



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Eduardo Constante Martins

**SENSORES ELETROQUÍMICOS IMPRESSOS EM 3D PARA O
MONITORAMENTO *IN LOCO* DE ACETAMINOFENO E 17 β -ESTRADIOL
EM ECOSSISTEMAS AQUÁTICOS**

Florianópolis

2024

Eduardo Constante Martins

**SENSORES ELETROQUÍMICOS IMPRESSOS EM 3D PARA O
MONITORAMENTO *IN LOCO* DE ACETAMINOFENO E 17 β -ESTRADIOL
EM ECOSSISTEMAS AQUÁTICOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química Analítica.

Orientadora: Profa. Dra. Iolanda da Cruz Vieira

Florianópolis

2024

Martins, Eduardo Constante

Sensores eletroquímicos impressos em 3d para o monitoramento in loco de acetaminofeno e 17 β -estradiol em ecossistemas aquáticos / Eduardo Constante Martins ; orientadora, Iolanda da Cruz Vieira, 2024.

83 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Química. 2. Sensor 3D. 3. Acetaminofeno. 4. 17 β -estradiol. 5. Ecossistema aquático. I. Vieira, Iolanda da Cruz . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Eduardo Constante Martins

**SENSORES ELETROQUÍMICOS IMPRESSOS EM 3D PARA O
MONITORAMENTO *IN LOCO* DE ACETAMINOFENO E 17 β -ESTRADIOL
EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS**

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 24 de julho de 2024
pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Ana Carolina de Oliveira Costa, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Habdias de Araujo Silva Neto, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Eduardo Sidinei Chaves, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado
adequado para obtenção do título de Mestre em Química.

Prof. Daniel Lázaro Gallindo Borges, Dr.
Coordenador do Programa de Pós-Graduação de Química

Profa. Iolanda da Cruz Vieira, Dra.
Orientadora

Florianópolis

2024

*Aos meus pais,
Terezinha e Aloísio.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente aos meus pais, Aloísio e Terezinha, que sempre lutaram e sonharam ao meu lado, tornando possíveis todas as minhas conquistas;

Aos meus avós, Maria e Guinho, a meu sobrinho, Bernardo, que em dias difíceis me trouxeram alegria, força e confiança para seguir em frente;

À professora Iolanda da Cruz Vieira pela orientação, confiança e paciência durante a realização deste trabalho. Sua presença foi de grande importância para meu desenvolvimento acadêmico;

Gostaria de expressar minha profunda gratidão aos meus amigos e companheiros de longa data, Edinho e João. É uma honra compartilhar o laboratório com vocês todos os dias e aprender com pessoas tão inspiradoras. Obrigado por suas orientações e acima de tudo pela amizade;

Aos meus colegas de laboratório: Luan, Marie, Larissa, Diogo, Thomaz, Nathi, Guinther, Lucas, Bruno e Pâmyla, pela amizade, companheirismo e muita risada tornando meus dias mais leves;

Ao Prof. Almir Spinelli, agradeço todo o suporte e auxílio oferecido ao nosso grupo de pesquisa. Sendo sua presença essencial para o desenvolvimento do nosso trabalho;

As minhas grandes amigas, Helena, Kevin, Maurer, Vinícius, Lucas, Thiago e Julia, por serem fundamentais na superação dos desafios e na celebração das conquistas;

Ao Prof. Gustavo Amadeu Micke e ao Laboratório de Eletroforese Capilar e Cromatografia (LabECC) pelo suporte nas análises de cromatografia líquida;

Ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) pelo suporte nas análises morfológicas e microscópicas. A Central de Análises do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina pela análise espectroscópica. Ao Centro de Análise do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo (Projeto FAPESP nº 2013/07296-2) pelas análises de XPS;

Ao Programa de Pós-Graduação em Química e ao Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade de concluir este trabalho;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro através do Processo 409444/2022-7 contemplado na Chamada CNPq/McTI/FNDC/CT-Hidro nº 63/2022. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) pelo suporte financeiro.

*"Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente,
mas o que melhor se adapta às mudanças"*

(C. Darwin)

RESUMO

A urbanização e a industrialização levaram ao aumento da produção de inúmeros compostos que são consumidos e descartados diariamente por milhões de pessoas em todo o mundo, o que gerou uma contaminação contínua de diversos ambientes. Como resultado, a presença de contaminantes emergentes como o acetaminofeno (AP) e o 17 β -estradiol (E2) em diferentes matrizes ambientais se tornou motivo de preocupação pública e ambiental. O AP é princípio ativo de medicamentos da classe dos anti-inflamatórios não esteroides, enquanto o E2 é considerado um hormônio feminino pertencente à classe dos esteroides naturais. Estes compostos estão presentes em medicamentos comuns e são descartados indevidamente pela população. No entanto, AP e E2 representam riscos tanto para a saúde como para o ambiente, com potencial para agirem como desreguladores endócrinos. Portanto, torna-se crucial desenvolver métodos analíticos sensíveis e de baixo custo para o monitoramento *in loco* destes compostos. Nesse sentido, a tecnologia de impressão 3D vem se consolidando como um método simples e acessível para o desenvolvimento de novos sensores eletroquímicos devido às suas inúmeras possibilidades de aplicação, facilidade de customização e fabricação sob demanda. Filamentos condutores baseados em ácido polilático (PLA) combinados com as propriedades condutoras de aditivos de carbono, como negro de fumo (CB – do inglês, *carbon black*) têm sido empregados na fabricação de sensores. Esses materiais são economicamente viáveis e considerados biodegradáveis, possuindo características sustentáveis. Porém, esses filamentos são predominantemente compostos por PLA, necessitando de condicionamento de superfície para aplicações eletroanalíticas. A ativação eletroquímica por NaOH tem sido amplamente empregada, pois remove seletivamente o PLA da superfície através da reação de saponificação, garantindo a integridade do material condutor e ótimo desempenho analítico. Neste trabalho foi utilizada uma impressora 3D para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos. Esses sensores foram projetados para conter eletrodos de trabalho, pseudo-referência e contra eletrodo usando um filamento condutor de negro de fumo-ácido polilático (CB/PLA) em um substrato não condutor de acrilonitrila butadieno estireno (ABS) usando a impressão por modelagem de deposição fundida. Sob condições otimizadas, os sensores foram ativados eletroquimicamente (solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹, +1,2 V vs. *carbon black*, 900 s), degradando o PLA na superfície do eletrodo e expondo o material condutor. A superfície do sensor foi caracterizada por técnicas eletroquímicas, microscópicas e espectroscópicas, apresentando uma maior exposição do CB, aumento na área superficial e aprimoramento da condutividade. Em estudos de voltametria cíclica, observou-se que AP apresentou comportamento eletroquímico quase-reversível, enquanto o E2 apresentou comportamento irreversível, com ambos os processos controlados por difusão. O método analítico foi otimizado visando maior sensibilidade a ambos os analitos na superfície do sensor 3D PLA/CB. As seguintes condições foram selecionadas: solução tampão Britton-Robinson 0,10 mol L⁻¹ (pH 3,0), voltametria de onda quadrada (frequência 3,0 Hz, incremento de varredura 5,0 mV e amplitude 50 mV). A curva de calibração para AP e E2 foi construída na faixa de concentração de 0,50 a 25 μ mol L⁻¹ e 0,75 a 50 μ mol L⁻¹, respectivamente. O limite de detecção obtido para AP foi de 0,15 μ mol L⁻¹, enquanto para E2 foi de 0,23 μ mol L⁻¹. O sensor 3D PLA/CB foi aplicado na determinação simultânea *in loco* de AP e E2 em amostras de água da região costeira de Florianópolis, Brasil, conhecida pelo turismo e pela produção de ostras e mariscos. Os resultados demonstraram que o sensor 3D proposto em conjunto com um potenciostato portátil acoplado a um *smartphone* serve como uma ferramenta útil para o monitoramento e determinação simultânea *in loco* de contaminantes emergentes em ecossistemas aquáticos, fornecendo dados com precisão e exatidão satisfatórios.

Palavras-chave: sensor 3D, acetaminofeno, 17 β -estradiol, desreguladores endócrinos, ecossistema aquático.

ABSTRACT

Urbanization and industrialization have led to the increased production of numerous compounds, which are consumed and discarded daily by millions of people worldwide this has generated a continuous contamination of various environments. As a result, the presence of emerging contaminants such as acetaminophen (AP) and 17 β -estradiol (E2) in different environmental matrices has become a matter of public and environmental concern. AP is an active principle of medications from the nonsteroidal anti-inflammatory class, while E2 is considered a female hormone belonging to the natural steroids class. These compounds are present in common medicines, being improperly discarded by the population, in addition to being excreted by the human body. However, AP and E2 pose risks to both health and the environment, with the potential to act as endocrine disruptors. Therefore, it becomes crucial to develop sensitive and cost-effective analytical methods for the *in loco* monitoring of these compounds. In that regard, the 3D-printing technology has been consolidating itself as a simple and accessible method for the development of new electrochemical sensors due to its numerous application possibilities, ease of customization, and on-demand manufacturing. Conductive filaments based on polylactic acid (PLA) combined with the conductive properties of carbon additives such as carbon black (CB) have been employed for sensor manufacturing. These materials are economically viable and considered biodegradable, possessing sustainable characteristics. However, these filaments are predominantly composed of PLA, requiring surface conditioning for electroanalytical applications. Electrochemical activation by NaOH has been widely employed as it selectively removes PLA from the surface through the saponification reaction, ensuring the integrity of the conductive material and optimal analytical performance. In this work, a 3D printer was used for the development of electrochemical sensors. These sensors were designed to contain a working, pseudo-reference, and auxiliary electrodes using a conductive filament of carbon black-polylactic acid (CB/PLA) on a non-conductive acrylonitrile butadiene styrene (ABS) substrate using fused deposition modeling. Under optimized conditions, the sensors were electrochemically activated (1.0 mol L⁻¹ NaOH, +1.2 V vs. carbon black, 900 s), degrading the PLA on the electrode surface and exposing the conductive material. The sensor surface was characterized by electrochemical, microscopic, and spectroscopic techniques exhibiting increased exposure of the CB, enhanced surface area and improved conductivity. In cyclic voltammetry studies, it was observed that AP exhibited a quasi-reversible electrochemical behavior, while E2 displayed an irreversible behavior, with both processes controlled by diffusion. The analytical method was optimized aiming for greater sensitivity to both analytes on the surface of the 3D PLA/CB sensor. The following conditions were selected: 0.10 mol L⁻¹ Britton-Robinson buffer (pH 3.0), square wave voltammetry (frequency 3.0 Hz, scan increment 5.0 mV and amplitude 50 mV). The calibration curve for AP and E2 was built in the concentration range of 0.50 to 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 0.75 to 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The obtained detection limit for AP was 0.15 $\mu\text{mol L}^{-1}$, while for E2, it was 0.23 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The 3D PLA/CB sensor was applied to the *in loco* simultaneous determination of AP and E2 in water samples from the coastal regions of Florianópolis, Brazil, known for tourism and oyster and shellfish production. The results demonstrated that the proposed 3D sensor, together with the portable potentiostat coupled to a smartphone, serves as a useful tool for on-site monitoring and simultaneous determination of emerging contaminants in aquatic ecosystems, providing satisfactory data with accuracy and precision.

Keywords: 3D sensor, acetaminophen, 17 β -estradiol, endocrine disruptors, aquatic ecosystem.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Estrutura química do acetaminofeno..... | 20 |
| Figura 2. Estrutura química do 17 β -estradiol..... | 23 |
| Figura 3. Reação de saponificação do PLA..... | 31 |
| Figura 4. Representação gráfica das especificações do eletrodo 3D PLA/CB usando o <i>software</i> Tinkercad (Autodesk, EUA)..... | 34 |
| Figura 5. Processo de fabricação do 3D PLA/CB desde o projeto em <i>software</i> seguido da conversão em .STL, G.Code e impressão..... | 34 |
| Figura 6. Regiões análise <i>in loco</i> e coleta de amostras em Florianópolis, Brasil. Os pontos marcados em vermelho indicam as áreas específicas: Lagoa da Conceição, Costeira do Pirajubaé, Ribeirão da Ilha e Lagoa do Peri. | 37 |
| Figura 7. Voltamogramas cíclicos para [Ru(NH ₃) ₆] ³⁺ 5,0 mmol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹ ($v = 25 \text{ mV s}^{-1}$) utilizando os sensores 3D PLA/CB ativados em solução de NaOH 1,0 mol L ⁻¹ sob (A) diferentes potenciais de ativação: +1,0 V; +1,2 V; +1,4 V; +1,6 V; e +1,8 V, mantendo fixo 300 s de aplicação; e sob (B) diferentes tempos de aplicação de potencial: 300, 900 e 1800 s, mantendo fixo o potencial em +1,2 V. | 39 |
| Figura 8. (A) Voltamogramas cíclicos em solução tampão B-R 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) em diferentes velocidades de varredura (a) 10; (b) 20; (c) 30; (d) 40; (e) 50, (f) 60; (g) 70; (h) 80; (i) 90; (j) 100; (k) 125; (l) 150; (m) 175 e (n) 200 mV s ⁻¹ e (B) Gráfico da densidade de corrente vs. velocidade de varredura. | 42 |
| Figura 9. Diagramas de Nyquist utilizando a sonda [Ru(NH ₃) ₆]Cl ₃ 5,0 mmol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹ ; (B) Modelo do circuito de Randles para os eletrodos, onde: R _s é a resistência da solução; R _{ct} é a resistência à transferência de carga, Z _w é a impedância de Warburg e CPE é o elemento de fase constante. | 44 |
| Figura 10. Imagens de FEG dos eletrodos 3D PLA/CB (A-B) recém-impresos; e (C-D) após a ativação eletroquímica de +1,2 V vs. <i>carbon black</i> e imagens de AFM do 3D PLA/CB (E) recém-impreso e (F) ativado. | 45 |
| Figura 11. Espectros de infravermelho para (a) 3D PLA/CB não ativado e (b) 3D PLA/CB ativado. Em pontilhado estão presentes as bandas adquiridas pós-ativação eletroquímica. | 47 |
| Figura 12. Análise XPS para 3D PLA/CB não ativado. (A) espectro Survey, espectro de alta resolução do (B) C 1s e (C) O 1s..... | 48 |
| Figura 13. Análise XPS para 3D PLA/CB ativado. (A) espectro Survey, espectro de alta resolução do (B) C 1s e (C) O 1s..... | 49 |

| | |
|---|----|
| Figura 14. Imagens de KPFM para 3D PLA/CB (A) recém-impresso e (B) após ativação eletroquímica de +1,2 V vs. <i>carbon black</i> | 50 |
| Figura 15. Voltamogramas cíclicos para AP e E2 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0) usando diferentes eletrodos: (a) 3D PLA/CB não ativado e (b) 3D PLA/CB ativado. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ | 51 |
| Figura 16. Voltamogramas cíclicos para (A) e (B) AP e E2 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo ativado 3D PLA/CB em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} em diferentes valores de pH; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (C) Variação de I_{pa} em função do pH para AP e E2 ($n = 3$). Em (D) variação de E_{po} para AP e E2 em diferentes valores de pH ($n = 3$)..... | 53 |
| Figura 17. Respostas de corrente anódica para AP e E2 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em função do pH e da natureza do eletrólito de suporte: (a) McIlvaine, (b) B-R e (c) Clark Lubs ($n = 3$). | 54 |
| Figura 18. (A) Voltamogramas cíclicos para AP e E2 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em uma solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0) utilizando 3D PLA/CB em diferentes velocidades de varredura: (a) 10,0; (b) 20,0; (c) 30,0; (d) 40,0; (e) 50,0, (f) 60,0; (g) 70,0; (h) 80,0 e (i) 90,0 mV s^{-1} . Relação entre o logaritmo de I_{pa} e o logaritmo da velocidade de variação de potencial (v) para (B) AP e (C) E2 ($n=3$). | 55 |
| Figura 19. Relação entre E_{po} e o logaritmo da velocidade (v) para (A) AP e (B) E2, ($n = 3$). | 57 |
| Figura 20. Representação esquemática da reação redox simultânea do AP e E2 na superfície do 3D PLA/CB. | 57 |
| Figura 21. (A) Voltamogramas de onda quadrada para AP 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ E2 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo ativado 3D PLA/CB em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0) em diferentes valores de frequência, mantendo fixo $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$. (B) Gráficos de corrente vs. frequência para AP e E2 ($n = 3$)..... | 59 |
| Figura 22. (A) Voltamogramas de onda quadrada para AP 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo ativado 3D PLA/CB em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0) em diferentes valores de incremento de potencial, mantendo fixo $a = 50 \text{ mV}$ e $f = 3,0 \text{ Hz}$. (B) Gráficos de corrente vs. incremento de potencial para AP e E2 ($n = 3$)..... | 59 |
| Figura 23. (A) Voltamogramas de onda quadrada para AP 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo ativado 3D PLA/CB em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0) em diferentes valores de amplitude de potencial, mantendo fixos $f = 3,0 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$. (B) Gráficos de corrente vs. amplitude para AP e E2 ($n = 3$). | 60 |
| Figura 24. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o 3D PLA/CB em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0) para AP na faixa de concentração: (a) branco, (b) 0,5, (c) | |

0,75, (d) 1,0, (e) 1,25, (f) 1,5, (g) 2,0, (h) 2,5, (i) 3,0, (j) 4,0, (k) 6,0, (l) 8,0, (m) 10,0, (n) 15,0, (o) 20,0 e (p) 25,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e para E2 na faixa de concentração: (a) branco, (b) 0,75, (c) 1,0, (d) 1,25, (e) 1,5, (f) 2,0, (g) 4,0, (h) 6,0, (i) 8,0, (j) 10,0, (k) 15,0, (l) 20,0, (m) 30,0, (o) 40,0 e (p) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Gráficos de calibração para (A) AP na faixa de 0,5 a 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (B) E2 na faixa de 0,75 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no 3D PLA/CB em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0) (n = 3). Parâmetros SWV: $f = 3,0$ Hz, $\Delta E_s = 5,0$ mV e $a = 50$ mV. 62

Figura 25. Medidas obtidas por SWV para AP e E2 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o sensor 3D PLA/CB no estudo de repetibilidade (A) intra-dia e (B) inter-dia. 64

Figura 26. Medidas obtidas por SWV para AP e E2 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o sensor 3D PLA/CB para cinco medidas consecutivas no estudo de reutilização do eletrodo. 65

Figura 27. Estudos de interferentes para AP e E2 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de (A) bisfenol A, cafeína e aspirina 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (B) na presença de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , NO_3^- , e Cl^- 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 66

Figura 28. (A) Voltamogramas de onda quadrada empregando o eletrodo 3D PLA/CB em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0) para: (a) branco, (b) amostra de água da Lagoa da Conceição fortificada com AP 2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 1,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$, seguindo com adições sucessivas de solução padrão resultando em (c) AP 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, (d) AP 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e AP 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do AP. (C) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do E2. Parâmetros SWV: $f = 3,0$ Hz, $\Delta E_s = 5,0$ mV e $a = 50$ mV. 67

Figura 29. (A) Gradiente de solventes. (B) Gráficos de calibração para AP e E2 na faixa de 1,0 a 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (C) Cromatogramas de HPLC-DAD da amostra da (a) Lagoa da Conceição (b) com fortificação de 3,0 e 9,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AP e E2 e (c) de 6,0 e 18,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AP e E2, respectivamente. Análises foram realizadas em comprimentos de onda de 240 e 280 nm. 68

Figura 30. Imagens reais realizando as análises *in loco* em regiões costeiras da (A) Lagoa da Conceição, (B) Lagoa do Peri, (C) Costeira do Pirajubaé e (D) Ribeirão da Ilha. 71

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Dados do estudo de ativação do sensor utilizando a técnica de CV para $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($v = 25 \text{ mV s}^{-1}$). | 41 |
| Tabela 2. Parâmetros experimentais otimizados da técnica voltamétrica de onda quadrada utilizados para a determinação do CEs..... | 60 |
| Tabela 3. Comparação do desempenho analítico do 3D PLA/CB com outros eletrodos impressos na determinação de AP e E2..... | 63 |
| Tabela 4. Determinação de AP e E2 em amostras de regiões costeiras. | 70 |

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

3D PLA/CB – eletrodo de ácido polilático e *carbon black* impresso em 3D;

ABS (do inglês, *acrylonitrile butadiene styrene*) – acrilonitrila butadieno estireno;

AFM (do inglês, *Atomic Force Microscopy*) – Microscopia de Força Atômica;

AMX – amoxicilina;

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

AP – (do inglês, *acetaminophen*) – acetaminofeno;

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

B-R – solução tampão Britton-Robinson;

CAD (do inglês, *computer-aided design*) – desenho assistido por computador;

CB (do inglês, *carbon black*) – negro de fumo;

CE (do inglês, *counter electrode*) – contra eletrodo;

CEs – contaminantes emergentes;

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

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

E – potencial;

E2 – 17 β -estradiol;

ECSA (do inglês, *electrochemically active surface area*) – área superficial eletroquimicamente ativa;

EDS (do inglês, *Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy*) – Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X;

EIS (do inglês, *electrochemical impedance spectroscopy*) – espectroscopia de impedância eletroquímica;

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

E_{po} – potencial de pico de oxidação;

ETEs – estações de tratamento de efluentes;

FDM (do inglês, *fused deposition modeling*) – modelagem de deposição fundida;

FEG – SEM (do inglês, *Field Emission Gun – Scanning Electron Microscopy*) – Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo;

GC-MS (do inglês, *Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry*) – cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa

HPLC–DAD (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector*) – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplado com detector de arranjo de diodos;

I – corrente;

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;

I_{pa} – corrente de pico anódica;

I_{pc} – corrente de pico catódica;

I_{sw} – corrente resultante na voltametria de onda quadrada;

k^0_{obs} – (do inglês *heterogeneous electron transfer rate constant*) – constante de velocidade heterogênea;

KPFM (do inglês, *Kelvin Probe Force Microscopy*) – Microscopia de Força de Sonda Kelvin;

LC-HRMS (do inglês, *liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry*) – cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa de alta resolução;

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

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

MWCNT (do inglês, *multi-walled carbon nanotubes*) – nanotubos de carbono de paredes múltiplas;

P4 – progesterona;

PFASs – substâncias per e polifluoroalquil;

PLA (do inglês, *polylactic acid*) – ácido polilático;

PNS – Pesquisa Nacional de Saúde;

p-RE (do inglês, *pseudo-reference electrode*) – eletrodo de pseudo-referência;

R_{ct} (do inglês, *resistance to charge transfer*) – resistência a transferência de carga;

RE (do inglês, *reference electrode*) – eletrodo de referência;

R_s – (do inglês, *solution resistance*) – resistência da solução;

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

SD (do inglês, *standard deviation*) – desvio padrão;

SLA (do inglês, *stereolithography*) – estereolitografia;

SLM (do inglês, *selective laser melting*) – fusão seletiva a laser;

SPE (do inglês, *solid-phase extraction*) – extração em fase sólida;

SPCE (do inglês, *screen-printed carbon electrodes*) – eletrodos impressos de carbono;

STL (do inglês, *Standard Triangle Language*) – linguagem de triângulo padrão;

SUS – Sistema Único de Saúde;

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

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

XPS (do inglês *X-ray Photoelectron Spectroscopy*) – espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X;

WE (do inglês, *working electrode*) – eletrodo de trabalho.

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 18 |
| 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 19 |
| 2.1 | CONTAMINANTES EMERGENTES | 19 |
| 2.1.1 | Acetaminofeno (AP) | 20 |
| 2.1.2 | 17 β -estradiol (E2)..... | 23 |
| 2.1.3 | Determinação simultânea de CEs | 26 |
| 2.2 | IMPRESSÃO 3D DE SENSORES..... | 27 |
| 2.3 | ATIVAÇÃO ELETROQUÍMICA (PLA/CB)..... | 30 |
| 3 | OBJETIVOS | 32 |
| 3.1 | OBJETIVO GERAL..... | 32 |
| 3.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 32 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS | 33 |
| 4.1 | REAGENTES E SOLUÇÕES..... | 33 |
| 4.2 | CONSTRUÇÃO E ATIVAÇÃO DO SENSOR..... | 33 |
| 4.3 | CARACTERIZAÇÃO DOS ELETRODOS IMPRESSOS EM 3D..... | 35 |
| 4.4 | MEDIDAS ELETROQUÍMICAS | 36 |
| 4.5 | MEDIDAS DE HPLC-DAD | 36 |
| 4.6 | PREPARO DAS AMOSTRAS | 37 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 39 |
| 5.1 | ATIVAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DO SENSOR | 39 |
| 5.2 | CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTRUTURAL DO PLA/CB | 44 |
| 5.3 | COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO SIMULTÂNEO DO AP E E2 | 50 |
| 5.4 | ESTUDO DO pH E DA NATUREZA DO ELETRÓLITO DE SUPORTE..... | 52 |
| 5.5 | ESTUDO DA VELOCIDADE DE VARREDURA..... | 55 |
| 5.6 | OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA | 58 |
| 5.7 | CURVA DE CALIBRAÇÃO | 61 |
| 5.8 | REPETIBILIDADE, ESTUDO DOS INTERFERENTES | 63 |
| 5.9 | DETERMINAÇÃO <i>IN LOCO</i> DE AP E E2 EM AMOSTRAS DE ÁGUAS COSTEIRAS | 66 |
| 6 | CONCLUSÃO | 71 |
| | REFERÊNCIAS | 73 |

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, são relatadas a ocorrência da contaminação contínua dos mais diversos ecossistemas em decorrência de fatores como a urbanização e a industrialização. Especialmente no Brasil, substâncias como o acetaminofeno (AP) e o 17 β -estradiol (E2) são frequentemente encontradas em diferentes ambientes aquáticos. Essas espécies podem causar efeitos adversos tanto ao meio ambiente quanto a saúde humana, possuindo potencial para agirem como desreguladores endócrinos. Embora uma variedade de técnicas vem sendo reportadas para o monitoramento dessas substâncias, poucas metodologias têm sido desenvolvidas para análises *in loco* desses contaminantes. Assim, justifica-se a necessidade do desenvolvimento de ferramentas analíticas portáteis e sensíveis para quantificar simultaneamente compostos emergentes em tempo real. Neste sentido, os métodos eletroanalíticos oferecem diversas vantagens como a sua simplicidade, sensibilidade, rapidez operacional e principalmente portabilidade e miniaturização de seus equipamentos.

A tecnologia de impressão 3D vem se consolidando como uma técnica simples, de fácil customização e baixo custo para o desenvolvimento de novos sensores eletroquímicos. A versatilidade desta tecnologia permite a rápida preparação sob demanda de dispositivos portáteis como microfluídicos, suportes vestíveis/flexíveis, sensores e biossensores a partir de matrizes de carbono. A impressão 3D a partir de filamentos termoplásticos, combinado com as propriedades condutoras dos materiais à base de carbono, apresenta-se como uma rota promissora para a fabricação rápida e de baixo custo de eletrodos 3D.

O filamento comercial de ácido polilático e negro de fumo (PLA/CB) acompanhado de pré-tratamentos eletroquímicos para construção de sensores 3D tem se destacado na literatura, o que pode ser justificado pelas suas características vantajosas como baixo custo e condutividade satisfatória. Assim, o uso deste tipo de material permite o desenvolvimento de novas ferramentas analíticas sensíveis, versáteis, reprodutíveis, rápidas, com ótima precisão e portáteis para o monitoramento *in loco* de substâncias de interesse ambiental.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES

O aumento significativo da população tem estimulado o crescimento socioeconômico global como também a geração de resíduos. Conseqüentemente, a presença de produtos farmacêuticos, agroquímicos, ftalatos e desreguladores endócrinos vem sendo reportada em diversas matrizes ambientais [1,2]. Esses compostos químicos são atualmente referidos como contaminantes de preocupação emergente (CEs) pelas comunidades científica e legislativa [3]. Os CEs são definidos pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) como uma nova substância química ou material para o qual não existem normas de saúde publicadas e se apresenta como uma ameaça percebida, potencial ou real para a saúde humana e meio ambiente [4].

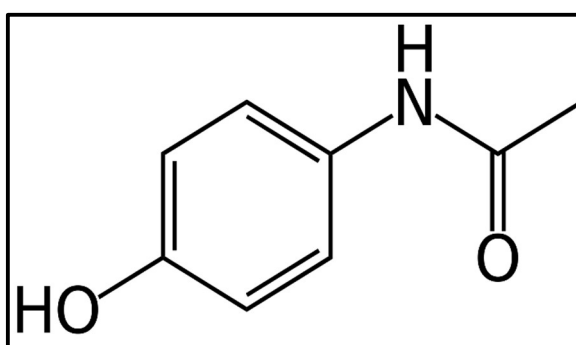
Os CEs podem alcançar os diversos compartimentos ambientais por meio de diferentes rotas, sendo as estações de tratamento de esgoto as principais fontes de dispersão. Isso ocorre devido ao tratamento e gestão ineficaz de efluentes combinado com a falta de rigor na fiscalização regulatória, contribuindo diretamente para a inserção de contaminantes emergentes em ambientes aquáticos [5–7]. Assim, pesquisas estão sendo desenvolvidas para monitorar essas espécies. Os trabalhos reportados na América do Sul revelam níveis mais elevados de concentração de CEs em ambientes aquáticos em comparação com outros continentes [8,9]. Em especial no Brasil, o qual detém uma significativa parcela de 18% em relação ao total de 31% dos recursos de água doce na América Latina [8,10]. Os dados coletados neste país indicaram a presença de atenolol, ibuprofeno, cefalexina, bisfenol A e principalmente altas concentrações de acetaminofeno (do inglês, *acetaminophen* – AP), 17 α -etinilestradiol e 17 β -estradiol (E2) na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ em águas superficiais, costeiras e rios [3,8].

Portanto, a presença desses compostos e seus impactos tanto na saúde humana quanto na de animais tem se tornado um tema de preocupação pública e ambiental. Em seres humanos, problemas como cânceres de útero, tireoide, próstata e mama, além de complicações na fertilidade das mulheres, podem ser causados por estes contaminantes. Já em biomas aquáticos, a feminização das espécies, mudanças comportamentais, distúrbios neurológicos, reprodutivos e imunológicos são os principais problemas [11,12]. Destaca-se assim, a urgência de ações efetivas para controlar os impactos adversos desses contaminantes emergentes em ambientes aquáticos.

2.1.1 Acetaminofeno (AP)

Acetaminofeno (paracetamol ou N-acetil-*p*-aminofenol) (AP) (Figura 1) é considerado o medicamento anti-inflamatório não esteroide mais utilizado no mundo. Quando metabolizado, pode ser convertido em *p*-aminofenol e N-acetil-*p*-benzoquinonaimina gerando propriedades analgésicas e antipiréticas. É indicado para tratar problemas tais como febre, resfriado, dores de cabeça e musculares [13–15].

Figura 1. Estrutura química do acetaminofeno.



O consumo de AP vem alavancando gradualmente nos últimos tempos, com uma produção em cerca de 200 mil toneladas por ano [16,17]. Além disso, a recente pandemia global da Covid-19 (SARS-CoV-2) contribuiu diretamente para o aumento da ingestão deste medicamento [18]. O AP tornou-se particularmente importante durante a pandemia, já que medicamentos como o ibuprofeno foram inicialmente contraindicados para os pacientes [19]. No entanto, o consumo exacerbado deste medicamento tornou-se tema de preocupação entre os órgãos de fiscalização. Considerando que o AP pode ser vendido sem receita médica em países como o Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) observou o uso indiscriminado deste medicamento para alívio de reações após a vacinação contra a Covid-19 [20–22]. Assim, devido ao aumento gradual nos últimos anos tanto no consumo quanto nas vendas, o AP vem sendo encontrado no meio ambiente.

O AP pode chegar ao meio ambiente por diversas vias. Após a ingestão, o AP pode ser excretado tanto em sua forma nativa quanto metabolizada [13,23,24]. Majoritariamente, o AP é liberado em efluentes de empresas farmacêuticas e também através do descarte inadequado de excedentes e medicamentos vencidos em pias ou vasos sanitários [25]. No Brasil, o AP pertence a lista de contaminantes emergentes que se apresentam como as maiores ameaças para o ambiente aquático, sendo principalmente detectado em regiões do Rio Grande do Sul e de

São Paulo. Esse composto possui uma frequência de detecção em torno de 32% em relação aos principais contaminantes emergentes, sendo o terceiro mais detectado em regiões brasileiras [26]. O AP é persistente em ambiente natural, tem potencial para atuar como desregulador endócrino e inflige impactos negativos em diferentes ambientes [24]. Em ecossistemas aquáticos, é um dos principais causadores do aumento da mortalidade e alteração nos hormônios sexuais dos animais, impactando diretamente no desenvolvimento e procriação das espécies [27,28]. Além disso, o consumo por meio da água e dos alimentos infectados pode causar efeitos significativos à saúde dos seres humanos. A exposição a longo prazo pode resultar em câncer, perturbação endócrina, resistência a antibióticos e várias doenças crônicas [24].

Okuyama e co-autores [29] realizaram um estudo com o objetivo de identificar e analisar casos de overdose associados à exposição de AP no Brasil. Os dados apresentados mostraram que entre os anos de 2017 a 2020 ocorreram cerca de 5.666 internações em hospitais do Sistema Único de Saúde (SUS) em decorrência das intoxicações por AP. Nas regiões estudadas, a maior incidência dos casos foi nas regiões Sul e Sudeste. No estado do Paraná, a incidência foi 3,3 vezes maior (67,2 casos por milhão de habitantes), enquanto em Santa Catarina foi 3,0 vezes maior (61,6 casos por milhão de habitantes), em relação à média nacional. Assim, torna-se de extrema importância o desenvolvimento de técnicas de baixo custo e sensíveis para o monitoramento dessa substância.

Entre as diferentes técnicas analíticas reportadas na literatura para a determinação de AP, destacam-se a cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa, eletroforese capilar e eletroquímica [30–32]. Em relação a análise por técnica eletroquímica, o AP exibe excelentes propriedades redox, pois possui em sua estrutura a presença de um grupo fenol, o qual é suscetível a processos reversíveis durante as análises. Este processo ocorre por meio da reação de dois elétrons e dois prótons, resultando em sua oxidação para N-acetil-*p*-benzoquinonaimina [31,33].

Lisboa et al. (2023) [34] desenvolveram o primeiro dispositivo eletroquímico a partir da tecnologia de impressão 3D utilizando o filamento condutivo fabricado em laboratório baseado na matriz polimérica de ácido polilático (do inglês, *polylactic acid* – PLA) e grafite para a determinação simultânea de AP e amoxicilina (AMX) em amostras de urina, saliva e plasma. O sensor 3D foi comparado ao eletrodo de carbono vítreo e apresentou um desempenho superior, com uma transferência de carga cerca de 4 vezes maior. O aumento de corrente foi associado à rugosidade do sensor composta por folhas de grafite não uniformes, gerando um número maior de sítios ativos livres (3 vezes maior) em comparação ao valor do eletrodo de carbono vítreo. A curva de calibração foi obtida através das condições otimizadas por

voltametria de pulso diferencial (do inglês, *differential pulse voltammetry* – DPV) na faixa linear de trabalho de 4,0 a 12 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para ambos os analitos com limites de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*) de 0,80 e 0,51 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AMX e AP, respectivamente.

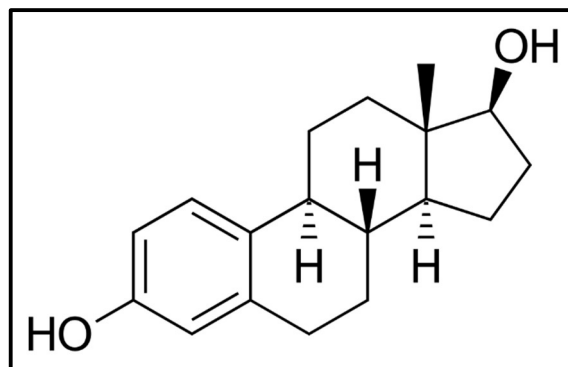
Em outro estudo, Crapnell e co-autores (2024) [35] combinaram as matrizes condutoras de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (do inglês, *multi-walled carbon nanotubes* – MWCNT) e negro de fumo (do inglês, *carbon black* – CB) com PLA para produzir um filamento condutor de alto desempenho. Este filamento foi utilizado no desenvolvimento de novos eletrodos de trabalho a partir da tecnologia de impressão 3D para determinação de AP e fenilefrina. Em comparação ao filamento vendido comercialmente, o eletrodo proposto forneceu uma maior sensibilidade e melhora na taxa de transferência de carga entre a superfície e a solução, proporcionado pela combinação das matrizes carbonáceas condutoras. A curva de calibração foi construída por DPV simultaneamente nas faixas lineares de 5,0 a 60 e 5,0 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com LOD de 0,04 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,38 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o AP e fenilefrina, respectivamente. O sensor proposto foi aplicado em amostras de produtos farmacêuticos.

Outro trabalho recente foi desenvolvido por Dong co-autores [36], onde foi otimizado um método analítico para a determinação simultânea de AP e diclofenaco em águas residuais por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplado com detector de arranjo de diodos (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector* – HPLC-DAD). A separação foi realizada usando uma coluna HSR C18 (250 mm \times 4,6 mm; 5 μm) com uma fase móvel composta por acetonitrila: ortofosfato de sódio di-hidrogenado na proporção de 60:40 v/v. A taxa de fluxo foi ajustada para 1 mL min^{-1} , e a detecção foi realizada em 243 nm para o AP e 276 nm para o diclofenaco. Os tempos de retenção para o AP e o diclofenaco foram de 2,39 e 4,39 minutos, respectivamente. A curva de calibração foi construída dentro da faixa de 0,01 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o AP e 0,02 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o diclofenaco. Os LODs para o AP e o diclofenaco foram de 0,003 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 0,006 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Vale ressaltar que este trabalho utilizou de uma grande quantidade de solvente para análise, indo contra os princípios da Química Verde e necessitando da infraestrutura de laboratório, não sendo possível a aplicação *in loco*.

2.1.2 17 β -estradiol (E2)

O estra-1,3,5(10)-trieno-3 conhecido como 17 β -estradiol (E2) (Figura 2) é um hormônio sexual feminino que desempenha um papel importante no ciclo reprodutivo e menstrual [37,38]. Este hormônio é encontrado no dia a dia principalmente em medicamentos, sendo essencial para a manutenção das características sexuais femininas, especialmente para casos de reposição hormonal ocasionados pela menopausa [39].

Figura 2. Estrutura química do 17 β -estradiol.



A deficiência de hormônios sexuais vem sendo um dos motivos para o aumento do risco de depressão entre mulheres pós-menopausa. Conforme as mulheres envelhecem e experimentam uma diminuição gradual na função física e hormonal, os efeitos do processo de depressão tendem a se agravar ao longo do tempo. Portanto, a reposição hormonal emergiu como uma medida de extrema importância para atenuar os sintomas depressivos associados a esse período da vida, aumentando o consumo de E2 nos últimos tempos [39,40]. Além de ser utilizado em terapia de reposição hormonal, o E2 também é encontrado em medicamentos contraceptivos [41]. Segundo estudos desenvolvidos no Brasil pela Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) e pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2019 cerca de 40,6% das mulheres entre 15 a 49 anos utilizaram a pílula anticoncepcional como método contraceptivo [42]. Portanto, esses medicamentos vêm sendo cada vez mais consumidos na tentativa de aprimorar a qualidade de vida entre as mulheres.

O aumento dos níveis desta substância, tanto na forma sintética quanto natural, é detectado em corpos d'água ao redor do mundo por ser considerada uma espécie bioacumulativa [43,44]. O E2 é excretado naturalmente pelos mamíferos, podendo chegar em biomas aquáticos principalmente pelo lançamento em esgoto bruto, descarte de medicamentos, produtos químicos ou também por águas residuais de indústrias farmacêuticas [10,45]. Apenas uma

pequena fração dos hormônios é removida em estações de tratamento de esgoto convencionais, de modo que os corpos d'água são continuamente contaminados [45].

Reichert et al. (2019) [8] realizaram um trabalho de revisão com o objetivo de reunir e resumir informações sobre contaminantes emergentes, genes de resistência e antibióticos em matrizes ambientais na América Latina. Assim, um dos compostos frequentemente detectado em ambientes aquáticos foi o E2, destacando a importância de seu monitoramento em fontes de água, nascentes ou reservatórios. No Brasil, especialmente na região Sul de Santa Catarina, foi encontrado o E2 ($39,77 \text{ ng g}^{-1}$) em cinco dos oito pontos de amostras do sedimento de um manguezal dentro da área urbana em região costeira. Em outro estudo realizado no Sul do Brasil, foram encontrados cinco CEs nas amostras de água de rio, sendo que a concentração mais alta entre as substâncias foi de E2 ($0,76 \text{ mg L}^{-1}$). Já no Nordeste analisaram a remoção de quatro estrogênios no efluente de cinco diferentes estações de tratamento, sendo que a presença de E2 foi detectada com a frequência de 12% nas amostras [45]. Portanto, a presença deste composto em águas brasileiras é tema de preocupação, principalmente por ser um país com infraestrutura precária em relação à cobertura de coleta e tratamento de esgoto.

O E2 é considerado um desregulador endócrino potente que em quantidades mínimas pode afetar a reprodução de organismos aquáticos, induzindo a feminização de machos através da inibição do desenvolvimento de órgãos sexuais [46,47]. Em seres humanos, o consumo desses animais contaminados pode acarretar em problemas no sistema reprodutivo, desequilíbrios na imunidade celular e nos sistemas humoral, cardiovascular, imunológico e nervoso [37,38,48].

Uma diversidade de técnicas analíticas pode ser empregada para detectar e quantificar E2, como por exemplo, a cromatografia líquida de alta eficiência, espectroscopia Raman e de fluorescência e técnicas eletroquímicas. No que diz respeito as propriedades redox do E2, é observada a oxidação da molécula com a transferência de um próton e um elétron. Isso se deve à oxidação irreversível do grupo hidroxila presente no anel aromático do E2 para originar o correspondente derivado cetona [38,48,49].

Com base nessas propriedades redox, Wong et al. (2019) [49] quantificaram E2 em amostras de urina sintética e água de rio utilizando um eletrodo impresso de carbono serigrafado sobre uma folha de poliéster modificado com filme de ftalocianina de cobre, CB e Nafion. O sensor eletroquímico apresentou ótimas intensidades de correntes de oxidação do analito, cerca de 12 vezes superior ao eletrodo impresso não modificado. Este ganho de corrente foi associado ao aumento da área superficial e da atividade catalítica na superfície do eletrodo modificado.

Assim, através da DPV, a curva de calibração para o E2 foi obtida na faixa de 80 nmol L⁻¹ a 7,3 µmol L⁻¹ com LOD de 5,0 nmol L⁻¹.

Duarte et al. (2022) [37] quantificaram sequencialmente progesterona (P4) e E2 em urina sintética, a partir de uma célula eletroquímica miniaturizada contendo eletrodos fabricados por impressão 3D combinando dois diferentes filamentos. Na região dos eletrodos foi utilizado o filamento condutor de ácido polilático e negro de fumo (PLA/CB) e na região isolante foi utilizado acrilonitrila butadieno estireno (ABS). O eletrodo de trabalho foi submetido sequencialmente a tratamentos químicos (solução de DMF) e eletroquímicos (solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹) aplicando potenciais anódicos e catódicos para conduzir a saponificação do PLA em ácido láctico, removendo a matriz polimérica inerte e expondo os sítios eletroativos do CB. As curvas de calibração foram feitas por DPV em solução tampão Britton-Robinson (pH 10), na faixa de 2,5 a 50 µmol L⁻¹ para E2 e 12,5 a 75,0 µmol L⁻¹ para P4 com LODs de 0,31 e 4,2 µmol L⁻¹ para E2 e P4, respectivamente.

Musa e co-autores (2023) [50] utilizaram um eletrodo impresso comercial modificado com óxido de grafeno reduzido e nanotubos de carbono decorados com nanopartículas de ouro (rGO-AuNPs/CNT/SPE) para a determinação de E2 em amostras de água potável. As nanopartículas de ouro foram produzidas por meio de um método ecológico que utiliza extrato de planta, eliminando a necessidade de produtos químicos. O rGO-AuNPs/CNT/SPE apresentou uma melhora significativa em comparação com o SPE não modificado e o GO-CNT/SPE, devido ao aumento da área superficial e condutividade do sensor. A curva de calibração foi realizada na faixa de 0,05 a 1,0 µmol L⁻¹ por DPV em solução tampão Britton-Robinson (pH 5,0), e o LOD obtido para E2 foi de 3,0 nmol L⁻¹.

Vale ressaltar que sensores eletroquímicos estão sendo desenvolvidos para determinação de contaminantes emergentes (CEs). No entanto, esses estudos não possuem o propósito de desenvolver um método de baixo custo para ser aplicada ao monitoramento *in loco* dos CEs, abrindo mão da inovação de utilizar novas tecnologias portáteis acopladas a equipamentos cotidianos, como *smartphones* e *tablets*, para análises em tempo real.

2.1.3 Determinação simultânea de CEs

Atualmente a determinação simultânea de CEs é encontrada em sua maioria utilizando técnicas analíticas como cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (do inglês, *gas chromatography coupled to mass spectrometry* – GC-MS) [10], cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa de alta resolução (do inglês, *liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry* – LC-HRMS) [51] e eletroanalítica.

Corrêa et al. (2021) [10] realizaram a determinação simultânea de 12 CEs (bisfenol A, diclofenaco, E2, estriol, estrona, 17 α -etinilestradiol, gemfibrozil, ibuprofeno, naproxeno, 4-nonilfenol, 4-octilfenol e AP) por GC-MS em águas superficiais da Bacia do Rio Paraopeba em Minas Gerais. O procedimento analítico foi validado e aplicado a 60 amostras de água superficial coletadas em quatro campanhas de amostragem ao longo da bacia hidrográfica. Para a construção das curvas de calibração, foram utilizados de 6 a 7 níveis de concentração, variando de 2,5 a 150 $\mu\text{g L}^{-1}$. O LOD variou de 1,1 a 4,3 ng L^{-1} e as recuperações da extração variaram de 46,1 a 107,1% para o nível de concentração mais baixo adicionado (10 ng L^{-1}). Para a extração dos compostos das amostras foi utilizada a filtração e extração em fase sólida (SPE). Os resultados mostraram um perfil de distribuição espacial dos compostos, bem como a influência da precipitação. Ibuprofeno (1683,9 ng L^{-1}), bisfenol A (1587,7 ng L^{-1}) e naproxeno (938,4 ng L^{-1}) ocorreram em maiores concentrações durante a estação chuvosa, enquanto durante a estação seca, destacaram-se as concentrações de bisfenol A (1057,7 ng L^{-1}), estriol (991,0 ng L^{-1}) e estrona (978,4 ng L^{-1}).

Em outro estudo, Rodrigues et al. (2024) [52] avaliaram a ocorrência de cinco antibióticos, três hormônios, cafeína e substâncias perfluoroalquil e polifluoroalquil (PFASs) de cadeias longas e curtas em amostras de água superficial e de ração obtidas de gaiolas de aquicultura no reservatório de Três Marias em Minas Gerais. O método utilizado de extração das amostras foi SPE seguido das análises por LC-HRMS. Ciprofloxacino e cafeína foram detectados em todas as amostras de água superficial. Quatro PFASs foram detectados (9,40 – 15,2 $\mu\text{g L}^{-1}$) em níveis mais altos do que os relatados em estudos realizados na literatura. Os medicamentos farmacêuticos variaram de 0,7 ng L^{-1} (trimetoprima) a 389,2 ng L^{-1} (E2). A estrona (10,24 ng g^{-1}) e E2 (66,20 ng g^{-1}) também foram encontrados na ração analisada.

Filho e colaboradores (2024) [53] desenvolveram um método por SPE/GC/MS para a determinação simultânea de filtros UV (oxibenzona e octocrileno) e hormônios (estrona, E2 e estriol) em matrizes aquosas, bem como sua determinação em efluentes e canais de drenagem de chuva na cidade de Pelotas no Rio Grande do Sul. O método analítico desenvolvido

apresentou LODs para os cinco compostos na faixa de 0,015 a 0,022 $\mu\text{g L}^{-1}$. Aplicando o método otimizado, os filtros oxibenzona e octocrileno foram determinados em todas as amostras, enquanto os hormônios foram identificados em mais de 50% delas.

Em relação às técnicas eletroanalíticas, estas apresentam um grande potencial para determinação simultânea de poluentes, visto que possuem uma alta sensibilidade e seletividade [54–56]. Raymundo-Pereira et al. (2019) [57] produziram por serigrafia eletrodos de carbono descartáveis impressos em tela (do inglês, *screen printed carbon electrodes* – SPCE) para determinação simultânea de hidroquinona (HQ), AP e estradiol em amostras de água tratada de torneira. Os sensores foram submetidos a pré-tratamento em meio ácido (solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1}) para remover resíduos não condutores presentes na tinta de impressão, resultando no aumento de condutividade e desempenho eletroquímico. As curvas de calibração foram realizadas por DPV em solução tampão fosfato (pH 7,0) para HQ, AP e E2 com LODs de 185, 218 e 888 nmol L^{-1} , respectivamente, dentro de uma faixa linear de 0,5 a 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para os CEs.

A fabricação em laboratório de SPCE ainda é considerado um desafio entre os pesquisadores. Isso ocorre devido ao consumo de solventes para fabricação de tintas condutoras estáveis, acompanhado da dificuldade de aplicação em superfícies curvas (materiais 3D), alto custo, trabalho manual, limitação de *design* e baixa resistência mecânica dos materiais [58].

2.2 IMPRESSÃO 3D DE SENSORES

A tecnologia de impressão 3D parte de um *software* ou *scanner* para projetar o *design* digital auxiliado por um computador utilizando a impressão camada por camada para produzir novos dispositivos [59,60]. Este processo cria objetos tridimensionais através da deposição controlada de camadas de material guiada digitalmente. Inicialmente, é realizada a criação de um modelo virtual usando *software* de desenho assistido por computador (do inglês, *computer-aided design* – CAD), que é convertido em um arquivo denominado como linguagem de triângulo padrão (do inglês, *Standard Triangle Language* – STL). Este arquivo subdivide o modelo em seções triangulares com coordenadas específicas. Após ser carregado na impressora 3D, o arquivo .STL é transformado em um G-code por meio de um processo de fatiamento, convertendo o modelo 3D em múltiplas seções transversais 2D que são geradas em sequência pela impressora para formar o objeto final [61].

Os avanços relacionados à tecnologia de impressão 3D proporcionaram sua aplicação em diferentes áreas do cotidiano. Nas indústrias, alguns processos tradicionais como mistura de concreto, blocos de construção e mão de obra podem ser substituídos pela impressão 3D. Como vantagem, esta tecnologia proporciona o desenvolvimento econômico, baixa geração de resíduos, segurança ambiental, redução de tempo e personalização de designs arquitetônicos complexos [62]. Outro ramo que a tecnologia de impressão 3D vem sendo aplicada é na medicina clínica. A medicina regenerativa utiliza esta tecnologia para o desenvolvimento de diferentes partes do corpo humano, como o tecido cerebral, orelha, tecido ósseo, entre outros. Já no campo farmacêutico, é aplicada na produção de formas de dosagem de medicamentos. Além disso, esta tecnologia desenvolveu um papel muito importante durante a pandemia da Covid-19, sendo aplicada na fabricação de suporte das máscaras antivirais N-95 [63].

A impressão 3D também foi recentemente implementada em aplicações nas diferentes áreas da Química. Neste sentido, Agrawaal e Thompson (2021) [64] realizaram um trabalho de revisão que destacou as aplicações da impressão 3D em diferentes campos da Química Analítica. Na cromatografia, esta tecnologia foi aplicada para o desenvolvimento de colunas de diferentes empacotamentos. As camas impressas homogêneas foram propostas como uma alternativa para melhorar a eficiência cromatográfica, garantindo um empacotamento reproduzível, reduzindo a altura dos pratos teóricos. Outro trabalho reportado nesta revisão utilizou da impressão 3D para criar canais e tubos inovadores para colunas cromatográficas, que poderão ser preenchidos com maiores volumes de fases convencionais. Já para metodologias de extração, colunas de SPE impressas em 3D foram feitas a partir de filamentos de PLA e ABS para extração quantitativa de íons metálicos, incluindo Zn, Cd, Mn, Co, Ni, Pb e Cu em amostras de água natural, obtendo eficiência de extração superior a 99,2%. Devido à variedade de *design* proporcionada pela tecnologia de impressão 3D, também foram desenvolvidos um compósito poroso de poliuretano (revestimento interno) e ABS (revestimento externo) para construir uma coluna SPE. A impressão direta da coluna interna com material poroso e a eliminação de filtros porosos na extremidade da coluna reduziram a pressão de contra fluxo, permitindo assim uma maior taxa de carregamento de amostra na coluna.

No ramo da eletroquímica a impressão 3D trouxe avanços significativos, possibilitando o desenvolvimento de células, dispositivos, sistemas de análises e principalmente novos sensores eletroquímicos [65–67]. Um sensor eletroquímico 3D pode ser construído a partir de diferentes técnicas e composições. As técnicas de fabricação mais utilizadas incluem modelagem de deposição fundida (do inglês, *fused deposition modeling* – FDM),

estereolitografia (do inglês, *stereolithography* – SLA) e fusão seletiva a laser (do inglês, *selective laser melting* – SLM) [61]. Dentre essas técnicas, destaca-se a FDM, a qual é a mais empregada na pesquisa de desenvolvimento de novos dispositivos eletroquímicos completamente montados [61,68].

A FDM é utilizada na fabricação de objetos tridimensionais, através de um bico aquecido com deposição sucessiva de filamentos termoplásticos camada por camada [61,69]. A capacidade de *design* proporcionada por essa tecnologia cria inúmeras oportunidades para o desenvolvimento de novos materiais. Assim, podem ser fabricados em grande escala apresentando geometria personalizada, gerando uma quantidade mínima de resíduos e com baixo custo a partir de diferentes tipos de filamentos [59,70]. A chegada de filamentos condutores abriu caminho para aplicação da impressão 3D na fabricação de dispositivos eletroquímicos [71]. Os materiais poliméricos comumente utilizados no desenvolvimento de filamentos condutores são PLA e ABS, podendo ser combinados com diferentes materiais carbonáceos para melhorar as propriedades elétricas do material [72–74].

O PLA pode ser produzido em grande escala, sendo um material acessível e ambientalmente amigável, com temperatura de fusão de 195-230°C. Já o ABS é produzido em todo o mundo, tendo uma temperatura de extrusão entre 200-300°C e apresenta boas propriedades mecânicas com facilidade de processamento [64]. Diferentes tipos de materiais carbonáceos são reportados na literatura na composição de filamentos condutores. Um exemplo de material amplamente utilizado para compor esses filamentos são os nanotubos de carbono, eles possuem como característica alta condutividade, grande área de superfície, alta capacidade de adsorção e paredes laterais ajustáveis. Já os materiais a base de grafeno, são compostos que possuem alta área de superfície e elevada condutividade elétrica, podendo formar com sua estrutura derivados como óxido de grafeno, óxido de grafeno reduzido e pontos quânticos de grafeno [75]. Por fim, a maioria dos trabalhos reportados na literatura utilizam o CB como material condutor, sendo considerado um composto estável, com dimensões nanométricas, alta área superficial, boa condutividade elétrica e baixo custo [76,77].

Cardoso e colaboradores (2020) [60] publicaram um artigo de revisão com ênfase nas contribuições da tecnologia de impressão 3D para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos e dispositivos de detecção eletroquímica completos. Inicialmente, foi relatado o uso de um filamento de ABS/CB para fabricação de um eletrodo de trabalho para estudar diferentes padrões e orientações de impressão em relação ao desempenho eletroquímico do eletrodo. A aplicação dos filamentos a base de PLA foi relatada também para o uso em biossensores. A partir de um eletrodo de trabalho de PLA/grafeno seguido por

eletropolimerização para produzir nanocompósitos de óxido de grafeno reduzido na superfície do sensor, foi possível realizar a detecção eletroquímica de 1-naftol pela imobilização de fosfatase alcalina sobre a superfície tratada impressa em 3D. Por fim, outra aplicação abordada no trabalho de revisão foi a fabricação de um dispositivo completo denominado como “dispositivo de célula em chip”. Nesta célula, utilizou-se o filamento não condutor (PLA) para construir a estrutura e o polímero condutor (ABS/CB) foi aplicado para o desenvolvimento do arranjo de três eletrodos, eletrodo de trabalho (do inglês, *working electrode* – WE), contra eletrodo (do inglês, *counter electrode* – CE) e um eletrodo de referência (do inglês, *reference electrode* – RE).

Os sensores eletroquímicos 3D fabricados a partir de filamentos comerciais apresentam baixa condutividade. Isso se deve a alta resistência à transferência de carga do polímero presente no filamento e à baixa porcentagem de material condutor e aditivos metálicos, que podem variar de 15 a 30% no material. Portanto, opções para melhorar a cinética de transferência de carga em sensores impressos, como o condicionamento de superfície têm sido exploradas [78–80].

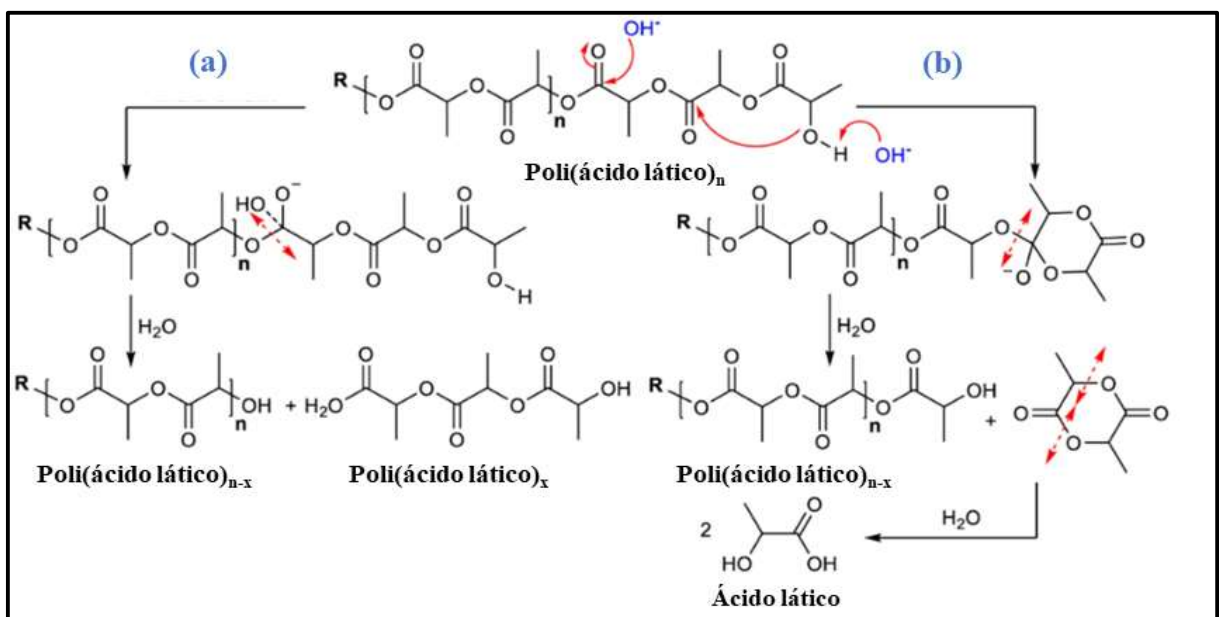
2.3 ATIVAÇÃO ELETROQUÍMICA (PLA/CB)

O uso de filamentos condutores comerciais tem se apresentado como uma rota atraente e promissora para o desenvolvimento de novos eletrodos, devido sua alta versatilidade e baixo custo. No entanto, como mencionado anteriormente, esses filamentos condutores possuem uma baixa porcentagem de material condutor em sua composição, que é constituída majoritariamente por polímeros isolantes necessitando assim de etapas de pré-tratamento de superfície para o uso em sensores.

Filamentos termoplásticos condutores à base de PLA têm se destacado no desenvolvimento de sensores. Esses materiais são economicamente viáveis e considerados biodegradáveis, possuindo assim características sustentáveis. Diversos tipos de condicionamento de superfície são reportados na literatura para contornar a resistência a transferência de carga proporcionada por este material [81,82]. Nesse contexto, é possível realizar a remoção do PLA por meio de polimento mecânico ou através de um processo eletroquímico, utilizando solventes [60,76]. Entre essas alternativas, a ativação eletroquímica por NaOH tem sido amplamente utilizada por remover seletivamente o PLA da superfície, garantindo a integridade do material condutor [83]. Este procedimento ocorre via reação de saponificação (Figura 3), onde envolve degradação intramolecular e a reação na extremidade

do polímero [60]. Em meio básico, o ataque nucleofílico do grupo hidroxila na extremidade sobre o grupo carbonila (b) resulta na formação de um anel de seis membros como intermediário, gerando a formação do lactídeo. Por fim, a molécula de lactídeo hidrolisa em dois ácidos lácticos livres. Entretanto, a cadeia intramolecular (a) sofre hidrólise de forma aleatória à medida que um íon hidroxila ataca os grupos carbonila dos ésteres, resultando na hidrólise e na formação de duas novas moléculas. Como consequência, a degradação do PLA resulta na exposição do material carbonáceo presente no filamento [82].

Figura 3. Reação de saponificação do PLA.



Fonte: Adaptado de Koterwa et. al [82], Copyright, Elsevier, 2024.

Desta forma, o desempenho analítico do sensor eletroquimicamente ativado é comprovado através principalmente da melhora da sua atividade electrocatalítica e sensibilidade de análise. Assim, os filamentos condutores acompanhados do tratamento eletroquímico se apresentam como uma rota promissora para o desenvolvimento de novos sensores eletroquímicos para o monitoramento *in loco* simultâneo de AP e E2.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver novos sensores eletroquímicos miniaturizados com um arranjo de três eletrodos a partir da tecnologia de impressão 3D para serem aplicados na determinação simultânea *in loco* de acetaminofeno e 17 β -estradiol em amostras de água das regiões costeiras da cidade de Florianópolis – SC.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir eletrodos a partir de filamentos comerciais de PLA/CB sobre uma base de ABS utilizando a tecnologia de impressão 3D;
- Realizar a ativação eletroquímica dos eletrodos em solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹;
- Caracterizar os eletrodos 3D por técnicas espectroscópicas, morfológicas e estruturais;
- Caracterizar eletroquimicamente a superfície do sensor 3D através da voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica;
- Avaliar o comportamento eletroquímico do acetaminofeno e 17 β -estradiol simultaneamente sobre o eletrodo 3D;
- Otimizar os parâmetros experimentais (pH, eletrólito de suporte, técnica voltamétrica);
- Construir a curva de calibração para ambos contaminantes emergentes nas condições otimizadas;
- Determinar faixa linear, limites de detecção e quantificação através da curva de calibração;
- Avaliar precisão do método eletroanalítico através de testes de repetibilidade;
- Realizar a quantificação *in loco* de acetaminofeno e 17 β -estradiol em amostras de água de regiões costeiras em Florianópolis usando o sensor proposto;
- Avaliar a exatidão através do método comparativo e testes de adição e recuperação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

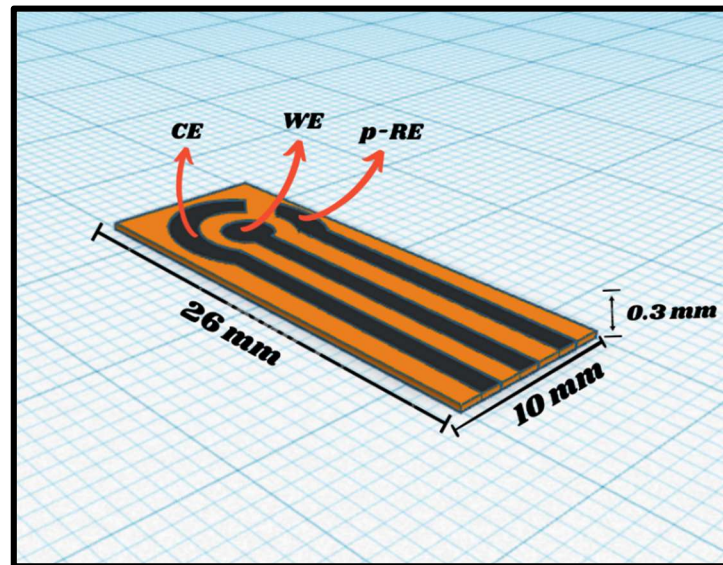
4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes utilizados foram de grau analítico. Os padrões de acetaminofeno, 17 β -estradiol e cloreto de hexaminrutênio (III) foram obtidos da Sigma-Aldrich/Merck (EUA). As soluções foram preparadas com água purificada com resistividade de 18,2 M Ω cm obtida por um sistema Milli-Q (Millipore, EUA). A solução estoque de AP e E2 foi preparada diariamente em etanol. Três soluções tampão foram testadas como eletrólito de suporte: Britton-Robinson (B-R) (H₃BO₃/CH₃COOH/H₃PO₄), McIlvaine (ácido cítrico/Na₂PO₄) e Clark Lubs (HCl/KCl). Os filamentos comerciais foram o ABS (Sethi3D, Brasil) e PLA/CB (ProtoPasta, EUA).

4.2 CONSTRUÇÃO E ATIVAÇÃO DO SENSOR

O sistema eletroquímico foi impresso verticalmente através da impressora 3D S3X (Sethi3D, Brasil) utilizando a FDM. A orientação vertical de impressão proposta influencia no aumento da corrente, tendo em vista que as camadas de impressão foram orientadas na direção que segue os caminhos condutores [84]. O *design* 3D proposto foi projetado através do *software* Tinkercad (Autodesk, EUA). A estrutura do eletrodo contém um eletrodo de trabalho (WE) (área = 0,07 cm²), um contra eletrodo (CE) e um eletrodo de pseudo-referência (do inglês, *pseudo-reference electrode* – p-RE) usando o filamento condutor (PLA/CB) sobre uma plataforma não condutora (ABS) de 10 mm \times 26 mm \times 0,3 mm (Figura 4).

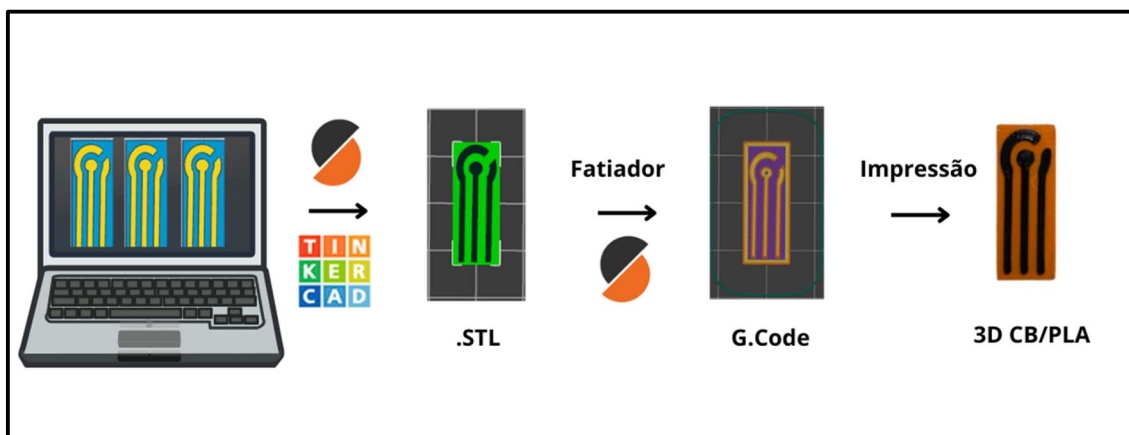
Figura 4. Representação gráfica das especificações do eletrodo 3D PLA/CB usando o *software* Tinkercad (Autodesk, EUA).



Fonte: O autor.

O processo de geração do arquivo .STL e G.Code da peça para orientação de impressão foi realizado com o *software* Prusaslicer (Prusa Research, República Tcheca). A impressão foi conduzida inicialmente para a base não condutora utilizando filamento de ABS empregando uma temperatura de extrusão de 235 °C e 100 °C para a mesa. Para o arranjo de três eletrodos com filamento condutor PLA/CB, a temperatura da mesa foi mantida em 100 °C e a temperatura de extrusão foi ajustada para 200 °C. As etapas para fabricação do eletrodo 3D estão representadas na Figura 5.

Figura 5. Processo de fabricação do 3D PLA/CB desde o projeto em *software* seguido da conversão em .STL, G.Code e impressão.



Fonte: O autor.

A ativação de superfície dos eletrodos 3D foi conduzida em meio alcalino através da reação de saponificação, resultando em um aumento tanto na exposição do eletrodo quanto nos sítios condutores [61,85]. Os eletrodos foram submetidos a diferentes tempos de aplicação de potencial (300, 900 e 1800 s) e a diferentes potenciais (+1,0, +1,2, +1,4 e +1,6 V) em uma solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹ através da técnica de cronoamperometria, buscando otimizar as condições ideais para eletroanálise [85].

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS ELETRODOS IMPRESSOS EM 3D

As análises de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (do inglês *X-ray Photoelectron Spectroscopy* – XPS) foram realizadas em espectrômetro de raios X modelo ESCA+ (Scienta Omicron, Suécia), equipado com monocromador, fonte de raios X Al K α (hv = 1486,6 eV) e analisador hemisférico de alto desempenho (EAC-2000). A linha base de cada espectro foi representada por funções de Shirley, as quais foram subtraídas dos espectros de XPS antes do ajuste das curvas. A deconvolução dos espectros de C 1s e O 1s das amostras foi obtido usando curvas Gaussianas-Lorentzianas assimétricas.

As medições de Microscopia de Força Atômica (do inglês, *Atomic Force Microscopy* – AFM) e Microscopia de Força de Sonda Kelvin (do inglês, *Kelvin Probe Force Microscopy* – KPFM) foram realizadas no equipamento Park Systems NX-10 (Suwon, Coreia), utilizando o modo de contato intermitente. A sonda utilizada foi da NanoWorld, modelo FMR em material de silício, com uma força nominal constante de 2,8 N m⁻¹ e uma frequência de ressonância nominal de 75 kHz.

As imagens foram geradas em 512 × 512 pixels, 0,3 Hz utilizando o *software* Gwyddion. As análises foram realizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (do inglês, *Field Emission Gun – Scanning Electron Microscopy* – FEG – SEM) acoplado com Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (do inglês, *Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy* – EDS) e tanto o espectro das regiões analisadas quanto os mapeamentos para cada elemento encontrado foram obtidos. As caracterizações foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura Thermo Fisher Quanta 650 FEG (Thermo Fisher Scientific, EUA). Tanto as medições de AFM, KPFM e FEG/SEM-EDS foram realizadas no LNNano – Laboratório Nacional de Nanotecnologia localizado em Campinas, São Paulo, Brasil.

A técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflectância total atenuada (do inglês, *Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared*

– ATR FT-IR) foi realizada usando um espectrômetro Spectrum-100 (Perkin-Elmer, EUA) no intervalo de 500 a 4000 cm^{-1} .

4.4 MEDIDAS ELETROQUÍMICAS

As análises eletroquímicas em laboratório foram conduzidas em um potenciostato PalmSens 4 (Palm Instruments BV, Países Baixos) e as medidas *in loco* foram realizadas em um potenciostato portátil Sensit Smart (Palm Instruments BV, Países Baixos). Os experimentos eletroquímicos foram realizados com o sensor 3D composto por três eletrodos: um eletrodo de trabalho, um contra eletrodo e um eletrodo de pseudo-referência (Figura 4), todos fabricados a partir do mesmo material PLA/CB. Os estudos voltamétricos foram realizados simultaneamente para o AP e E2. O eletrólito de suporte otimizado foi a solução tampão Britton-Robinson (0,1 mol L^{-1} , pH 3,0). Para os ensaios, simulou-se uma célula eletroquímica contendo o eletrólito de suporte e alíquotas de AP e E2 em um balão volumétrico. Então, a solução foi gotejada (100 μL) na superfície do sistema eletroquímico.

A voltametria de onda quadrada (do inglês, *square wave voltammetry* – SWV) foi utilizada para a determinação simultânea de AP e E2. A varredura foi realizada no sentido anódico de +0,4 a +1,0 V com os parâmetros de frequência de 3,0 Hz, incremento de potencial de 5,0 mV e amplitude de 50 mV. A plataforma eletroquímica foi caracterizada por espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês, *electrochemical impedance spectroscopy* – EIS). Os espectros de EIS foram registrados no potencial de circuito aberto utilizando a sonda redox $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ 5,0 mmol L^{-1} em KCl 0,1 mol L^{-1} . Um valor de amplitude de 5,0 mV e uma faixa de frequência de 0,1 a 50,000 Hz foram aplicados.

4.5 MEDIDAS DE HPLC-DAD

A quantificação simultânea de AP e E2 em amostras de água por HPLC-DAD foram realizadas em um sistema HPLC da Série 1200 (Agilent Technologies, EUA), com degaseificador online e bomba quaternária. A separação foi realizada em uma coluna Luna C18 (tamanho de partícula de 5 μm , 150 mm, 4,6 mm, Phenomenex, EUA). A fase móvel foi empregada em um gradiente de água e acetonitrila (ACN), de 0 a 3,2 minutos, uma proporção de 13% de ACN e 87% de H_2O ; entre 3,2 e 8,5 minutos, aumentou-se a proporção de ACN até 20%, mantendo até 15 minutos; de 15 a 20 minutos retorna-se para condição inicial. O fluxo da fase móvel foi de 1,0 mL min^{-1} e pressão máxima de 400 bar. A temperatura da coluna foi

mantida em 25 °C. O volume de injeção das amostras foi de 10 µL, utilizando um amostrador automático. Os analitos foram monitorados em comprimento de onda de 240 nm para AP e 280 nm para E2. Para aquisição e tratamento de dados foi utilizado o *software* Chemstation (Agilent Technologies, EUA), versão Rev. B.04.03 fornecido pelo fabricante do equipamento.

4.6 PREPARO DAS AMOSTRAS

A coleta e análise das amostras de água foram realizadas em quatro regiões costeiras distintas de Florianópolis, Brasil (Figura 6): Ribeirão da Ilha (27°42'43.2"S 48°33'40.0"W), Lagoa do Peri (27°43'31.0"S 48°30'31.7"W), Costeira do Pirajubaé (27°38'31.6"S 48°31'33.5"W) e Lagoa da Conceição (27°36'25.2"S 48°27'40.5"W). A escolha dessas áreas foi baseada na identificação de locais de pesca tradicional ou cultivo de marisco e ostra, sendo suscetíveis aos impactos decorrentes da presença de CEs.

Figura 6. Regiões análise *in loco* e coleta de amostras em Florianópolis, Brasil. Os pontos marcados em vermelho indicam as áreas específicas: Lagoa da Conceição, Costeira do Pirajubaé, Ribeirão da Ilha e Lagoa do Peri.



Fonte: Google Maps (Google, EUA).

Para análise *in loco*, as amostras foram filtradas (25 μm) e uma alíquota de 1,0 mL da amostra de água foi avolumada em balão volumétrico (10 mL) com eletrólito de suporte (solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹, pH 3,0). Em seguida, 100 μL desta solução foi gotejada na superfície do 3D PLA/CB usando o potenciostato Sensit Smart acoplado a um *smartphone*. Similarmente, foram preparadas soluções estoque e armazenadas em frascos âmbar sob refrigeração (4 °C) para posterior análises eletroquímicas em laboratório usando o potenciostato PalmSens 4.

Para avaliação da exatidão do método analítico através do ensaio de adição e recuperação em laboratório, as amostras de água foram fortificadas com concentrações conhecidas de AP (3,0 e 6,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e E2 (9,0 e 18,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e submetidas ao mesmo preparo. Os dados foram obtidos usando as condições otimizadas de SWV com adições sucessivas de soluções padrão de AP e E2. Além disso, os resultados também foram comparados com os obtidos por HPLC, em que os mesmos procedimentos para o preparo de amostras foram adotados.

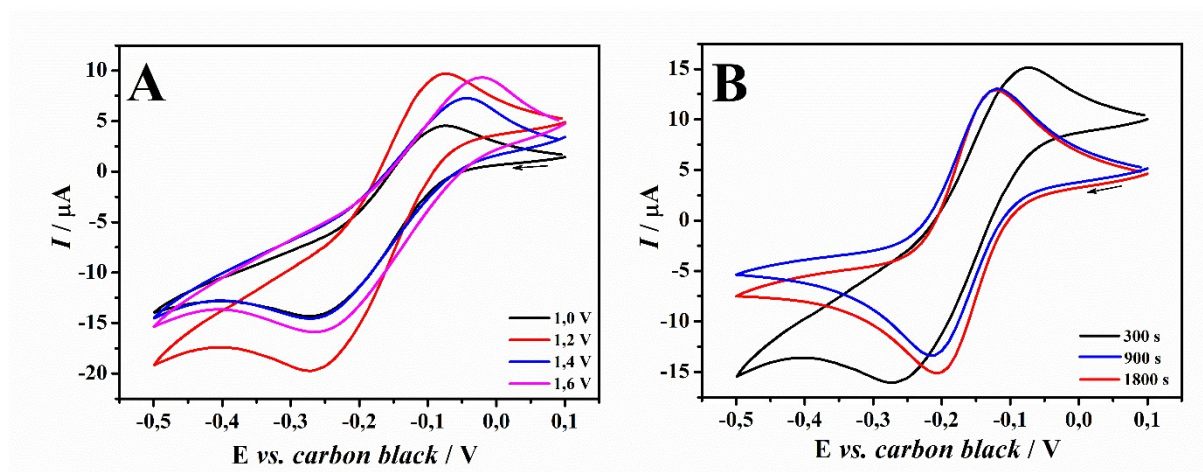
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ATIVAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DO 3D PLA/CB

A otimização da ativação da superfície do eletrodo 3D PLA/CB foi realizada através da técnica de cronoamperometria em solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹, ajustando os valores de potencial entre +1,0 a +1,6 V e o tempo de aplicação do potencial de 300 a 1800 s. Apenas potenciais positivos foram estudados, tendo em vista que este tratamento eletroquímico possui maior eficiência ao aplicar sobretensão em potenciais positivos na superfície do eletrodo [82].

A fim de avaliar a eficiência da ativação, foram realizadas análises com diferentes parâmetros de tempo e potencial utilizando técnicas de voltametria cíclica (do inglês, *cyclic voltammetry* - CV) e EIS com a sonda redox [Ru(NH₃)₆]³⁺ 5,0 mmol L⁻¹ (Figura 7). A sonda redox [Ru(NH₃)₆]³⁺ foi escolhida por ser considerado um sistema de esfera externa, onde o processo de transferência de elétrons é favorecido pelo mecanismo de tunelamento, que contribui com a reversibilidade do sistema [86,87].

Figura 7. Voltamogramas cíclicos para [Ru(NH₃)₆]³⁺ 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ ($\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$) utilizando os sensores 3D PLA/CB ativados em solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹ sob (A) diferentes potenciais de ativação: +1,0 V; +1,2 V; +1,4 V; +1,6 V; e +1,8 V, mantendo fixo 300 s de aplicação; e sob (B) diferentes tempos de aplicação de potencial: 300, 900 e 1800 s, mantendo fixo o potencial em +1,2 V.



Os resultados obtidos por CV (Figura 7A) exibiram uma melhora expressiva em relação a cinética de transferência de carga na superfície do sensor eletroquímico aplicando o potencial de ativação de +1,2 V. Esta melhora está relacionada diretamente a degradação do PLA através da reação de saponificação, resultando na exposição dos sítios condutores de CB na superfície do eletrodo. No entanto, é observado que para potenciais de ativação mais positivos ocorre a

oxidação excessiva da superfície de CB, provocando a diminuição nos valores de corrente de pico anódica (I_{pa}) e corrente de pico catódica (I_{pc}) do sensor 3D. Este comportamento está associado à formação de grupos funcionais de oxigênio como carbonila, hidroxila e carboxila [82,88]. Assim, a condição de +1,2 V para estudos posteriores foi escolhida.

O estudo da variação do tempo de aplicação do potencial de ativação de 300 a 1800 s (Figura 7B) foi realizado. Embora o tempo de 1800 s tenha apresentado uma melhor atividade catalítica, não se obteve um ganho de corrente significativo em relação ao tempo de 900 s (Tabela 1). Pode-se observar também a relação de separação de potencial de pico de oxidação (E_{po}) e de pico de redução (E_{pr}) (ΔE_p), obtendo valores semelhantes de 108 e 102 mV para 900 e 1800 s, respectivamente. Embora não sejam valores tão próximos do referencial teórico para uma reação reversível de um elétron (59,2 mV), esses dados são aceitáveis para superfícies resistivas como as dos eletrodos impressos em 3D [74].

A partir dos valores de ΔE_p obtidos, pode-se estimar o valor da constante de velocidade heterogênea (k^0_{obs}) através do método de Nicholson (Equação 1) [89,90]. Os valores de k^0_{obs} para a transferência de elétrons entre a sonda $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$ e os eletrodos 3D PLA/CB são apresentadas na Tabela 1.

$$k^0_{obs} = \left[2,18 \left(\frac{\alpha D z v F}{RT} \right)^{1/2} \right] \exp \left[- \left(\frac{\alpha^2 z F}{RT} \right) \Delta E_p \right] \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde:

- D é o coeficiente de difusão ($9,10 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ para $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$) [89,90];
- α é um coeficiente de transferência de elétrons (0,5);
- v velocidade de varredura aplicada;
- z é o número de elétrons transferidos na reação;
- F é a constante de Faraday;
- R é a constante dos gases ideais;
- T é a temperatura da solução;
- ΔE_p é a separação de potencial pico a pico.

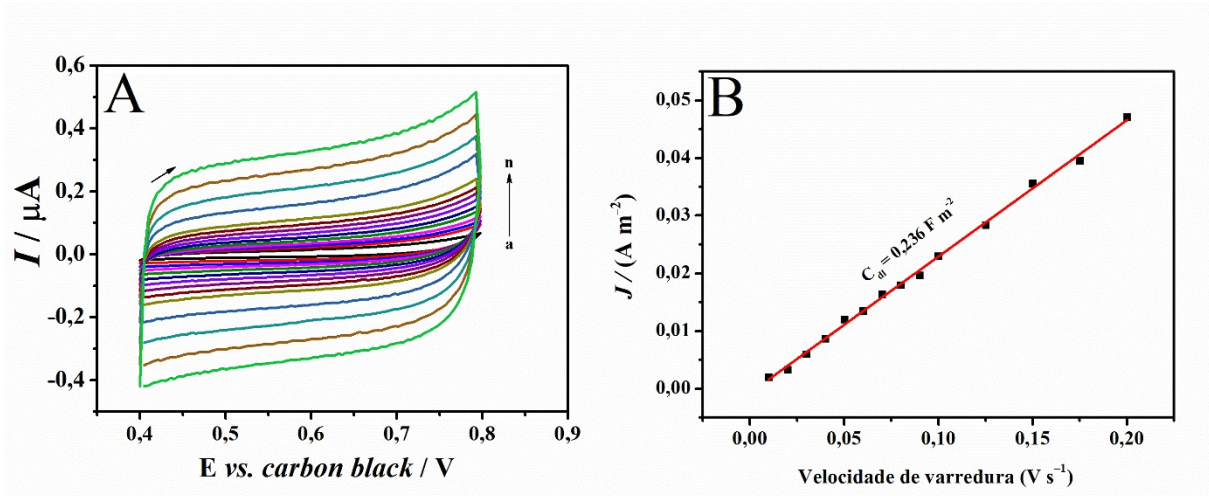
A partir dos valores de k^0_{obs} obtidos, observa-se que o processo de transferência de elétrons foi fortemente bloqueado para o tempo de ativação em 300 s, provavelmente devido ao baixo tempo de exposição à ativação eletroquímica, resultando em uma baixa degradação do PLA, o que gerou um baixo valor de k^0_{obs} para o ensaio. Após a aplicação do processo de condicionamento de superfície em maiores tempos, foi observado um aumento no valor de k^0_{obs} , indicando uma maior exposição do CB e degradação do PLA, contribuindo diretamente com o aumento da transferência de carga. Os valores tanto para 900 quanto para 1800 s ($2,27 \times 10^{-3}$ e $2,4 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$, respectivamente) foram muito próximos, não se obtendo um ganho expressivo em relação ao dobro do tempo aplicado. Portanto, o potencial de +1,2 V durante o tempo de 900 s foi selecionado para a ativação eletroquímica do sensor 3D.

Tabela 1. Dados do estudo de ativação do sensor utilizando a técnica de CV para $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ ($v = 25 \text{ mV s}^{-1}$).

| Tempo (s) | Potencial (V) | $I_{\text{pa}}/I_{\text{pc}}$ (μA) | ΔE_p (mV) | k^0_{obs} (cm s^{-1}) |
|-----------|---------------|---|-------------------|---|
| 300 | 1,0 | 4,09 / 3,59 | 237 | - |
| | 1,2 | 7,53 / 7,39 | 225 | $7,26 \times 10^{-4}$ |
| | 1,4 | 5,17 / 4,89 | 252 | - |
| | 1,6 | 4,49 / 4,13 | 261 | - |
| 900 | 1,2 | 14,02 / 13,57 | 108 | $2,27 \times 10^{-3}$ |
| 1800 | | 14,31 / 14,21 | 102 | $2,40 \times 10^{-3}$ |

Após a otimização dos parâmetros de ativação, foi inicialmente realizado o estudo do fator da área superficial eletroquimicamente ativa (do inglês, *electrochemically active surface area* – ECSA) com o objetivo de estimar a superfície específica ($A_{\text{elet.}}$) do eletrodo 3D. Este estudo foi realizado em termos da capacitância de dupla camada do sistema, negligenciando o comportamento faradaico em relação a variação da velocidade de varredura. A corrente elétrica medida ao varrer o potencial do eletrodo é diretamente proporcional à quantidade de superfície exposta ao eletrólito. Portanto, a estimativa precisa da área superficial ativa é excepcionalmente importante para avaliar o desempenho do eletrodo. Quando o sensor é submetido a diferentes valores de velocidade de varredura, espera-se que a densidade de corrente não faradaica evolua linearmente fornecendo a capacitância da dupla camada elétrica ($C_{\text{dl}} = \frac{I}{v}$) (Figura 8) [91–94].

Figura 8. (A) Voltamogramas cíclicos em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em diferentes velocidades de varredura (a) 10; (b) 20; (c) 30; (d) 40; (e) 50; (f) 60; (g) 70; (h) 80; (i) 90; (j) 100; (k) 125; (l) 150; (m) 175 e (n) 200 mV s⁻¹ e (B) Gráfico da densidade de corrente vs. velocidade de varredura.



O fator ECSA foi estimado a partir da Eq. (2):

$$ECSA = \frac{C_{dl}}{C_{dlref}} \quad \text{Eq. (2)}$$

Onde:

- ECSA é a área superficial eletroquimicamente ativa;
- C_{dl} é a capacitância da dupla camada elétrica ($C_{dl} = 0,0236 \text{ mF cm}^{-2}$);
- C_{dlref} é a capacitância específica do PLA/CB ($C_{dlref} = 0,007 \text{ mF cm}^{-2}$) [74].

A capacitância específica do material é diretamente proporcional à área eletroativa na superfície do eletrodo, podendo ser medida por CV. Neste sentido, Shergill e co-autores [74] estudaram a influência dos parâmetros de impressão na atividade eletroquímica de eletrodos impressos em 3D com filamento de PLA/CB. A partir da variação da temperatura de impressão, foram realizadas medições de capacitância específica (C_{dlref}) por CV em diferentes temperaturas. Em 200 °C o eletrodo apresentou C_{dlref} de 0,007 mF cm⁻². Assim, a partir desse valor obtido no estudo foi calculado a ECSA para o eletrodo 3D PLA/CB.

Portanto, com base no valor de ECSA obtido foi possível determinar $A_{\text{Elet.}}$ (Equação 3):

$$A_{\text{Elet.}} = A_{\text{Geom}} \times \text{ECSA} \quad \text{Eq. (3)}$$

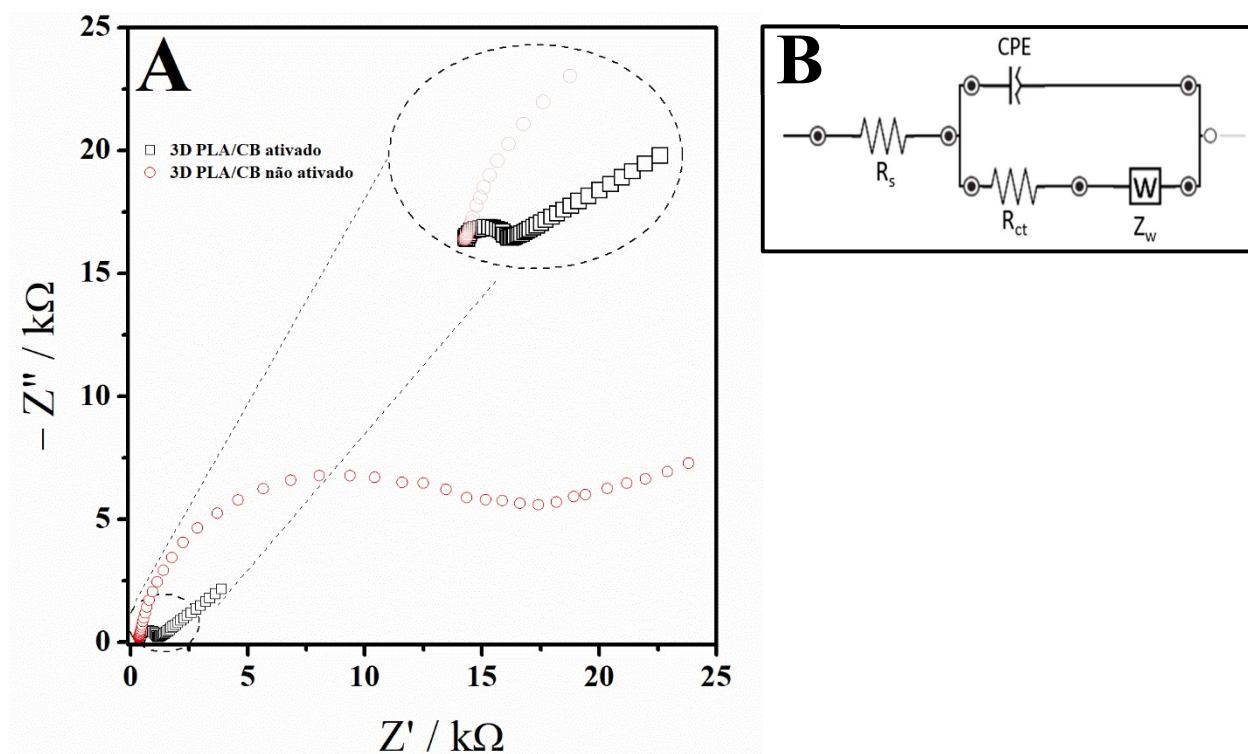
Onde:

- $A_{\text{Elet.}}$ é a área superficial específica do eletrodo;
- $A_{\text{Geom.}}$ é a área geométrica do eletrodo ($A_{\text{Geom}} = 0,07 \text{ cm}^2$);
- ECSA é a da área superficial eletroquimicamente ativa ($\text{ECSA} = 3,37$).

O valor obtido para $A_{\text{Elet.}}$ foi de $0,236 \text{ cm}^2$, com aumento em cerca de 4 vezes mais de sítios ativos em relação a área geométrica do eletrodo recém impresso. Este ganho de área está associado ao efeito da ativação eletroquímica em meio básico, aumentando a rugosidade e exposição dos sítios condutores carbonáceos da superfície do eletrodo.

Por fim, foi realizado o estudo de EIS para o sensor 3D PLA/CB para se obter maiores comprovações sobre a melhora no desempenho eletroquímico, por meio dos valores obtidos de resistência a transferência de carga (do inglês, *charge transfer resistance* – R_{ct}). Os valores de R_{ct} obtidos a partir dos gráficos de Nyquist (Figura 9) foram de 14 e $2,3 \text{ k}\Omega$ para o eletrodo sem e com ativação, respectivamente. A diferença entre os valores de R_{ct} encontrados está relacionada com a quantidade de PLA presente na superfície do eletrodo. Após a ativação, obteve-se a presença de uma maior exposição das partículas de CB, devido a degradação do PLA, melhorando o desempenho do sensor exibindo uma menor resistência a transferência de carga.

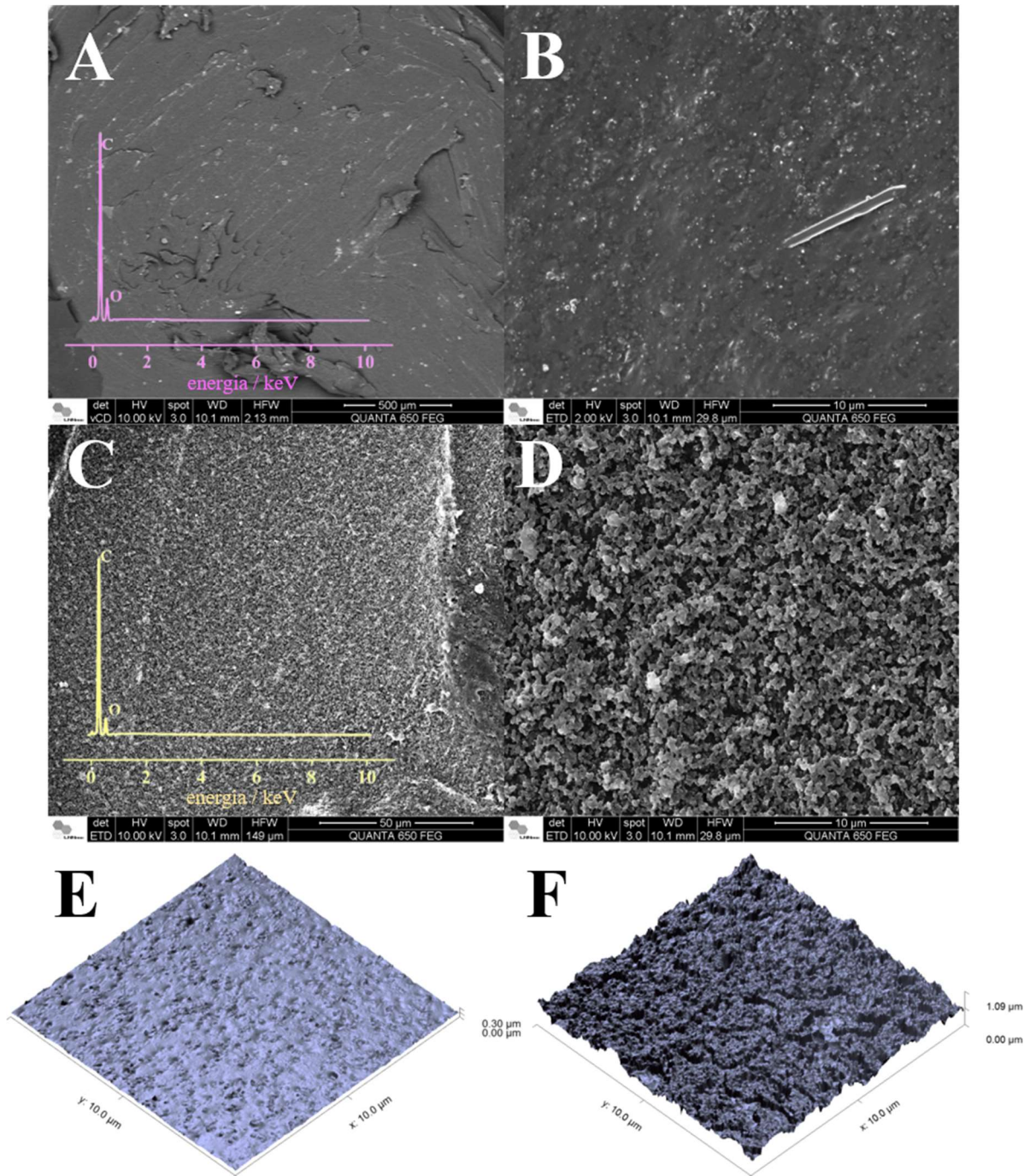
Figura 9. Diagramas de Nyquist utilizando a sonda $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; (B) Modelo do circuito de Randles para os eletrodos, onde: R_s é a resistência da solução; R_{ct} é a resistência à transferência de carga, Z_w é a impedância de Warburg e CPE é o elemento de fase constante.



5.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTRUTURAL DO PLA/CB

Os eletrodos 3D PLA/CB eletroquimicamente ativados foram caracterizados morfologicamente por FEG-SEM acoplado as técnicas de EDS e AFM. A Figura 10 (A-D) apresenta as imagens obtidas utilizando FEG-SEM em diferentes ampliações. Nas Figura 10A e 10B, observou-se que o PLA cobre o negro de fumo da superfície do eletrodo impresso 3D. Após o tratamento eletroquímico, observou-se a partir das Figura 10C e 10D (imagens ampliadas) que a superfície do eletrodo foi alterada, apresentando especificamente uma topografia porosa com estruturas de partículas expostas, o que é consistente com a remoção de polímero superficial pelo tratamento eletroquímico. O processo é repetido várias vezes para quebrar o PLA em cadeias poliméricas menores, por fim, em lactato. A reação de saponificação proporciona uma maior exposição das partículas de CB, melhorando o desempenho eletroquímico do sensor [82]. Adicionalmente, os espectros de EDS para o eletrodo 3D PLA/CB não tratado e tratado foram inseridos na Figura 10A e Figura 10C, respectivamente. A presença dos elementos carbono e oxigênio foram verificados nos espectros, conforme esperado.

Figura 10. Imagens de FEG dos eletrodos 3D PLA/CB (A-B) recém-impressos; e (C-D) após a ativação eletroquímica de +1,2 V *vs.* carbon black e imagens de AFM do 3D PLA/CB (E) recém-impresso e (F) ativado.



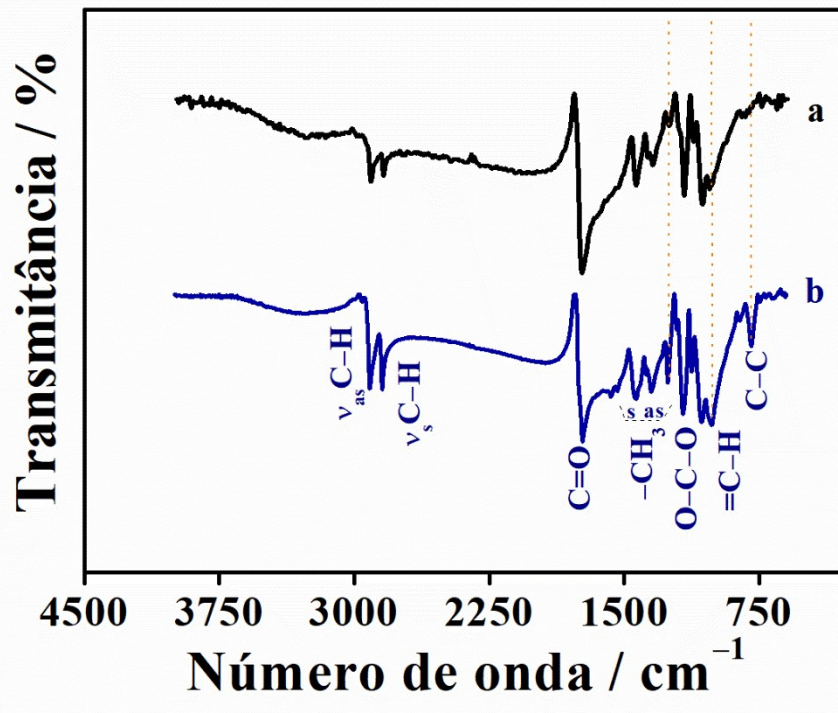
A topografia da superfície do sensor 3D PLA/CB ativado foi realizada pela técnica de AFM para entender melhor o impacto da ativação eletroquímica de +1,2 V *vs.* carbon black na superfície do eletrodo. As imagens de AFM são mostradas na Figura 10E e 10F. Após o processo de ativação um aumento na rugosidade da superfície pode ser observado: no eletrodo sem ativação, o valor de rugosidade foi de 19,26 nm (Figura 10E), enquanto no eletrodo submetido à ativação, foi de 114,1 nm (Figura 10F). A área superficial também aumentou de

108,3 μm^2 para 154,3 μm^2 e o pico-a-vale aumentou de 0,30 μm para 1,09 μm . O aumento tanto da área superficial quanto do pico-a-vale pode ser atribuído à ocorrência da reação de saponificação e a exposição dos sítios de CB [95,96].

A Figura 11 compara os espectros FTIR para os eletrodos 3D PLA/CB não ativado e ativado. No espectro do 3D-CB/PLA não ativado (espectro a) são observadas bandas em 2995 e 2947 cm^{-1} (representando o estiramento assimétrico e simétrico da ligação $\text{Csp}^3\text{-H}$), 1747 cm^{-1} (estiramento C=O), 1451 e 1361 cm^{-1} (deformação assimétrica e simétrica do $-\text{CH}_3$, respectivamente), 1198 e 1181 cm^{-1} (deformação simétrica e assimétrica do $-\text{C-O-C}$ em ésteres, respectivamente), 1128 e 1081 cm^{-1} (estiramento C-O em fases amorfas e cristalinas, respectivamente), e 866 e 752 cm^{-1} (estiramento C-C de fases amorfas e cristalinas) [97,98]. Essas bandas são características do PLA, uma vez que esse polímero se encontra majoritariamente na superfície do eletrodo recém-impresso.

Após o tratamento com solução de NaOH (espectro b), novas bandas surgiram em 795 cm^{-1} (C-C derivado da exposição do CB), 1013 cm^{-1} (C-H deformação angular fora do plano) e 1258 cm^{-1} (C-O derivado da ativação eletroquímica), indicando a presença de grupos funcionais diferentes do eletrodo 3D PLA/CB sem ativação, indicativos de oxidação superficial após o tratamento eletroquímico [99]. Além disso, uma banda em aproximadamente 3300 cm^{-1} é atribuída ao estiramento de O-H derivado de moléculas de água.

Figura 11. Espectros de infravermelho para (a) 3D PLA/CB não ativado e (b) 3D PLA/CB ativado. Em pontilhado estão presentes as bandas adquiridas pós-ativação eletroquímica.



Corroborando com a análise de FTIR, o XPS foi utilizado para caracterizar a composição química superficial do CB/PLA com e sem tratamento. O espectro Survey (Figura 12A e Figura 13A) de ambos apresentaram a contribuição de C 1s e O 1s localizados em 288 e 536 eV, respectivamente. A análise de faixa de energia de C 1s (Figura 12B), conduzida em alta resolução, revelou um espectro sutil composto por pelo menos quatro componentes distintos do eletrodo CB/PLA não tratado que apareceram em 283,9; 284,2; 285,9 e 288,0 eV. Essas atribuições foram compostas pelas energias de ligação de carbono grafítico, C-H, C=O e O-C=O, respectivamente [82]. O espectro de XPS de alta resolução de O 1s para o eletrodo não ativado é apresentado na Figura 12C. Em 533,5 eV, foi atribuído a O-C=O e em 535,3 eV é atribuído a H₂O adsorvida [100]. Entretanto, ao contrário do 3D PLA/CB não tratado, o espectro Survey (Figura 13A) para o eletrodo ativado apresentou uma maior quantidade de carbono que o eletrodo inativo. De fato, o espectro de alta resolução para C 1s mostrou que o carbono grafítico aumentou em intensidade (Figura 13B), sugerindo uma maior quantidade de material condutivo exposto na superfície do eletrodo após ativação eletroquímica, corroborando com as imagens de MEV e AFM (Figura 10). O espectro de alta resolução de O 1s (Figura 13 C) para o eletrodo ativado mostrou que as porções de C=O e O-C=O estão presentes em 531,7

eV e 533,5 eV [101]. Esses resultados revelaram que o processo de ativação inseriu porções de grupos carboxila no material condutor de negro de fumo.

Figura 12. Análise XPS para 3D PLA/CB não ativado. (A) espectro Survey, espectro de alta resolução do (B) C 1s e (C) O 1s.

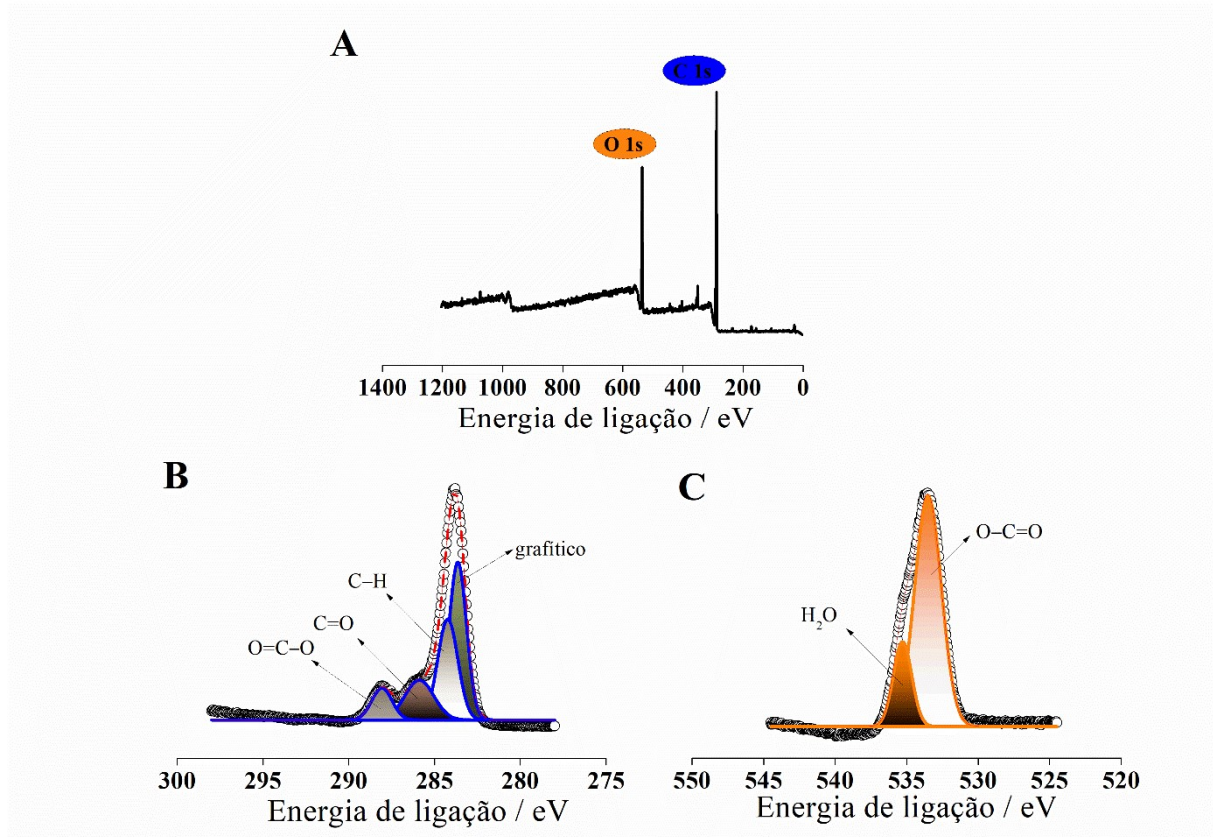
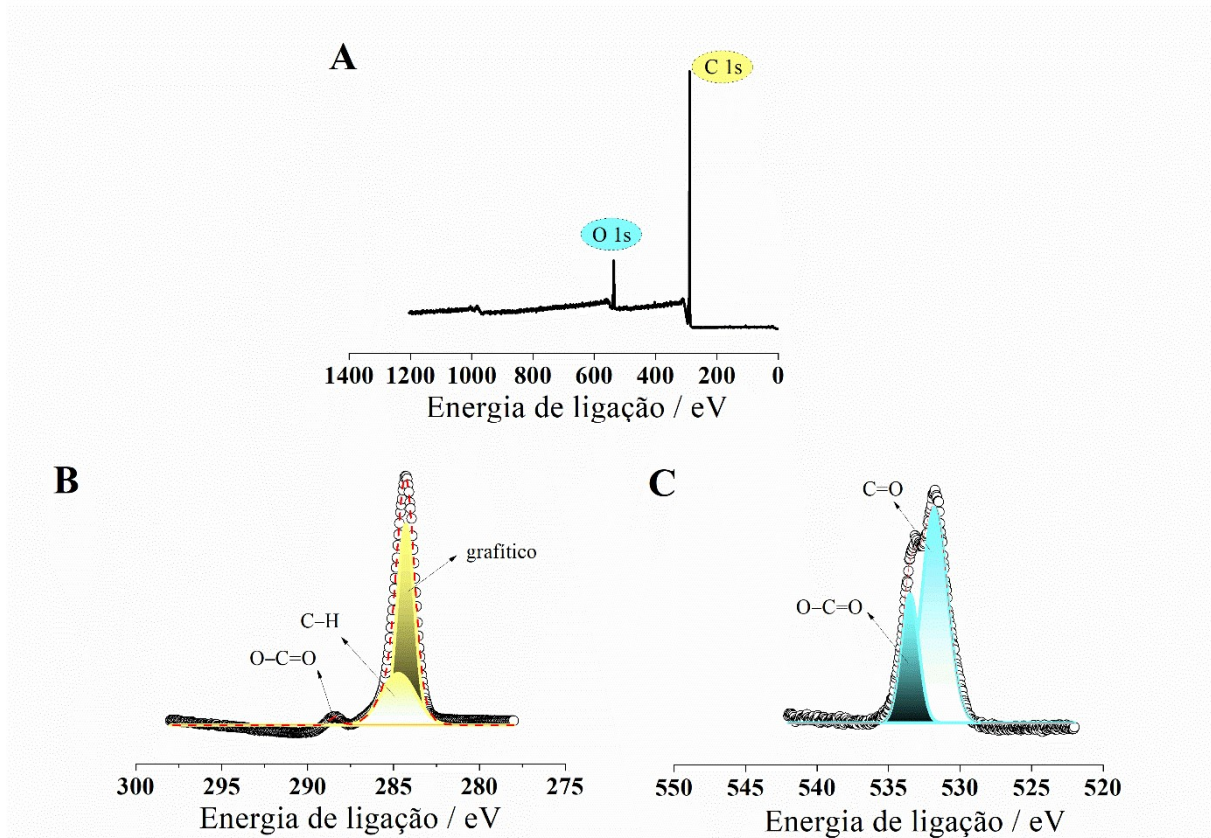
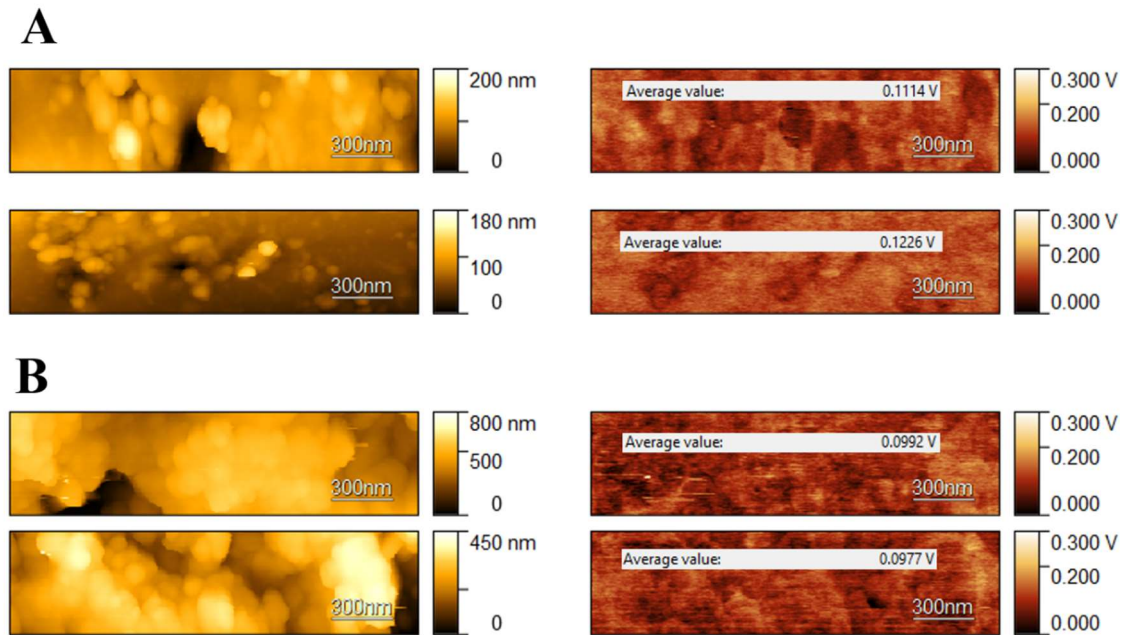


Figura 13. Análise XPS para 3D PLA/CB ativado. (A) espectro Survey, espectro de alta resolução do (B) C 1s e (C) O 1s.



A KPFM com resolução atômica pode mapear a topografia juntamente com as forças dependentes do potencial, fornecendo informações vitais sobre as propriedades de interação dos átomos da superfície [102]. Nesse sentido, a KPFM pode fornecer uma visão das propriedades eletrônicas de defeitos na superfície do semiconductor que podem influenciar as forças eletrostáticas entre a ponteira do equipamento e a amostra. Isso serve para caracterizar a diferença de potencial de contato local ou o potencial de superfície das amostras em escala nanométrica. Na Figura 14, o potencial médio de superfície foi obtido com uma diferença de potencial de contato (V_{CPD}) de 94 mV para o eletrodo após ativação eletroquímica em meio básico, enquanto o sensor recém impresso apresentou um valor de V_{CPD} de 117 mV. Este comportamento pode ser atribuído à baixa dispersão de carga na superfície do eletrodo, devido a geração de grupos funcionais oxigenados, resultantes do processo de ativação eletroquímica com a aplicação em potenciais positivos [103]. Esses resultados estão em concordância com as análises de FTIR e XPS, que também indicaram um aumento de grupos oxigenados após o tratamento.

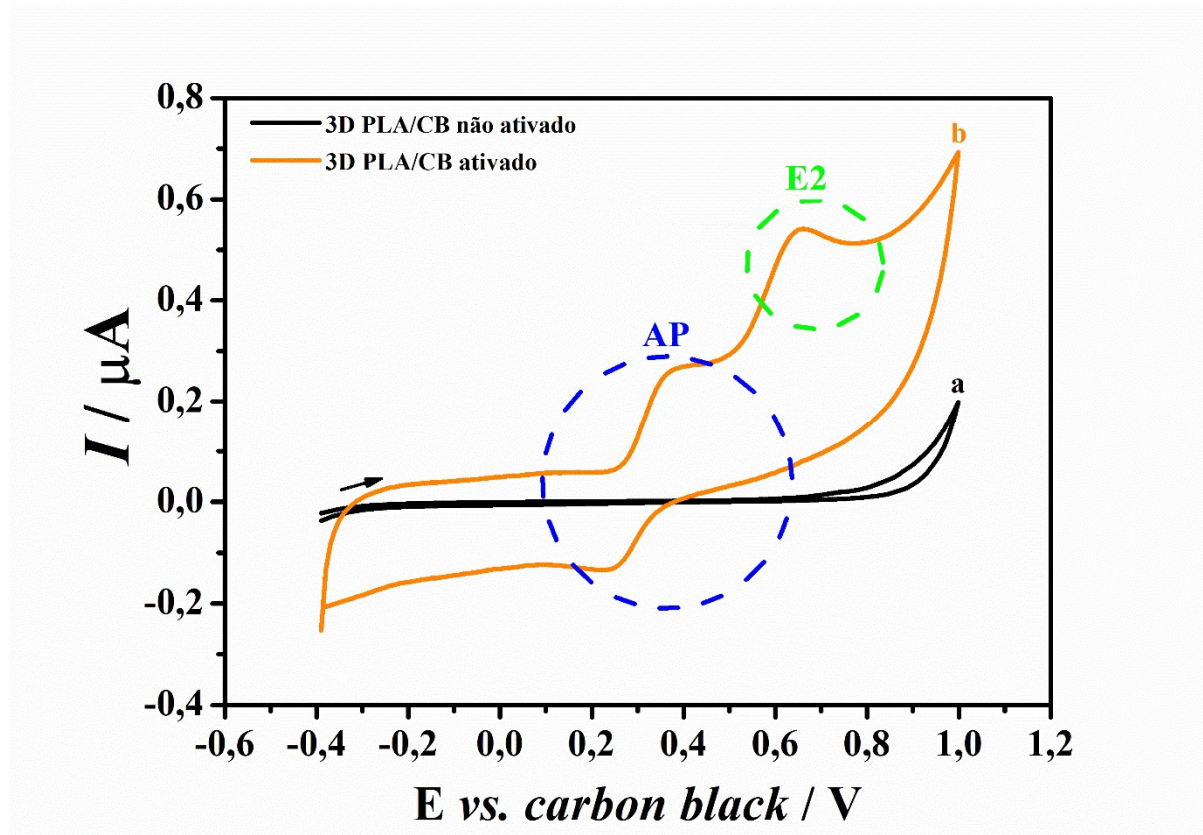
Figura 14. Imagens de KPFM para 3D PLA/CB (A) recém-impresso e (B) após ativação eletroquímica de +1,2 V vs. *carbon black*.



5.3 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO SIMULTÂNEO DO AP E E2

O comportamento eletroquímico do AP e E2 foi investigado simultaneamente a partir do 3D PLA/CB por CV. Os voltamogramas cíclicos para AP e E2 $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ foram obtidos em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) sobre o sensor sem e pós tratamento eletroquímico em uma faixa de potencial de $-0,4$ a $+1,0$ V (Figura 15).

Figura 15. Voltamogramas cíclicos para AP e E2 $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) usando diferentes eletrodos: (a) 3D PLA/CB não ativado e (b) 3D PLA/CB ativado. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



A partir da Figura 15, o voltamograma cíclico obtido para o AP no eletrodo 3D PLA/CB ativado apresentou pico de oxidação no potencial de $+0,37 \text{ V}$ e redução em $+0,23 \text{ V vs. carbon black}$. Mesmo apresentando sinais de oxidação e redução, o comportamento mecanístico do AP está associado a um sistema quase-reversível. Isto ocorre principalmente pela diferença dos potenciais pico a pico do voltamograma. Para um sistema reversível, o valor teórico de ΔE_p com o envolvimento de dois elétrons seria de $29,6 \text{ mV}$. Entretanto, o valor experimental de ΔE_p obtido para AP foi $\approx 140 \text{ mV}$, caracterizando-se assim como um sistema quase-reversível. Este processo gera a N-acetil-*p*-benzo-quinona-imina através da oxidação do grupo fenol do AP envolvendo dois prótons e dois elétrons, conforme descrito na literatura para estudos de CV [104,105]. Quanto ao comportamento eletroquímico do E2, apenas um pico de oxidação no potencial de $+0,61 \text{ V}$ foi observado. Este processo refere-se à oxidação irreversível do grupo hidroxila no anel aromático do E2, com a transferência de um próton e um elétron. Esta análise está em conformidade com os resultados de estudos de CV para E2 descritos na literatura [106].

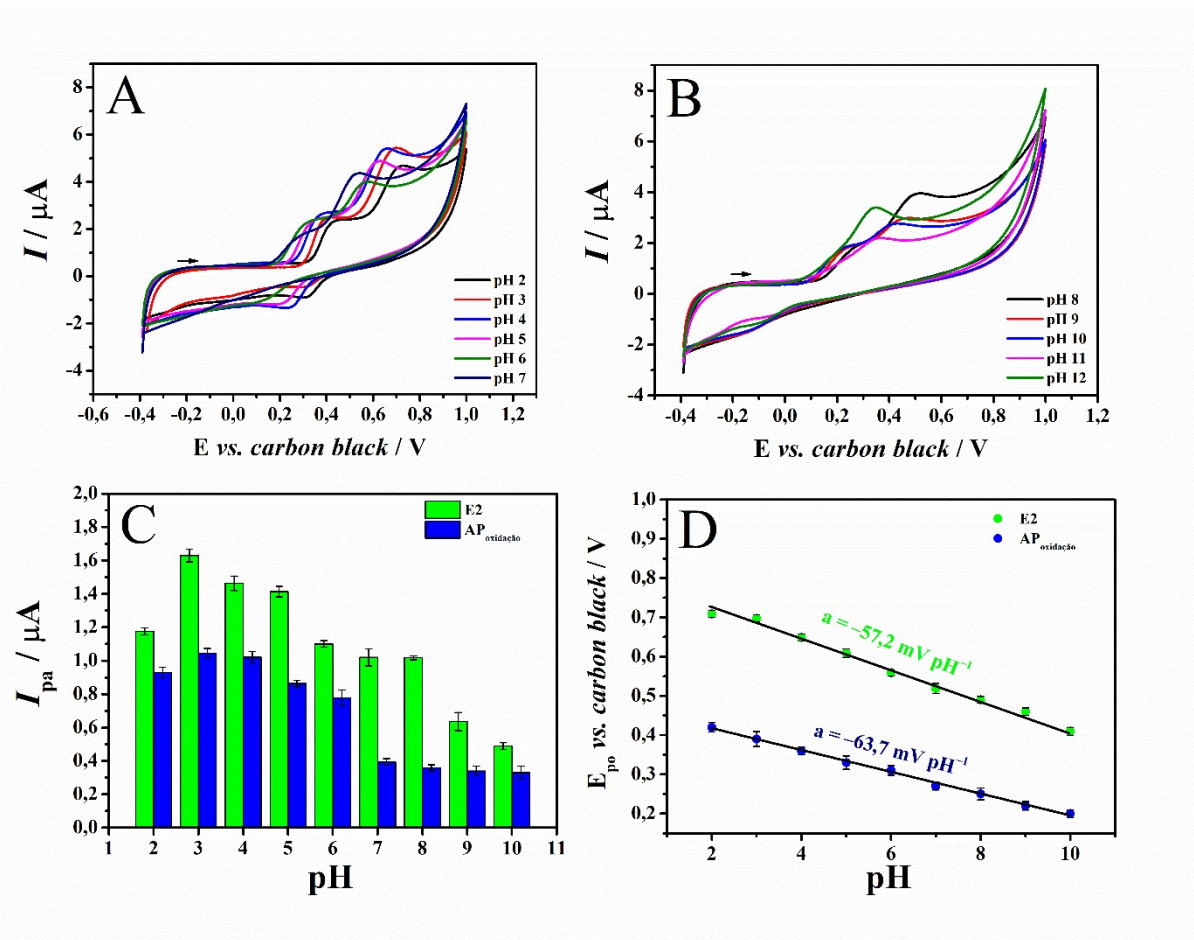
Em contrapartida, nenhum processo eletroquímico foi observado para o eletrodo 3D PLA/CB não ativado. Este comportamento está associado a grande quantidade de polímero presente na superfície do eletrodo após o processo de impressão. Por outro lado, um melhor

perfil voltamétrico foi obtido para sensor 3D ativado em meio básico. Este resultado é compatível com os estudos discutidos anteriormente, em relação a remoção do PLA e a exposição dos sítios ativos condutores de CB, obtendo uma melhora na resposta eletroquímica.

5.4 ESTUDO DO pH E DA NATUREZA DO ELETRÓLITO DE SUPORTE

O estudo da composição e do efeito do pH do eletrólito de suporte na eletroquímica dos CEs foram examinadas. A faixa dos valores de pH avaliados foi de 2,0 ao 12,0, utilizando a técnica de CV em solução B-R 0,1 mol L⁻¹. Os voltamogramas cíclicos para AP e E2 10,0 μmol L⁻¹ estão representados nas Figura 16A e 16B. Apenas picos de oxidação foram escolhidos para monitorar o comportamento eletroquímico do AP, tendo em vista que possui maiores intensidades de corrente e definição do sinal analítico. Foi observado um deslocamento dos potenciais de picos de ambas as espécies para valores mais negativos de potenciais com relação ao aumento do valor do pH. Este comportamento pode ser atribuído ao envolvimento de prótons nas reações redox analisadas. É observado também que ocorre a sobreposição dos sinais de oxidação dos analitos a partir do pH 10. Dessa forma, a análise dos valores de corrente e potencial foi conduzida apenas até esse pH, garantindo a obtenção de dados confiáveis sem a interferência.

Figura 16. Voltamogramas cíclicos para (A) e (B) AP e E2 $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo ativado 3D PLA/CB em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (C) Variação de I_{pa} em função do pH para AP e E2 ($n = 3$). Em (D) variação de E_{po} para AP e E2 em diferentes valores de pH ($n = 3$).



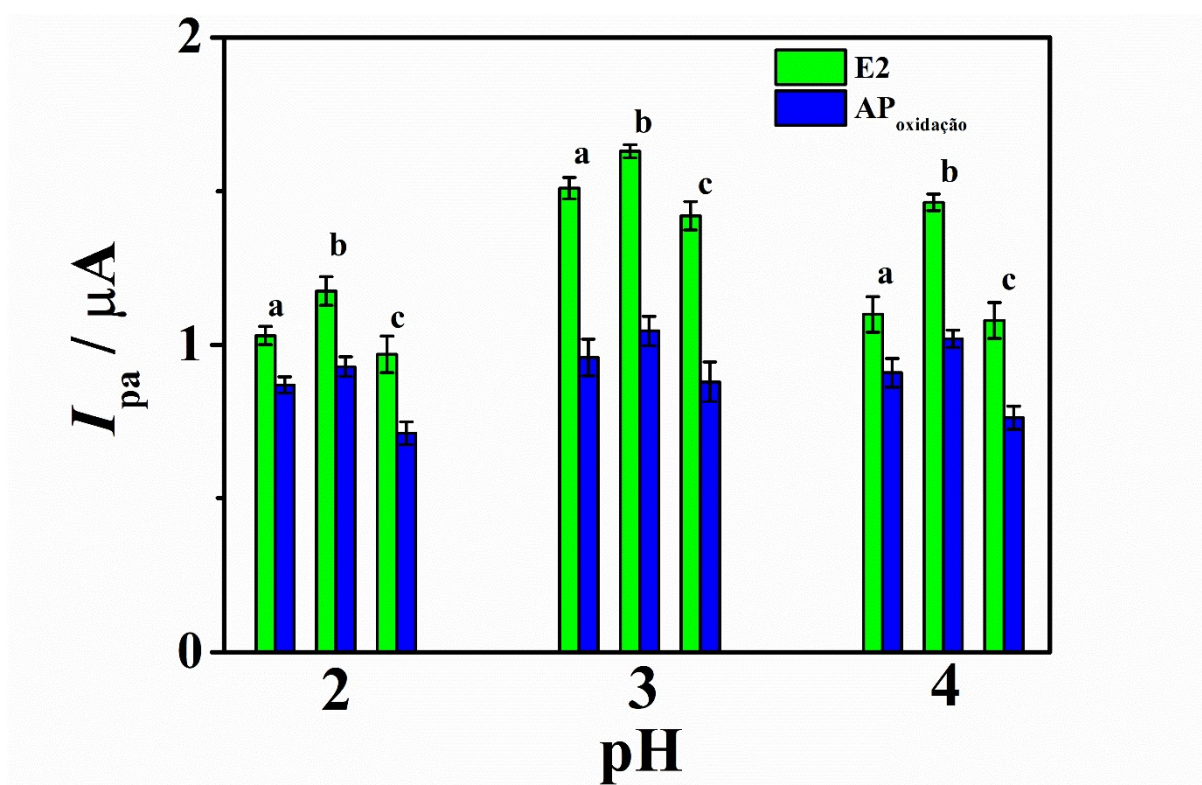
O gráfico da relação linear entre E_{po} vs. pH foi estudado, representado na Figura 16D. Os valores de inclinação das retas obtidas foram de $-63,7 \text{ mV pH}^{-1}$ e $-57,2 \text{ mV pH}^{-1}$ para AP e E2, respectivamente. Esses valores estão em proximidade com o valor teórico de $-59,1 \text{ mV pH}^{-1}$ da equação de Nernst, sugerindo o envolvimento equitativo de prótons e elétrons para ambas as espécies analisadas sobre o sensor 3D PLA/CB.

Verificou-se o comportamento das I_{pa} em função do pH do eletrólito de suporte (Figura 16C). Foi observado um aumento da resposta analítica do pH 2,0 ao 3,0 para ambos CEs analisados. Conforme o meio tornou-se alcalino, ocorreu uma diminuição nas intensidades de correntes para ambas as espécies. Considerando os resultados eletroquímicos, o pH 3,0 apresentou um melhor desempenho faradaico com potenciais de picos bem definidos para ambas as espécies. Para AP, este comportamento pode ser atribuído a relação mecânica com a variação do pH. Na faixa entre pH 3,0 e pH 7,0 ocorreu o processo de oxidação do acetaminofeno com ótima estabilidade para formação da N-acetil-*p*-benzoquinona-imina. Com aumento do pH do meio ocorre o processo de dimerização da molécula, tendo uma forte relação

entre instabilidade da N-acetil-*p*-benzoquinona-imina com a presença de íons hidroxila no seu mecanismo de reação, ocasionando uma maior separação pico a pico, também apresentando diminuição na corrente [105]. Já para E2 era esperado que a molécula permanecesse totalmente protonada em pH 3,0 ($pK_a = 10,71$), o que pode ter contribuído para o aumento de sua adsorção na superfície do eletrodo o que proporcionaria maiores intensidades de corrente. Portanto, visando obter uma alta detectabilidade para o método, o valor de pH 3,0 foi selecionado para as próximas análises simultâneas.

Foram conduzidos também testes empregando diferentes soluções tampão como eletrólitos de suporte nos pHs 2,0, 3,0 e 4,0 (Figura 17). A seleção de cada eletrólito foi feita em consideração a faixa de capacidade tamponante específica de cada solução. As soluções testadas foram Clark-Lubs, McIlvaine e B-R, sendo todas preparadas em concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Vale ressaltar que a solução tampão B-R em pH 3,0 apresentou a maior intensidade de corrente, motivo pelo qual foi escolhida para as análises subsequentes.

Figura 17. Respostas de corrente anódica para AP e E2 $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em função do pH e da natureza do eletrólito de suporte: (a) McIlvaine, (b) B-R e (c) Clark Lubs ($n = 3$).

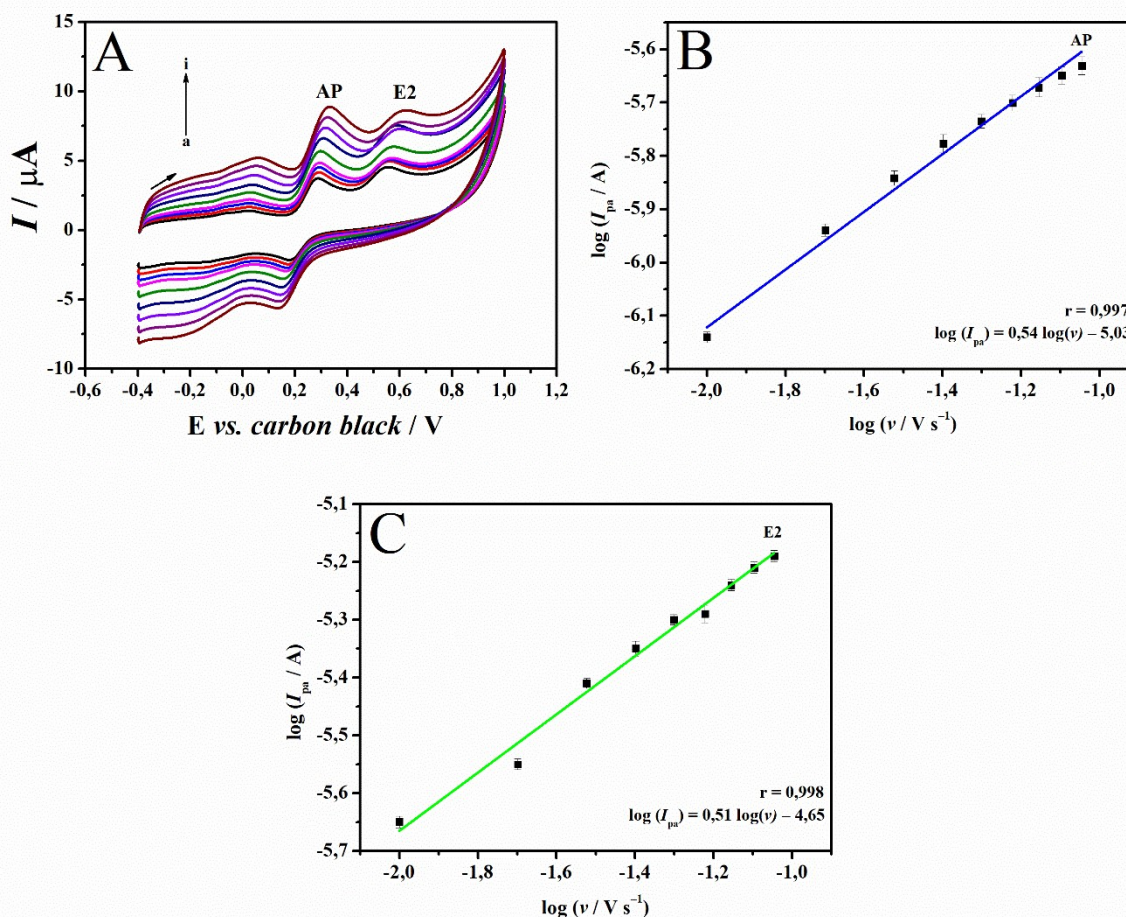


5.5 ESTUDO DA VELOCIDADE DE VARREDURA

A análise do comportamento eletroquímico do AP e E2 na superfície do sensor 3D PLA/CB foi conduzida em diferentes velocidades de varredura. Os voltamogramas correspondentes estão representados na Figura 18A, destacando o aumento nas intensidades das correntes de pico à medida que ocorre a variação da velocidade ($10 - 90 \text{ mV s}^{-1}$).

As Figuras 18B e 18C apresentam a relação logarítmica de I_{pa} vs. velocidade de varredura para AP e E2, respectivamente. Foi observado um comportamento linear para ambos analitos, com a equação de $\log I = 0,54 \log(v) - 5,03$ ($r = 0,997$) para AP e $\log I = 0,51 \log(v) - 4,65$ ($r = 0,998$) para E2. Dessa forma, os coeficientes angulares obtidos para ambos os CEs aproximam-se do valor de 0,5, indicando que a etapa limitante da velocidade da reação redox de ambas espécies sobre a superfície do sensor foi governada predominantemente por difusão, em concordância com a literatura [107].

Figura 18. (A) Voltamogramas cíclicos para AP e E2 $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em uma solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) utilizando 3D PLA/CB em diferentes velocidades de varredura: (a) 10,0; (b) 20,0; (c) 30,0; (d) 40,0; (e) 50,0; (f) 60,0; (g) 70,0; (h) 80,0 e (i) $90,0 \text{ mV s}^{-1}$. Relação entre o logaritmo de I_{pa} e o logaritmo da velocidade de variação de potencial (v) para (B) AP e (C) E2 ($n=3$).



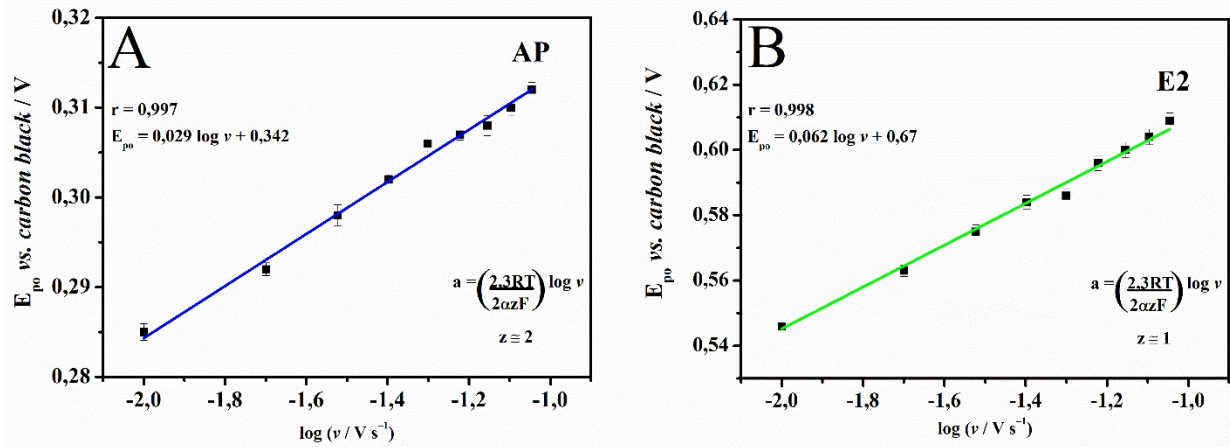
Foram observados também deslocamentos dos valores de E_{po} para ambas as espécies com o aumento da velocidade (Figura 19). Em relação ao AP, mesmo sendo considerado um sistema quase-reversível, sua reação eletroquímica em materiais convencionais apresenta cinética de transferência de carga lenta e se comporta de maneira irreversível [108]. Este comportamento é similar ao de B. Healy e co-autores [109], que adotaram um comportamento irreversível para o AP, ao utilizar um eletrodo de carbono vítreo modificado com β -ciclodextrina em solução tampão fosfato. Já para E2 apenas um pico de oxidação foi registrado, confirmando o processo irreversível. Assim, conforme os critérios da CV para reações irreversíveis e controladas por difusão, a relação entre E_{po} e $\log v$ é expressa conforme Eq.(4) [110]:

$$E_p = E^0 - \frac{RT}{\alpha z F} \left[0,78 - \ln \frac{k_0}{D^{1/2}} + \ln \left(\frac{\alpha z F}{RT} \right)^{1/2} \right] - \left(\frac{2,3RT}{2\alpha z F} \right) \log v \quad \text{Eq.(4)}$$

onde, E^0 é o potencial padrão (V), R é a constante universal dos gases ($\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$), T é a temperatura absoluta (K), F é a constante de Faraday (C mol^{-1}), k_0 é a constante de velocidade heterogênea (cm s^{-1}), D é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), v é a velocidade de varredura (V s^{-1}), α é o coeficiente de transferência de elétrons e z é o número de elétrons da reação eletroquímica.

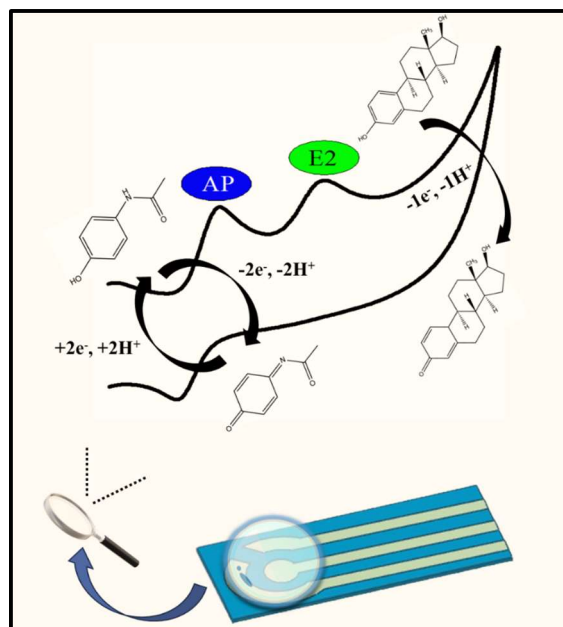
A Figura 19 apresenta a relação linear entre os valores de E_{po} vs. $\log v$ para os CEs, com as seguintes equações de $E_{po} = 0,029 \log v + 0,342$ para AP e $E_{po} = 0,062 \log v + 0,67$ para E2. Portanto, levando em consideração que ambas as espécies se comportaram com sistema irreversível e difusional ($\alpha = 0,5$), foi possível calcular o número de elétrons aparente da reação eletroquímica a partir da Eq. (4). Para AP o valor obtido foi de 2,03 e para E2 foi de 0,95.

Figura 19. Relação entre E_{po} e o logaritmo da velocidade (v) para (A) AP e (B) E2, ($n = 3$).



A partir das informações obtidas no estudo do pH (Seção 5.4), foi estudado o envolvimento do mesmo número de prótons e elétrons para ambas as espécies. Portanto, para AP o número de elétrons envolvidos na reação redox foi 2, envolvendo assim a participação de 2 mols de prótons e 2 mols de elétrons por mol de AP. Já para E2, o número de elétrons encontrado para a reação redox foi de 1, portanto contribui com a participação de 1 mol de próton e 1 mol de elétron por mol de E2. Esses resultados corroboram com outros trabalhos reportados na literatura e o mecanismo é ilustrado na Figura 20. [31,105,106,111].

Figura 20. Representação esquemática da reação redox simultânea do AP e E2 na superfície do 3D PLA/CB.



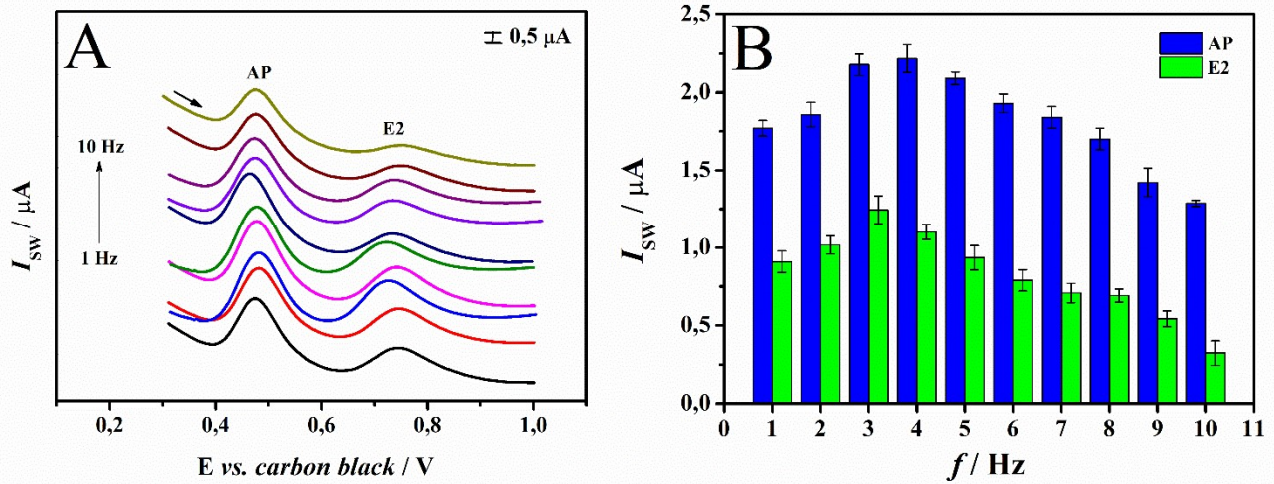
5.6 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA

A SWV é considerada uma das mais rápidas e sensíveis entre as técnicas voltamétricas. Esta técnica utiliza da função de potencial em forma de escada, registrando a corrente em dois momentos distintos durante a aplicação do pulso, minimizando assim a contribuição da corrente capacitiva. Os potenciais empregados são gerados ao aplicar pulsos de potencial com uma amplitude " a " sobre uma escada de potencial com altura ΔE_s (incremento de potencial) durante um intervalo de tempo " t " (período), onde a frequência de aplicação dos pulsos f corresponde ao inverso do período ($1/t$) [112]. Portanto, com o objetivo de se obter uma maior sensibilidade os parâmetros f , ΔE_s e a foram otimizados simultaneamente para ambos CEs.

O estudo da frequência foi realizado em um intervalo de 1,0 a 10 Hz, fixando a amplitude em 50 mV e o incremento em 5,0 mV (Figura 21A). A faixa de frequência selecionada está atrelada a cinética lenta de transferência de carga entre o sensor impresso e o analito. Este comportamento pode ser atribuído a composição da superfície do eletrodo, afetando a velocidade da transferência de carga e resultando em cinéticas mais lentas. Como a velocidade efetiva da SWV é dada em função do produto da f com o ΔE_s , velocidades da varredura muito altas ultrapassariam a velocidade da reação eletroquímica, ocasionando a perda do registro do sinal tendo menores valores de corrente [112].

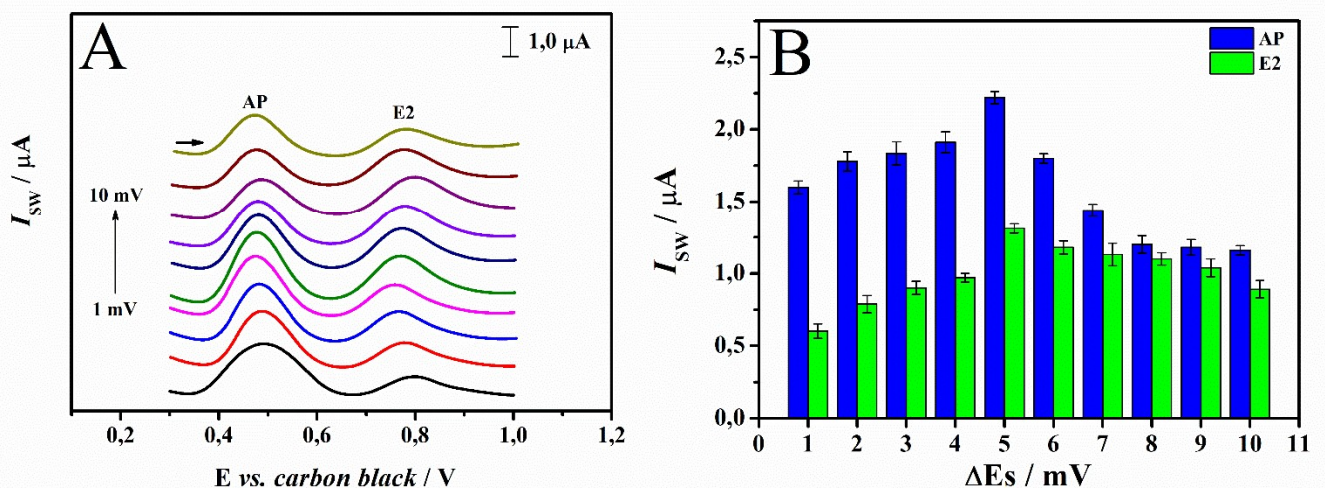
Portanto, devido ao fato de a composição da superfície do eletrodo ser formada majoritariamente de polímero não condutor (PLA) foi necessário utilizar uma faixa de frequência menor para este parâmetro. A frequência de 3,0 Hz foi selecionada (Figura 21B), pois apresentou maiores intensidades de corrente para ambos os analitos em relação as demais frequências testadas.

Figura 21. (A) Voltamogramas de onda quadrada para AP $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ E2 $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo ativado 3D PLA/CB em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) em diferentes valores de frequência, mantendo fixo $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$. (B) Gráficos de corrente vs. frequência para AP e E2 ($n = 3$).



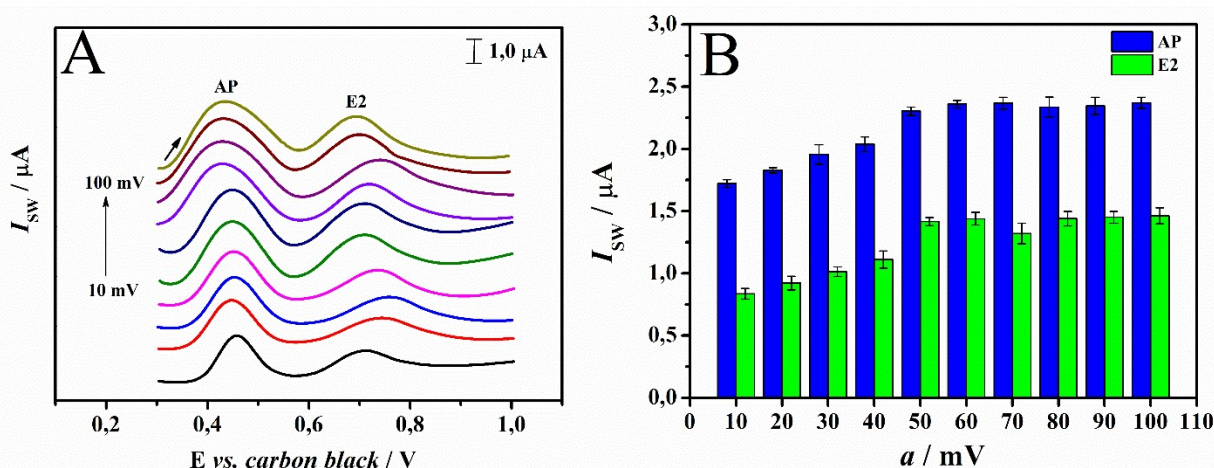
Posteriormente, avaliou-se valores de ΔE_s na faixa de 1 a 10 mV, fixando o valor da frequência em 3,0 Hz e a amplitude em 50 mV (Figura 22). Assim, nota-se a partir do gráfico de barras (Figura 22B) que maiores valores de intensidade de corrente para ambos CEs foram obtidos em 5 mV com decréscimo para valores de incremento de potencial maiores. Este comportamento pode estar novamente associado ao aumento da velocidade da técnica, tendo em vista que este parâmetro influencia na velocidade efetiva, comprometendo a eficácia do registro da reação dos contaminantes.

Figura 22. (A) Voltamogramas de onda quadrada para AP $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo ativado 3D PLA/CB em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) em diferentes valores de incremento de potencial, mantendo fixo $a = 50 \text{ mV}$ e $f = 3,0 \text{ Hz}$. (B) Gráficos de corrente vs. incremento de potencial para AP e E2 ($n = 3$).



Por fim, a Figura 23 apresenta os voltamogramas de onda quadrada para os diferentes valores de a (10-100 mV). Este parâmetro afeta diretamente não só as intensidades de corrente como também a resolução dos picos. Portanto, à medida que se aumenta o valor de amplitude até 50 mV é observado um aumento das intensidades de corrente sem comprometer a definição do pico voltamétrico. Para valores de a maiores, as intensidades da corrente se comportaram de maneira praticamente constante, porém com uma baixa seletividade devido a presença do alargamento dos picos.

Figura 23. (A) Voltamogramas de onda quadrada para AP $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo ativado 3D PLA/CB em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) em diferentes valores de amplitude de potencial, mantendo fixos $f = 3,0 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$. (B) Gráficos de corrente vs. amplitude para AP e E2 ($n = 3$).



A Tabela 2 exibe os parâmetros de SWV que foram investigados, juntamente com os valores otimizados para a determinação de AP e E2 em estudos subsequentes.

Tabela 2. Parâmetros experimentais otimizados da técnica voltamétrica de onda quadrada utilizados para a determinação do CEs.

| Parâmetros da técnica | Faixa de aplicação | Valor experimental selecionado |
|-----------------------|--------------------|--------------------------------|
| Frequência / Hz | 1-10 | 3,0 |
| Incremento / mV | 1-10 | 5,0 |
| Amplitude / mV | 10-100 | 50 |

Fonte: O autor.

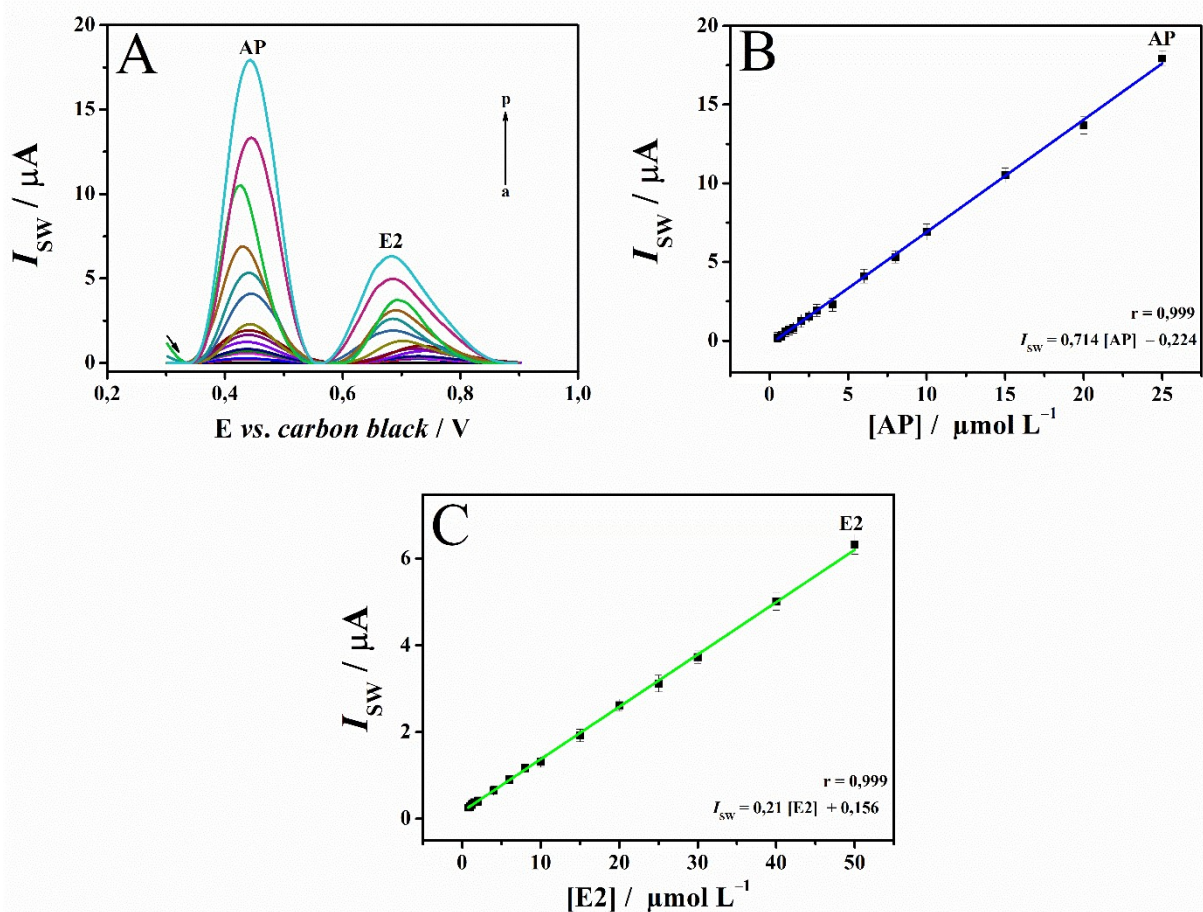
5.7 CURVA DE CALIBRAÇÃO

Sob as condições experimentais otimizadas, foram construídas as curvas de calibração a partir de adições sucessivas de padrão de AP e E2 na faixa de concentração de 0,50 a 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,75 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Os voltamogramas de onda quadrada apresentaram picos bem definidos em potenciais de $0,45 \pm 0,03$ V para AP e $0,71 \pm 0,05$ V para E2. Observou-se que as intensidades de corrente aumentaram proporcionalmente com o aumento da concentração de ambos CEs (Figura 24A). A equação de regressão linear obtida para AP a partir da curva voltamétrica pode ser expressada como $I_{\text{SW}} = 0,714 (\pm 0,01)[\text{AP}] - 0,224(\pm 0,04)$ ($r = 0,999$), onde I_{SW} é a corrente resultante em μA e $[\text{AP}]$ é a concentração de AP em $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 24B).

O cálculo para o LOD e o limite de quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantification*) foram baseados no desvio padrão (do inglês, *Standard Deviation* – SD) do intercepto e na inclinação do gráfico de calibração (s), de acordo com as equações $\text{LOD} = 3 \times (\text{SD}/s)$ e $\text{LOQ} = 10 \times (\text{SD}/s)$ [113]. Os valores de LOD e LOQ obtidos para AP foram de 0,15 e 0,51 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Já para E2 (Figura 24 C), a equação linear obtida pode ser expressa com a seguinte função: $I_{\text{SW}} = 0,21 (\pm 9,17 \times 10^{-4})[\text{E2}] + 0,156(\pm 0,02)$ ($r = 0,999$). Os valores de LOD e LOQ obtidos para E2 foram 0,23 e 0,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Figura 24. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o 3D PLA/CB em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) para AP na faixa de concentração: (a) branco, (b) 0,5, (c) 0,75, (d) 1,0, (e) 1,25, (f) 1,5, (g) 2,0, (h) 2,5, (i) 3,0, (j) 4,0, (k) 6,0, (l) 8,0, (m) 10,0, (n) 15,0, (o) 20,0 e (p) 25,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e para E2 na faixa de concentração: (a) branco, (b) 0,75, (c) 1,0, (d) 1,25, (e) 1,5, (f) 2,0, (g) 4,0, (h) 6,0, (i) 8,0, (j) 10,0, (k) 15,0, (l) 20,0, (m) 30,0, (o) 40,0 e (p) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Gráficos de calibração para (A) AP na faixa de 0,5 a 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (B) E2 na faixa de 0,75 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no 3D PLA/CB em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) (n = 3). Parâmetros SWV: $f = 3,0$ Hz, $\Delta E_s = 5,0$ mV e $a = 50$ mV.



Há descrito na literatura o desenvolvimento de diferentes eletrodos para o monitoramento de contaminantes emergentes. Porém, a análise simultânea *in loco* desses compostos utilizando a tecnologia de impressão 3D ainda é pouco reportada. A Tabela 3 apresenta alguns artigos recentemente publicados para a determinação de contaminantes emergentes utilizando técnicas voltamétricas com sensores impressos. Os trabalhos referenciados que utilizam da impressão 3D para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos envolvem apenas a determinação de AP e E2 em laboratório, não sendo encontrado na literatura estudos que analisem essas substâncias simultaneamente *in loco*. Portanto, este trabalho destaca-se pela determinação simultânea de AP e E2 *in loco* obtendo valores de LOD inferiores

em comparação a maioria dos sensores impressos. Além disso, o sensor 3D PLA/CB pode ser construído em larga escala e com materiais de baixo custo.

Tabela 3. Comparação do desempenho analítico do 3D PLA/CB com outros eletrodos impressos na determinação de AP e E2.

| Eletrodo Impresso | Técnica | Eletrólito | CEs | LOD / $\mu\text{mol L}^{-1}$ | Referência |
|------------------------------|----------------|--|------------|--|-------------------|
| 3D ABS/CB | DPV | Solução H ₂ SO ₄ (0,3 mol L ⁻¹) | AP - | 2,85 - | [114] |
| 3D PLA/Gr | DPV | Tampão fosfato (0,1 mol L ⁻¹) | AP - | 0,51 - | [34] |
| 3D PLA/CB/MWCNT ^a | DPV | Tampão fosfato (0,1 mol L ⁻¹) | AP - | 0,04 - | [35] |
| SPCEs ^b | SWV | Tampão B-R (0,03 mol L ⁻¹) | - E2 | - 0,88 | [115] |
| 3D PLA/CB | DPV | Tampão B-R (0,1 mol L ⁻¹) | - E2 | - 0,31 | [37] |
| SPCEs | DPV | Tampão fosfato (0,1 mol L ⁻¹) | AP E2 | 0,22 0,89 | [57] |
| 3D PLA/CB | SWV | Tampão B-R (0,1 mol L ⁻¹) | AP E2 | 0,15 0,23 | Este trabalho |

^a Compósito de nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizados, ^b Eletrodos impressos de carbono.

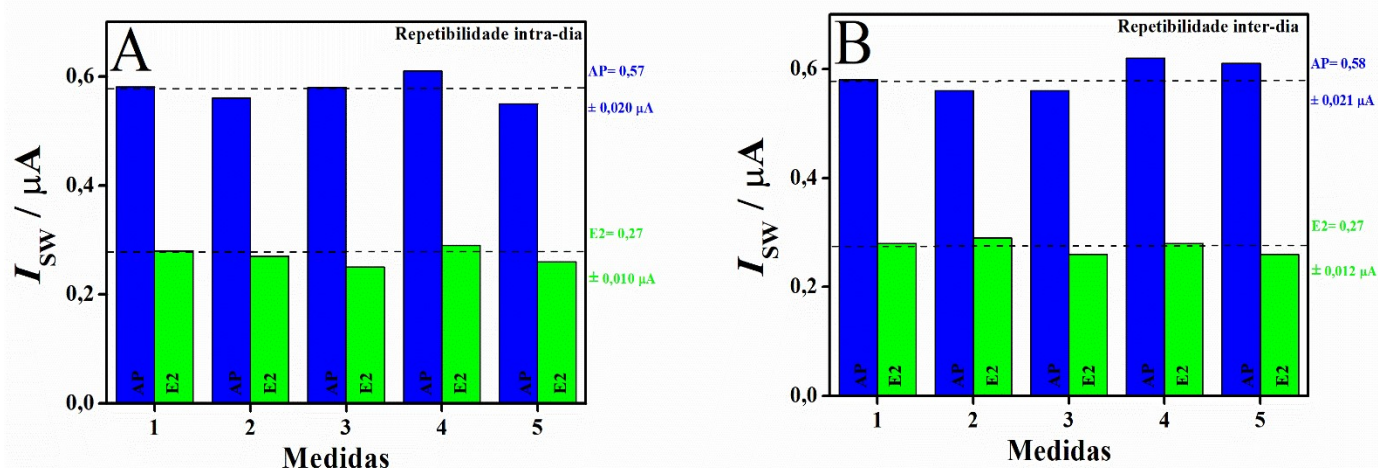
O custo de produção do sensor 3D PLA/CB, possui um valor em torno de R\$ 0,54 (unidade) com um tempo de confecção de 53 s. Este eletrodo apresenta uma grande vantagem em relação ao custo-benefício apresentado em sensores impressos comerciais (SPCE) reportados para o monitoramento de CEs. Os SPCEs comerciais possuem um custo médio de R\$ 28 (unidade), podendo ser utilizado em apenas uma única análise antes de seu descarte. Assim, o 3D PLA/CB se apresenta principalmente como um sensor acessível e eficaz para o monitoramento de CEs em diferentes ambientes aquáticos.

5.8 REPETIBILIDADE, REUTILIZAÇÃO DO ELETRODO E ESTUDO DOS INTERFERENTES

A precisão do método foi avaliada a partir da repetibilidade das respostas de corrente obtidas a partir de testes intra-dia (medições sucessivas realizadas no mesmo dia) e inter-dia (medidas com mesmas condições experimentais, realizadas em dias diferentes) avaliando o desvio padrão relativo (do inglês, *relative standard deviation* –RSD) entre as medidas.

Os resultados obtidos demonstraram valores de RSD de 3,4% para AP e 3,8% para E2, considerando um conjunto de cinco medições utilizando um novo eletrodo a cada medida, indicando uma boa repetibilidade intra-dia (Figura 25A). Em relação à repetibilidade inter-dia, os valores de RSD foram obtidos a partir de cinco dias consecutivos de medição, com valores de 3,6% e 4,1% para AP e E2, respectivamente (Figura 25B). Os resultados mostraram que o 3D PLA/CB apresentou uma precisão aceitável, pois os valores obtidos foram menores que $2/3RSD_{\text{Horwitz}}$ ($RSD_{\text{Horwitz}} = 2^{(1 - 0.5 \log C)}$, onde C é a fração de mássica do analito g/g) [116].

Figura 25. Medidas obtidas por SWV para AP e E2 $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o sensor 3D PLA/CB no estudo de repetibilidade (A) intra-dia e (B) inter-dia.

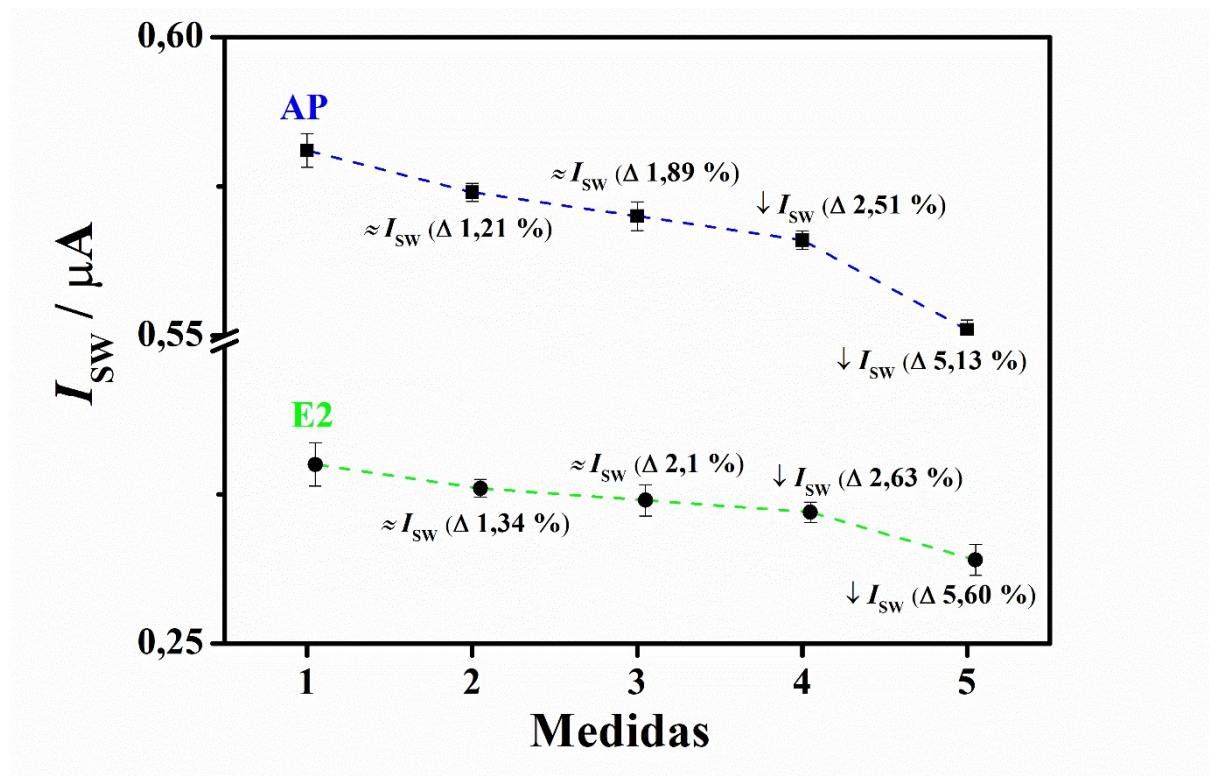


Fonte: O autor.

A reutilização do eletrodo foi estudada a partir de cinco medidas consecutivas no mesmo dia com um único eletrodo 3D PLA/CB nas condições otimizadas. Para análise, foram utilizados solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) contendo AP e E2 $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. A partir dos resultados obtidos (Figura 26), foram observados pequenos decréscimos nos valores de corrente entre as três primeiras medidas, com variações abaixo de 1,89 e 2,11 % em relação à

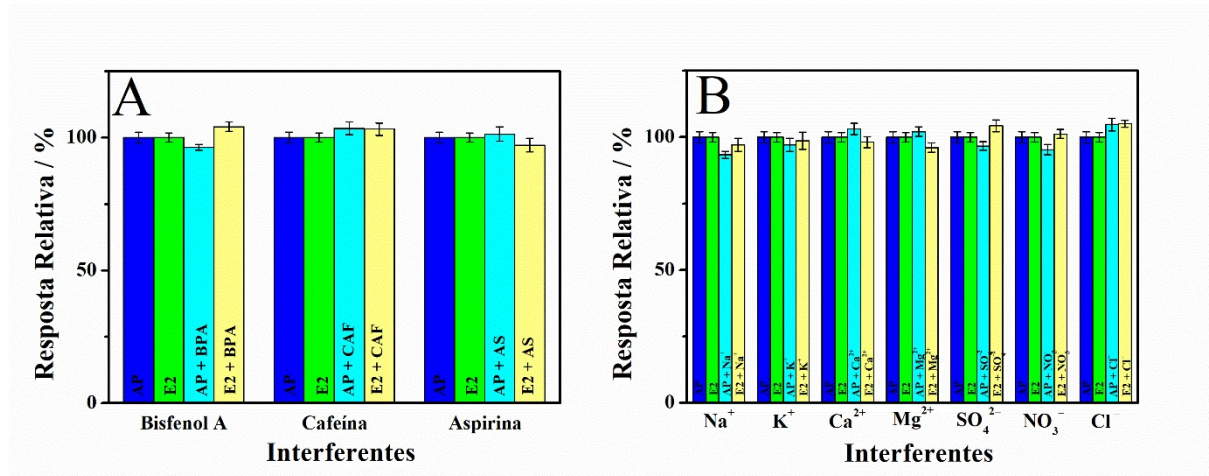
corrente inicial para AP e E2, respectivamente. Após a terceira análise, foi observada uma maior diminuição nos valores de corrente para ambos CEs, o que pode ser atribuído aos produtos de oxidação dos analitos formados na superfície do eletrodo, bloqueando os sítios ativos do sensor 3D PLA/CB. Assim, conclui-se que o eletrodo 3D PLA/CB pode realizar até três análises consecutivas sem perdas significativas nos valores de corrente.

Figura 26. Medidas obtidas por SWV para AP e E2 $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o sensor 3D PLA/CB para cinco medidas consecutivas no estudo de reutilização do eletrodo.



O estudo de compostos com potencial de serem interferentes foi realizado sob condições otimizadas utilizando solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) contendo AP e E2 $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de concentrações 50 vezes maiores de alguns dos principais traçadores ambientais em regiões costeiras e águas superficiais (bisfenol A, cafeína e aspirina) [3,117]. Os interferentes apresentaram seus potenciais de oxidação em valores mais positivos, acima de $+0,86 \text{ V}$ não apresentando sobreposição com os sinais analíticos. Além disso, alguns íons inorgânicos como K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , NO_3^- e Cl^- também foram testados. Os resultados indicam que o eletrodo proposto possui alta seletividade, com variações abaixo de 4,5% na presença dos interferentes (Figura 27).

Figura 27. Estudos de interferentes para AP e E2 $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de (A) bisfenol A, cafeína e aspirina $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e (B) na presença de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , NO_3^- , e Cl^- $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$.



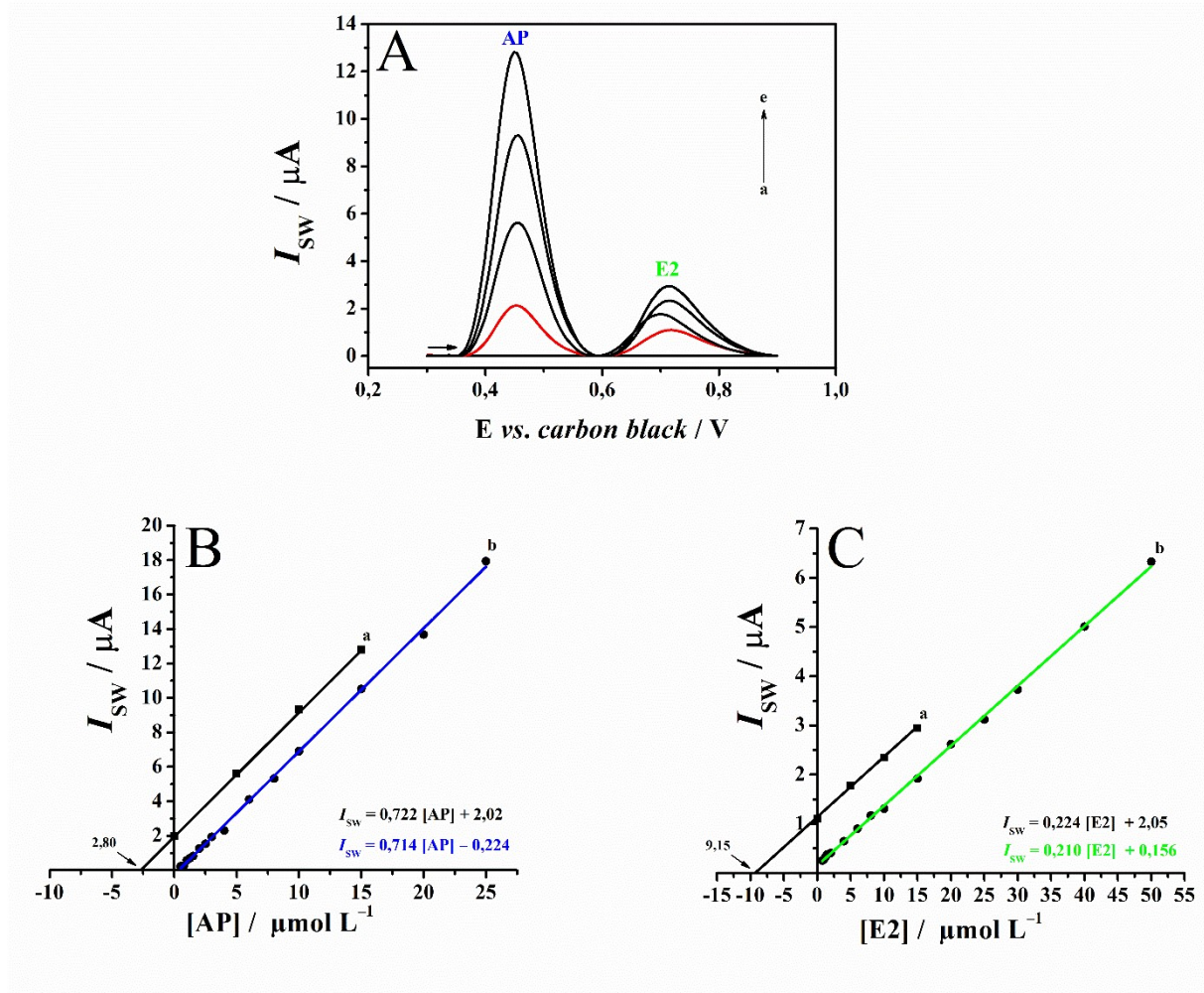
Fonte: O autor.

5.9 DETERMINAÇÃO *IN LOCO* DE AP E E2 EM AMOSTRAS DE ÁGUAS COSTEIRAS

O 3D PLA/CB foi aplicado na determinação *in loco* de AP e E2 em amostras de águas em quatro diferentes regiões costeiras de Florianópolis, SC, Brasil (Tabela 4). O método de adição de padrão realizado em laboratório foi utilizado nos ensaios de quantificação, visando obter menores efeitos de matriz. Utilizando a SWV com as condições otimizadas, foram obtidos voltamogramas com picos de oxidação bem definidos para AP e E2 em $0,44 \pm 0,01 \text{ V}$ e $0,69 \pm 0,02 \text{ V vs. carbon black}$, respectivamente.

Não foram detectados resíduos de AP e E2 nas amostras de água. Em seguida, a exatidão das medidas foi avaliada por testes de adição e recuperação. Foram obtidos valores percentuais na faixa de 82-105% e 93-106% para AP e E2, respectivamente (Tabela 4). A faixa se encontra de acordo com os valores permitidos pela literatura (80-110%) para níveis em 10^{-6} g g^{-1} [118]. A Figura 28 apresenta os resultados de uma das replicatas para determinação dos contaminantes na amostra de água da Lagoa da Conceição. Observa-se um aumento linear nas intensidades de corrente à medida que foram realizadas adições sucessivas da solução padrão dos CEs, com inclinação da reta semelhante aos obtidos pela curva de calibração. Este tipo de comportamento está associado a ausência do efeito de matriz nos ensaios de determinação das amostras. Os resultados confirmam que o sensor 3D PLA/CB exibiu exatidão satisfatória, sendo adequado para a determinação simultânea de CEs.

Figura 28. (A) Voltamogramas de onda quadrada empregando o eletrodo 3D PLA/CB em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) para: (a) branco, (b) amostra de água da Lagoa da Conceição fortificada com AP $2,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 $1,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, seguindo com adições sucessivas de solução padrão resultando em (c) AP $5,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 $5,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (d) AP $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e AP $15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e E2 $15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do AP. (C) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do E2. Parâmetros SWV: $f = 3,0 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$ e $a = 50 \text{ mV}$.

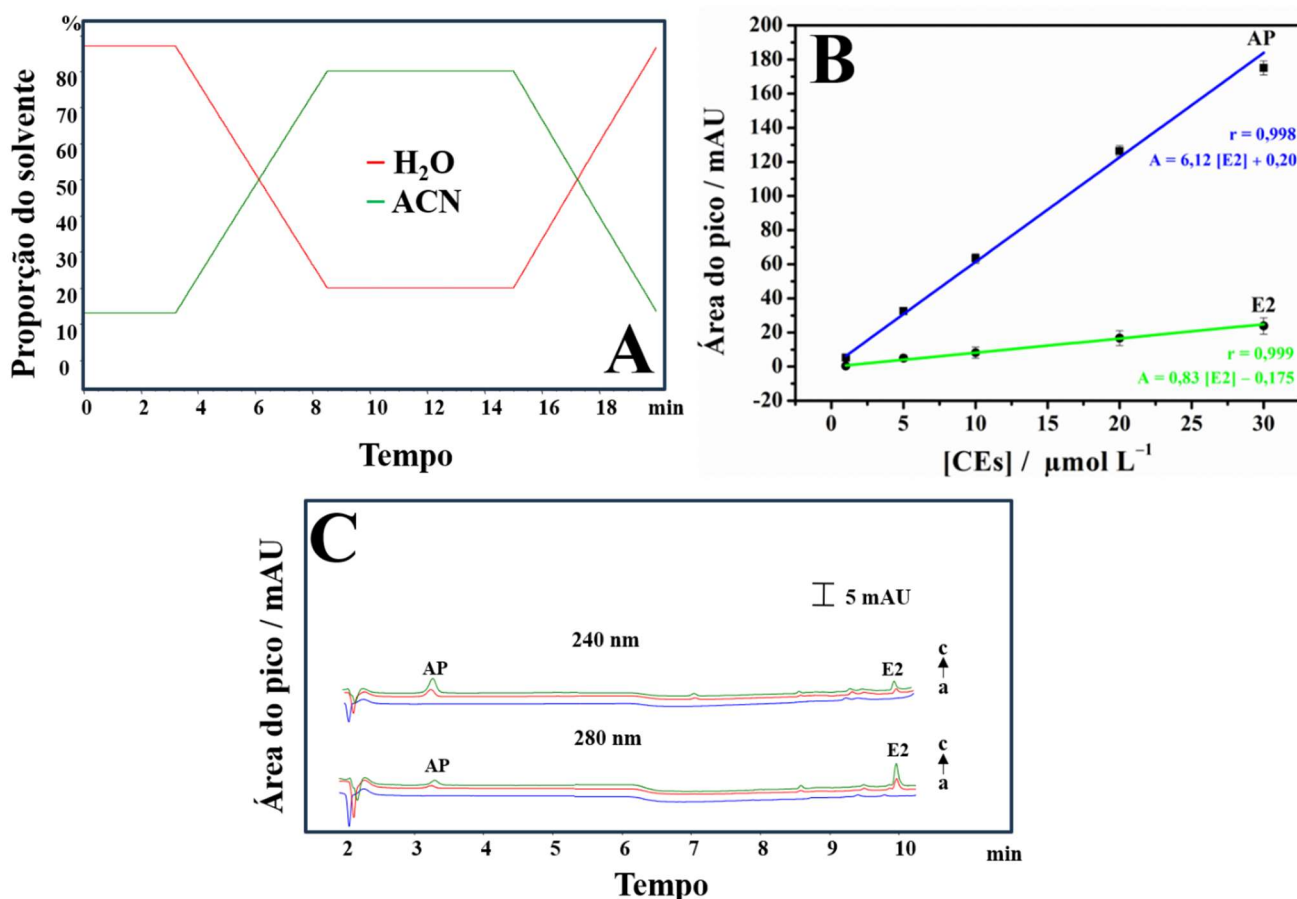


Afim de verificar a exatidão do método proposto comparou-se os resultados obtidos por um segundo método, HPLC-DAD. O método proposto para esta técnica baseou-se em trabalhos já reportados na literatura [119,120], com modificações no gradiente (Figura 29A). Inicialmente, foi elaborada uma curva de calibração para o AP e E2 por meio de adições sucessivas de solução padrão dos analitos em água ultra pura. Os cromatogramas apresentaram um aumento linear em relação ao aumento da concentração de ambos CEs. A curva de calibração construída é exibida na Figura 29B abrangendo a faixa linear de concentração de 1,0 a $30 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para ambos CEs. A equação de regressão linear obtida para AP foi $A = 6,12 (\pm 0,02)[\text{AP}] + 0,20 (\pm 0,7)$ ($r = 0,998$) para AP e $A = 0,83 (\pm 0,05)[\text{E2}] - 0,17 (\pm 0,1)$ ($r = 0,999$) para E2, onde “A” é a área do pico em mAU e $[\text{AP}]$ e $[\text{E2}]$ é a concentração de AP e E2 em

$\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Os valores de LOD e LOQ foram de 0,33 e 1,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AP e de 0,39 e 1,3 para E2, respectivamente.

Como apresentado anteriormente para o método eletroanalítico, também não foram detectados resíduos de AP e E2 nas amostras de água com HPLC-DAD. Assim, novamente a exatidão das medidas foi avaliada por testes de adição e recuperação. A Figura 29C apresenta os resultados cromatográficos para determinação dos contaminantes na amostra de água da Lagoa da Conceição. Foram obtidos valores percentuais de recuperação na faixa de 81-107 % e 93-109 % para AP e E2, respectivamente (Tabela 4).

Figura 29. (A) Gradiente de solventes. (B) Gráficos de calibração para AP e E2 na faixa de 1,0 a 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (C) Cromatogramas de HPLC-DAD da amostra da (a) Lagoa da Conceição (b) com fortificação de 3,0 e 9,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AP e E2 e (c) de 6,0 e 18,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AP e E2, respectivamente. Análises foram realizadas em comprimentos de onda de 240 nm visando AP e 280 nm visando E2.



Além da realização do teste de adição e recuperação, foram conduzidos testes estatísticos para comparar os conjuntos de dados obtidos pelos métodos eletroquímico e cromatográfico (Tabela 4). As equações usadas para calcular os testes t e F são [121]:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_a \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad \text{Eq. (5)}$$

$$F = \frac{SD_{Maior}^2}{SD_{Menor}^2} \quad \text{Eq. (6)}$$

Onde: \bar{x}_1 é o valor médio das amostras obtido pelo método voltamétrico; \bar{x}_2 é o valor médio das amostras obtido pelo método comparativo; S_a é a estimativa do desvio padrão agregado; SD é o desvio padrão amostral e n é o número de repetições.

O teste F foi empregado para avaliar a precisão dos resultados obtidos com os dois métodos. Os valores de F calculados foram inferiores ao $F_{teórico} = 19,0$ (para dois graus de liberdade), indicando que não houve diferença significativa entre a precisão dos dados obtidos com os dois procedimentos. Para a comparação das médias foi aplicado o teste t pareado. Todos os valores de t foram inferiores ao valor $t_{teórico} = 2,77$ (para seis graus de liberdade), indicando a ausência de erros sistemáticos nos dados fornecidos pelos dois métodos. Assim, essas análises estatísticas atestaram a precisão e exatidão dos dados fornecidos pelo sensor na determinação de AP e E2 em amostras de água em ecossistemas aquáticos.

Tabela 4. Determinação de AP e E2 em amostras de regiões costeiras.

| Amostra | | SWV | | | | HPLC-DAD | | | | Dados estatísticos | |
|--------------------------|----|---|---|---|-------------------|--|---|---|-------------------|------------------------|------------------------|
| | | Detectado ^{ab} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Adicionado ^b ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Encontrado ^b ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Recuperado (%) | Detectado ^b ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Adicionado ^b ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Encontrado ^b ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Recuperado (%) | Teste F ^c | Teste t ^d |
| Lagoa da Conceição | AP | | 3,0 | 2,50 | 82 – 86 | | 3,0 | 2,46 | 81 – 84 | 2,48 | 1,01 |
| | | <LOD | 6,0 | 5,97 | 97 – 101 | <LOD | 6,0 | 5,99 | 96 – 103 | 3,00 | 0,19 |
| | E2 | | 9,0 | 9,15 | 101 – 104 | | 9,0 | 9,27 | 101 – 106 | 2,55 | 0,65 |
| | | | 18,0 | 18,9 | 96 – 102 | | 18,0 | 18,8 | 101 – 104 | 1,14 | 0,10 |
| Lagoa do Peri | AP | | 3,0 | 2,97 | 88 – 103 | | 3,0 | 2,53 | 81 – 88 | 4,69 | 2,55 |
| | | <LOD | 6,0 | 6,08 | 99 – 104 | <LOD | 6,0 | 5,87 | 95 – 101 | 1,44 | 1,55 |
| | E2 | | 9,0 | 9,28 | 99 – 106 | | 9,0 | 8,74 | 95 – 99 | 3,09 | 2,42 |
| | | | 18,0 | 17,4 | 93 – 101 | | 18,0 | 19,5 | 98 – 106 | 1,30 | 1,82 |
| Costeira do Pirajubáé | AP | | 3,0 | 2,81 | 92 – 96 | | 3,0 | 2,54 | 91 – 95 | 6,72 | 1,14 |
| | | <LOD | 6,0 | 6,14 | 99 – 105 | <LOD | 6,0 | 5,79 | 97 – 107 | 3,88 | 0,50 |
| | E2 | | 9,0 | 9,11 | 97 – 103 | | 9,0 | 8,60 | 93 – 97 | 2,13 | 2,55 |
| | | | 18,0 | 17,8 | 96 – 102 | | 18,0 | 19,2 | 102 – 108 | 1,10 | 2,62 |
| Ribeirão da Ilha | AP | | 3,0 | 2,91 | 90 – 99 | | 3,0 | 2,60 | 83 – 91 | 1,28 | 2,44 |
| | | <LOD | 6,0 | 5,90 | 96 – 101 | <LOD | 6,0 | 5,72 | 93 – 98 | 1,00 | 1,47 |
| | E2 | | 9,0 | 8,9 | 97 – 101 | | 9,0 | 9,10 | 97 – 102 | 1,74 | 0,65 |
| | | | 18,0 | 18,2 | 99 – 103 | | 18,0 | 19,0 | 101 – 109 | 4,02 | 1,60 |

^a Análise *in loco*;

^b Análise em laboratório;

^c F -crítico = 19,0 (graus de liberdade igual a 2), $\alpha = 0,05$;

^d t -crítico = 2,77 (graus de liberdade igual a 6), $\alpha = 0,05$.

A partir da Tabela 4, foi observado que tanto as análises *in loco* quanto em laboratório forneceram o mesmo resultado de detectabilidade para ambas as técnicas. Entretanto, a análise *in loco* proporciona uma obtenção de dados instantânea, possibilitando a intervenção imediata dos locais de análise quando necessário, aumentando a eficácia nas operações de monitoramento dos CEs. Neste trabalho, este tipo de análise só foi possível devido à portabilidade e miniaturização do sistema eletroquímico acoplado a equipamentos miniaturizados (Figura 30), apresentando-se como um sistema eficiente para esta modalidade de análise.

Figura 30. Imagens reais realizando as análises *in loco* em regiões costeiras da (A) Lagoa da Conceição, (B) Lagoa do Peri, (C) Costeira do Pirajubaé e (D) Ribeirão da Ilha.



6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi desenvolvido um sensor eletroquímico miniaturizado a partir da tecnologia de impressão 3D utilizando o filamento condutor de PLA/CB. A impressão 3D apresentou-se como uma alternativa vantajosa para o desenvolvimento de sensores por utilizar materiais ecológicos de baixo custo, produção em larga escala e com geração mínima de resíduos. O tratamento eletroquímico da superfície em meio alcalino otimizado melhorou consideravelmente as respostas eletroquímicas simultâneas de AP e E2.

A superfície do eletrodo foi caracterizada por FEG/SEM-EDS, AFM, FTIR, XPS, KPFM, EIS e CV comprovando que a ativação em meio básico proporcionou uma maior condutividade elétrica bem como uma maior área eletroativa em relação ao eletrodo recém impresso, devido a exposição dos sítios condutores do CB.

O sensor 3D PLA/CB proposto foi aplicado com sucesso na determinação simultânea de AP e E2 *in loco* em amostras de águas provenientes de regiões costeiras, sendo o primeiro trabalho dedicado a este tipo de análise em tempo real para esses compostos utilizando a tecnologia de impressão 3D. O método proposto se apresentou com boa repetibilidade acompanhado de dados satisfatórios de precisão e exatidão para a determinação simultânea de AP e E2.

É importante destacar que o desempenho analítico do eletrodo 3D CB/PLA foi comparável aos eletrodos comerciais impressos de alto custo reportados na literatura. Portanto, o eletrodo 3D desenvolvido se apresenta como uma excelente ferramenta analítica e de baixo custo para determinação simultânea de acetaminofeno e 17 β -estradiol *in loco* em ambientes aquáticos.

REFERÊNCIAS

- [1] M. Coccia, E. Bontempi, New trajectories of technologies for the removal of pollutants and emerging contaminants in the environment, *Environ. Res.* 229 (2023) 115938.
- [2] S. Khan, M. Naushad, M. Govarthan, J. Iqbal, S.M. Alfadul, Emerging contaminants of high concern for the environment: Current trends and future research, *Environ. Res.* 207 (2022) 112609.
- [3] M.C.V.M. Starling, C.C. Amorim, M.M.D. Leão, Occurrence, control and fate of contaminants of emerging concern in environmental compartments in Brazil, *J. Hazard. Mater.* 372 (2019) 17–36.
- [4] USEPA, Occurrence data from the unregulated contaminant monitoring Rule, US Environ. Prot. Agency. (2022). <https://www.epa.gov/dwucmr/occurrence-data-unregulated-contaminant-monitoring-rule#3> (accessed May 8, 2024).
- [5] C. Kumunda, A.S. Adekunle, B.B. Mamba, N.W. Hlongwa, T.T.I. Nkambule, Electrochemical detection of environmental pollutants based on graphene derivatives: a review, *Front. Mater.* 7 (2021) 616787.
- [6] L. Martín-Pozo, B. de Alarcón-Gómez, R. Rodríguez-Gómez, M.T. García-Córcoles, M. Çipa, A. Zafra-Gómez, Analytical methods for the determination of emerging contaminants in sewage sludge samples. A review, *Talanta*. 192 (2019) 508–533.
- [7] B.S. Rathi, P.S. Kumar, P.L. Show, A review on effective removal of emerging contaminants from aquatic systems: Current trends and scope for further research, *J. Hazard. Mater.* 409 (2021) 124413.
- [8] G. Reichert, S. Hilgert, S. Fuchs, J.C.R. Azevedo, Emerging contaminants and antibiotic resistance in the different environmental matrices of Latin America, *Environ. Pollut.* 255 (2019) 113140.
- [9] H. Ramírez-Malule, D.H. Quiñones-Murillo, D. Manotas-Duque, Emerging contaminants as global environmental hazards. A bibliometric analysis, *Emerg. Contam.* 6 (2020) 179–193.
- [10] J.M.M. Corrêa, A.L. Sanson, C.F. Machado, S.F. Aquino, R.J.C.F. Afonso, Occurrence of contaminants of emerging concern in surface waters from Paraopeba River Basin in Brazil: seasonal changes and risk assessment, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28 (2021) 30242–30254.
- [11] A. Gogoi, P. Mazumder, V.K. Tyagi, G.G. Tushara Chaminda, A.K. An, M. Kumar, Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review, *Groundw. Sustain. Dev.* 6 (2018) 169–180.
- [12] E. Agathokleous, J. Peñuelas, R.A. Azevedo, M.C. Rillig, H. Sun, E.J. Calabrese, Low levels of contaminants stimulate harmful algal organisms and enrich their toxins, *Environ. Sci. Technol.* 56 (2022) 11991–12002.

- [13] J. Prajapati, A.K. Singh, R.K. Gautam, S. Agrahari, D. Chatterjee, I. Tiwari, Samarium doped nickel oxide supported on 2D-hexagonal boron nitride nanosheets for electrochemical sensing of acetaminophen, *Mater. Res. Bull.* 166 (2023) 112329.
- [14] Z. Lu, H. Guo, X. Wei, L. Sun, Z. Pan, B. Liu, Y. Liu, J. Xu, J. Tian, W. Yang, A novel electrochemical sensing platform based on covalent organic frameworks/WC/NH₂-MWCNT for highly selective determination of acetaminophen and 4-aminophenol, *Microchem. J.* 193 (2023) 109075.
- [15] N. Ohashi, T. Kohno, Analgesic effect of acetaminophen: A review of known and novel mechanisms of action, *Front. Pharmacol.* 11 (2020) 580289.
- [16] J. le Wu, Z. hua Liu, Q. guang Ma, L. Dai, Z. Dang, Occurrence, removal and risk evaluation of ibuprofen and acetaminophen in municipal wastewater treatment plants: A critical review, *Sci. Total Environ.* 891 (2023) 164600.
- [17] M. Ghadirinataj, S.K. Hassaninejad-Darzi, H. Emadi, An electrochemical nanosensor for simultaneous quantification of acetaminophen and acyclovir by ND@Dy₂O₃-IL/CPE, *Electrochim. Acta.* 450 (2023) 142274.
- [18] B.L. Ferreira, D.P. Ferreira, S.F. Borges, A.M. Ferreira, F.H. Holanda, J.G.M. Ucella-Filho, R.A.S. Cruz, W.G. Birolli, R. Luque, I.M. Ferreira, Diclofenac, ibuprofen, and paracetamol biodegradation: overconsumed non-steroidal anti-inflammatories drugs at COVID-19 pandemic, *Front. Microbiol.* 14 (2023) 1–17.
- [19] S.S. Ayoub, Paracetamol (acetaminophen): A familiar drug with an unexplained mechanism of action, *Temperature.* 8 (2021) 351–371.
- [20] N. Klanovicz, C.A. Pinto, Occurrence of pharmaceutically active compounds in groundwater and their effects to the human health, *Environ. Sci. Pollut. Res.* (2024).
- [21] B.A. Zeid, M. AlHoyeck, N. Lahoud, Consumption of acetaminophen during pregnancy: A survey on knowledge, Attitudes and Practices of Lebanese Women, *Matern. Child Health J.* 28 (2024) 532–544.
- [22] F.V.A. Vieira, T.L. de Jesus, I.P.D. Maia, T.A. Guimarães, F.J.B. Figueiredo, T. de A. Pinheiro, T. de A. Pinheiro, Prevalência e potencial teratogênico de medicamentos usados por pacientes gestantes. Teratogenic prevalence and potential of drugs used by pregnant women, *Brazilian J. Heal. Rev.* 5 (2022) 12991–13003.
- [23] C. Salgado Costa, F. Bahl, G.S. Natale, T.M. Mac Loughlin, D.J.G. Marino, A. Venturino, S. Rodriguez-Mozaz, L.H.M.L.M. Santos, First evidence of environmental bioaccumulation of pharmaceuticals on adult native anurans (*Rhinella arenarum*) from Argentina, *Environ. Pollut.* 334 (2023) 122231.
- [24] H.N. Phong Vo, G.K. Le, T.M. Hong Nguyen, X.T. Bui, K.H. Nguyen, E.R. Rene, T.D.H. Vo, N.D. Thanh Cao, R. Mohan, Acetaminophen micropollutant: Historical and current occurrences, toxicity, removal strategies and transformation pathways in different environments, *Chemosphere.* 236 (2019) 124391.

- [25] V. Karthik, P. Selvakumar, P. Senthil Kumar, V. Satheeskumar, M. Godwin Vijaysunder, S. Hariharan, K. Antony, Recent advances in electrochemical sensor developments for detecting emerging pollutant in water environment, *Chemosphere*. 304 (2022) 135331.
- [26] M. de J.S. Chaves, S.C. Barbosa, E.G. Primel, Emerging contaminants in Brazilian aquatic environment: identifying targets of potential concern based on occurrence and ecological risk, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28 (2021) 67528–67543.
- [27] F. Pirvu, C.I. Covaliu-Mierlă, G.A. Catrina, Removal of acetaminophen drug from wastewater by Fe₃O₄ and ZSM-5 materials, *Nanomaterials*. 13 (2023) 1745.
- [28] M. Corpuz-Hilsabeck, N. Mohajer, M. Culty, Dysregulation of immature sertoli cell functions by exposure to acetaminophen and genistein in rodent cell models, *Cells*. 12 (2023) 1804.
- [29] O. JHH, G. TF, S. MT, Estimates of paracetamol poisoning in Brazil: Analysis of official records from 1990s to 2020, *Front. Pharmacol.* 13 (2022) 829547.
- [30] V.N. Palakollu, T.E. Chiwunze, C. Liu, R. Karpoornath, Electrochemical sensitive determination of acetaminophen in pharmaceutical formulations at iron oxide/graphene composite modified electrode, *Arab. J. Chem.* 13 (2020) 4350–4357.
- [31] S.A. Alkahtani, A.M. Mahmoud, R. Ali, M.M. El-Wekil, Sonochemical synthesis of lanthanum ferrite nanoparticle–decorated carbon nanotubes for simultaneous electrochemical determination of acetaminophen and dopamine, *Microchim. Acta*. 191 (2024) 25.
- [32] L.V.L. Martoni, N.O. Gomes, O.N. Oliveira, S.A.S. Machado, P.A. Raymundo-Pereira, Low-cost photoelectrochemical sensor sensitized with carbon spherical shells and cobalt(II) phthalocyanine for fast acetaminophen determination, *Microchem. J.* 197 (2024) 109780.
- [33] K. Akhtar, J. Ahmed, S. Ahmed, S. Perveen, S. Hussain, T. Gul, H. Imran, F. Abbasi, Phytoextract based synthesis of TiO₂. Al₂O₃ nanocomposites for efficient electrocatalytic detection of acetaminophen from environmental and pharmaceutical samples, *Ceram. Int.* (2024) 11012-11021.
- [34] T.P. Lisboa, L.V. de Faria, W.B.V. de Oliveira, R.S. Oliveira, C.C. de Souza, M.A.C. Matos, R.M. Dornellas, R.C. Matos, Simultaneous monitoring of amoxicillin and paracetamol in synthetic biological fluids using a 3D printed disposable electrode with a lab-made conductive filament, *Anal. Bioanal. Chem.* 416 (2023) 215–226.
- [35] R.D. Crapnell, I.V.S. Arantes, J.R. Camargo, E. Bernalte, M.J. Whittingham, B.C. Janegitz, T.R.L.C. Paixão, C.E. Banks, Multi-walled carbon nanotubes/carbon black/rPLA for high-performance conductive additive manufacturing filament and the simultaneous detection of acetaminophen and phenylephrine, *Microchim. Acta*. 191 (2024) 96.
- [36] N.T. Dong, N.T.T. Trang, N.V. Hoang, P.T. Linh, P.T. Yen, Simultaneous determination of paracetamol and diclofenac in wastewater by high-performance liquid chromatography method, *Vietnam J. Sci. Technol.* 61 (2023) 599–608.

- [37] L.C. Duarte, T.A. Baldo, H.A. Silva-Neto, F. Figueredo, B.C. Janegitz, W.K.T. Coltro, 3D printing of compact electrochemical cell for sequential analysis of steroid hormones, *Sensors Actuators B Chem.* 364 (2022) 131850.
- [38] A.J. Jesu Amalraj, U. Narasimha Murthy, S.F. Wang, Pt nanoparticle-decorated se rods for electrochemical detection of 17 β -Estradiol and methanol oxidation, *ACS Appl. Nano Mater.* 5 (2022) 1944–1957.
- [39] A. Geraci, R. Calvani, E. Ferri, E. Marzetti, B. Arosio, M. Cesari, Sarcopenia and menopause: The role of estradiol, *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 12 (2021) 682012.
- [40] Z. Wan, X. Qin, Y. Tian, F. Ouyang, G. Wang, Q. Wan, Long-term consumption of green tea can reduce the degree of depression in postmenopausal women by increasing estradiol, *Nutrients*. 15 (2023) 4514.
- [41] J.C.R. Galvão, M. da S. Araujo, M.C. Prete, V.L. Neto, L.H. Dall'Antonia, R. Matos, C.R.T. Tarley, R.A. Medeiros, Electrochemical determination of 17- β -estradiol using a glassy carbon electrode modified with α -Fe₂O₃ nanoparticles supported on carbon nanotubes, *Molecules*. 28 (2023) 6372.
- [42] Percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas: Brasil, grandes regiões e unidades da federação. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2021). <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv91110.pdf>
- [43] Z. Niavarani, D. Breite, A. Prager, I. Thomas, M. Kuehnert, B. Abel, R. Gläser, A. Schulze, Synthesis of composite imprinted polymer membranes for the selective removal of 17 β -estradiol from water, *Mater. Chem. Front.* 7 (2023) 19.
- [44] Y. Zhang, L. Jia, W. Wang, M. Jiang, H. Zhang, L.M. Niu, A novel fluorescent sensor based on aptamer recognition and DNA walker amplification strategy and its determination of 17 β -estradiol, *Arab. J. Chem.* 16 (2023) 105340.
- [45] S.F. de Aquino, E.M.F. Brandt, S.E.C. Bottrel, F.B.R. Gomes, S. de Q. Silva, Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in brazilian water and the risks they may represent to human health, *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 18 (2021) 11765.
- [46] R. Wu, Q. Zhang, C. Xue, Z. Chen, Mechanism for removing 17beta-estradiol by bio-nanocomposite FJ1@rGO based on integration of adsorption and biodegradation, *Chem. Eng. J.* 473 (2023) 145317.
- [47] J.I. AlAhadeb, Effective biodeterioration of a common endocrine disruptor 17 β -estradiol using mixed microbial cultures isolated from waste water, *Environ. Res.* 206 (2022) 112559.
- [48] P. Xie, Z. Liu, S. Huang, J. Chen, Y. Yan, N. Li, M. Zhang, M. Jin, L. Shui, A sensitive electrochemical sensor based on wrinkled mesoporous carbon nanomaterials for rapid and reliable assay of 17 β -estradiol, *Electrochim. Acta.* 408 (2022) 139960.

- [49] A. Wong, A.M. Santos, E.L. Fava, O. Fatibello-Filho, M.D.P.T. Sotomayor, Voltammetric determination of 17 β -estradiol in different matrices using a screen-printed sensor modified with CuPc, Printex 6L carbon and Nafion film, *Microchem. J.* 147 (2019) 365–373.
- [50] A.M. Musa, J. Kiely, R. Luxton, K.C. Honeychurch, Correction to: An electrochemical screen-printed sensor based on gold-nanoparticle-decorated reduced graphene oxide–carbon nanotubes composites for the determination of 17- β Estradiol, *Biosensors.* 13 (2023) 491.
- [51] V. Mhuka, S. Dube, M.M. Nindi, Occurrence of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in wastewater and receiving waters in South Africa using LC-OrbitrapTM MS, *Emerg. Contam.* 6 (2020) 250–258.
- [52] D.A. da S. Rodrigues, M.C.V.M. Starling, A.L.C. d. Barros, M.C. Santos, E.S. da Silva, G.C.C. Viana, L.F. da S. Ribeiro, M.F. Simcik, C.C. Amorim, Occurrence of antibiotics, hormones and PFAs in surface water from a Nile tilapia aquaculture facility in a Brazilian hydroelectric reservoir, *Chemosphere.* 352 (2024) 141444.
- [53] P.J.S. Filho, J.P.R. Coll, G.M.G. da Silva, M.A.F.S. Amaral, H.C. dos Santos Hackbart, M.D. Fusinato, D.R. Arsand, M.E. da Cunha, Development of a SPE/GC/MS method for simultaneous determination of UV filters (Oxybenzone and Octocrylene) and hormones (Estrone, Beta-Estradiol, and Estriol) in aqueous matrices, *Microchem. J.* 198 (2024) 110143.
- [54] L.G. Baumgarten, A.A. Freitas, E.R. Santana, J.P. Winiarski, J.P. Dreyer, I.C. Vieira, Graphene and gold nanoparticle-based bionanocomposite for the voltammetric determination of bisphenol A in (micro)plastics, *Chemosphere.* 334 (2023) 139016.
- [55] S. Pardeshi, R. Dhodapkar, Advances in fabrication of molecularly imprinted electrochemical sensors for detection of contaminants and toxicants, *Environ. Res.* 212 (2022) 113359.
- [56] R. Umapathi, C. Venkateswara Raju, S. Majid Ghoreishian, G. Mohana Rani, K. Kumar, M.H. Oh, J. Pil Park, Y. Suk Huh, Recent advances in the use of graphitic carbon nitride-based composites for the electrochemical detection of hazardous contaminants, *Coord. Chem. Rev.* 470 (2022) 214708.
- [57] P.A. Raymundo-Pereira, N.O. Gomes, S.A.S. Machado, O.N. Oliveira, Simultaneous, ultrasensitive detection of hydroquinone, paracetamol and estradiol for quality control of tap water with a simple electrochemical method, *J. Electroanal. Chem.* 848 (2019) 113319.
- [58] R.R. Suresh, M. Lakshmanakumar, J.B.B. Arockia Jayalatha, K.S. Rajan, S. Sethuraman, U.M. Krishnan, J.B.B. Rayappan, Fabrication of screen-printed electrodes: opportunities and challenges, *J. Mater. Sci.* 56 (2021) 8951–9006.
- [59] A.D. Ambaye, K.K. Kefeni, S.B. Mishra, E.N. Nxumalo, B. Ntsendwana, Recent developments in nanotechnology-based printing electrode systems for electrochemical sensors, *Talanta.* 225 (2021) 121951.
- [60] R.M. Cardoso, C. Kalinke, R.G. Rocha, P.L. dos Santos, D.P. Rocha, P.R. Oliveira, B.C. Janegitz, J.A. Bonacin, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Additive-manufactured (3D-printed) electrochemical sensors: A critical review, *Anal. Chim. Acta.* 1118 (2020) 73–91.

- [61] A. Abdalla, B.A. Patel, 3D Printed Electrochemical Sensors, *Annu. Rev. Anal. Chem.* 14 (2021) 47–63.
- [62] R. Singh, A. Gehlot, S.V. Akram, L.R. Gupta, M.K. Jena, C. Prakash, S. Singh, R. Kumar, Cloud manufacturing, internet of things-assisted manufacturing and 3D printing technology: Reliable tools for sustainable construction, *Sustain.* 13 (2021) 7327.
- [63] C. Liu, N. Xu, Q. Zong, J. Yu, P. Zhang, Hydrogel prepared by 3D printing technology and its applications in the medical field, *Colloids Interface Sci. Commun.* 44 (2021) 100498.
- [64] H. Agrawaal, J.E. Thompson, Additive manufacturing (3D printing) for analytical chemistry, *Talanta Open.* 3 (2021) 100036.
- [65] A. dos S. Novais, D.G. Ribeiro, L.M. de A. Melo, E. Ferrari Júnior, L.C. Arantes, B.G. Lucca, E.I. de Melo, R.F. Brocenschi, W.T.P. dos Santos, R.A.B. da Silva, Simple, miniaturized, adaptable, robust and transportable (SMART) 3D-printed electrochemical cell: A friendly tool for on-site and forensic analysis, *Sensors Actuators B Chem.* 398 (2024) 134667.
- [66] D.M. dos Santos, R.M. Cardoso, F.L. Migliorini, M.H.M. Facure, L.A. Mercante, L.H.C. Mattoso, D.S. Correa, Advances in 3D printed sensors for food analysis, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 154 (2022) 116672.
- [67] C.E.C. Lopes, L. V. de Faria, D.A.G. Araújo, E.M. Richter, T.R.L.C. Paixão, L.M.F. Dantas, R.A.A. Muñoz, I.S. da Silva, Lab-made 3D-printed electrochemical sensors for tetracycline determination, *Talanta.* 259 (2023) 124536.
- [68] J. Muñoz, M. Pumera, 3D-printed biosensors for electrochemical and optical applications, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 128 (2020) 115933.
- [69] L.R.G. Silva, J.S. Stefano, L.O. Orzari, L.C. Brazaca, E. Carrilho, L.H. Marcolino-Junior, M.F. Bergamini, R.A.A. Munoz, B.C. Janegitz, Electrochemical biosensor for SARS-CoV-2 cDNA detection using AuPs-modified 3D-Printed graphene electrodes, *Biosensors.* 12 (2022) 622.
- [70] H.A. Silva-Neto, M. Santhiago, L.C. Duarte, W.K.T. Coltro, Fully 3D printing of carbon black-thermoplastic hybrid materials and fast activation for development of highly stable electrochemical sensors, *Sensors Actuators B Chem.* 349 (2021) 130721.
- [71] K. Teekayupak, C. Aumnate, A. Lomae, P. Preechakasedkit, C.S. Henry, O. Chailapakul, N. Ruecha, Portable smartphone integrated 3D-Printed electrochemical sensor for nonenzymatic determination of creatinine in human urine, *Talanta.* 254 (2023) 124131.
- [72] M. Wan, A. Jimu, H. Yang, J. Zhou, X. Dai, Y. Zheng, J. Ou, Y. Yang, J. Liu, L. Wang, MXene quantum dots enhanced 3D-printed electrochemical sensor for the highly sensitive detection of dopamine, *Microchem. J.* 184 (2023) 108180.
- [73] W.B. Veloso, V.N. Ataide, D.P. Rocha, H.P. Nogueira, A. de Siervo, L. Angnes, R.A.A. Muñoz, T.R.L.C. Paixão, 3D-printed sensor decorated with nanomaterials by CO₂ laser ablation

and electrochemical treatment for non-enzymatic tyrosine detection, *Microchim. Acta.* 190 (2023) 63.

[74] R.S. Shergill, C.L. Miller, B.A. Patel, Influence of instrument parameters on the electrochemical activity of 3D printed carbon thermoplastic electrodes, *Sci. Rep.* 13 (2023) 339.

[75] A.D. Ambaye, K.K. Kefeni, S.B. Mishra, E.N. Nxumalo, B. Ntsendwana, Recent developments in nanotechnology-based printing electrode systems for electrochemical sensors, *Talanta.* 225 (2021) 121951.

[76] V.N. Ataide, D.P. Rocha, A. de Siervo, T.R.L.C. Paixão, R.A.A. Muñoz, L. Angnes, Additively manufactured carbon/black-integrated polylactic acid 3Dprinted sensor for simultaneous quantification of uric acid and zinc in sweat, *Microchim. Acta.* 188 (2021) 388.

[77] Y.K. Meng Jiao Wang, Charles A. Gray, Steve A. Reznick, Khaled Mahmud, *Carbon Black*, 4 (2003) 761–803.

[78] D.A. Gonçalves, G.L.D. Estadulho, K.E. Guima, C.A. Martins, Multi-electrode platform for selective electrochemical sensing: 3D-printed insulating plastic is turned into a five-electrodes chip, *Talanta.* 250 (2022) 123705.

[79] E. Redondo, J. Muñoz, M. Pumera, Green activation using reducing agents of carbon-based 3D printed electrodes: Turning good electrodes to great, *Carbon N. Y.* 175 (2021) 413–419.

[80] Z. Aloqalaa, Electrically conductive fused deposition modeling filaments: Current status and medical applications, *Crystals.* 12 (2022) 1055.

[81] J.M. Petroni, M.M. Neves, N.C. de Moraes, R.A. Bezerra da Silva, V.S. Ferreira, B.G. Lucca, Development of highly sensitive electrochemical sensor using new graphite/acrylonitrile butadiene styrene conductive composite and 3D printing-based alternative fabrication protocol, *Anal. Chim. Acta.* 1167 (2021) 338566.

[82] A. Koterwa, I. Kaczmarzyk, S. Mania, M. Cieslik, R. Tylingo, T. Ossowski, R. Bogdanowicz, P. Niedziałkowski, J. Ryl, The role of electrolysis and enzymatic hydrolysis treatment in the enhancement of the electrochemical properties of 3D-printed carbon black/poly(lactic acid) structures, *Appl. Surf. Sci.* 574 (2022) 151587.

[83] C. Kalinke, N.V. Neumsteir, G.D.O. Aparecido, T.V.D.B. Ferraz, P.L. Dos Santos, B.C. Janegitz, J.A. Bonacin, Comparison of activation processes for 3D printed PLA-graphene electrodes: Electrochemical properties and application for sensing of dopamine, *Analyst.* 145 (2020) 1207–1218.

[84] H.H. Bin Hamzah, O. Keattch, D. Covill, B.A. Patel, The effects of printing orientation on the electrochemical behaviour of 3D printed acrylonitrile butadiene styrene (ABS)/carbon black electrodes, *Sci. Rep.* 8 (2018) 9135.

[85] E.M. Richter, D.P. Rocha, R.M. Cardoso, E.M. Keefe, C.W. Foster, R.A.A. Munoz, C.E. Banks, Complete additively manufactured (3D-Printed) electrochemical sensing platform, *Anal. Chem.* 91 (2019) 12844–12851.

- [86] V.P. Gajdosova, L. Lorencova, P. Kasak, M. Jerigova, D. Velic, L. Orovcik, M. Barath, P. Farkas, J. Tkac, Redox features of hexaammineruthenium(III) on MXene modified interface: Three options for affinity biosensing, *Anal. Chim. Acta.* 1227 (2022) 340310.
- [87] J.D. Schrattenecker, R. Heer, E. Melnik, T. Maier, G. Fafilek, R. Hainberger, Hexaammineruthenium (II)/(III) as alternative redox-probe to Hexacyanoferrat (II)/(III) for stable impedimetric biosensing with gold electrodes, *Biosens. Bioelectron.* 127 (2019) 25–30.
- [88] E. Vaněčková, M. Bouša, Š. Nováková Lachmanová, J. Rathouský, M. Gál, T. Sebechlebská, V. Kolivoška, 3D printed polylactic acid/carbon black electrodes with nearly ideal electrochemical behaviour, *J. Electroanal. Chem.* 857 (2020) 113745.
- [89] P.L. dos Santos, V. Katic, H.C. Loureiro, M.F. dos Santos, D.P. dos Santos, A.L.B. Formiga, J.A. Bonacin, Enhanced performance of 3D printed graphene electrodes after electrochemical pre-treatment: Role of exposed graphene sheets, *Sensors Actuators, B Chem.* 281 (2019) 837–848.
- [90] R.S. Nicholson, Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics, *Anal. Chem.* 37 (1965) 1351–1355.
- [91] N. Murugan, S. Thangarasu, S. Bin Seo, A. Mariappan, Y.R. Choi, T.H. Oh, Y.A. Kim, N-doped defect-rich porous carbon nanosheets framework from renewable biomass as efficient metal-free bifunctional electrocatalysts for HER and OER application, *Renew. Energy.* 222 (2024) 119801.
- [92] Q. Wang, R. Guo, Z. Wang, D. Shen, R. Yu, K.H. Luo, C. Wu, S. Gu, Progress in carbon-based electrocatalyst derived from biomass for the hydrogen evolution reaction, *Fuel.* 293 (2021) 120440.
- [93] D. Voiry, M. Chhowalla, Y. Gogotsi, N.A. Kotov, Y. Li, R.M. Penner, R.E. Schaak, P.S. Weiss, Best practices for reporting electrocatalytic performance of nanomaterials, *ACS Nano.* 12 (2018) 9635–9638.
- [94] N. Selvaraju, Y. Sivalingam, G. Venugopal, Enhanced green H₂ generation using biomass-derived nitrogen-doped carbon dots incorporated with rare earth metal hydroxide [Gd(OH)₃] nanorods, *Int. J. Hydrogen Energy.* 52 (2024) 456–469.
- [95] W.T. Wahyuni, B.R. Putra, H.A. Rahman, W. Anindya, J. Hardi, E. Rustami, S.N. Ahmad, Electrochemical sensors based on Gold-Silver Core-Shell nanoparticles combined with a graphene/PEDOT:PSS composite modified glassy carbon electrode for paraoxon-ethyl detection, *ACS Omega.* (2023).
- [96] N. Benzbiria, A. Thoume, Z. Ait El Caid, S. Echihi, A. Elmakssoudi, A. Zarrouk, M. Zertoubi, An investigation on the utilization of a synthesized benzodiazepine derivative as a corrosion inhibitor for carbon steel in sulfuric solution: Chemical and electrochemical synthesis, surface analysis (SEM/AFM), DFT and MC simulation, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 681 (2024) 132744.

- [97] J. Crespo-Miguel, D. Garcia-Gonzalez, G. Robles, M. Hossain, J.M. Martinez-Tarifa, A. Arias, Thermo-electro-mechanical aging and degradation of conductive 3D printed PLA/CB composite, *Compos. Struct.* 316 (2023) 116992.
- [98] J. Muller, C. González-Martínez, A. Chiralt, Poly(lactic) acid (PLA) and starch bilayer films, containing cinnamaldehyde, obtained by compression moulding, *Eur. Polym. J.* 95 (2017) 56–70.
- [99] J.M. O'Reilly, R.A. Mosher, Functional groups in carbon black by FTIR spectroscopy, *Carbon N. Y.* 21 (1983) 47–51.
- [100] D.P. Rocha, V.N. Ataíde, A. de Siervo, J.M. Gonçalves, R.A.A. Muñoz, T.R.L.C. Paixão, L. Angnes, Reagentless and sub-minute laser-scribing treatment to produce enhanced disposable electrochemical sensors via additive manufacture, *Chem. Eng. J.* 425 (2021) 130594.
- [101] M.J. Glowacki, M. Cieslik, M. Sawczak, A. Koterwa, I. Kaczmarzyk, R. Jendrzewski, L. Szykiewicz, T. Ossowski, R. Bogdanowicz, P. Niedzialkowski, J. Ryl, Helium-assisted, solvent-free electro-activation of 3D printed conductive carbon-poly lactide electrodes by pulsed laser ablation, *Appl. Surf. Sci.* 556 (2021) 149788.
- [102] W. Melitz, J. Shen, A.C. Kummel, S. Lee, Kelvin probe force microscopy and its application, *Surf. Sci. Rep.* 66 (2011) 1–27.
- [103] C. Kalinke, P.R. De Oliveira, C.E. Banks, B.C. Janegitz, J.A. Bonacin, 3D-printed immunosensor for the diagnosis of Parkinson's disease, *Sensors Actuators B Chem.* 381 (2023) 133353.
- [104] V.B. Patil, R.R. Sawkar, D. Ilager, N.P. Shetti, S.M. Tuwar, T.M. Aminabhavi, Glucose-based carbon electrode for trace-level detection of acetaminophen, *Electrochem. Sci. Adv.* 2 (2022) e202100117.
- [105] Y. Li, S.M. Chen, The electrochemical properties of acetaminophen on bare glassy carbon electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.* 7 (2012) 2175–2187.
- [106] P. Supchoksoonthorn, M.C. Alviór Sinoy, M.D.G. de Luna, P. Paoprasert, Facile fabrication of 17 β -estradiol electrochemical sensor using polyaniline/carbon dot-coated glassy carbon electrode with synergistically enhanced electrochemical stability, *Talanta.* 235 (2021) 122782.
- [107] E.R. Santana, E.C. Martins, A. Spinelli, Electrode modified with nitrogen-doped graphene quantum dots supported in chitosan for triclocarban monitoring, *Microchem. J.* 167 (2021) 106297.
- [108] A. Cernat, M. Tertiş, R. Săndulescu, F. Bedioui, A. Cristea, C. Cristea, Electrochemical sensors based on carbon nanomaterials for acetaminophen detection: A review, *Anal. Chim. Acta.* 886 (2015) 16–28.

- [109] B. Healy, F. Rizzuto, M. de Rose, T. Yu, C.B. Breslin, Electrochemical determination of acetaminophen at a carbon electrode modified in the presence of β -cyclodextrin: role of the activated glassy carbon and the electropolymerised β -cyclodextrin, *J. Solid State Electrochem.* 25 (2021) 2599–2609.
- [110] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 2 ed., Wiley: Nova Iorque 2000.
- [111] F.C. Moraes, B. Rossi, M.C. Donatoni, K.T. de Oliveira, E.C. Pereira, Sensitive determination of 17β -estradiol in river water using a graphene based electrochemical sensor, *Anal. Chim. Acta.* 881 (2015) 37–43.
- [112] V. Mirceski, S. Skrzypek, L. Stojanov, Square-wave voltammetry, *ChemTexts.* 4 (2018) 17.
- [113] M. Gumustas, S.A. Ozkan, The role of and the place of method validation in drug analysis using electroanalytical techniques, *Open Anal. Chem. J.* 5 (2011) 1–21.
- [114] V. Katseli, A. Economou, C. Kokkinos, A novel all-3D-printed cell-on-a-chip device as a useful electroanalytical tool: Application to the simultaneous voltammetric determination of caffeine and paracetamol, *Talanta.* 208 (2020) 120388.
- [115] J.J. Triviño, M. Gómez, J. Valenzuela, A. Vera, V. Arancibia, Determination of a natural (17β -estradiol) and a synthetic (17α -ethinylestradiol) hormones in pharmaceutical formulations and urine by adsorptive stripping voltammetry, *Sensors Actuators, B Chem.* 297 (2019) 126728.
- [116] G.S. Schmitz, E.R. Santana, L.G. Baumgarten, J.P. Winiarski, M.C. Colaço, G.F. Caramori, A. Spinelli, I.C. Vieira, A simple and reliable electrochemical method employing an unmodified boron-doped diamond electrode for the determination of triclocarban, *Electrochim. Acta.* 486 (2024).
- [117] F. V. Mello, S.C. Cunha, F.H.S. Fogaça, M.B. Alonso, J.P.M. Torres, J.O. Fernandes, Occurrence of pharmaceuticals in seafood from two Brazilian coastal areas: Implication for human risk assessment, *Sci. Total Environ.* 803 (2022) 149744.
- [118] A. Gustavo González, M. Ángeles Herrador, A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 26 (2007) 227–238.
- [119] H. Qin, H. Liu, Y. Liu, S. Di, Y. Bao, Y. Zhai, S. Zhu, Recent advances in sample preparation and chromatographic analysis of pharmaceuticals and personal care products in environment, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 164 (2023) 117112.
- [120] S.S. Alqahtani, D.M. Bin Humaid, S.H. Alshail, D.T. Alshammari, H. Al-Showiman, N.Z. Alzoman, H.M. Maher, Development and validation of a high performance liquid chromatography/diode array detection method for estrogen determination: Application to residual analysis in meat products, *Open Chem.* 18 (2020) 995–1010.

[121] Desimoni, E., Brunetti, B., Data treatment of electrochemical sensors and biosensors. Environmental analysis by electrochemical sensors and biosensors, Springer: Nova Iorque, 1137–1151, 2015.