed disposable electrode with a lab-made conductive filament. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 416, n. 1, p. 215–226.

6. DE OLIVEIRA, Wallace Burger Veríssimo; LISBOA, Thalles Pedrosa; DE SOUZA, Cassiano Cunha; *et al.* Composite material immobilized in 3D-printed support, an economical approach for electrochemical sensing of nimesulide. **Microchemical Journal**, v. 188, p. 108463, 2023.
7. DE OLIVEIRA, Wallace B. V.; LISBOA, Thalles P.; DE SOUZA, Cassiano C.; *et al.* Cost-Effective Electrodes for Dopamine Monitoring Based On 3D-Printed Support Combined with Composite Material. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 170, n. 2, p. 027508, 2023.
8. LISBOA, Thalles Pedrosa; COUTO DA SILVA, Gabriela; OLIVEIRA, Raylla Santos; *et al.* Electrochemical monitoring of levofloxacin using a silver nanoparticle-modified disposable device based on a lab-made conductive ink. **Analytical Methods**, 2023.
9. LISBOA, Thalles Pedrosa; OLIVEIRA, Raylla Santos; DE OLIVEIRA, Wallace Burger Veríssimo; *et al.* A 3D carbon black disposable electrochemical sensor modified with reduced graphene oxide used for the sensitive determination of levofloxacin. **New Journal of Chemistry**, v. 47, n. 5, p. 2240–2247, 2023.
10. LISBOA, Thalles Pedrosa; DE OLIVEIRA, Wallace Burger Veríssimo; DE SOUZA, Cassiano Cunha; *et al.* Development of a 3D disposable device for the electrochemical determination of diclofenac in different matrices. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 415, n. 2, p. 357–366, 2023.
11. FIGUEIRA ALVES, Guilherme; VINÍCIUS DE FARIA, Lucas; PEDROSA LISBOA, Thalles; *et al.* A portable and affordable paper electrochemical platform for the simultaneous detection of sunset yellow and tartrazine in food beverages and desserts. **Microchemical Journal**, v. 181, p. 107799, 2022.
12. LISBOA, Thalles Pedrosa; ALVES, Guilherme Figueira; DE FARIA, Lucas Vinícius; *et al.* 3D-printed electrode an affordable sensor for sulfanilamide monitoring in breast milk, synthetic urine, and pharmaceutical formulation samples. **Talanta**, v. 247, p. 123610, 2022.
13. DE SOUZA, Cassiano Cunha; DE AZEVEDO-FRANÇA, José Aleixo; BARRIAS, Emile; *et al.* Silver and copper-benzimidazole derivatives as potential antiparasitic metallodrugs: Synthesis, characterization, and biological evaluation. **Journal of Inorganic Biochemistry**, p. 112047, 2022.

## Apêndice B

### 1. *Participação em eventos científicos*

Veríssimo De Oliveira, Wallace Burger; Lisboa, Thalles Pedrosa; Cunha De Souza, Cassiano; Oliveira, Raylla Santos; Auxiliadora Costa Matos, Maria; Camargo Matos, Renato. Composite material immobilized in 3d printed support, an economical approach for electrochemical sensing of nimesulide. 46<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2023, Águas de Lindóia. 46<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2023.

2. Cunha De Souza, Cassiano; Alves, Guilherme F.; Lisboa, Thalles P.; Costa Matos, Maria Auxiliadora; Camargo Matos, Renato. Low-cost paper-based electrochemical sensor for the detection of ciprofloxacin in honey and milk samples. 20<sup>o</sup> ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica e 8<sup>o</sup> CIAQA - Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, 2022, Bento Gonçalves. 20<sup>o</sup> ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica e 8<sup>o</sup> CIAQA - Congresso Ibero-Americano de Química Analítica.

3. Burger Veríssimo De Oliveira, Wallace; Lisboa, Thalles P.; Cunha De Souza, Cassiano; Alves, Guilherme F.; Costa Matos, Maria Auxiliadora; Camargo Matos, Renato. 3D-printed support combined with composite material for electrochemical determination of dopamine. 20<sup>o</sup> ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica e 8<sup>o</sup> CIAQA - Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, 2022, Bento Gonçalves. 20<sup>o</sup> ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica e 8<sup>o</sup> CIAQA - Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, 2022.

4. Lisboa, Thalles P.; Alves, Guilherme F.; De Faria, Lucas Vinicius; Cunha De Souza, Cassiano; Burger Veríssimo De Oliveira, Wallace; Auxiliadora Costa Matos, Maria; Matos, Renato Camargo. 3D-electrode for sulfanilamide monitoring in breast milk, synthetic urine, and pharmaceutical formulation samples. In: 20<sup>o</sup> ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica e 8<sup>o</sup> CIAQA - Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, 2022, Bento

Gonçalves. 20° ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica e 8° CIAQA - Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, 2022.

5. Cunha De Souza, Cassiano; Barrias, Emile; De Souza, Wanderley; Navarro, Maribel. Novel silver(I)-benznidazole derivatives as promising anti-parasitic agents: synthesis, characterization and biological evaluation. VII Latin American Meeting on biological Inorganic Chemistry, 2021 (Online).