**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA**

Programa de Pós-Graduação em Química

WILSON AKIRA AMEKU

**Desenvolvimento de sensores (eletro)químicos em
suporte de papel para análise de amostras de
cocaína apreendidas**

Versão corrigida da Tese

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

01/06/2020

WILSON AKIRA AMEKU

**Desenvolvimento de sensores (eletro)químicos em
suporte de papel para análise de amostras de cocaína
apreendidas**

*Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Doutor em Ciências (Química)*

Orientador: Prof. Dr. Thiago Regis Longo Cesar da Paixão

São Paulo

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

A498d Ameku, Wilson Akira
Desenvolvimento de sensores (eletro)químicos em
suporte de papel para análise de amostras de cocaína
apreendidas / Wilson Akira Ameku. - São Paulo,
2020.
137 p.

Tese (doutorado) - Instituto de Química da
Universidade de São Paulo. Departamento de Química
Fundamental.
Orientador: Paixão, Thiago Regis Longo Cesar

1. Dispositivo analítico baseado em papel. 2.
Eletroanalítica. 3. SERS. 4. Colorimetria. 5. Perfil
químico. I. T. II. Paixão, Thiago Regis Longo Cesar
, orientador.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais e irmãs.

Dedico!

*“Eu que já não sou assim
Muito de ganhar
Junto as mãos ao meu redor
Faço o melhor que sou capaz
Só pra viver em paz.”*

Marcelo Camelo

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Etsuko, ao meu pai, Takeo e às minhas irmãs, Akemi, Sachiko e Izumi por apoiarem os meus sonhos e serem o meu porto seguro. Aos meus sobrinhos Seiya, Hikari, Rie, Sarah, Mitsuo, Luiza e Harry por alegrarem a minha vida. E aos meus doguínos que descansam em paz, Cookie pelas bagunças e carinho e, especialmente, ao Yati pelo carinho, proteção, aprendizagem e companhia de 17 anos e à gatinha Mia pela companhia. Ao Alexandre, Hilton e Kenji pela torcida e apoio.

À Vanessa, o meu amor, pela companhia, amizade maravilhosa, carinho, viagens, paciência, conversas que vão de BBB à ciência e apoio para que eu tivesse forças para concluir mais um desafio e aguentar o isolamento da COVID-19.

Às Marias, Luiza e Rosana, pela amizade que prezo muito, pelas risadas, festas, parques, viagens, desabafos, apoio no início do doutorado e, claro, corridas, porque somos Atletas (#sqn). Ao Abhishek, pelas caminhadas, bloquinhos e por abrir as portas de sua casa para oferecer pratos indianos saborosos. Ao Thiago Selva e à Jéssica, pelos filmes, viagens, churrascos e corridas.

Ao Professor Dr. Thiago Paixão, pela amizade, confiança, orientação, por acompanhar as prévias de apresentações e compartilhar o seu vasto conhecimento. Sem o seu empenho, a realização desta tese não seria possível.

Ao Professor Dr. William Araújo, pelas contribuições científicas e *insights* durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Maria Cristina (Criix!), pela amizade, pelo convívio e pelas conversas que me fortaleceram.

Aos meus amigos e colegas do L₂ESQ que acompanharam o desenvolvimento desta tese, Lúcia, Lígia, José Ricardo, Felipe (Ponêis), Rafael, Iana, Juliana, Letícia, Carol, Luiza, Gabriela, Mirtes, Marina, Mariana, Fernando, Jou, Rodrigo, Tatiana, Thalita.

Ao Prof. Dr. Mauro Bertotti, pela amizade, caminhadas, festas de confraternização de final de ano, pelas contribuições durante o exame de qualificação e por abrir as portas de seu laboratório para trabalho em conjunto. Aos amigos do LSEME pelo convívio, Anandhakumar, Ananthi, Carla, Alex, Gabriel, Renato, Gilberto, Douglas, Fabiana e

Alan. E aos meus amigos do LABEA pela amizade, conversa e café, Prof^ª. Dr^ª. Sílvia Serrano, Raphael, Fernando (Mayla) e Carol.

Ao Prof. Dr. Rômulo A. Ando por permitir a utilização de seu laboratório, realização de trabalho em conjunto e pela rica contribuição durante o exame de qualificação. E à sua aluna Clara J. Rangel pela colaboração para desenvolvimento deste trabalho. E aos demais membros do LEM, Prof^ª. Dr^ª. Dalva L. A. Faria e Rodrigo V. Moreira pelo trabalho em colaboração.

Ao Prof. Dr. Vitor Zamarion pelos ensinamentos no campo da ciência das nanopartículas de ouro, pela grande contribuição no exame de qualificação e na disciplina de Tópicos IV. Ao Prof. Dr. Daniel Grasseschi pelos ensinamentos na ciência das nanopartículas de ouro durante a iniciação científica que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Koiti Araki, pela orientação na iniciação científica, por abrir as portas de seu laboratório e permitir a realização de trabalho em conjunto durante o desenvolvimento deste trabalho. Ao Dr. Josué M. Gonçalves, pela amizade, pelo convívio e pela contribuição para a elaboração desta tese. E aos demais membros do LQSN, Dr^ª. Mayara Uchiyama pela colaboração e Prof. Dr. Henrique Toma, Júlio, Juan, Fernando, Jorge, Marcelo, Giovanne, Rodrigo e Paola pelo convívio.

Ao Prof. Dr. Ivano G. R. Gutz e Dr. Mauro S. Ferreira Santos pelo desenvolvimento de trabalho em conjunto. E ao Prof. Dr. Lúcio Angnes pelas colaborações e pelas considerações na banca de defesa.

À Profa. Dra. Maiara O. Salles e ao Prof. Dr. Bruno C. Janegitz pelas considerações na banca de defesa.

Aos demais colegas de pós-graduação pelo convívio e conversas.

Ao IQ-USP e às agências de fomento (CAPES, CNPq e FAPESP), pela infraestrutura oferecida e auxílios financeiros, respectivamente. Agradecimento especial à CAPES pela bolsa de doutorado (Processo: 3359/2014, Pró- Forenses, Edital 25/2014).

RESUMO

Ameku, W. A. Desenvolvimento de sensores (eletro)químicos em suporte de papel para análise de amostras de cocaína apreendidas. 2020. 138p. Tese - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Nesta tese apresentamos métodos simples e de baixo custo para fabricar dispositivos analíticos baseado em papel (PADs) com técnicas de detecções hífenadas para análise *in-loco* de amostras apreendidas de cocaína (COC). A eletroquímica e o espalhamento Raman intensificado por superfície (SERS) foram acoplados em PAD fabricado sobre papel sulfite pelo método *drop-drying* de nanopartícula de ouro, chamaremos este dispositivo de SERS-ePAD. A eletroquímica, novamente, foi usada juntamente com a colorimetria em PAD preparado sobre papel de filtro utilizando grafite modificado com Au eletrodepositado, o chamaremos de Color-ePAD. Aplicamos esses dispositivos para determinar o perfil químico da amostra de COC. Utilizando o SERS-ePAD detectamos eletroquimicamente o adulterante cafeína, em sobrepotencial menor e o paracetamol com maior sensibilidade quando comparados ao eletrodo convencional de Au. Quantificamos ambos os analitos pelo método de adição de padrão em amostra apreendida de COC. Os resultados corresponderam, aproximadamente, 96% dos valores obtidos por análise convencional. O levamisol que não apresentou resposta eletroquímica foi detectado seletivamente por SERS. A intensidade de banda apresentou variação direta conforme se aumentou a concentração de levamisol atingindo uma região de saturação. Bem como, utilizamos o Color-ePAD para gerar informações químicas das amostras de COC. Usando os valores de corrente elétrica e RGB como dados de entrada para análise das principais componentes, montamos um banco de dados com as possíveis respostas eletroquímicas e colorimétricas das amostras de COC adulteradas com aminopirina, permitindo a rápida análise das amostras de COC apreendidas por um método que não necessita analistas treinados. Os PADs foram caracterizados por microscopias para conhecer a morfologia, por técnicas de raio-X para conhecer as estruturas cristalográficas, por eletroquímica para avaliar seu desempenho, por espectroscopia Raman para verificar o aumento do espalhamento de fóton e fizemos testes de reprodutibilidade.

Palavras-chave: Dispositivo analítico baseado em papel, Eletroanalítica, SERS, Colorimetria, Análise das principais componentes, Cocaína, Perfil químico, Perfil Forense

ABSTRACT

Ameku, W. A. Development of (electro)chemical paper-based sensors for analysis of seized cocaine samples. 2020. 138p. PhD Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

In this thesis we present simple and low-cost methods to fabricate paper-based analytical devices (PADs) with hyphenated detection techniques for in-loco analysis of seized cocaine samples (COC). Electrochemistry and surface enhanced Raman scattering (SERS) were coupled on a PAD made on office paper by the drop-drying method of gold nanoparticles, namely as SERS-ePAD device. Again, electrochemical technique was combined with colorimetry on PAD prepared on filter paper with graphite modified with electrodeposited Au, namely Color-ePAD. We applied these devices to determine the chemical profiling of the COC sample. Using the SERS-ePAD, we electrochemically detect the caffeine adulterant, in a lower overpotential and the paracetamol with greater sensitivity when compared to the conventional Au electrode. We quantified these analytes using the standard addition method in a seized COC sample. The results corresponded, approximately, 96% of the values obtained by conventional analysis. Levamisole, which did not present electrochemical response, was selectively detected by SERS. The band intensity varied directly as the concentration of levamisole was increased, reaching a saturation region. As well as, we used the Color-ePAD to provide chemical information about the COC samples. Using the values of electrical current and RGB as input data for principal component analysis, we set up a database with the possible electrochemical and colorimetric responses of the COC samples adulterated with aminopyrine, allowing the rapid analysis of the seized COC samples by a method that does not require trained analysts. The PADs were characterized by microscopies to know the morphology, by X-ray techniques to know the crystallographic structures, by electrochemistry to evaluate their performance, by Raman spectroscopy to assess the increase in photon scattering and we carried out reproducibility tests.

Keywords: Paper-based analytical device, Electroanalysis, SERS, Colorimetry, Principal component Analysis, Cocaine, Chemical profiling, Forensic profiling

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
1.1 Sensores.....	21
1.1.1 Importância dos dispositivos analíticos	21
1.1.2 Dispositivos em papel.....	24
1.2 Drogas ilícitas (Cocaína).....	27
1.2.1 Visão geral.....	27
1.2.2 Perfil químico (Cocaína).....	29
1.2.3 Exames preliminares de constatação e definitivos	33
2. OBJETIVO	35
3. DISPOSITIVO DE NANOPARTÍCULA DE OURO BASEADO EM PAPEL COM DETECÇÃO DUPLA PARA APLICAÇÃO FORENSE.....	36
3.1 Preâmbulo.....	37
3.2 Materiais e métodos	40
3.2.1 Reagentes e equipamentos	40
3.2.2 Síntese de nanopartícula de ouro	40
3.2.3 Método de fabricação do dispositivo analítico em plataforma de papel	41
3.2.4 Eletroquímica com SERS-ePAD	43
3.2.5 Aquisição de espectros SERS	45
3.2.6 Microscopia eletrônica de varredura	46
3.2.7 Difratomia de raio-x.....	46
3.2.8 Cromatografia líquida de alta performance	46
3.3 Resultados e discussões	47
3.3.1 Fabricação dos dispositivos SERS-ePADs	47
3.3.2 Caracterização dos SERS-ePADs	55
3.3.3 Repetibilidade e reprodutibilidade do método de fabricação SERS-ePAD	59
3.3.4 Aplicação do dispositivo SERS-ePAD	60
3.4 Conclusões parciais	67
3.5 Perspectivas dessa etapa	68

4. DISPOSITIVO DE GRAFITE MODIFICADO COM NANOPOROS DE Au BASEADO EM PAPEL COM DUPLA DETECÇÃO PARA ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA DE COCAÍNA APREENDIDA	69
4.1 Preâmbulo.....	70
4.2 Materiais e métodos	72
4.2.1 Reagentes.....	72
4.2.2 Fabricação do filme nanoporos de Au para modificação do grafite	73
4.2.3 Método de fabricação do Color-ePAD.....	75
4.2.4 Caracterização microscópica.....	77
4.2.5 Medidas eletroquímicas	77
4.2.6 Análises colorimétricas	78
4.2.7 Análises das amostras de COC com dispositivo Color-ePAD	79
4.2.8 Análises das componentes principais.....	80
4.2.9 Análise da folha de Au por EDXRF.....	80
4.2.10 Outras aplicações da folha de Au.....	80
4.2.10.1 Detecção de glicose	80
4.2.10.2 Galvanoplastia do fio de Pt e síntese de nanopartícula com folha de Au ..	81
4.3 Resultados e discussões	83
4.3.1 Dispositivo PAD com detecção eletroquímica e colorimétrica	83
4.3.2 Otimização dos parâmetros de fabricação do Color-ePAD.....	84
4.3.3 Caracterização microscópica e eletroquímica do eletrodo grafite/NPG	93
4.3.4 Teste de reprodutibilidade do eletrodo grafite/NPG.....	100
4.3.5 Aplicação do dispositivo Color-ePAD em amostras de COC	101
4.3.6.2 Modificação do fio de Pt com Au eletrodepositado e síntese de nanopartícula a partir da folha de Au.....	113
4.4 Conclusões parciais	118
4.5 Perspectivas desta etapa	119
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	120
6. COLABORAÇÕES.....	122
6.1 Colaboração 1	122
6.2 Colaboração 2	123
6.3 Colaboração 3	123
7. REFERÊNCIAS	124

8. SÚMULA CURRICULAR	135
-----------------------------------	------------

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Comportamentos mediados pelos três principais neurotransmissores. Figura adaptada da referência ⁴⁵	28
Figura 2: As principais rotas de tráfico de COC descritos pelas apreensões de 2013-2017. Figura adaptada de ⁴⁵	30
Figura 3: Esquema de fabricação dos dispositivos SERS-ePADs. Foto do dispositivo SERS-ePAD com suas dimensões. A área geométrica do eletrodo de trabalho era de 0,025 cm ²	42
Figura 4: (A) Micrografia SEM da suspensão de AuNP e (B) um histograma mostrando a distribuição dos diâmetros das AuNPs. A curva gaussiana atinge o pico de 35,20 ± 4,60 nm. (C) espectros de UV-vis da suspensão de AuNP antes (linha vermelha) e após enriquecimento (linha preta) por centrifugação; as concentrações de AuNP são 78 pmol L ⁻¹ e 6,1 pmol L ⁻¹ , respectivamente. A imagem inserida mostra uma imagem fotográfica representando a cor da suspensão de AuNP antes e após o enriquecimento.	48
Figura 5: Otimização do processo de fabricação do SERS-ePAD em relação à quantidade de suspensão de AuNPs adicionada sobre o papel, 1 µL (linha preta), 2 µL (linha vermelha), 3 µL (linha laranja), 4 µL (linha azul) e 5 µL (linha verde). (A) CVs registrados em solução de H ₂ SO ₄ de 0,5 mol L ⁻¹ com velocidade de varredura de 50 mV s ⁻¹ usando os SERS-ePADs preparados com diferentes volumes de suspensão de AuNP. (B) O gráfico mostra a variação da área eletroativa calculada dos dispositivos fabricados em função do volume de suspensão de AuNPs. (C) Os espectros SERS obtidos com <i>laser</i> de 785 nm usando solução de tiofeno de 0,4 µmol L ⁻¹ adicionada sobre a região que contém ouro dos SERS-ePADs.	50
Figura 6: (A) CVs registrados em solução de H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ com uma velocidade de varredura de 50 mV s ⁻¹ usando SERS-ePAD (linha preta) e eletrodo Au convencional (linha vermelha) com a mesma área geométrica como eletrodos de trabalhos e Ag/AgCl (KCl 3 mol L ⁻¹) como eletrodo de referência. (B) Análise de XRD do dispositivo SERS-ePAD. A difração apresentada é resultado da subtração entre XRD do SERS-ePAD (cera, papel de escritório e filme AuNP) e o papel sulfite com barreira de cera.	52

Figura 7: Espectros SERS da solução de tiofeno $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ registrados no mesmo dispositivo SERS-ePAD e usando diferentes <i>laser</i> de excitação, isto é, 532, 633 e 785 nm com potência de 0,71; 0,43 e 0,27 mW, respectivamente.	53
Figura 8: Espectro SERS da solução de tiofeno $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ usando SERS-ePAD (linha vermelha) e espectro Raman convencional do líquido puro de tiofeno (12 mol L^{-1}) (linha preta), ambos os espectros foram registrados usando <i>laser</i> de excitação de 785 nm com potência de 0,27 mW.	54
Figura 9: Espectros de EDS obtidos da superfície do papel sulfite (A) sem e (B) com o filme de AuNPs. Micrografias SEM com aumento gradual da ampliação do papel sulfite (C, E e G) antes e (D, F e H) depois do recobrimento com o filme de AuNPs.	56
Figura 10: Micrografia SEM da seção transversal do dispositivo SERS-ePAD.	56
Figura 11: (A) CV registrado a uma velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} usando SERS-ePAD em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 10 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$; a linha tracejada corresponde à solução branco de KCl. (B) espectros de EIS obtidos usando o SERS-ePAD (pontos azuis) e um eletrodo de Au convencional (pontos vermelhos) registrados na mesma solução de KCl contendo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ descrito na imagem (A). As resistências de transferência de carga de $34 \pm 2 \Omega$ ($n = 3$) e $90 \pm 6 \Omega$ ($n = 3$) foram determinadas para o SERS-ePAD e o eletrodo de Au convencional, respectivamente. A imagem inserida é uma expansão da região do semicírculo do SERS-ePAD.	58
Figura 12: CVs obtidos em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 7 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ com velocidades de varredura variando de 1 mV s^{-1} a 225 mV s^{-1} . O gráfico inserido representa a variação da intensidade de corrente dos picos anódicos e catódicos em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.	59
Figura 13: (A) Ensaio de reprodutibilidade para CVs registrados em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ usando 10 dispositivos SERS-ePADs diferentes. O RSD dos eletrodos foi de 8,8%. Ensaio de repetibilidade para sinais SERS usando solução de tiofeno $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$, foi considerada a variação da banda de 1375 cm^{-1} em (B) dez diferentes pontos de um dispositivo SERS-ePAD e (C) em um ponto de dez diferentes dispositivos SERS-ePAD onde o RSD foi de 11,3% e 13,1%, respectivamente.	60
Figura 14: DPVs obtidos em solução de H_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (linhas tracejadas) com 5 mmol L^{-1} e $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR (A e B, linha sólida) e CAF (C e D, linha sólida), respectivamente, usando dispositivo SERS-ePAD (A e C) e eletrodo de Au convencional	

(B e D) como eletrodo de trabalho, ambos apresentaram a mesma área geométrica e como eletrodo de referência foi usado Ag/AgCl (KCl 3 mol L ⁻¹). Condição experimental velocidade de varredura de 10 mV s ⁻¹ , passo de 5 mV, amplitude de 40 mV, tempo de modulação de 0,10 s e tempo de intervalo de 0,50 s	62
Figura 15: Quantificação de (A) PAR e (B) CAF em amostras de cocaína apreendida usando SERS-ePAD em solução de H ₂ SO ₄ 0,05 mol L ⁻¹ utilizando DPV e a adição sucessiva de soluções padrão. A linha do traço corresponde à solução branco. (C) espectros SERS de uma amostra apreendida de COC contendo (a) LEV obtido usando SERS-ePAD e um <i>laser</i> de 785 nm e adições sucessivas da solução estoque de LEV: (b) 0,6, (c) 1,2, (d) 2,5 , (e) 5,0 e (f) 10 mM.	64
Figura 16: DPVs obtidos com velocidade de varredura de 10 mV s ⁻¹ , passo de 5 mV, amplitude de 40 mV, tempo de modulação de 0,1 s e tempo de intervalo de 0,5 s em solução de H ₂ SO ₄ 0,05 mol L ⁻¹ (linha de traço) usando SERS-ePAD com 0,5 mmol L ⁻¹ de (A) LID, (B) COC e (C) LEV (linha sólida).....	65
Figura 17: Espectros SERS obtidos com comprimento de onda de <i>laser</i> de 785 nm em meio aquoso (linha preta) e solução aquosa padrão de 100 µmol L ⁻¹ de LID (vermelho), CAF (amarelo escuro), COC (magenta) e LEV (ciano escuro).....	66
Figura 18: QR-Code para acessar ao Vídeo 1 onde o dispositivo SERS-ePAD é usado como <i>swab</i>	67
Figura 19: Esquema para preparar o molde para eletrodeposição de Au no grafite utilizando fite adesiva e <i>spray</i> impermeabilizante.	74
Figura 20: (A) Fabricação do ePAD utilizando papel de filtro modificado com cera e grafite/Au, as dimensões estão inseridas na imagem. (B) Fabricação do ColorPAD usando papel de filtro com as respectivas dimensões inseridas na imagem. Foto inserida do dispositivo Color-ePAD. Em destaque estão os eletrodos de trabalho, referência e auxiliar do ePAD e o canal de entrada de amostra e o tiocianato de cobalto seco na zona de detecção do ColorPAD.	76
Figura 21: Foto do dispositivo ColorPAD mostrando a região de normalização dos valores de RGB e regiões de onde se coletam valores de RGB referente ao complexo com COC (Região 1) e com AMI (Região 2).	79

Figura 22: Foto da trilha de Ag do eletrodo de referência do ePAD após 30 dias de exposição ao ambiente. Metade da trilha foi oxidada a AgCl e a outra foi mantida como Ag, que apresentou sinais de oxidação pela ação do oxigênio do ambiente.	84
Figura 23: CVs registrados com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} utilizando grafite/Au em PBS, pH 2, com 1 mmol L^{-1} de AMI em béquer utilizando eletrodo de referência Ag/AgCl convencional (vermelho) e com 10 mmol L^{-1} de AMI no papel com eletrodo de referência Ag/AgCl” (azul).....	85
Figura 24: (A) CVs registrados em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Em anexo é um zoom da região destacada de CVs (de 0,1 a 0,8 V). (B) CVs registrados em solução PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2) com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Todos os CVs foram registrados usando como eletrodo de trabalho grafite não modificada (preto) ou grafite modificado com Au aplicando -1 (vermelho), -2 (azul), -3 (verde) ou -4 V (roxo) (vs. Ag/AgCl). Ag/AgCl e Pt foram usados como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente. (C) Micrografias ópticas das pontas de grafite $0,9 \text{ mm}$ sem e com modificação Au.	87
Figura 25: CVs com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} registradas em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2, (linhas tracejadas) em béquer de 10 mL com 1 mmol L^{-1} de (A e C) AMI e (B e D) COC (linhas sólidas). Foram utilizados como eletrodo de trabalho (A e B) grafite não modificado e (C e D) grafite/NPG preparado com potencial aplicado de -4 V (vs. Ag/AgCl), eletrodo de referência Ag/AgCl convencional e eletrodo auxiliar de Pt.	89
Figura 26: Otimização do diâmetro da zona de detecção do ColorPAD em função do tempo utilizando reagente tiocianato de cobalto e solução COC 5 mmol L^{-1} preparada em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2.	90
Figura 27: Estrutura proposta do complexo tiocianato de Co com COC. Imagem adaptada de ¹²³	90
Figura 28: Fotos do teste de cor em placa de porcelana escavada utilizando solução aquosa de tiocianato de cobalto ($4\% \text{ m/m}$) preparada em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2. (A) Adição de $10 \mu\text{L}$ do reagente aos papeis Whatman e cromatográfico. (B) Após a secagem da solução tiocianato. (C) Em seguida, adicionaram-se, novamente, $10 \mu\text{L}$ de PBS (pH 2). (D) Sobre os papeis ainda úmidos adicionaram-se alguns sólidos de COC. (E) E por fim, sobre o precipitado azul, adicionou-se mais $20 \mu\text{L}$ de PBS, pH 2.	91

Figura 29: Fotos dos ColorPADs com o reagente tiocianato de cobalto depositado (seco), após a corrida da solução branco PBS (pH 2), após a corrida da PBS com 10 mmol L ⁻¹ de AMI ou COC depois de 2, 5, 10 e 20 minutos de análise.	93
Figura 30: Imagens SEM da ponta do grafite (A e B) sem e (C e D) com modificação com Au.	94
Figura 31: (A) Imagem TEM da estrutura porosa de Au que compõe o filme na ponta do grafite. (B) Partículas que compõe o filme NPG.	95
Figura 32: (A) Imagem TEM da estrutura de Au que compõe o filme na ponta do grafite/NPG. (C) TEM em alta resolução com distância de franja de 0,235 nm. (C) SAED da ponta do grafite/NPG.	96
Figura 33: Gráficos de Nyquist registrados em solução aquosa de KNO ₃ 0,1 mol L ⁻¹ com 2 mmol L ⁻¹ de [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} usando mina de grafite (vermelho) ou grafite/NPG (azul) como eletrodo de trabalho. Em anexo é ampliação do gráfico obtido com grafite/NPG em altas frequências.	97
Figura 34: (A) CVs registrados com eletrodos de trabalhos grafite não modificado (a) e grafite/NPG preparado aplicando-se -1 V (b), -2 V (c), -3 V (d) e -4 V (e) (vs. Ag/AgCl) por cronoamperometria. (B) CVs registrados com grafite/NPG preparado com -4 V (linha azul) e eletrodo de Au convencional (linha vermelha). Os CVs foram registrados com velocidade de varredura de 2 mV s ⁻¹ em solução PBS (pH 7,4) com 5 mmol L ⁻¹ de AA.	99
Figura 35: CVs registrados em H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ com velocidade de varredura de 50 mV s ⁻¹ utilizando 10 eletrodos grafite/NPG diferentes (cores claras). Média das correntes dos CVs com desvio padrão 173 ± 13 µA, 148 ± 10 µA e -738 ± 70 µA dos picos em 1,26 V; 1,43 V e 0,95 V, respectivamente (azul marinho).	100
Figura 36: DPVs registrados (n = 7) em PBS, pH 2, com 10 mmol L ⁻¹ de AMI utilizando ePAD com grafite/NPG, Ag/AgCl ^o e Ag como eletrodo de trabalho, referência e auxiliar, respectivamente. As condições para registrar os voltamogramas foram 10 mV de potencial de passo, 25 mV de amplitude, 50 ms de tempo de modulação e 400 ms de intervalo de tempo.	101
Figura 37: CVs com 50 mV s ⁻¹ de velocidade de varredura registrados em solução de H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ usando diferentes eletrodos grafite/Au referenciados a Ag/AgCl	

convencional (lado esquerdo). No lado direito são os CVs com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} registrados usando os mesmos eletrodos de trabalho, porém, referenciados a Ag/AgCl° em solução de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2 (linha tracejada), com 10 mmol L^{-1} de AMI (linha contínua)..... 103

Figura 38: (A) Gráfico de escores da PCA obtidos com os CVs das amostras de COC. (B) Gráfico dos pesos das variáveis (correntes dos CVs) na PCA, estão em destaque o potencial aplicado onde se obteve os valores de corrente. Os potenciais das varreduras reversas estão indicados com (*). (C) CVs das amostras de COC registrados com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} utilizando ePAD com grafite/NPG, Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$) e Ag como eletrodo de trabalho, referência e auxiliar, respectivamente. (D) Gráfico dos CVs mostrado em C com a respectiva região ampliada. As amostras 100:0, 80:20, 50:50, 20:80 e 0:100 estão representadas pelas cores vermelha, verde, preta, roxa e azul, respectivamente..... 104

Figura 39: Fotos da zona de detecção dos dispositivos ColorPADs com tempo e concentrações de COC e AMI variáveis..... 107

Figura 40: Gráficos de escores PCA feitos com dados de entrada RGB obtidos em (A) 2, (B) 5, (C) 10 e (D) 20 minutos de análise das amostras de COC/AMI com dispositivo ColorPAD. As amostras de 100:0, 80:20, 50:50, 20:80 e 0:100 são representadas pelas cores vermelha, verde, preta, roxa e azul, respectivamente. 108

Figura 41: (A) Gráfico de escores da PCA feito com dados de entrada RGB obtidos em 2, 5, 10 e 20 minutos de análise das amostras de COC/AMI com dispositivo ColorPAD. As amostras de 100:0, 80:20, 50:50, 20:80 e 0:100 são representadas pelas cores vermelha, verde, preta, roxa e azul, respectivamente. (B) Gráfico de peso das variáveis RGB, que são representadas pelo tempo, pela letra da respectiva cor e presença ou ausência de (*), que representam dados obtidos na região de formação do complexo azul com COC e AMI, respectivamente..... 109

Figura 42: (A) Gráfico de escores da PCA dos dados combinados da CV e RGB obtidos com 2, 5, 10 e 20 minutos de análise das amostras de treinamento de COC/AMI feitas com dispositivo Color-ePAD. As amostras de 100:0, 80:20, 50:50, 20:80 e 0:100 são representadas por círculos vermelhos, verdes, pretos, roxos e azuis, respectivamente. (B) Gráfico de escores da PCA dos mesmos dados da análise anterior mais amostra simulada de COC/AMI (estrelas)..... 110

Figura 43: Espectros SERS das amostras (A) 100:0, (B) 0:100 e (C) 50:50 usando Color-ePAD. Condições experimentais: *laser* de 785 nm, tempo integração de 10 s, acumulação de 1 e lente de aumento de 20 vezes..... 111

Figura 44: (A) LSV registrado com ePAD utilizando grafite/NPG como eletrodo de trabalho e Ag como eletrodo de referência e auxiliar, a velocidade de varredura foi de 10 mV s⁻¹ em solução PBS, pH 7, (linha tracejada) com 5 mmol L⁻¹ de glicose (linha sólida). (B) DPVs registrados com ePAD em plasma sanguíneo de voluntário com concentrações de glicose crescentes. Condição da análise foi velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹, passo de 15 mV, amplitude de 125 mV, tempo de modulação de 50 ms e intervalo de 200 ms. Em anexo é a curva de calibração, onde pode se observar a variação da densidade de corrente em função da concentração de glicose. As análises foram feitas em triplicatas. 112

Figura 45: (A) Fotografia do fio de Pt antes e depois da deposição de Au. CVs obtidos usando o eletrodo de trabalho (B) Pt recoberto com estrutura Au e (C) o eletrodo comercial policristalino Au, ambos registrados em solução de H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹, usando velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹ por 12 ciclos. Um fio Pt de 1 mm de diâmetro e um Ag/AgCl (KCl 3 mol L⁻¹) foram utilizados como eletrodos auxiliar e de referência, respectivamente. 114

Figura 46: Espectro UV-Vis da suspensão de nanopartículas de Au. A imagem inserida mostra a cor da suspensão de nanopartículas de Au (violeta). 116

Figura 47: (A), (B) e (C) micrografias TEM de nanopartículas de Au em formato de arroz sintetizadas através de folha de Au, (D) padrão de difração de elétrons de área selecionada a partir da imagem em (E) e (E) TEM de alta resolução mostrando a distância entre franjas do nanorice de Au (espaçamento $d = 0,23$ nm). 117

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação discriminatória das técnicas analíticas para exames de droga ilícita de acordo com SWGDRUG. Tabela adaptada de ⁶⁰	34
Tabela 2: Análise elementar da folha de Au obtida por EDXRF	86
Tabela 3: Valores de RGB registrados no Color-ePAD das amostras de COC com AMI conforme o tempo. Foram registrados em duas regiões diferentes do dispositivo: um na região de formação do complexo com COC (R, G e B) e a outra na região do complexo com AMI (R*, G* e B*). n = 5.....	107

1. INTRODUÇÃO

1.1 Sensores

1.1.1 Importância dos dispositivos analíticos

O início de 2020 foi marcado pela pandemia do novo coronavírus (SARS-CoV-2).¹ A infecção pelo vírus gerou febre, tosse, falta de ar, mal-estar, mialgia e fadiga, sintomas parecidos com a gripe comum, mas pode evoluir para quadro clínico grave – síndrome respiratória aguda grave, insuficiência respiratória e falência de múltiplos órgãos.^{2,3} A rápida transmissão através de secreções respiratórias,³ mãos e superfícies contaminadas,⁴ somada à falta de tratamentos médicos eficientes e vacina para prevenção gerou crise mundial na saúde. Do dia 31/12/2019 até o 17/5/2020, infelizmente, o mundo registrava 4.525.497 pessoas infectadas e 307.395 mortes.^{5,6}

Até o presente momento (17/5/2020) somente os países que tomaram medidas preventivas rígidas conseguiram frear o avanço do SARS-CoV-2, configuraram esta lista a Alemanha, França, Argentina, Nova Zelândia, Austrália, Coreia do Sul e destaque para Espanha, Itália e China que por um período foram o epicentro da doença.^{1,5,6} Há muitos outros países que conseguiram conter o avanço. Por outro lado, nos Estados Unidos (EU) e Brasil, por exemplo, o cenário é bastante diferente. Em 12/3/2020, dia em foi declarado a pandemia do SARS-CoV-2,¹ havia 1.278 e 70 pessoas contaminadas nos EU e no Brasil, respectivamente, quase dois meses depois havia a confirmação de 1.436.542 e 233.528 pessoas infectadas,⁶ tamanho foi o descontrole da transmissão desse vírus devido à não implementação de medidas de contenção responsáveis.

Neste cenário a melhor forma de prevenção foi o distanciamento social e, principalmente, o isolamento de pessoas infectadas sejam elas sintomática ou assintomática² para não transmitir e colapsar o sistema de saúde.⁷ Para acompanhar a

evolução da taxa de transmissão, o monitoramento massivo da população seria o ideal. Em um cenário em que uma pessoa transmite para outras 2,5 pessoas, estima-se que seriam necessários 36 testes para cada pessoa infectada para controlar a propagação,⁷ este número é estimado no fato de que a transmissão de humano para humano acontece, principalmente, entre membros de família, parentes e amigos próximos.³ A partir dos resultados dessas análises as autoridades públicas podem embasar medidas para afrouxar ou endurecer o isolamento social. No dia 17/5/2020 o Brasil registrou 15.305 novos casos nas últimas 24 horas,⁶ e considerando a necessidade de 36 testes para cada pessoa infectada, seriam necessários 550.980 testes por dia para controlar a propagação. O Ministério da Saúde prevê apenas 70 mil testes por dia em períodos mais críticos,⁸ um número muito abaixo do ideal.

Testes convencionais para SARS-CoV-2 são feitos por detecção de ácido nucleico por reação em cadeia polimerase em tempo real (RT-PCR, *real-time polymerase chain reaction* em inglês)³ em laboratórios certificados, requer 2-3 horas para emitir resultados, exige operações complicadas, equipamentos caros e analistas treinados,² inviabilizando o teste massivo na população. Assim, o desenvolvimento de sensores baratos, portáteis e de uso fácil que necessitam de volumes pequenos de amostra se destacam para testes rápidos.

No campo de diagnóstico clínico, pesquisadores do Brasil, desenvolveram imunossensor eletroquímico barato para detecção rápida (20 s) de anticorpo IgG relacionado à febre macular, cuja taxa de mortalidade é de 50% se não tratada de forma adequada.⁹ Ainda, no mesmo campo, foi desenvolvido uma placa de 96 microzonas para realizar ensaios imunoabsorção enzimática (ELISA, *Enzyme-linked immunosorbent assay* do inglês) com detecção colorimétrica sobre papel com barreiras hidrofóbicas de

fotorresiste para detecção do vírus HIV¹⁰ e sobre o filme de poliéster com reservatórios feitos com *tonner* de impressora a *laser* para detecção de vírus da dengue.¹¹

Sensores químicos e biológicos têm grande importância não só na área clínica, mas também em outros campos de grande interesse mundial como o da segurança, ambiental e alimentos/bebidas¹² fornecendo informações para tomada de decisão. Em 2007, no Brasil, alguns produtores de leite adicionavam H₂O₂ para retardar a degradação do produto infringindo a legislação brasileira. Para identificar sinais de adulteração do leite foi desenvolvido por Paixão e colaboradores uma língua eletrônica voltamétrica com CD-R de ouro modificado com filme de Azul da Prússia.¹³ Foi fabricado também um arranjo com seis eletrodos de trabalho (Au, Ir, Pd, Pt, Re e Rh) mais eletrodos de referência e auxiliar usando uma matriz de resina epóxi para ser utilizado como uma língua eletrônica voltamétrica para análise de bebidas lácteas.¹⁴

Ainda, utilizando materiais disponíveis comercialmente, Santos e colaboradores elaboraram um dispositivo eletroquímico flexível que conferiu dois regime de transporte de massa dos analitos no mesmo dispositivo, a esférica e planar, comumente observado em microeletrodos e macroeletrodos, respectivamente, simplesmente prensando uma folha de Au utilizada em artesanatos e culinária de espessura submicrométrica entre fitas kapton, assim esse dispositivo pode ser usado em superfícies curvas como o nosso corpo como sensor vestível.¹⁵

Dessa forma, o desenvolvimento de sensores de baixo custo com características portáteis e uso-fácil é importante para ampliar o monitoramento de doenças transmissíveis ou a qualidade de bebidas, por exemplo. E assim, aplicar decisões suportadas em dados analíticos no âmbito da saúde pública, definir tratamentos clínicos adequados ou decidir se consome ou não determinada bebida. Mais à frente pode-se

verificar aplicações em outros campos. Especialmente, nesta tese serão apresentados desenvolvimento de dispositivos que subsidiam estratégias para conter o tráfico de drogas (cocaína).

1.1.2 Dispositivos em papel

Neste campo dos sensores o papel destaca-se por ser um material bastante acessível e possibilita a fabricação de dispositivos descartáveis. As características – leve, abundante, barato, flexível, de fácil descarte e alta razão área/volume – atraem a atenção dos pesquisadores para fabricação de sensores portáteis de uso único para análise em campo.^{16,17} O papel é composto por fibras celulósicas de estrutura tridimensional que permite armazenar reagentes químicos por impregnação evitando que o analista manuseie reagentes,¹⁸ a sua superfície pode ser modificada química ou fisicamente de acordo com a finalidade e necessita-se de pequenos¹⁶ ou nenhum volume¹⁹ de insumo para fabricação dos dispositivos.

O uso do papel para fabricação de sensores remete ao passado distante. O seu precursor, o papiro, foi usado como substrato para analisar a qualidade da tinta púrpura tíria por uma técnica semelhante à cromatografia no ano de 79.¹⁸ No início de 1800 Gay-Lussac descreve o uso do papel tornassol para verificar acidez do meio por teste de cor.¹⁸ Em 1883, George Oliver descreveu o uso de dispositivo baseado em papel para detecção de glicose e proteína em urina.^{18,20} O papel era aplicado em muitas outras áreas para sensoriamento.¹⁸ No entanto, somente a partir 2007 o número de publicações começou a crescer.²⁰ Naquele ano o grupo do Prof. Whitesides divulgou o desenvolvimento de um dispositivo microfluídico baseado em papel cromatográfico (μ PAD, *μ -paper-based analytical device* em inglês) com multicanais delimitados por fotorresiste feito por fotolitografia, o que proporcionou controle da direção de fluxo do fluido²⁰ e análise

multipléxica colorimétrica de glicose e proteína sem necessitar de equipamento externo para obter dados analíticos.²¹ Já em 2009, buscando maior sensibilidade e seletividade, o grupo do Prof. Charles Henry hifenou eletrodos de tinta de carbono com Azul da Prússia feito por impressão de tela para detecção eletroquímica utilizando μ PAD. Os dispositivos analíticos foram preparados com papel cromatográfico modificado com fotorresiste delimitado por fotolitografia visando ao controle do fluídos para análise quantitativa de ácido úrico, glicose e lactato.²²

Os μ PADs são frequentemente fabricados com papel cromatográfico Whatman.²²⁻²⁶ É comum encontrar o papel cromatográfico Whatman diferenciados por números, por exemplo no. 4 e no. 1, o primeiro (~ 20 - $25\ \mu\text{m}$) possui poros maiores que o segundo ($\sim 11\ \mu\text{m}$).²³ O Whatman cromatográfico no. 1 feito com fibras de algodão de alta qualidade cuja composição é de 98% de α -celulose, possui superfície uniforme, reprodutível²⁷ e não há adição de aditivos, aglutinantes hidrofóbicos e agentes branqueadores (diminuindo as chances de interferência nas análises) o que o torna um bom absorvente de líquidos.^{12,18} A ação capilar produz fluxo lateral passivo em regime microfluídico de soluções aquosas sem necessitar de força motriz externa.²⁸ Adicionalmente, à medida que a solução percorre as fibras do papel, as partículas grandes percolando às fibras podem interagir com essas, sendo excluídas por tamanho e sendo filtradas²¹, além disso, e ao longo do caminho os analitos podem reagir com compostos químicos armazenados em suas fibras para detecção colorimétrica.²⁹

Na literatura foi reportado a fabricação de μ PAD com Whatman no. 1 para quantificação colorimétrica de proteína em amostra de urina medida por transmissão da luz através do papel, as barreiras hidrofóbicas do dispositivo foi feito de fotorresiste por fotolitografia, uma técnica que confere grande precisão.²⁵ Foi desenvolvido também um PAD com eletrodo termoplástico com fluxo passivo rápido e contínuo da solução

eletrolítica utilizando papel cromatográfico delimitado com barreiras hidrofóbicas de cera para quantificação de ácido cafeico em amostra de chá, um composto com propriedades anti-inflamatórias, anticâncer e regulador do sistema imune.³⁰ Outros papéis como o de filtro^{31,32} são utilizados para a mesma finalidade. A microfluídica é uma característica interessante para o desenvolvimento de dispositivos integrados e miniaturizados que realizam reações químicas simples, separação e detecção de analitos chamados de laboratórios em chips.^{12,27,33}

O papel nitrocelulose é outro material que se destaca nesse meio, esse substrato tem propriedade única para imobilizar proteínas, DNA e RNA.²⁷ Sendo a razão pela qual, fabrica-se dispositivos de imunoensaio com fluxo lateral com esse papel. Ainda não é claro o mecanismo de interação entre a membrana nitrocelulose e macromoléculas citadas, sugere-se que as propriedades hidrofóbicas (por conta da alta rugosidade)¹² e presença de cargas na superfície são características responsáveis por tal fato.²⁷ Sendo assim, desenvolveu-se dispositivo imunoensaio com fluxo lateral controlado por pressão. Permitindo a detecção dupla de patógenos alimentares, *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* O157:H7 utilizando nanopartículas de ouro (AuNPs) funcionalizadas com anticorpos das respectivas bactérias.³⁴

Por outro lado, PADs fabricados utilizando o papel como suporte para o material transdutor sem necessitar da propriedade microfluídica podem utilizar como plataforma o papel sulfite – um material bastante acessível cuja superfície contém, além de cargas (*filler*), dímeros de alquil cetona que confere características hidrofóbicas ao material.^{12,18} Sobre a superfície do papel sulfite podem ser feitas trilhas condutivas de grafite transferido manualmente pelo método *pencil drawing* para a fabricação de PADs com detecção eletroquímica (ePADs) para detecção de nicotinamida adenina dinucleótido, e analgésico e sedativo em bebida alcoólica contaminada;^{35,36} fabricar trilhas condutivas de

Ag por impressão de tela para detecção de ácido pícrico (explosivo) e cloreto em amostras ambientais;³⁷ produzir trilhas condutivas do tipo gráfitico a partir da pirólise do papelão com *laser* de CO₂ sem o uso de reagentes para detecção de explosivo;¹⁹ fabricar sensores com dupla detecção, eletroquímica e Raman intensificada por superfície (SERS, *surface enhanced Raman scattering* em inglês), por *drop casting* de pequeno volume de suspensão concentrada de AuNPs (6 µL) sobre o papel sulfite para análise de cocaína apreendida.¹⁶ Além do mais, PAD com detecção colorimétrica em papel sulfite pode ser preparado através da adição de reagente cromóforo na zona de detecção para detecção de fenacetina em amostra de cocaína.³⁸

Este campo da pesquisa é bastante fértil e rico de exemplos promissores. Por último, destaca-se o desenvolvimento do dispositivo de imunoensaio com fluxo lateral para teste rápido utilizando papel de nitrocelulose para detecção de anticorpo imunoglobulina M (IgM) e G (IgG) de SARS-CoV-2 em sangue humano.² O ensaio utiliza AuNPs funcionalizadas com proteína *Spike* do SARS-CoV-2 e leva 15 min para ser realizada. Como se pode ver há inúmeros materiais eletródicos utilizados, tipos de papeis escolhidos e formas de detecção, aplicações e fabricação realizados. Na literatura há excelentes revisões que sintetizam todos esses fatores servindo de guia para o desenvolvimento de novos dispositivos.^{12,18,20,39–45}

1.2 Drogas ilícitas (Cocaína)

1.2.1 Visão geral

Em 2017, havia cerca de 18 milhões de pessoas de 15 a 64 anos no mundo que usaram cocaína (COC) no ano anterior.⁴⁶ A produção foi de, aproximadamente, de 800 toneladas em 2013 e saltou para 1976 toneladas em 2017.⁴⁶ A COC faz parte da classe dos psicoestimulantes que atuam no sistema nervoso central aumentando o estado de

alerta, euforia e prazer.^{46,47} O composto aumenta a ativação das vias dos estimulantes naturais no cérebro, influenciando o nível dos três principais neurotransmissores - dopamina, serotonina e noradrenalina. A COC atua em maior extensão na produção da dopamina, depois, noradrenalina e, por fim, serotonina.⁴⁶

Figura 1: Comportamentos mediados pelos três principais neurotransmissores. Figura adaptada da referência ⁴⁶.

Compostos que alteram a consciência e a emoção podem gerar grande dependência, tanto psíquica e quanto física.⁴⁸ A dependência psíquica é o desejo de consumi-la acreditando que o bem-estar depende da droga, caso contrário poderá desencadear crises psicológicas graves. A física acontece quando o organismo se adapta à presença da droga, ou seja, o seu funcionamento depende dela. Na ausência da droga, o organismo sofre síndrome de abstinência e como consequência o usuário pode sofrer convulsões, tremores, vômitos, sudorese, diarreia e em alguns casos levar a morte.⁴⁸

Além dos danos à saúde dos usuários, o tráfico de COC traz prejuízos a sociedade com aumento da violência e acidentes de trânsito, sem contar, os prejuízos nos campos da educação e relação de trabalho.⁴⁸ Na tentativa de frear o consumo de drogas, aqui no Brasil, foi aplicada a normativa que institui um sistema nacional de políticas públicas de drogas através da Lei 11.343/06 e a Portaria 344/98 da ANVISA, que atua

na regulamentação técnica de controle especial de medicamentos e compostos químicos.⁴⁸

1.2.2 Perfil químico (Cocaína)

A COC é um composto natural extraído das folhas de coca. Somente quatro variedades dos arbustos *Erythroxylum* (*E. coca* var. *coca*; *E. coca* var. *ipadu*; *E. novogranatense* var. *novogranatense* e *E. novogranatense* var. *truxillense* do total de, aproximadamente, 230 espécies) contém quantidades de alcaloides que variam de 0,5 - 1,5% da massa das folhas secas, do qual 75% corresponde à COC.⁴⁹ Em 2017, o cultivo dessas plantas concentraram-se nos países andinos (Bolívia, Peru e Colômbia),⁴⁶ sendo os principais produtores da droga.

A análise química das drogas apreendidas indica que o destino principal dessas drogas produzidas são os Estados Unidos e a Europa Ocidental e Central. O mercado ilícito dos Estados Unidos, em 2017, foi abastecido pela COC produzida na Colômbia (93%), Peru (4%) e de outros países (3%, origem não identificada). Enquanto a Europa Ocidental e Central recebeu da Colômbia (74%), Peru (21%) e Bolívia (4%) no período de 2013-17.⁴⁶

Figura 2: As principais rotas de tráfico de COC descritos pelas apreensões de 2013-2017. Figura adaptada de ⁴⁶.

A correlação entre o local de apreensão e a origem geográfica da COC pode ser feita através do perfil químico ou perfil forense da amostra.^{50,51} Quando estas informações são armazenados em um banco de dados juntos com as características físicas da amostra (embalagem e aparência) e dados circunstanciais (número do caso criminal, massa, data e local de apreensão) permitem rastrear a rede de organizações criminosas e seus padrões de atividade, além de compreender a estrutura e evolução no espaço e tempo do mercado de drogas ilícitas.^{50,52} Formando, assim, subsídios para embasar estratégias de autoridade e instituições voltadas ao estudo, controle e enfrentamento do tráfico.⁴⁹

O perfil químico determina o teor de alcaloides minoritários, de truxilinas (dímeros de *cis*- e/ou *trans*-cinamoilcocaína), a razão isotópica (C, N, O e H) dos componentes de extração da folha, os solventes oclusos, a forma de apresentação e a presença de adulterantes e diluentes.⁴⁹ Nas folhas de coca são encontrados cerca de 20 alcaloides diferentes e a composição relativa de cada um possui relação com a variedade

de arbusto e local de cultivo.⁴⁹ Os principais alcaloides quantificados são ecgonina, benzoilecgonina, metilecgonina, norcocaína, N-formil-cocaína, *cis* e *trans*-cinamoilcocaína, tropacocaína e trimetoxicocaína.^{49,52-55}

Os 11 estereoisômeros de truxilinas são resultado da fotodimerização da (*cis* e/ou *trans*)-cinamoilcocaína. A diversidade de compostos é dependente da estereoquímica dos reagentes, conformação favorável do produto e a exposição à radiação ultravioleta, este fator tem relação com o local geográfico onde o arbusto é cultivado.^{49,55} Logo, através da composição de truxilinas pode-se estabelecer relação entre a composição química da COC refinada e a sua origem geográfica.

A composição isotópica é outro fator que está relacionado com a origem geográfica. O regime de chuva, temperatura, umidade e a composição isotópica do dióxido de carbono do ambiente da região de cultivo influenciam na composição isotópica.⁴⁹

A COC pode ser encontrada em diversas formas de apresentação a depender do estágio de refino. Há a pasta base, cocaína base, *crack* e merla são todos cocaína na forma de base livre,⁴⁹ ou seja, cocaína desprotonada. A diferença é a forma de apresentação física, a pasta base é o primeiro produto da extração da folha de coca, tem aspecto de pó ou grumo de cor pardacenta ou bege. A cocaína base é a pasta base processada com permanganato ou etanol para retirada de *cis* e *trans*-cinamoilcocaína, apresenta cor bege mais clara na forma de pó ou grumo. O *crack* é a cocaína base em forma de pedra após sofrer processo de fusão e solidificação e geralmente apresenta bicarbonatos em sua composição. A merla é a COC base livre com cerca de 70% de teor de água e presença de sulfato, carbonato e/ou bicarbonato de sódio. Outra forma de apresentação é o

cloridrato de COC, a COC protonada associada a cloreto, de aparência de sólida com pequenos grãos de coloração branca.⁴⁹

Os solventes orgânicos ocluso na matriz cristalina durante o processo de refino do cloridrato de COC constituem o perfil químico da amostra também. Podem ser encontrados acetona, tolueno, éter etílico, acetato de etila/propila, metil-etil-cetona, metanol, xilenos, hidrocarbonetos alifáticos leves, metil-isobutil-cetona, benzaldeído e 2-propanol.^{49,53}

Por último, e não menos importante, é a determinação de adulterantes e diluentes, conhecidos como agente de corte.⁵⁰ As organizações criminosas adicionam substâncias esbranquiçadas sem ação farmacológica como açúcar, amido, farinhas em geral e bicarbonato de sódio/cálcio para aumentar o volume da amostra de COC e, assim, obter maiores lucros.^{37,39} Ou então, adicionam fármacos que mimetizam ou potencializam os efeitos sensoriais da COC como a dormência com a adição de anestésicos locais ou analgésicos/antipiréticos – benzocaína, lidocaína, prilocaína, procaína, paracetamol (PAR), fenacetina, 4-dimetil-aminoantipirina (AMI, aminopirina) –^{31,38,52,57-59} ou o estado de alerta com estimulantes – cafeína, efedrina e fenmetrazina.^{16,56,58} Adulteram-se também com anti-helmíntico de uso veterinário como o levamisol (LEV),¹⁶ cujo mecanismo de ação associado a COC ainda não foi elucidado. Sugere-se que o composto potencializa o efeito acetilcolinérgico nicotínico do sistema nervoso central prolongando o efeito de euforia.⁴⁷ Há também relatos de uso de sedativos para reduzir os efeitos colaterais indesejáveis como taquicardia e paranoia⁴⁹ – diltiazem, hidroxizina.^{49,51,56} As organizações criminosas utilizam os agentes de corte de pronta disponibilidade, podem ser encontrados um ou mais compostos em amostra de COC de rua e cada organização tem a sua forma particular de misturar.⁵⁰

O perfil químico, além de ser uma ferramenta importante para as instituições de combate ao tráfico de drogas, fornece informações toxicológicas às instituições de saúde para o tratamento adequado dos usuários de COC, pois eles podem apresentar sintomas associados aos agentes de corte. Agranulocitose, vasculite e outras complicações podem resultar do consumo de COC adulterado com LEV.⁴⁷ E da mesma forma, a AMI pode gerar agranulocitose.⁵⁹ A fenacetina é um composto cancerígeno que pode desencadear complicações aos rins.³⁸ A *overdose* de paracetamol geram dores abdominais, convulsões e sudorese, sintomas diferentes da COC (hipotermia, convulsões, alucinações, arritmias e/ou infarto do miocárdio).⁶⁰

A determinação do perfil químico da amostra apreendida é, usualmente, feita por técnicas poderosas como cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama^{52,54} ou por espectrometria de massas,⁵⁷ ou então utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detector ultravioleta/visível ou espectrometria de massas.⁴⁹ Mas, do ponto de vista em que há inquérito policial aberto e há a necessidade de emissão de laudos para saber se havia substância ilícita ou não na amostra suspeita são utilizadas, além das técnicas citadas, mais outras tantas que serão apresentadas a diante.

1.2.3 Exames preliminares de constatação e definitivos

A diretriz internacional *Scientific Working Group for Analysis of Seized Drugs* (SWGDRUG) classifica as técnicas analíticas para identificação de drogas ilícitas de acordo com o poder discriminatório.⁶¹ As categorias variam de A a C, em A encontram-se as técnicas mais seletivas que discriminam os compostos de acordo com a informação estrutural da molécula, em B estão as técnicas que selecionam por característica química e física, já C são as técnicas menos discriminatórias e a seleção acontece por informação geral e de classe.^{61,62} A Tabela 1 resume a classificação das técnicas.

Tabela 1: Classificação discriminatória das técnicas analíticas para exames de droga ilícita de acordo com SWGDRUG.⁶¹

<u>Categoria A</u> Seletividade através da estrutura molecular	Espectroscopia de infravermelho
	Espectrometria de massas
	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear
	Espectroscopia Raman
	Difratometria de raio-X
<u>Categoria B</u> Seletividade através das características química e física	Eletroforese capilar
	Cromatografia gasosa
	Espectrometria de mobilidade iônica
	Cromatografia líquida
	Teste microcristalino
	Cromatografia de fluido supercrítico
	Cromatografia de camada delgada
	Espectroscopia ultravioleta-visível
	Exame morfológico macroscópica (somente maconha)
	Exame morfológico microscópica (somente maconha)
<u>Categoria C</u> Seletividade através da informação geral ou de classe	Teste de cor
	Espectroscopia de fluorescência
	Imunoensaios
	Ponto de fusão
	Marcadores farmacológicos

A SWGDRUG faz recomendações para emitir resultados de forma segura para exames definitivos de identificação de droga. Quando se utiliza uma técnica validada de categoria A, seria necessário pelo menos uma outra análise complementar com método de qualquer categoria. Caso não seja possível utilizar um método A, seriam necessários três exames, dois dos quais, ao menos, devem ser da categoria B e não devem ser relacionados entre si.^{45,46}

Ainda de acordo com a Tabela 1, as técnicas cromatográficas pertencem a categoria B, mas quando elas são acopladas a uma outra técnica como a espectrometria de massas (tipo A) são consideradas métodos separados.⁶² Portanto, é considerado um exame com método do tipo A complementado pela técnica do tipo B.

Antes de emitir laudos definitivos, nas instituições policiais e de fiscalização de todo mundo,⁴⁸ a amostra apreendida passa por um exame de triagem, chamado de exame preliminar de constatação. Considerando a necessidade de rapidez e o volume grande de apreensões, o teste de cor de categoria C é adequado para essa situação, pois pode ser aplicado em qualquer lugar sem a necessidade de equipamento, de forma barata, simples e rápida. Dessa forma, a autoridade competente e treinada obtém o resultado para emissão do laudo de constatação (preliminar). Em caso de resultado positivo a amostra apreendida é encaminhada para laboratório de química forense onde será submetida a exames definitivos com técnicas mais seletivas e sofisticadas. Há inúmeros testes de cor, cada uma aplicada para um tipo de droga, a COC é analisada pelo teste de Scott, onde é adicionada solução rósea de tiocianato de cobalto II sobre a amostra suspeita, o resultado positivo é a formação da cor azul.^{62,63} Cabe ressaltar que este teste de cor não é seletivo para COC,^{62,64} portanto os resultados devem ser interpretado com cautela e apesar de ser um teste simples requer muito treinamento por parte das autoridades para aplicar.

2. OBJETIVO

- Desenvolver dispositivos em plataforma de papel com detecção dupla para determinar o perfil químico da amostra de cocaína apreendida.
- Desenvolver dispositivo analítico com detecção eletroquímica e Raman intensificada por superfície em papel sulfite utilizando nanopartículas de ouro como material eletródico para analisar amostra de cocaína apreendida.
- Desenvolver dispositivo analítico com detecções eletroquímica e colorimétrica acopladas em papel cromatográfico utilizando grafite modificado com Au como eletrodo de trabalho para analisar amostra de cocaína apreendida.

3. DISPOSITIVO DE NANOPARTÍCULA DE OURO BASEADO EM PAPEL COM DETECÇÃO DUPLA PARA APLICAÇÃO FORENSE

3.1 Preâmbulo

Os dispositivos analíticos baseados em papel (PADs, *paper-based analytical devices* em inglês) são excelentes alternativas aos sensores convencionais fabricados com outros materiais para substrato, como o vidro, uma vez que são mais baratos, requerem pequenas quantidades de reagente e amostra, podem ser fabricados usando métodos simples e/ou materiais reciclados, são descartáveis, portáteis, leves e miniaturizáveis.^{22,65,66} Além disso, o papel é biodegradável, flexível, relativamente abundante, barato e de natureza porosa e inerte.⁶⁷ Essas características do papel são extremamente interessantes para a fabricação de tecnologia de laboratórios miniaturizados em chip.⁴⁴ Esses dispositivos podem ser fabricados usando várias abordagens que dependem de finalidade/aplicação e são realizados usando diferentes técnicas de detecção que variam da impressão em cera usando colorimetria como técnica de detecção,²¹ a abordagens de pirolise a *laser* em uma etapa para fabricação de PADs eletroquímicos (ePADs).¹⁹ Para fabricar ePADs, partículas de ouro e/ou nanopartículas (AuNPs), como materiais alternativos, podem ser imobilizadas nas superfícies de papel por métodos de pulverização,⁶⁸ filtração a vácuo,⁶⁷ e impressão a jato de tinta,^{69,70} para produzir transdutores condutores com características diferentes dos materiais de carbono.¹⁹

Os dispositivos de papel de espalhamento Raman intensificado por superfície (SERS, *surface enhanced Raman scattering* em inglês) também foram reportados como sistemas de detecção de PADs; esses dispositivos são fabricados usando procedimentos diferentes que incluem o revestimento da superfície do papel com gotículas de uma suspensão de AuNP,⁷¹ mergulhando o substrato de papel em uma suspensão de AuNP,⁷² ou mesmo usando uma caneta esferográfica carregada de suspensão de AuNP para desenhar manualmente o substrato SERS na superfície do papel⁶⁶ por uma abordagem

semelhante a já relatada para os ePADs de carbono fabricados usando uma abordagem de desenho a lápis.⁶⁵

Esses dispositivos SERS-PAD ou ePAD são amplamente aplicáveis no campo de sensores; eles podem ser usados para monitorar compostos químicos relevantes presentes em vários problemas globais. Com base em uma única técnica de detecção, os analitos alvos incluem moléculas associadas ao diagnóstico clínico,^{22,67,71} adulterantes em amostras de cocaína apreendidas,³⁷ pesticidas em alimentos⁶⁶ e compostos explosivos para segurança nacional.⁷²

O tráfico de drogas é um grande problema mundial e, neste contexto, a cocaína (COC) é globalmente uma das drogas de abuso mais consumidas. Em 2008, a América do Norte e a Europa juntas fizeram parte de um mercado gigantesco que movimentou US\$ 88 bilhões com o tráfico de COC e somente na América do Sul foram apreendidas 419 t de COC, o que representa 59% da quantidade total de amostras de cocaína apreendidas no mundo.^{73,57}

As amostras apreendidas de COC de rua são frequentemente encontradas diluídas com compostos, como açúcar, talco, pó de materiais de construção e de vidro, que aumentam os lucros das organizações criminosas.⁵¹ No entanto, essa estratégia pode resultar em mortes prematuras de usuários de drogas em médio prazo e, consequentemente, diminuir a venda da droga.⁵¹ Para contornar essa situação, organizações criminosas adotaram estratégias sofisticadas de diluição de cocaína, nas quais compostos farmacêuticos, como acetaminofeno (paracetamol, PAR), 4-dimetilamino antipirina (aminopirina), levamisol (LEV), cafeína (CAF), fenacetina, procaína, lidocaína (LID) e diltiazem são adicionados à amostra de COC para mimetizar ou potencializar o efeito da COC e para aumentar os lucros de vendas.^{31,39,74} Geralmente,

a composição da mistura é característica da organização criminosa e fornece uma impressão digital química ou perfil químico.^{50,75} Esses perfis permitem que o departamento de inteligência da polícia rastreiem rotas de distribuição de drogas e invistam esforços para eliminar o tráfico de drogas em uma determinada região. Por exemplo, amostras contendo LEV são encontradas regularmente perto da fronteira com a Colômbia, enquanto amostras contendo fenacetina são frequentemente encontradas na fronteira com o Peru e a Bolívia.⁷⁵

Agentes de corte, como aminopirina,⁵⁹ procaína,⁷⁶ benzocaína, CAF, LID, fenacetina⁷⁷ e PAR⁷⁸ são detectáveis por técnicas eletroquímicas; no entanto, nem todos os agentes de corte são eletroativos. Alguns compostos, como o LEV, oxidam em torno de 2,0 V em eletrodos como o diamante dopado com boro.⁷⁸ Por outro lado, a espectroscopia Raman é uma técnica muito útil para identificar a presença de cafeína, benzocaína, lidocaína e até LEV em sólidos,^{79,80} mas essa técnica tem baixa sensibilidade, o que reduz sua versatilidade. Como alternativa, a técnica SERS tem um limite de detecção significativamente reduzido e pode até detectar uma única molécula;⁸¹ além disso, pode ser facilmente acoplada ao ePAD para fornecer um segundo sistema de detecção.

Com esse contexto em mente, e para melhor rastrear as amostras de cocaína, neste trabalho, apresentamos um novo PAD de uso único com grande área eletroativa e sistema de detecção duplo eletroquímica/SERS que podem ser usados para detectar compostos eletroativos, bem como aqueles que não conseguem ser facilmente monitorados por abordagens eletroquímicas. O sensor fabricado possui nanoestrutura porosa de ouro e é sintetizado de maneira simples, sem moldes, na superfície de um papel barato (papel sulfite),³⁷ no qual os AuNPs são depositadas por gotejamento sem a necessidade de equipamentos sofisticados. Nosso dispositivo desenvolvido, chamado de

"SERS-ePAD" (SERS-dispositivo analítico eletroquímico em papel), foi usado para detectar seletivamente agentes de corte comumente usados em amostras apreendidas de COC, como CAF e PAR através da técnica eletroquímica (que possui espalhamento Raman baixo) e o adulterante de LEV (que não pode ser detectado eletroquimicamente) por espectroscopia SERS.

3.2 Materiais e métodos

3.2.1 Reagentes e equipamentos

Pó de alumina (Buehler, 0,3 μm diâmetro), HAuCl_4 (99.99%), tiofeno (99%), cloridrato de levamisol (99.9%), acetaminofeno (99%), cafeína (99%), e lidocaína (99%) foram comprados da Sigma Aldrich, enquanto que citrato de sódio, HNO_3 (P.A. – A.C.S.) e HCl (P.A. – A.C.S.) foram comprados da Synth, e $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, NaOH e H_2SO_4 (97%) foram comprados da Merck. A cola de Ag (PC-9070/1) foi comprada da Joint Metal Comércio LTDA e a amostras apreendidas e padrão de cocaína foram gentilmente cedidas pela Polícia Científica do Estado de São Paulo mediante licença com Instituto de Química. Papel sulfite branco (tamanho A4, Chamex International paper). Fita adesiva Scotch Blue (3M).

3.2.2 Síntese de nanopartícula de ouro

As nanopartículas de ouro (AuNPs) foram sintetizadas pelo método de redução do AuCl_4^- pelo citrato.^[82] Em 50 mL de água deionizada foram dissolvidos 10 mg de HAuCl_4 resultando em uma solução de cor amarela, que foi mantida em agitação vigorosa e sob refluxo por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,9 mL de solução de citrato de sódio (1% m/m) e a mistura foi mantida sob refluxo e agitação por mais 2 minutos. Após a adição de citrato, a solução amarela tornou-se incolor e, depois de alguns segundos, a cor mudou para preto e depois para cor de vinho tinto escuro indicando a presença de

AuNPs, a concentração da suspensão de AuNPs foi de $7,8 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ determinada pela intensidade de absorbância UV-vis (espectrofotômetro 8453 da Agilent) e lei de Lambert-Beer considerando o coeficiente de extinção de $6,06 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para AuNPs de 35 nm de diâmetro.^[83,84]

Antes de se usar a suspensão de AuNPs, 4 mL da suspensão foram concentradas/enriquecidas por centrifugação (centrifuga Spin Lab) a 10.000 rpm durante 10 minutos. Quase todo sobrenadante de $6,1 \text{ pmol L}^{-1}$ de concentração de AuNPs foram retirados, restando apenas 8 μL da suspensão enriquecida 36 nmol L^{-1} de concentração foram redispersas em banho de ultrassom.

3.2.3 Método de fabricação do dispositivo analítico em plataforma de papel

As etapas de fabricação foram representadas esquematicamente na Figura 3. Na primeira etapa foi utilizado o processo de impressão de cera utilizando impressora de cera Color Qube 8570 da Xerox para criar microzonas hidrofílicas inserindo barreiras hidrofóbicas na superfície do papel sulfite (210 x 297 mm), depois na etapa 2 os moldes de cera foram derretidos prensando-o em uma chapa de aquecimento sob 120° C durante 2 minutos, para preencher a estrutura tridimensional da matriz de papel e na etapa 3 cada molde de cera foi recortado usando uma tesoura.

Figura 3: Esquema de fabricação dos dispositivos SERS-ePADs. Foto do dispositivo SERS-ePAD com suas dimensões. A área geométrica do eletrodo de trabalho era de $0,025 \text{ cm}^2$.

As AuNPs foram utilizadas como material eletródico e foram depositadas na superfície do papel em duas etapas utilizando pipeta automática; na etapa 4 o contato elétrico foi feito adicionando $1 \mu\text{L}$ de suspensão AuNPs concentrada que depois foi exposta a lâmpada infravermelha (60° C , PAR38E de 150 W da Philips) por 90 s para fazer processo de sinterização, repetiu-se esta etapa duas vezes no total para melhorar a condutividade. Para reforçar o contato elétrico ou para evitar danos ao filme de AuNPs causado pelo jacaré do potenciostato, o contato elétrico foi estendido e reforçado utilizando cola de prata, e foram pintados com o mesmo material os eletrodos pseudo-referência e auxiliar como representado na etapa 5. Na etapa 6 foi feito o eletrodo de trabalho adicionando $1 \mu\text{L}$ de suspensão AuNPs concentrada e, da mesma forma que a etapa anterior, foi mantido sob luz infravermelha por 90 s , essa etapa foi repetida três vezes no total. Foram consumidos no total $6 \mu\text{L}$ de AuNPs, esse volume não pôde ser

adicionado de uma vez, pois transbordava do molde cera. Por fim, na etapa 7 foi anexada fita adesiva para delimitar a área geométrica do eletrodo e para proteger o contato elétrico da solução eletrolítica. A área geométrica do eletrodo de trabalho SERS-ePAD era de $0,025 \text{ cm}^2$. As dimensões dos dispositivos de papel foram mostradas na Figura 3.

3.2.4 Eletroquímica com SERS-ePAD

A voltametria cíclica (CV, *cyclic voltammetry* em inglês) foi registrada com potenciostato PGSTAT 204 da Metrohm em sistema de três eletrodos preparado em plataforma de papel, no qual o eletrodo de trabalho foi preparado com AuNPs e os eletrodos pseudo-referência e auxiliar foram feitos com cola de Ag. Para comparar as respostas eletroquímicas dos eletrodos de trabalho de AuNPs e de Au convencional foi utilizado eletrodo de referência Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$) ao invés de pseudo-referência de Ag. O eletrodo convencional de Au foi polido em alumina antes de cada medida. Antes de se utilizar ambos os eletrodos, foram registrados CVs em solução eletrolítica de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com 50 mV s^{-1} de velocidade de varredura para caracterização e limpeza das superfícies dos eletrodos. As áreas eletroativas dos eletrodos de Au foram calculadas considerando-se a quantidade de carga envolvida no processo catódico no potencial elétrico de $0,6 \text{ V}$ (vs. Ag) ou $0,9 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl) do óxido de Au formado durante CV em solução de H_2SO_4 e o fator de conversão utilizado foi de $386 \mu\text{C cm}^{-2}$, que é a carga necessária para reduzir uma monocamada de 1 cm^2 de óxido de ouro.⁸⁵ Além disso, foi registrado CV com potenciostato PalmSens3 (PalmSens) com 50 mV s^{-1} de velocidade de varredura, utilizando K_3FeCN_6 como sonda redox para demonstrar a característica flexível e a capacidade de se utilizar o dispositivo SERS-ePAD como *swab* para coletar resíduo de sólido em uma determinada área de superfície (Vídeo 1, o QR Code para acessar ao vídeo está disponível ao final deste capítulo na Figura 18).

A voltametria de pulso diferencial (DPV, *differential pulse voltammetry* em inglês) com velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} , 5 mV de passo, 40 mV de amplitude, 0,1 s de tempo de modulação e 0,5s de tempo de intervalo foi usada para detecção de CAF e PAR em amostra de COC apreendida contendo LID, CAF e PAR (COC-AP1), que foi concedido e analisada qualitativamente por cromatografia gasosa com detector de chama ionizante (CG-FID, *gas chromatography with flame ionization detector*, em inglês) pela polícia científica do estado de São Paulo. A DPV da solução branco foi registrada em 190 μL de solução H_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, depois 2 μL ou 6 μL de solução aquosa estoque de CAF 10 mmol L^{-1} ou PAR 5 mmol L^{-1} , respectivamente, foram adicionadas a fim de entender o comportamento eletroquímico desses analitos. Os analitos presentes na amostra apreendida de COC foram analisados quantitativamente pelo método de adição padrão. Uma alíquota de 10 μL de solução aquosa da amostra apreendida (8 mg mL^{-1}), preparada sem tratamento prévio, foi adicionada a 190 μL de solução de H_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ seguido de adições sucessivas de alíquota de 2 μL ou 1 μL de solução estoque de CAF 25 mmol L^{-1} ou PAR 5 mmol L^{-1} , respectivamente. Adicionalmente, tentamos analisar eletroquimicamente o LEV registrando voltamogramas de soluções de LEV contendo $0,5\text{-}3,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução de H_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, *electrochemical impedance spectroscopy* em inglês) foi obtida com potenciostato PGSTAT 128N da Metrohm e foi feita em 100 μL solução aquosa de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 10 mmol L^{-1} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$. EIS foi feita em potencial de circuito aberto usando eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}) e eletrodo auxiliar de tinta de Ag. Foi usado um potencial alternado com amplitude de 10 mV executada entre 0,10 Hz e 100 kHz de frequência. Todos os experimentos foram feitos em temperatura ambiente.

3.2.5 Aquisição de espectros SERS

Os espectros SERS foram obtidos utilizando lente Olympus de longo alcance de 80x de magnificação utilizando microespectrometro Raman Renishaw Invia, tempo de integração de 20 s, acumulação de 2 e usando *lasers* de comprimento de onda de 532 nm (*laser* de diode), 633 nm (He e Ne) e 785 nm (*laser* de diode) com potência de 0,71 mW; 0,43 mW e 0,27 mW, respectivamente.

O primeiro experimento foi feito para determinar o comprimento de onda adequado para excitação dos elétrons ressonantes de superfície do dispositivo SERS-ePAD para registrar os espectros SERS. Como molécula sonda foi utilizada tiofeno preparada em solução aquosa de concentração $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$. Uma alíquota de $2 \mu\text{L}$ da solução foi adicionado sobre a região de nanoporos de Au do SERS-ePAD e aguardou-se a secagem completa em ambiente protegida da luz e a temperatura ambiente.

Depois, otimizamos o volume de AuNP usado para fabricar o dispositivo SERS-ePAD através dos espectros SERS utilizando o comprimento de onda apropriado (785 nm, potência = 0,27 mW) e usando solução aquosa de tiofeno de concentração de $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$. Com o método de fabricação do dispositivo otimizado para sensoriamento SERS, calculamos o fator de intensificação SERS (EF, *enhanced factor* em inglês) registrando espectro SERS do dispositivo preparado usando $3 \mu\text{L}$ de suspensão de AuNPs concentrada e adicionando $2 \mu\text{L}$ de solução aquosa de tiofeno $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$. Para comparação, um espectro Raman convencional do tiofeno líquido puro (12 mol L^{-1}) foi registrado. Em ambos os casos foi utilizado o *laser* de 785 nm com potência de 0,27 mW.

A fim de demonstrar a aplicabilidade do dispositivo em detectar o agente de corte LEV em amostra de cocaína apreendida contendo LID, CAF e LEV (COC-AP2) concedida e analisada qualitativamente por GC-FID pela polícia científica, $2 \mu\text{L}$ de

solução aquosa de COC (4 mg mL^{-1}), preparada sem tratamento prévio, foi adicionado sobre a região de nanoporo de Au do dispositivo e o espectro SERS foi obtido com *laser* 785 nm e 1 mW, em seguida soluções estoque de LEV com concentração que variavam de $0,6 \text{ mmol L}^{-1}$ a 10 mmol L^{-1} foram sucessivamente adicionadas, e mudanças na intensidade das bandas SERS foram observadas. Para avaliar o efeito das espécies com potencial de interferência, foram registrados espectros de soluções de LID, CAF e COC com concentração de $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

3.2.6 Microscopia eletrônica de varredura

Para obter a microscopia eletrônica de varredura (SEM, *Scanning Electron Microscopy* em inglês, JEOL JSM-7401F) da secção transversal do SERS-ePAD o dispositivo foi clivado em nitrogênio líquido.

3.2.7 Difratometria de raio-x

O papel sulfite contendo barreira hidrofóbica (cera) e o dispositivo SERS-ePAD foram submetidos à análise de difratometria de raio-X (XRD, *X-ray diffractometry* em inglês, instrumento de raio-X Rigaku Miniflex) utilizando radiação Cu K α (30 kV e 15 mA) com velocidade de varredura de $1,0^\circ \text{ min}^{-1}$ pelo intervalo de $30\text{-}100^\circ$ de 2θ

3.2.8 Cromatografia líquida de alta performance

A cromatografia líquida de alta performance (HPLC, *high performance liquid chromatography* em inglês) foi realizada usando o instrumento Shimadzu (Kyoto, Japão) equipado com um detector de UV e equipado com uma câmara de coluna com temperatura controlada, amostrador automático, sistema de bomba terciária e um coletor de frações. Uma coluna C18 ($250 \times 4,6 \text{ mm}$, $5 \text{ } \mu\text{m}$) Shimadzu (Kyoto, Japão) foi usada com uma fase móvel com um gradiente de 40-100% de metanol (MET) em 40 mmol L^{-1}

de solução tampão de fosfato a pH 7,0 (PBS7). O programa de gradiente utilizado foi: 0–2 min, 40% MET e 60% PBS7; 2–15 min, gradiente linear até 100% MET; 15–20 minutos, a coluna foi reequilibrada com 40% de MET e 60% de PBS7 antes da próxima injeção. Todas as análises por HPLC foram realizadas a 40° C com um volume de injeção de 10 µL e uma vazão de 1,0 mL min⁻¹. Para detecção de drogas, o detector de UV foi operado a 220 nm. A amostra de COC apreendida e as soluções estoque dos analitos foram preparadas em acetonitrila e água (ambos de grau HPLC) (50:50 v/v) para HPLC, e várias alíquotas de soluções de COC apreendida foram analisadas quantitativamente, adicionando a amostra com concentrações crescentes de solução estoque.

3.3 Resultados e discussões

3.3.1 Fabricação dos dispositivos SERS-ePADs

Os dispositivos SERS-ePADs foram fabricados na superfície do papel sulfite adicionando suspensão de AuNPs pelo método *drop-drying*, as partículas foram preparadas pela redução do AuCl₄⁻ mediada pelo citrato. As partículas foram caracterizadas por microscopia SEM e espectroscopia UV-Vis, os resultados foram apresentados na Figura 4.

Figura 4: (A) Micrografia SEM da suspensão de AuNP e (B) um histograma mostrando a distribuição dos diâmetros das AuNPs. A curva gaussiana atinge o pico de $35,20 \pm 4,60$ nm. (C) espectros de UV-vis da suspensão de AuNP antes (linha vermelha) e após enriquecimento (linha preta) por centrifugação; as concentrações de AuNP são 78 pmol L^{-1} e $6,1 \text{ pmol L}^{-1}$, respectivamente. A imagem inserida mostra uma imagem fotográfica representando a cor da suspensão de AuNP antes e após o enriquecimento.

As AuNPs de forma semi-esférica exibiram uma banda de extinção com máximo de absorção em 526 nm e apresentaram um diâmetro médio de $35,20 \pm 4,60$ nm que foi determinado pela imagem SEM (Figura 4A). Elas exibiram uma distribuição homogênea de tamanho conforme a curva de Gauss mostrada na Figura 4B. Medindo as intensidades de absorção de espectroscopia UV-Vis (Figura 4C) e utilizando a lei de Lambert-Beer considerando o coeficiente de absorção molar de $6,06 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para partículas de Au de tamanho de 35 nm,⁸⁴ a concentração de AuNPs na suspensão depois do enriquecimento foi calculado sendo de $1,80 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

As AuNPs sintetizadas e dispersas em água foram adicionadas diretamente com uma micropipeta automática com pontas descartáveis à zona hidrofílica do papel sulfite, esta por sua vez era delimitada por barreiras hidrofóbicas de cera, com o objetivo de

fabricar uma superfície de Au para medidas eletroquímicas e SERS. A superfície do ouro é fundamental⁸⁶ para ambos os sistemas de medida, a deposição de ouro foi otimizada a fim de produzir uma maior área eletroativa mudando o volume de suspensão de AuNP adicionado sobre a microzona hidrofílica do papel, como mostrada na Figura 5 A e B. A Figura 5 revelou que a superfície eletroativa aumentou em função do volume de AuNP depositado até 3 μL , que produziu uma área de $3,3 \pm 0,3 \text{ cm}^2$, que é 15 vezes maior que área eletroativa de um eletrodo convencional de Au ($0,22 \pm 0,03 \text{ cm}^2$) com a mesma área geométrica que o dispositivo SERS-ePAD, evidenciando uma área grande do dispositivo desenvolvido. Ainda, o filme de Au produzido com três camadas sobre a superfície do papel sulfite exibiu uma resistência baixa ao fluxo de elétrons ($5,7 \pm 0,5 \Omega \text{ cm}^{-1}$, $n = 10$), o que o torna adequado para aplicações eletroquímicas.

Figura 5: Otimização do processo de fabricação do SERS-ePAD em relação à quantidade de suspensão de AuNPs adicionada sobre o papel, 1 μL (linha preta), 2 μL (linha vermelha), 3 μL (linha laranja), 4 μL (linha azul) e 5 μL (linha verde). (A) CVs registrados em solução de H₂SO₄ de 0,5 mol L⁻¹ com velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹ usando os SERS-ePADs preparados com diferentes volumes de suspensão de AuNP. (B) O gráfico mostra a variação da área eletroativa calculada dos dispositivos fabricados em função do volume de suspensão de AuNPs. (C) Os espectros SERS obtidos com *laser* de 785 nm usando solução de tiofeno de 0,4 μmol L⁻¹ adicionada sobre a região que contém ouro dos SERS-ePADs.

Uma vantagem do nosso método de fabricação é a plataforma de papel; além de sua relação custo-benefício e reciclável, possui uma constante de expansão térmica mais baixa em comparação a plataforma de plástico,⁸⁷ que evita a formação de rachaduras durante a sinterização sob lâmpada infravermelha que pode danificar o filme condutor e,

consequentemente, dificultar o fluxo de elétrons. Além disso, o papel consiste em fibras de celulose com milhares de poros que fixam efetivamente o filme Au condutor, evitando assim os problemas de desprendimento do filme observados nas plataformas de vidro modificadas com grupo amina.⁶⁶ Além disso, os poros do papel também absorvem parte do solvente, que dificulta a espalhamento e compete com a evaporação do solvente evitando, assim, o efeito mancha-de-café e a formação de rachaduras, facilitando a formação de um filme homogêneo.⁸⁷

O comportamento eletroquímico de oxidação do ouro da superfície do dispositivo na varredura direta (Figura 5A ou Figura 6A) fornece informações importantes sobre os planos cristalográficos presentes.⁸⁸ A Figura 6A mostra um pico anódico bem definido em $\sim 1,4$ V indicando a presença de planos cristalográficos de metal ouro (111) fcc no dispositivo SERS-ePAD, de acordo com Hamelin.⁸⁸ Para fornecer dados complementares de caracterização e para determinar quais outros planos estão presentes na superfície do PAD, submetemos o dispositivo para análise XRD. O padrão de XRD da Figura 6B revelou picos em 2θ de $38,0^\circ$, $44,0^\circ$ e $77,0^\circ$, atribuídos aos planos cristalográficos (111), (200) e (311) fcc do Au metálico, respectivamente.^{89,90} Por outro lado, a resposta da corrente anódica do eletrodo de Au convencional não exibiu nenhum pico definido (Figura 6B, inserção). Sendo assim, concluímos que o SERS-ePAD possui uma estrutura cristalina distinta, que pode resultar em diferentes propriedades eletroquímicas que as de um eletrodo convencional quando usado como sensor.

Figura 6: (A) CVs registrados em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} usando SERS-ePAD (linha preta) e eletrodo Au convencional (linha vermelha) com a mesma área geométrica como eletrodos de trabalhos e Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$) como eletrodo de referência. (B) Análise de XRD do dispositivo SERS-ePAD. A difração apresentada é resultado da subtração entre XRD do SERS-ePAD (cera, papel de escritório e filme AuNP) e o papel sulfite com barreira de cera.

E mais, para avaliar o desempenho do SERS-ePAD como um substrato SERS, otimizamos o método de fabricação usando o tiofeno como uma molécula de sonda, este é um composto com enxofre no anel plano de cinco membros que adsorve quimicamente à superfície de Au por um ponto de coordenação.⁹¹ Primeiro, o tiofeno foi usado para determinar o comprimento de onda de excitação apropriado necessário para adquirir espectros SERS; portanto, examinamos três comprimentos de onda diferentes, 532, 633 e 785 nm. Observe que a Figura 7 mostra um aumento gradual na intensidade da banda SERS à medida que o comprimento de onda da excitação é alterado para vermelho, apesar da potência de 785 nm ($0,27 \text{ mW}$) ser menor que a 633 nm ($0,43 \text{ mW}$), o que demonstra que a excitação plasmônica dos agregados de AuNP é mais eficaz em comprimentos de onda mais longos e pode resultar em intensa ressonância plasmônica superficial (SPR, *surface plasmon resonance* em inglês) e formação de *hot spots* – uma região onde campo eletromagnético local é intensificado.⁹² Além disso, o sinal de fluorescência é claramente extinto com o aumento do comprimento de onda de excitação (a linha base é estável).

Portanto, a luz de 785 nm foi escolhida como a mais adequada para promover a excitação da SPR em experiências subsequentes.

Figura 7: Espectros SERS da solução de tiofeno $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ registrados no mesmo dispositivo SERS-ePAD e usando diferentes *laser* de excitação, isto é, 532, 633 e 785 nm com potência de 0,71; 0,43 e 0,27 mW, respectivamente.

As bandas SERS de tiofeno bem definidas e intensas podem ser observadas na Figura 7 demonstrando o grande potencial do SERS-ePAD como um substrato SERS. Dessa forma, o processo de fabricação do dispositivo foi otimizado monitorando-se a intensidade da banda de 1375 cm^{-1} do tiofeno, atribuída ao alongamento simétrico de $\text{C}=\text{C}$ e ao dobramento (*bending*) de C-H ,⁹³ em função do volume depositado da suspensão de AuNP (Figura 5C). Observamos um crescimento na intensidade da banda conforme aumentou-se o volume de suspensão de AuNP até $3 \mu\text{L}$. Esse comportamento é semelhante ao observado durante a otimização eletroquímica (Figura 5A e B), uma vez que a adição de mais de $3 \mu\text{L}$ de suspensão de AuNP resultou em variações pequenas da área eletroativa. Portanto, a relação entre a área eletroativa e a rugosidade da superfície pôde ser constatada,⁹⁴ com esta última estritamente relacionada à densidade de *hotspot*, que por sua vez, está diretamente relacionada com a intensidade da banda SERS. Sabe-se que existem uma série de espaços entre duas ou mais nanoestruturas compactadas em

superfícies rugosa, o que favorece a formação de *hot spots* que resultam em um alto fator de intensificação Raman (EF, *enhanced fator* em inglês). O EF é 10^9 quando existem separação de 1 nm em uma estrutura ideal de Au.^{92,95} O EF do nosso dispositivo foi calculada pela Equação 1 usando as intensidades das bandas dos espectros SERS e Raman convencional do tiofeno em meio aquoso e líquido puro, respectivamente (Figura 8)⁶⁶:

$$EF = \left(\frac{I_{SERS}}{I_{Raman}} \right) \times \left(\frac{C_{Raman}}{C_{SERS}} \right) \quad [1]$$

onde I é a intensidade da banda espectral, C é a concentração da solução e os subscritos "SERS" e "Raman" indicam espectros obtidos pelas técnicas SERS e Raman convencional, respectivamente. O nosso SERS-ePAD exibiu um EF de 3×10^6 , que é semelhante a dos substratos fabricados pelos métodos de caneta sobre papel e impressão a jato de tinta.^{66,96}

Figura 8: Espectro SERS da solução de tiofeno $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ usando SERS-ePAD (linha vermelha) e espectro Raman convencional do líquido puro de tiofeno (12 mol L^{-1}) (linha preta), ambos os espectros foram registrados usando *laser* de excitação de 785 nm com potência de 0,27 mW.

3.3.2 Caracterização dos SERS-ePADs

Caracterizamos a superfície do SERS-ePAD otimizado para conhecer a sua natureza, estrutura e morfologia. A superfície foi submetida primeiro a microscopia SEM para avaliar a eficiência do recobrimento do filme de AuNP no papel (Figura 9). As Figura 9A-D mostram micrografias de baixa ampliação do papel sulfite antes e após a deposição de AuNPs e os espectros EDS correspondentes, que exibiram dois picos relacionados aos C e O da celulose e um pequeno pico relacionado ao Au originado pelo recobrimento por pulverização (*sputtering*) para evitar efeitos de carregamento na imagem (Figura 9A). Os picos do C e O quase desapareceram completamente após o recobrimento do papel com o filme de AuNP, enquanto foram observados picos intensos relacionados às AuNPs, indicando que as partículas cobriram adequadamente a superfície do papel. A espessura do filme AuNP no papel foi, então, medida a partir de sua micrografia SEM transversal (Figura 10), que revelou uma espessura de $2,0 \pm 0,1 \mu\text{m}$. A mesma imagem revela que algumas AuNPs se difundiram para regiões mais internas do papel durante a sinterização devido a absorção da água.

Figura 9: Espectros de EDS obtidos da superfície do papel sulfite (A) sem e (B) com o filme de AuNPs. Micrografias SEM com aumento gradual da ampliação do papel sulfite (C, E e G) antes e (D, F e H) depois do recobrimento com o filme de AuNPs.

Figura 10: Micrografia SEM da seção transversal do dispositivo SERS-ePAD.

O filme de AuNP também foi analisado por SEM de alta ampliação (Figura 9 F e H), que revelou uma estrutura do tipo porosa com furos de diâmetros que variaram de 14 a 147 nm. A formação da estrutura porosa é atribuída à coalescência das AuNPs que formaram uma estrutura interconectada que, conseqüentemente, permitiu o fluxo de corrente elétrica e explicou a excelente condutividade elétrica do dispositivo PAD. As

AuNPs recobertas com citrato coalescem mesmo quando estabilizados por repulsão de carga negativa. Durante o processo de secagem (evaporação da água), as AuNPs se aproximam uma das outras formando uma estrutura compacta que permite reduzir suas energias de superfície espontaneamente através do contorno de grão e facilita a difusão dos átomos de superfície a uma temperatura relativamente baixa,⁸⁷ isso ocorre porque as AuNPs tem uma massa pequena por área e uma baixa capacidade calorífica específica que aumenta a temperatura da superfície local permitindo a sua fusão quando exposto à lâmpada infravermelha (60° C).⁷⁰ Por outro lado, as partículas de Au que são estericamente protegidas não coalescem facilmente, pois estão protegidas por ligantes de cadeia longa. Além disso, diferentemente do ouro em massa, as AuNPs fundem à temperaturas variáveis, uma vez que dependem do tamanho; portanto, elas possuem baixos pontos de fusão, conforme o seu tamanho diminui.⁹⁷ Para fins de comparação, as micrografias SEM do papel sulfite antes da deposição do filme AuNP também são mostradas nas ampliações correspondentes (Figura 9 E e G).

O SERS-ePAD também foi caracterizado eletroquimicamente usando $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ como sondas redox; a Figura 11A mostra CV com processos reversíveis ($\Delta E_p = 80 \text{ mV}$) com picos bem definidos muito semelhantes aos de outros ePADs de ouro descritos na literatura.⁶⁷

Figura 11: (A) CV registrado a uma velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} usando SERS-ePAD em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 10 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$; a linha tracejada corresponde à solução branco de KCl. (B) espectros de EIS obtidos usando o SERS-ePAD (pontos azuis) e um eletrodo de Au convencional (pontos vermelhos) registrados na mesma solução de KCl contendo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ descrito na imagem (A). As resistências de transferência de carga de $34 \pm 2 \Omega$ ($n = 3$) e $90 \pm 6 \Omega$ ($n = 3$) foram determinadas para o SERS-ePAD e o eletrodo de Au convencional, respectivamente. A imagem inserida é uma expansão da região do semicírculo do SERS-ePAD.

O EIS foi registrado para avaliar a cinética de transferência de carga na interface eletrodo/solução usando o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. O semicírculo na região de alta frequência de cada gráfico de Nyquist é atribuído a processos limitado por transferência de elétrons, enquanto que a reta diagonal na região de baixa frequência está relacionada a processos de transporte de massa.⁹⁸ A Figura 11B (pontos azuis) revela uma linha reta sobre quase todo o gráfico, da região de alta a baixa frequência, que é uma característica de um processo de transferência de elétrons limitado por difusão⁹⁸ e indica que a transferência eletrônica entre a superfície do eletrodo e a sonda redox em um meio aquoso ocorre de maneira semelhante ao observado em eletrodo poroso.⁹⁹ Em concordância com os resultados do EIS, os picos de corrente anódica e catódica do par $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ exibiram comportamento linear com a raiz quadrada da velocidade de varredura, que demonstra que o processo eletroquímico é controlado por difusão (Figura 12). E também

os resultados de EIS são consistentes com as estruturas observadas nas micrografias SEM (Figuras 8F e H). A resistência à transferência de carga do nosso SERS-ePAD foi calculada em 34Ω , enquanto o eletrodo Au convencional exibiu um valor de 90Ω , o que demonstra uma maior eficiência da transferência de carga no nosso dispositivo desenvolvido quando comparado ao de um eletrodo de ouro convencional.

Figura 12: CVs obtidos em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 7 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ com velocidades de varredura variando de 1 mV s^{-1} a 225 mV s^{-1} . O gráfico inserido representa a variação da intensidade de corrente dos picos anódicos e catódicos em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.

3.3.3 Repetibilidade e reprodutibilidade do método de fabricação

SERS-ePAD

Como discutido acima, o SERS-ePAD forneceu excelentes sinais eletroquímicos e SERS; consequentemente, examinamos a reprodutibilidade do sinal. Ao comparar os CVs registrados em solução de H_2SO_4 (Figura 12), é possível determinar se o comportamento eletroquímico é adequadamente reprodutível ou não. A área eletroativa foi calculada a partir do processo catódico associado ao óxido de ouro em $3,3 \pm 0,3 \text{ cm}^2$ ($n = 10$) com um desvio padrão relativo (RSD) de 8,8%.

Figura 13: (A) Ensaio de reprodutibilidade para CVs registrados em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ usando 10 dispositivos SERS-ePADs diferentes. O RSD dos eletrodos foi de 8,8%. Ensaio de repetibilidade para sinais SERS usando solução de tiofeno $0,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, foi considerada a variação da banda de 1375 cm^{-1} em (B) dez diferentes pontos de um dispositivo SERS-ePAD e (C) em um ponto de dez diferentes dispositivos SERS-ePAD onde o RSD foi de 11,3% e 13,1%, respectivamente.

Em outro experimento, examinamos a banda de tiofeno SERS em 1375 cm^{-1} . A Figura 13 revela repetitividades e reprodutibilidades adequadas da intensidade da banda, com RSDs de 11,3% e 13,1% para ensaios intra e inter-dispositivos, respectivamente; esses valores de RSD estão dentro da faixa aceitável de reprodutibilidade de 20% ou menos para substratos SERS.¹⁰⁰ Portanto, o processo de fabricação fornece dispositivos com reprodutibilidades adequadas para análises eletroquímicas e SERS.

3.3.4 Aplicação do dispositivo SERS-ePAD

Para demonstrar a potencialidade do SERS-ePAD, ele foi utilizado para detectar compostos farmacêuticos frequentemente usados como adulterantes em amostras de cocaína de rua apreendida (COC), a saber, paracetamol (PAR), cafeína (CAF) e levamisol (LEV). O objetivo da mistura é intensificar ou mimetizar os efeitos farmacológicos e sensoriais da COC e, ao mesmo tempo, aumentar o lucro dos traficantes de drogas através da diluição da amostra. Consequentemente, a composição da amostra de droga fornece

uma impressão digital química do traficante; portanto, métodos adequados para a triagem de materiais apreendidos ajudarão os departamentos de inteligência da polícia a entender o processo de distribuição de drogas e a desenvolver políticas de controle de fronteiras, como exemplos.^{57,51,101,102}

PAR e CAF são compostos eletroativos que podem ser detectados eletroquimicamente por DPV. Os sinais de corrente de oxidação do PAR e da CAF são mostrados na Figura 14 contra o eletrodo de referência Ag/AgCl (em 3 mol L⁻¹KCl) para comparar os sinais de DPVs obtidos usando SERS-ePAD e eletrodo de Au convencional. A Figura 14A nos mostra que o PAR sofre oxidação próxima a 0,6 V (vs. Ag/AgCl) com uma corrente anódica mais alta que a do eletrodo de Au convencional (Figura 14B) devido à sua ampla área eletroativa; esta corrente é atribuível à transformação do PAR em N-acetil-*p*-benzoquinona imina. Outro processo anódico de baixa intensidade é observado em 0,4 V (vs. Ag/AgCl) e está associado à oxidação da *p*-benzoquinonaprotonada, subproduto da decomposição do PAR em meio ácido;¹⁰³ apesar dessa observação, esse sinal não interferiu a análise quantitativa da PAR devido à baixa extensão da hidrólise nas condições experimentais.

Figura 14: DPVs obtidos em solução de H_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (linhas tracejadas) com 5 mmol L^{-1} e $300 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de PAR (A e B, linha sólida) e CAF (C e D, linha sólida), respectivamente, usando dispositivo SERS-ePAD (A e C) e eletrodo de Au convencional (B e D) como eletrodo de trabalho, ambos apresentaram a mesma área geométrica e como eletrodo de referência foi usado Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$). Condição experimental velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} , passo de 5 mV , amplitude de 40 mV , tempo de modulação de $0,10 \text{ s}$ e tempo de intervalo de $0,50 \text{ s}$

As Figura 14C e D comparam o desempenho eletroquímico da CAF usando nosso dispositivo em plataforma de papel com o eletrodo de Au convencional; ambos os dispositivos revelaram um processo de oxidação em $1,4 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl), levando à formação do análogo de ácido úrico.¹⁰⁴ Por outro lado, a CAF exibiu outro pico próximo a $0,9 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl) no SERS-ePAD, que cresceu com o aumento da concentração; esse sinal foi usado para monitorar CAF na amostra apreendida de COC, como mostrado na Figura 15B. Nesse caso, as ondas de DPV foram registradas usando Ag como um eletrodo de pseudo-referência, com isso o pico em $\sim 0,9 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl) deslocou-se para $\sim 0,65 \text{ V}$ (vs. Ag). O uso do SERS-ePAD revela que o material nanoestruturado forneceu um

processo eletroquímico distinto que permitiu que a CAF fosse detectada em 0,65 V (vs. Ag) e o PAR, com maior sensibilidade. Além dos processos faradaicos apresentados para os dois analitos, a Figura 14 também mostra um processo eletroquímico em torno de 0,5 V; esse sinal aparece na DPV do branco analítico e está possivelmente associado a interações químicas entre os íons ouro e o eletrólito de suporte (SO_4^{2-}), o que aumenta a capacitância de dupla camada em meios ácidos, conforme descrito anteriormente por Hamelin et al. al.⁸⁸ As interações íon-de-Au/ SO_4^{2-} estão associadas a sinais de fundo menos intensos e mais estreitos em comparação com os que envolvem íons PO_4^{3-} e Cl^- (dados não mostrados). Vale ressaltar que os sinais presentes na DPV em 1,30 V são atribuídos à oxidação de partículas de ouro na superfície do eletrodo.¹⁰⁵

Considerando os processos eletroquímicos atribuídos ao PAR e à CAF, esses adulterantes na amostra apreendida COC-AP1 puderam ser quantificados por DPV usando o procedimento analítico de adição de padrão (Figura 15A e B). Os voltamogramas foram registrados usando Ag como um eletrodo de pseudo-referência, que desloca o processo eletroquímico em ~0,25 V para potencial negativo em relação ao eletrodo de referência Ag/AgCl (3 mol L⁻¹ KCl). A LID e a COC presentes na amostra apreendida não exibiram atividades eletroquímicas satisfatórias, como mostrado nas Figura 16A e B, o que dificultou sua quantificação. Após a adição de uma alíquota da solução aquosa de COC-AP1 (preparada sem pré-tratamento) à solução de eletrólito H_2SO_4 empregada como meio de análise (solução branco), foram observados picos anódicos correspondentes ao PAR e à CAF. Além disso, o pico em ~0,5V pode estar associado a impurezas da amostra apreendida de COC; que no entanto, não interferiu na análise. Consequentemente, alíquotas sucessivas de soluções estoque de PAR ou CAF foram adicionadas para quantificar esses analitos pelo método de adição padrão. As concentrações de $1,32 \pm 0,06\%$ e $24,42 \pm 0,93\%$ em massa, que foram determinadas em

triplicata para PAR e CAF, respectivamente, foram comparadas com as concentrações de $1,38 \pm 0,07$ e $24,36 \pm 0,06\%$ em massa determinadas por HPLC com detecção UV, uma técnica comumente usada para analisar amostras apreendidas de COC. Os resultados estão adequadamente correlacionados de acordo com o teste T com níveis de confiança de 95%. A quantificação utilizando o SERS-ePAD e a técnica eletroquímica DPV proporcionou valores satisfatórios de quantificação, correspondendo 95,6% e 96,2% dos resultados obtidos por HPLC para PAR e CAF, respectivamente.

Figura 15: Quantificação de (A) PAR e (B) CAF em amostras de cocaína apreendida usando SERS-ePAD em solução de H_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando DPV e a adição sucessiva de soluções padrão. A linha do traço corresponde à solução branco. (C) espectros SERS de uma amostra apreendida de COC contendo (a) LEV obtido usando SERS-ePAD e um *laser* de 785 nm e adições sucessivas da solução estoque de LEV: (b) 0,6, (c) 1,2, (d) 2,5, (e) 5,0 e (f) 10 mM.

Figura 16: DPVs obtidos com velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} , passo de 5 mV , amplitude de 40 mV , tempo de modulação de $0,1 \text{ s}$ e tempo de intervalo de $0,5 \text{ s}$ em solução de H_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (linha de traço) usando SERS-ePAD com $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de (A) LID, (B) COC e (C) LEV (linha sólida).

O LEV não mostrou eletroatividade que pudesse ser detectada pelo DPV; além disso, envenenou o dispositivo adsorvendo em sua superfície, resultando em uma diminuição drástica da corrente anódica do Au (Figura 16C). Isso ocorre porque o LEV é uma molécula contendo enxofre que adsorve quimicamente na superfície através da ligação S-Au. Dessa maneira, ele é posicionado próximo à estrutura de Au, que satisfaz as condições ideais para a obtenção de espectros SERS; como resultado, o LEV exibe bandas SERS intensas. Consequentemente, o LEV pode ser detectado seletivamente em uma amostra apreendida de COC (COC-AP2), como mostrado na Figura 15C. Outros compostos presentes na amostra de COC-AP2, como COC, LID e CAF, são moléculas que contêm amina que interagem fracamente com Au, resultando em espectros com bandas menos intensas (Figura 17).

Figura 17: Espectros SERS obtidos com comprimento de onda de *laser* de 785 nm em meio aquoso (linha preta) e solução aquosa padrão de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de LID (vermelho), CAF (amarelo escuro), COC (magenta) e LEV (ciano escuro).

Além disso, observamos que as intensidades das bandas SERS do LEV aumentaram quando foram adicionadas alíquotas de soluções estoque. A Figura 15C mostra que, após adicionar a amostra de COC-AP2, o dispositivo SERS-ePAD exibiu uma banda em 498 cm^{-1} , atribuído ao modo de respiração do anel tiazol, que foi escolhido por não sofrer interferência das bandas de COC na região de 1000 cm^{-1} atribuída ao modo de respiração do anel fenil,¹⁰⁰ o que mostra que o dispositivo responde à variação na concentração do analito e permite o monitoramento e a identificação do LEV em amostras reais.

Portanto, demonstramos o potencial do SERS-ePAD para a detecção de adulterantes usados regularmente em amostras de COC de rua por meio de análise seletiva, utilizando técnicas eletroquímicas e SERS de maneira barata. Além disso, e com base na flexibilidade do dispositivo SERS-ePAD, avaliamos a possibilidade de usar o dispositivo para esfregar (*swab*) uma substância eletroativa na superfície de uma mesa, a fim de verificar a possibilidade de ser aplicada na investigação do local do crime (Vídeo 1). Como pode ser visto pelo vídeo, após esfregar a superfície contendo a sonda redox $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$, é possível detectar um sinal eletroquímico por CV, mostrando como prova

do conceito de que o dispositivo pode ser uma abordagem interessante para a investigação na cena do crime.

Figura 18: QR-Code para acessar ao Vídeo 1 onde o dispositivo SERS-ePAD é usado como *swab*.

3.4 Conclusões parciais

Neste trabalho, reportamos um método simples e de baixo custo de fabricação de PAD pelo método *drop-drying*. O dispositivo foi preparado em papel sulfite e pode ser usado tanto como eletrodo e quanto substrato SERS. O método de fabricação requer apenas 6 μL de uma suspensão concentrada de AuNP, que foi adicionada com micropipeta sobre o papel sulfite, resultando em um dispositivo poroso reproduzível com uma resistência elétrica de $5,7 \Omega \text{ cm}^{-1}$. Demonstramos que as AuNPs cobriram bem o papel sulfite e geraram poros de Au durante a sinterização com luz infravermelha (60°C), resultando em um ePAD com uma área eletroativa 15 vezes maior que a de um eletrodo de Au convencional com a mesma área geométrica. Essa estrutura porosa sobre o papel sulfite originou-se das AuNPs e exibe uma baixa resistência à transferência de carga (34Ω) que é controlada pela difusão do analito. A estrutura, formada principalmente por planos de Au (111) de fcc, exibiu processos eletroquímicos reversíveis e definidos quando usada como eletrodo de trabalho durante a CV do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Como o ePAD contém nanoporos de Au, foi utilizado como substrato SERS, exibindo um fator de intensificação de 3×10^6 usando um *laser* de 785 nm. Finalmente, o dispositivo foi usado para rastrear adulterantes de COC, nomeadamente

PAR e CAF, em uma amostra de COC apreendida por DPV e método de adição padrão obtendo valores correspondentes a 95,6% e 96,2%, respectivamente, dos valores obtidos por HPLC. O adulterante LEV presente na amostra apreendida de COC foi detectado e monitorado seletivamente por espectroscopia SERS.

3.5 Perspectivas dessa etapa

- Detecção de outros adulterantes (*i.e.* aminopirina) utilizando o dispositivo SERS-ePAD.
- Aplicar SERS-ePAD para detectar o pesticida aldicarb (princípio ativo do veneno chumbinho) em amostra forense.

**4. DISPOSITIVO DE GRAFITE MODIFICADO COM NANOPOROS DE Au
BASEADO EM PAPEL COM DUPLA DETECÇÃO PARA ANÁLISE
QUIMIOMÉTRICA DE COCAÍNA APREENDIDA**

4.1 Preâmbulo

A cocaína (COC) é um composto estimulante utilizado por 18 milhões de pessoas de 15 a 64 anos de idade ao redor do mundo em 2017.⁴⁶ A sua produção se concentra nos países andinos (Peru, Bolívia e Colômbia) e vem crescendo nos últimos anos (1000 toneladas em 2013 para 2000 toneladas em 2017).⁴⁶ O principal destino da produção são os Estados Unidos e a Europa. A análise individual das apreensões em 2017 indica que 93 % da COC nos Estados Unidos teve origem colombiana, 4 % do Peru e 3 % de origem desconhecida. Por outro lado, a Europa recebeu a COC da Colômbia, Peru e Bolívia, respectivamente no valor de 74 %, 21 % e 4 % no período de 2013-17.⁴⁶

A análise física (embalagem e aparência) e química (alcaloides majoritários e minoritários, pureza, classe química e agente de corte – diluente ou adulterante) da amostra da COC apreendida fornece o perfil químico-forense da amostra.^{51,50} Quando catalogadas em grande quantidade em uma base de dados com dados circunstanciais – número do caso criminal, massa da amostra, data e local de apreensão – fornecem subsídios estratégicos para rastrear a rede de organizações criminosas e seus padrões de atividade, origem, além da estrutura e evolução no espaço e tempo do mercado de drogas ilícitas.⁵⁰

As organizações criminosas frequentemente misturam à COC, diluentes como açúcar, amido e carbonatos⁵¹ ou compostos farmacêuticos como adulterantes. Alguns desses adulterantes são a fenacetina e a aminopirina (AMI), que apresentam efeito analgésico e antipirético, mas ao mesmo tempo são carcinogênicos e relativamente tóxicos, por isso são banidos em alguns países.^{59,38} Além deles, pode-se encontrar misturados outros compostos químicos como levamisol, paracetamol, cafeína, procaína,

benzocaína, ácido bórico e lidocaína^{16,31,78}, sendo que, cada organização criminosa utiliza a sua própria abordagem de adulterar ou adição de outros compostos à droga.⁵⁰

Essas substâncias diluem as amostras trazendo maiores lucros para as organizações, ademais, fármacos mimetizam ou intensificam o efeito farmacológico da COC.⁷⁴ O perfil forense, além de auxiliar em estratégia criminalística, fornece informações para tomada de decisão clínica. Pois, *overdose* pelo consumo de COC ou pelo adulterante/diluente adicionado está susceptível acontecer.⁶⁰

Nos laboratórios forenses a técnica mais utilizada para determinar o perfil químico da droga é a cromatografia gasosa.^{106,52} Essa técnica, apesar de altamente seletiva e sensível, utiliza solvente tóxico, consome tempo, necessita de operadores qualificados¹⁰⁶ e padrões analíticos de alta pureza à cada análise.⁵² Nesse sentido, os dispositivos analíticos baseado em papel (PAD, *paper-based analytical device* em inglês) utilizando detecção de baixo custo chamam a atenção pela portabilidade permitindo análise *in-loco*,²⁰ com custo de fabricação baixo, uso fácil e necessita de volumes pequenos de amostra.¹⁰⁷

O papel de natureza fibrosa, é uma ótima plataforma para armazenar reagentes químicos,¹⁸ sua superfície é facilmente modificada para gerar fluxos controlados de fluidos²⁰ ou para confinar soluções líquidas visando realizar testes do tipo *spot-test*.³⁸ O grupo do Prof. Whitesides, em 2007, trouxe à tona o uso de papel para análise colorimétrica de glicose e proteína sem necessitar de equipamento externo²¹ e em 2009 propôs uma abordagem usando impressão em cera ainda mais barata.¹⁰⁸ Em 2009, o grupo de Charles Henry hifenou a detecção eletroquímica aos dispositivos em papel, uma técnica portátil, conferindo maior seletividade e, principalmente, melhorando a sensibilidade em relação à detecção colorimetria.²²

As duas formas de detecção, colorimétrica e eletroquímica, acopladas se complementam permitindo a análise de metais pesados para aplicação ambiental com alta sensibilidade para espécies químicas que não poderiam ser detectadas pela alteração de cor.¹⁰⁹ Além disso, técnica eletroquímica pode consumir o interferente viabilizando a quantificação colorimétrica em PAD de baixas concentrações de adulterante de COC.³¹

Nessa etapa da tese foi desenvolvido um sensor utilizando o papel como plataforma analítica combinando detecção colorimétrica e eletroquímica visando à análise de COC apreendida com relação aos seus adulterantes. A análise dos dados foi realizada pela técnica quimiométrica análise de componentes principais (PCA, *principal component analysis* em inglês), permitindo a discriminação das amostras de forma rápida conforme a composição e quantidade de cada componente baseado no banco de dados considerado nessa etapa.

O dispositivo PAD com detecção colorimétrica e eletroquímica (Color-ePAD) foi fabricado em papel de filtro, onde foi anexado um PAD microfluídico com detecção colorimétrico com formato recortado em sistema de *laser* e um arranjo de três eletrodos com eletrodo de trabalho feito de mina de grafite modificado com nanoporos de Au (grafite/NPG) preparado a partir de folha de Au, um material disponível comercialmente utilizado em artesanatos e doces de casamento.¹⁵

4.2 Materiais e métodos

4.2.1 Reagentes

Todas as soluções foram preparadas usando reagentes de grau analítico e água desionizada com resistividade de 18,2 MΩ cm (25° C) (Direct-Q® 5UV, Merck Millipore, Massachusetts, EUA).

A folha de ouro de 23 kt (79 x 79 mm) foi adquirida pela Nazionale Battitura Metallis.r.l. (Milão, Itália), papel de filtro qualitativo (80 g) de tamanho 60 x 60 cm comprada da Unifil foi recortado em dimensões A4 (210 x 297 mm), papel de filtro Whatman No 1 (GE Healthcare, Chicago, EUA) e a mina de grafite 0,9 mm, 2B (CIS, Sertic, São Paulo, Brasil) comprada no mercado local. A tinta de Ag foi adquirida pela Joint Metal LTDA (Diadema, Brasil). Os reagentes 4-dimetil-aminoantipirina (aminopirina - Alfa Aesa, Johnson Matthey Company), ácido orto-fosfórico 85% e tiocianato de cobalto (II) 96% (Merck, Darmstadt, Alemanha), fosfato monossódico anidro (Synth, Diadema, Brasil), Nafion 5% m/m, nitrato de prata, borohidreto de sódio, brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB, *cetyltrimethylammonium bromide* em inglês) e brometo de tetradodecilamônio (TTAB, *tetradodecylammonium bromide* em inglês) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, EUA) foram usados como recebidos. Os ácidos sulfúrico e clorídrico foram adquiridos a J. T. Baker (Phillipsburg, NJ, EUA). A amostra de cocaína com 92% de grau de pureza determinada por cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama, que foi macerada e solubilizada. A amostra foi concedida pelo Instituto de Criminalística do Estado de São Paulo via licença entre o grupo de pesquisa e o reportado Instituto.

4.2.2 Fabricação do filme nanoporos de Au para modificação do grafite

O reagente de partida, AuCl_4^- , foi obtido dissolvendo-se 12 mg de folha de Au com pureza de 88% m/m em 100 μL de água régia reversa ($\text{HNO}_3:\text{HCl}$; 3:1 v/v), a solução amarela resultante foi avolumado para 44 mL com solução aquosa de H_2SO_4 de concentração 0,5 mol L^{-1} , resultando em uma solução de 1,2 mmol L^{-1} de AuCl_4^- .

A preparação do filme de Au nanoporoso (NPG, *nanopore of gold* em inglês) na mina de grafite seguiu as seguintes etapas, como mostra a Figura 19: enumeradas a seguir

(passo 1) a superfície do grafite foi devidamente polida com papel. Em seguida, a superfície lateral foi protegida com uma tira de fita adesiva Blue (3M) de tamanho 2 x 10 mm recortada utilizando sistema de corte a *laser* de CO₂ com comprimento de onda de 10,6 μm e duração de pulso de $\sim 14 \mu\text{s}$ (Work Special Laser) e, em seguida, (passo 2) a ponta do grafite foi protegida com um pedaço da mesma fita adesiva. (passo 3) As partes não protegida pela fita do grafite foram recobertas com jato de verniz impermeabilizante (Spray Water Proof, Global), a secagem foi feita sob luz infravermelha (PAR38E, 150 W, Philips) por alguns minutos e, em seguida, (passo 4) as tiras de fita adesiva foram retiradas obtendo, assim, um molde para a eletrodeposição do filme NPG.

Figura 19: Esquema para preparar o molde para eletrodeposição de Au no grafite utilizando fite adesiva e *spray* impermeabilizante.

O filme NPG foi eletrodepositado, em condições ambientais, por cronoamperometria (cAMP) usando o potenciostato PGSTAT 128N (Metrohm, Barendrecht, Nederland) em solução ácida com AuCl_4^- sob agitação vigorosa com barra magnética. Ao grafite foi aplicado potencial de -4 V em relação ao eletrodo de referência convencional Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$) utilizando eletrodo auxiliar de Pt por 120 s (-70 C de carga). A otimização da fabricação do filme foi feita variando o potencial aplicado

de -1 a -4 V em intervalo de -1 V por 120 s. Em toda a eletrodeposição, foi tomado o máximo de cuidado para posicionar os três eletrodos no mesmo local.

4.2.3 Método de fabricação do Color-ePAD

O dispositivo ePAD foi preparado sobre um papel de filtro modificado com molde de cera utilizando impressora de cera (Xerox Color Qube 8570) (Figura 20A). O molde, feito no *software* Power Point, consistiu de três zonas hidrofílicas circulares, duas das quais de 5 mm e um de 6 mm de diâmetro alinhados e separados por uma distância de 6 mm. Para interligá-las utilizou-se dois canais microfluídicos de $1,5 \times 6$ mm (Figura 20A). A cera foi derretida em prensa térmica plana (Hobby Line MetaInox) com 80° C de temperatura por um tempo suficiente para impregnar e tornar hidrofóbica a estrutura tridimensional do papel. Em uma das zonas da extremidade (zona de amostragem) foi pintado um eletrodo auxiliar com tinta de Ag e anexado o grafite/NPG. Na zona da outra extremidade foi desenhado uma trilha de Ag que foi oxidado a AgCl por voltametria cíclica (CV, *cyclic voltammetry* em inglês) com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} por 5 ciclos em janela de potencial de $-0,1$ a $0,15$ V (vs. eletrodo de referência convencional de Ag/AgCl KCl 3 mol L^{-1}) com potencial de parada em $0,19$ V em solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Nessa mesma zona hidrofílica foi adicionado solução de KCl 3 mol L^{-1} para conectar o eletrodo de referência aos eletrodos de trabalho e auxiliar. Neste trabalho chamaremos o eletrodo de referência convencional Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}) de Ag/AgCl e o eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}) no papel de Ag/AgCl”.

O ColorPAD foi preparado em papel de filtro também (Figura 20B). O dispositivo consiste em canal microfluídico (3×10 mm), zona de detecção de diâmetro de 10 mm e o suporte para conectar ao ePAD, os quais foram recortado para dar forma com sistema de corte de *laser* CO₂ com o molde feito em programa RDworks®. Na zona

de detecção foram depositados 3 μL de solução tiocianato de cobalto 4% m/m preparada em solução tampão fosfato (PBS, *phosphate buffer solution* em inglês), pH 2, esperou-se secar a temperatura ambiente. O ColorPAD foi anexado ao ePAD através de fita dupla face.

Figura 20: (A) Fabricação do ePAD utilizando papel de filtro modificado com cera e grafite/Au, as dimensões estão inseridas na imagem. (B) Fabricação do ColorPAD usando papel de filtro com as respectivas dimensões inseridas na imagem. Foto inserida do dispositivo Color-ePAD. Em destaque estão os eletrodos de trabalho, referência e auxiliar do ePAD e o canal de entrada de amostra e o tiocianato de cobalto seco na zona de detecção do ColorPAD.

4.2.4 Caracterização microscópica

Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM, *transmission electron microscopy* em inglês) foram obtidas em um equipamento JEOL JEM-2100 a uma tensão de aceleração de 200 kV. As amostras foram preparadas em grades de cobre (TedPella), dispersando 5 μL de suspensão diluída em água/etanol (1:1). As imagens por microscopia eletrônica de varredura (SEM, *scanning electron microscopy* em inglês) foram obtidas com distância de trabalho de 3 mm, aceleração do feixe de elétrons de 2-5 kV e aumento de 5000-30000 vezes com o equipamento JSM 7401F (JEOL). As imagens de microscopia ótica foram obtidas com o microscópio digital USB (Novadigital).

4.2.5 Medidas eletroquímicas

Os CV foram registrados em béquer com PGSTAT 128N (Metrohm) utilizando eletrodo de trabalho de grafite/NPG ou grafite não modificado e eletrodos de referência e auxiliar de Ag/AgCl e Pt, respectivamente. Foram registrados CVs com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} em H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} como um teste de qualidade para analisar os planos cristalográficos, intensidade de corrente envolvida na redução dos óxidos de Au formados, verificar o recobrimento pelo sinal do grafite e teste de reprodutibilidade; em PBS, pH 2, para monitorar o sinal do grafite; em PBS, pH 2, novamente, com e sem aminopirina (AMI) 1 mmol L^{-1} ou cocaína (COC) 1 mmol L^{-1} ; em PBS, pH 7, contendo 5 mmol L^{-1} de ácido ascórbico (AA) com velocidade de varredura de 2 mV s^{-1} para avaliar a qualidade da transferência eletrônica do grafite modificado e não modificado com Au, neste experimento utilizamos adicionalmente o eletrodo convencional de Au para teste comparativo.

As voltametrias de pulso diferencial (DPVs, *differential pulse voltammetry* em inglês) com 10 mV de potencial de passo, 25 mV de amplitude, 50 ms de tempo de

modulação e 400 ms de intervalo de tempo foram registrados em PBS, pH 2, com 10 mmol L⁻¹ de AMI utilizando ePAD com grafite/NPG preparado aplicando -4 V, Ag/AgCl” e Ag como eletrodo de trabalho, referência e auxiliar, respectivamente, para verificar a média e desvio padrão da intensidade de corrente e do potencial de pico.

Os gráfico de Nyquist do grafite/NPG e grafite foram registrados no ePAD com 50 µL solução aquosa de KNO₃ 0,1 mol L⁻¹ contendo 2 mmol L⁻¹ de Fe(CN)₆]^{3-/4-}. As análises foram feitas com potencial de meia onda de ~0,15 V para ambos os grafites (com NPG e sem) determinado por potencial de circuito aberto usando eletrodo de referência Ag/AgCl” e eletrodo auxiliar de Ag. Foi usado um potencial alternado com amplitude de 10 mV alternado em frequência de 0,10 a 10⁵ Hz. Todos os experimentos foram feitos em temperatura ambiente.

4.2.6 Análises colorimétricas

As análises colorimétricas da solução PBS (pH 2), com e sem COC (7,5 mmol L⁻¹) ou AMI (10 mmol L⁻¹) foram feitas adicionando 50 µL da solução na zona de amostragem do ePAD, em seguida se mergulhou o início do canal microfluídico do ColorPAD até a solução por capilaridade atingir a borda superiora da zona de detecção do ColorPAD (duração: ~30 s). Depois, destacou-se o dispositivo do suporte de papel que conectava ao ePAD e registraram-se fotos com 2, 5, 10 e 20 minutos de análise com o smartfone Redmi Note 7 (Xiaomi, Pequim, China) apoiado a um suporte com iluminação interna com altura de 6,5 cm para manter constante a iluminação e a distância focal, um suporte semelhante ao utilizado em trabalhos prévios.¹¹⁰

As imagens foram normalizadas para que o papel da zona de detecção tivesse os valores de R, G e B de 60% utilizando o *software* Gimp (Figura 21). Os valores se RGB das análises foram coletados, usando o mesmo software, das regiões no formato de meia

lua onde são formados o complexo de tiocianato de Co com COC e com AMI (Figura 21).

Figura 21: Foto do dispositivo ColorPAD mostrando a região de normalização dos valores de RGB e regiões de onde se coletam valores de RGB referente ao complexo com COC (Região 1) e com AMI (Região 2).

4.2.7 Análises das amostras de COC com dispositivo Color-ePAD

Soluções contendo misturas de COC/AMI em diferentes proporções foram preparadas em PBS (pH 2) para solubilizar COC (pK_a 8,6).⁷⁸ Cada solução foi preparada dissolvendo 230 mg de sólido em 100 μ L de PBS e mais analisado por CV (taxa de varredura: 50 $mV s^{-1}$ e 3 ciclos) usando um ePAD. As concentrações e proporções das misturas COC/AMI foram: 230 mg de COC (7,5 $mmol L^{-1}$, 100:0); 184 mg COC e 46 mg AMI (6 $mmol L^{-1}$ COC/2 $mmol L^{-1}$ AMI, 80:20); 115 mg COC e 115 mg AMI (4 $mmol L^{-1}$ COC/5 $mmol L^{-1}$ AMI, 50:50); 46 mg de COC e 184 mg de AMI (1,5 $mmol L^{-1}$ COC/8 $mmol L^{-1}$, 20:80) e 230 mg de AMI (10 $mmol L^{-1}$, 0:100).

Alguns instantes antes de iniciar a CV, foi mergulhado o início do canal microfluídico do ColorPAD na solução de análise, após o término da corrida (~30 s) destacou-se o dispositivo do suporte que o conectava ao ePAD e iniciou-se a CV. Durante a execução dos CVs foram obtidos fotos do ColorPAD em 2, 5, 10 e 20 min de análise, como descrito acima.

4.2.8 Análises das componentes principais

Os dados brutos de RGB e corrente foram analisados por análise de componentes principais (PCA, *principal component analysis* em inglês). As componentes principais (PCs, *principal components* em inglês) são autovetores ortogonais em um espaço reduzido, e foram calculados usando o software Statistica 13.5. As correntes e RGBs foram usados como dados de entrada para compor as matrizes do PCA. Cada CV gerou 1,024 variáveis, enquanto a colorimetria gerou 24, três variáveis (RGB) em duas regiões diferentes de análise coletadas em tempos distintos (2, 5, 10 e 20 min). As colunas da matriz foram autoescaladas de acordo com a Equação 2 para dar o mesmo peso a todas as variáveis.¹¹¹ Onde x_{ij} é o valor da variável localizada na linha i e coluna j , $\bar{x}_j$ é a média da coluna j e s_j é o desvio padrão da coluna j .

$$x_{ij(a)} = \frac{x_{ij} - \bar{x}_j}{s_j} \quad [2]$$

4.2.9 Análise da folha de Au por EDXRF

A folha de Au (1 cm²) foi analisada por espectrometria de energia dispersiva de fluorescência de raio-X (EDXRF *energy dispersive X-ray fluorescence spectrometer* em inglês) com o instrumento EDX720 da Shimadzu (Columbia, EUA) em ar atmosférico. A janela de análise foi a de Na (11) – U (92), tubo de raio X de Rh com 50 kV e corrente de 240 μ A, tempo de análise de 60 segundos e lente colimadora de 10 mm.

4.2.10 Outras aplicações da folha de Au

4.2.10.1 Detecção de glicose

Como uma forma demonstrar outra aplicação do ePAD foi registrado voltamograma de varredura linear (LSV, *linear sweep voltammetry* em inglês) com 10

mV s⁻¹ de velocidade em tampão PBS, pH 7 contendo 5 mmol L⁻¹ de glicose para verificar a atividade eletroquímica do ePAD preparado com grafite/NPG e grafite não modificado.

Foi feito também, uma curva analítica da glicose utilizando potenciostato PGSTAT 128N (Metrohm) e voltametria de pulso diferencial (DPV, *differential pulse voltammetry* em inglês) com passo de 15 mV, amplitude de 125 mV, tempo de modulação de 50 ms e intervalo de 200 ms e considerando o pico anódico da glicose em -0,1 V (vs. Ag). Utilizou-se como meio eletrolítico plasma heparinizado do sangue coletado de um voluntário saudável contendo 2 mmol L⁻¹ de glicose que foi quantificada pela técnica convencional de espectrofotometria. Cada análise com ePAD requereu 15 µL de amostra, utilizou-se ePAD com design adequado para o volume (dado não mostrado). Foram preparadas 5 amostras de plasma com concentrações variáveis de glicose (1 – 64 mmol L⁻¹) misturando-se 15 µL de solução aquosa padrão de glicose a 35 µL de plasma sanguíneo ou diluindo o plasma com água. Cada eletrodo foi usado uma única vez e cada concentração foi analisada em triplicata. Nessa aplicação o grafite/NPG foi recoberto com 5 µL de Nafion 5% m/m.

4.2.10.2 Galvanoplastia do fio de Pt e síntese de nanopartícula com folha de Au

Modificação eletroquímica da superfície do eletrodo de Pt com Au monocristalino oriundo de folha de ouro: Uma célula eletroquímica de dois eletrodos contendo um pedaço de folha de ouro (1,0 x 3,5 cm) fixada na fita Kapton e um fio de Pt com 0,47 mm de diâmetro foi preparado para galvanização para produzir íons Au³⁺ que modificaram o eletrodo Pt. Uma seção de 3,0 cm do filme Au mencionado anteriormente e 1,0 cm do fio Pt foram mergulhados em 3 mL de uma solução de surfactante de CTAB 0,08 mol L⁻¹ e TTAB mol L⁻¹. Utilizou-se um banho de ultrassom com 5 mA aplicado por 20 min.¹¹² A

voltametria cíclica do eletrodo de Pt modificado foi realizada em uma célula eletroquímica de três eletrodos contendo o fio modificado na superfície, Ag/AgCl (KCl 3 mol L⁻¹) e fio de Pt como os eletrodos de trabalho, de referência e auxiliares, respectivamente.

Síntese *bottom-up* de nanopartículas de ouro: A solução de íons de ouro para a síntese de nanobastões (AuRD, *gold nanorod* em inglês) foi preparada dissolvendo 7 mg (32 µmol) de folha de ouro em 100 µL de água régia reversa. Após a dissolução da folha de ouro, a solução de cor laranja mudou para amarelo, foram adicionados 3,5 mL de água desionizada para preparar uma solução de AuCl₄⁻ 10 mmol L⁻¹.

A síntese das nanopartículas foi realizada pelo método de crescimento mediado por sementes;⁷² a solução de sementes foi preparada adicionando 260 µL da solução de AuCl₄⁻ 10 mmol L⁻¹ em 9,74 mL de uma solução de CTAB 0,1 mol L⁻¹, com agitação a temperatura ambiente, depois 1 mL de solução gelada de NaBH₄ 10 mmol L⁻¹ foi adicionada. A cor da solução mudou de amarelo pérola para marrom.

A solução de crescimento foi preparada misturando 2,5 mL da solução de AuCl₄⁻ 10 mmol L⁻¹, 47,5 mL de solução de CTAB 0,1 mol L⁻¹ e 500 µL de solução de AgNO₃ 10 mmol L⁻¹. A cor desta solução era de cor amarelo pérola. Foi adicionada uma alíquota de 225 µL de uma solução de ácido ascórbico 0,1 mol L⁻¹, após um período a solução ficou incolor. Finalmente, 240 µL da suspensão de sementes de nanopartículas de ouro foram adicionados a esta solução e a mistura foi agitada suavemente por uma hora. Durante esse período, a solução gradualmente se tornou violeta. Para separar os AuRDs do CTAB dissolvido, a suspensão foi centrifugada por 10 min a 10,000 rpm, depois o sobrenadante foi cuidadosamente removido e adicionados 100 µL de água desionizada.

A suspensão de AuRD foi então sonicada por 3 min; este procedimento de limpeza foi repetido duas vezes.

4.3 Resultados e discussões

4.3.1 Dispositivo PAD com detecção eletroquímica e colorimétrica

Preparamos um dispositivo PAD em papel de filtro com detecções colorimétrica (ColorPAD) e eletroquímica (ePAD) acopladas (Color-ePAD) (Figura 20 inserida). Foi usado como eletrodo de trabalho uma mina de grafite modificada com filme de Au, que foi fabricado com precursor AuCl_4^- sintetizado a partir de folha de Au, um material acessível utilizado em artesanatos e doces de casamento.¹⁵ Assim, as duas técnicas distintas puderam ser usadas simultaneamente para análise rápida de amostra de COC apreendida, aumentando a quantidade de informação e permitindo identificar a sua composição com auxílio do método quimiométrico, PCA.

O ePAD foi preparado utilizando papel de filtro com zonas hidrofílicas (três reservatórios e dois canais microfluídicos alinhados) delimitadas com barreiras de cera feita com auxílio de impressora de cera (Figura 20). Um dos reservatórios periféricos foi usado como zona de amostragem onde foi anexado um eletrodo de trabalho de grafite modificado com NPG (grafite/NPG) e desenhado o eletrodo auxiliar com tinta de Ag. No reservatório do outro lado foi desenhado um eletrodo de referência de Ag que foi oxidado a AgCl e preenchida com solução KCl 3 mol L⁻¹. A Figura 22 mostra a diferença visual dos materiais AgCl e Ag a ação do ambiente ao longo do tempo, a cor do primeiro foi preservado sugerindo baixa susceptibilidade a ação do oxigênio, enquanto que a Ag escureceu indicando formação de óxido. O reservatório ao centro serviu para fechar o circuito elétrico dos três eletrodos pelo contato físico entre as soluções KCl e da amostra, como se faz a região porosa da ponta do eletrodo de referência convencional.¹¹³

Figura 22: Foto da trilha de Ag do eletrodo de referência do ePAD após 30 dias de exposição ao ambiente. Metade da trilha foi oxidada a AgCl e a outra foi mantida como Ag, que apresentou sinais de oxidação pela ação do oxigênio do ambiente.

O ColorPAD foi preparado, também, em papel de filtro delimitando o canal microfluídico e a zona de detecção recortando as bordas com *laser* (Figura 20B). A amostra acessa o PAD pelo canal (Figura 20 inserida), percorre-o até a zona de detecção onde se mistura com o reagente tiocianato de cobalto depositado e se espelha conferindo cor. O dispositivo tem um suporte que permite acoplar ao ePAD utilizando fita dupla face (Figura 20).

4.3.2 Otimização dos parâmetros de fabricação do Color-ePAD

A plataforma de papel do ePAD foi fabricada com zona de amostragem de diâmetro de 5,0 mm, definido de tal forma que necessitasse volumes pequenos da amostra (50 μ L) para análise eletroquímica e colorimétrica. A largura de 1,5 mm do canal microfluídico era adequado para conferir menor vazão e manter confinado as soluções nas zonas de amostragem e do eletrodo de referência. O comprimento do canal definiu a distância entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência (10 mm), um fator importante do qual depende o sobrepotencial relacionado à queda ohmica.¹¹⁴ Em trabalho anterior,¹¹³ utilizou-se o tamanho de 6,0 mm, onde não se observou diferença de potencial com eletrodo de referência convencional. Porém, neste trabalho utilizou-se material eletródico diferente, observou-se um deslocamento para potencial positivo de $\sim 0,1$ V como será observado nos CVs registrados para AMI (Figura 23). Tentou-se utilizar um comprimento de tamanho menor, mas, observou-se transbordamento das soluções.

Figura 23: CVs registrados com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} utilizando grafite/Au em PBS, pH 2, com 1 mmol L^{-1} de AMI em béquer utilizando eletrodo de referência Ag/AgCl convencional (vermelho) e com 10 mmol L^{-1} de AMI no papel com eletrodo de referência Ag/AgCl” (azul).

Para a fabricação do eletrodo de trabalho, utilizamos mina de grafite que possui baixa resistência elétrica ($< 5 \Omega$) e é um material eletródico usado em outros trabalhos visando à detecção eletroquímica de metais pesados e fármacos.¹¹⁵ Ela é composta por pó de grafite fino ($\sim 65\%$) misturada na matriz de argila ($\sim 30\%$) e aglutinante (cera, resina e polímeros).¹¹⁵ Como eletrodo de trabalho para o ePAD foi usado mina de grafite modificada com NPG. O filme foi preparado pelo método de modelo dinâmico de bolhas de hidrogênio (DHBT, *dynamic hydrogen bubble template* em inglês) aplicando-se potencial negativo constante para reduzir o AuCl_4^- a Au^0 em solução aquosa de H_2SO_4 .¹¹⁶ Na literatura o tetracloroaurato é geralmente adquirido como HAuCl_4 .^{116–119} Neste trabalho, aproveitando a disponibilidade da folha de Au utilizada em artesanatos e na culinária,¹⁵ foi realizada a rápida preparação em microescala de baixo-custo do AuCl_4^- através da dissolução do ouro com água régia reversa. A reação geral do Au com água régia é apresentada na Equação 3.¹²⁰ A concentração de Au de 88% (m/m) na folha foi determinada pela técnica de análise elementar EDXRF como mostra a Tabela 2.

Tabela 2: Análise elementar da folha de Au obtida por EDXRF

Analito	Intensidade / contagem por seg./μA	Resultado / % m/m
Au	32,6	88,2
Ca	0,2	4,2
Ag	0,4	2,8
W	0,7	2,3
Br	1,0	1,8
Lu	0,1	0,4
Cr	0.05	0.3

A fabricação do eletrodo de trabalho foi otimizada aplicando-se diferentes potenciais utilizando a técnica cAMP. Esses potenciais variaram de -1 a -4 V (vs. Ag/AgCl). Foi avaliado a distribuição do filme NPG na superfície do grafite pelo monitoramento do sinal eletroquímico do substrato e por microscopia ótica. Caso ele estivesse mal recoberto, o seu sinal apareceria proeminente entre 0,2 e 0,7 V (Figura 24A), interferindo na corrente faradaica do analito de interesse. Portanto, o recobrimento adequado é uma tentativa de diminuir as flutuações dos sinais eletroquímicos.

Figura 24: (A) CVs registrados em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Em anexo é um zoom da região destacada de CVs (de 0,1 a 0,8 V). (B) CVs registrados em solução PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2) com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Todos os CVs foram registrados usando como eletrodo de trabalho grafite não modificada (preto) ou grafite modificado com Au aplicando -1 (vermelho), -2 (azul), -3 (verde) ou -4 V (roxo) (vs. Ag/AgCl). Ag/AgCl e Pt foram usados como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente. (C) Micrografias ópticas das pontas de grafite $0,9 \text{ mm}$ sem e com modificação Au.

À medida que se utilizou potenciais mais negativos para reduzir o AuCl_4^- observou-se que o sinal do grafite no CV em H_2SO_4 diminuía, não o observando mais a partir de -3 V (Figura 24A). Além do mais, o aumento na corrente faradaica dos picos anódico e catódico atribuídos, respectivamente,¹²¹ à formação de óxidos de Au e a sua redução, está relacionado à quantidade crescente de Au depositado. Uma vez que o potencial cada vez mais negativo gerou aumento do números de sítios ativos para eletroredução do AuCl_4^- .¹¹⁸ Semelhantemente, foi observado que o sinal do substrato diminuía em PBS à medida que se utilizou potenciais de maior energia para redução de AuCl_4^- (Figura 24B). Por microscopia ótica pôde-se atribuir a diminuição vista ao recobrimento mais efetivo do grafite pelo Au (Figura 24C).

Além do recobrimento, foi monitorado a resposta eletroquímica frente à molécula sonda AMI, um fármaco de ação analgésica utilizado como adulterante da COC por organizações criminosas.^{59,16} A janela de potencial dos CVs utilizando grafite/NPG limitou-se a 1,15 V (*vs.* Ag/AgCl) para evitar a interferência da corrente faradaica do Au nas análises.

O grafite/NPG, quando comparado ao grafite não-modificado, apresentou dois processos anódicos da AMI bem definidos em sobrepotenciais menores, um em 0,65 e o outro em 0,95 V (*vs.* Ag/AgCl) de 18 e 3 vezes mais intensos, respectivamente (Figura 25). Dessa forma, pode se inferir uma maior reatividade da AMI na superfície do grafite/NPG que no grafite não modificado. O aumento na corrente observado pode estar relacionado ao incremento da área superficial pela deposição do filme poroso de Au, que possui relação área/volume alta.¹²² Pelo mecanismo da reação determinado em eletrodo de disco rotativo de platina, pode-se atribuir o primeiro pico em 0,65 V (*vs.* Ag/AgCl) à oxidação da enamina terciária anexada ao anel pirazol envolvendo um elétron com subsequente formação de cátion radical iminó, que pode sofrer demetilação para a formação da amina secundária e ser oxidada em 0,95 V (*vs.* Ag/AgCl).⁵⁹ Ou, se estabilizar e o pico em 0,95 V pode ser atribuído a eletrooxidação do carbono metilado do anel pirazol, conforme mecanismo proposto em eletrodo de carbono vítreo.¹²³ A COC não apresentou eletroatividade nas condições experimentais deste trabalho (Figura 25).

Figura 25: CVs com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} registradas em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2, (linhas tracejadas) em béquer de 10 mL com 1 mmol L^{-1} de (A e C) AMI e (B e D) COC (linhas sólidas). Foram utilizados como eletrodo de trabalho (A e B) grafite não modificado e (C e D) grafite/NPG preparado com potencial aplicado de -4 V (vs. Ag/AgCl), eletrodo de referência Ag/AgCl convencional e eletrodo auxiliar de Pt.

O ColorPAD foi preparado utilizando o mesmo tipo de papel de filtro. Porém, ao invés de delimitar os canais hidrofílicos com cera, recortou-se as bordas do dispositivo com *laser*. O diâmetro da zona de detecção foi otimizado variando o tamanho de 4 - 10 mm (Figura 26). O maior diâmetro favoreceu o espalhamento da solução, que então evaporou mais rápido revelando a cor azul do complexo Co/COC insolúvel em meio aquoso,⁵⁶ cuja estrutura química é apresentada na Figura 27. Portanto, o tamanho de 10 mm foi escolhido para fabricar o dispositivo. Apesar da largura e do comprimento do canal microfluídico influenciar no regime de transporte do fluido (velocidade e vazão) promovendo separações ou misturas eficientes,⁴² no presente trabalho o canal microfluídico serviu como um meio de acesso da amostra à zona de detecção do ColorPAD, por isso, adotou-se o tamanho de 3 x 10 mm.

Figura 26: Otimização do diâmetro da zona de detecção do ColorPAD em função do tempo utilizando reagente tiocianato de cobalto e solução COC 5 mmol L⁻¹ preparada em PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 2.

Figura 27: Estrutura proposta do complexo tiocianato de Co com COC. Imagem adaptada de¹²⁴.

A solução rósea de tiocianato de cobalto quando adicionada e, posteriormente, seca no papel apresentou coloração azul royal (Figura 28), provavelmente por conta da evaporação do solvente. Verificou-se se a qualidade do papel influenciaria no resultado, foi observado que tanto o papel Whatman de maior grau de pureza, quanto o papel de filtro apresentaram cor azul (Figura 28). O fato observado confirmou relato apresentado na literatura⁵⁶ de que o papel pode gerar falso positivo em teste de cor de amostra apreendida supostamente de COC. No entanto, ela imediatamente voltou a coloração rósea inicial quando se adicionou novamente a solução PBS. Por outro lado, essas

mudanças de cores não se verificaram com a COC (Figura 28) e nem com a AMI (dados não mostrados) após a adição de PBS ao complexo azul formado.

Figura 28: Fotos do teste de cor em placa de porcelana escavada utilizando solução aquosa de tiocianato de cobalto (4% m/m) preparada em PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 2. (A) Adição de 10 µL do reagente aos papeis Whatman e cromatográfico. (B) Após a secagem da solução tiocianato. (C) Em seguida, adicionaram-se, novamente, 10 µL de PBS (pH 2). (D) Sobre os papeis ainda úmidos adicionaram-se alguns sólidos de COC. (E) E por fim, sobre o precipitado azul, adicionou-se mais 20 µL de PBS, pH 2.

Quando se adicionaram concentrações altas (sólido) de COC (Figura 28) e de AMI (dados não mostrados) ao papel molhado com solução de tiocianato de Co, tais complexos de Co/COC e Co/AMI apresentaram cores azuis escuras quase indistinguíveis da cor azul dos papeis. No entanto, foi observado uma mudança de azul escuro para azul capri ou azul médio quando se adicionaram soluções de concentrações menores ao ColorPAD, como será mostrado mais adiante. Outro fator que pode ter contribuído para mudança de tonalidade foi o espalhamento da mistura promovida pela capilaridade do papel. A partir de então, as tonalidades de azuis do tiocianato no papel, do complexo Co/AMI e do Co/COC puderam ser claramente diferenciáveis (Figura 28).

A reação do tiocianato de Co é pouca seletiva para COC, podendo gerar cor azul com fármacos de uso controlado como lidocaína, dibucaína, clorpromazina⁶⁴ e até mesmo AMI. Portanto, há riscos de gerar resultados falsos-positivos ou resultados dúbios, como por exemplo, com o aparecimento da cor roxa em presença de leite em pó.¹²⁵ Por esse motivo Tsumura e colaboradores sugeriram realizar o teste de Scott em três etapas: reação da amostra suspeita com tiocianato de Co em solução aquosa com glicerina para o aparecimento do precipitado de cor azul, ressolubilização com adição de HCl concentrado e, conseqüentemente, desaparecimento de cor e, por último, a extração do complexo com clorofórmio conferindo coloração azul ao solvente orgânico.⁶⁴ Se essas três etapas forem contempladas a exatidão dos resultados dos exames preliminares para COC serão maiores, diminuindo a incidência de falso positivos.

Outro fator que fornece um forte indicativo da presença da COC na amostra apreendida é a rápida formação do complexo. A Figura 29 nos mostra que a amostra que contém COC apresentou precipitados azuis capri em 2 minutos de análise no ColorPAD. É importante notarmos que o precipitado se formou e impregnou nas fibras do ColorPAD em uma região próxima de onde se depositou o reagente tiocianato assumindo uma forma de arco, em consequência do arraste gerado pelo fluxo da solução (Figura 29). Com o passar do tempo essa coloração tornou-se gradativamente mais intensa.

Figura 29: Fotos dos ColorPADs com o reagente tiocianato de cobalto depositado (seco), após a corrida da solução branco PBS (pH 2), após a corrida da PBS com 10 mmol L⁻¹ de AMI ou COC depois de 2, 5, 10 e 20 minutos de análise.

Enquanto o excesso do tiocianato continuou sendo carregado pelo fluxo contínuo. Com 10 minutos de análise o tiocianato de cor rosa que estava situado na parte superior do ColorPAD assumiu cor escura ficando mais intensa na amostra que continha somente AMI (Figura 29), após 20 minutos apresentou cor azul médio indicando presença de AMI. A cor azul escura que apareceu no papel após a corrida da solução PBS sem analito se manifestou na região da extremidade superior perto das bordas. Sugerindo, dessa forma, que a cinética de formação do complexo tiocianato de Co/COC é mais rápida que com AMI. Essas observações possibilitaram a identificação dos analitos de acordo com a região do dispositivo.

4.3.3 Caracterização microscópica e eletroquímica do eletrodo grafite/NPG

Com o objetivo de conhecer a morfologia do nosso eletrodo de trabalho, registramos imagens de SEM do grafite com e sem modificação com NPG. As imagens

do grafite revelaram a presença de estruturas finas e achatadas uma do lado da outra (tactódies) nas mais diversas direções compostos por agregados de folhas de grafite (lamelas),¹²⁶ como se pode observar na Figura 30 A-B. Quando o grafite foi modificado com o filme NPG, essas estruturas foram preservadas e, sobre elas foram depositadas estruturas de Au (Figura 30 C-D). Na micrografia com maior magnificação, é possível observar a presença de estrutura porosa de Au, os quais possuem ramificações dendriméricas com partículas sub-micrométricas, que fornecem defeitos (*i.e.* dobras e bordas) na superfície.

Figura 30: Imagens SEM da ponta do grafite (A e B) sem e (C e D) com modificação com Au.

Por microscopia eletrônica de transmissão (TEM, *transmission electron microscopy* em inglês), foi possível observar que o filme NPG era composto por partículas de Au sub-micrométricas (Figura 31). Além disso, como se pode ver em

imagens TEM de alta resolução (Figura 32A-B), o NPG preparado exibiu uma distância de franja de 0,23 nm, que pode ser atribuído ao plano cristalino (111) do Au. Além disso, a difração de elétrons de área selecionada (SAED, *selected area electron diffraction* em inglês, Figura 32) mostrou que os NPG também possuem os planos (200), (220) e (311), característico de uma estrutura cúbica de face centrada de Au policristalina.^{117,119,127} Os picos anódicos em 1,2 e 1,4 V (*vs.* Ag/AgCl) observados no CV registrado em solução de H₂SO₄ (Figura 24A) estão associados aos planos cristalinos de baixo-índice (100) e (111), respectivamente, e o ombro observado em 1,3 V a (110)^{88,116,121} demonstrando as faces cristalinas expostas à solução eletrolítica.

Figura 31: (A) Imagem TEM da estrutura porosa de Au que compõe o filme na ponta do grafite. (B) Partículas que compõe o filme NPG.

Figura 32: (A) Imagem TEM da estrutura de Au que compõe o filme na ponta do grafite/NPG. (B) TEM em alta resolução com distância de franja de 0,235 nm. (C) SAED da ponta do grafite/NPG.

Avaliamos, também, o comportamento eletroquímico do nosso dispositivo em comparação ao grafite não modificado. Para isso registramos espectros de impedância eletroquímica (gráficos de Nyquist) em potencial de meia-onda do sistema equimolar do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, medido em potencial de circuito aberto (OCP, *open circuit potential* em inglês, Figura 33). Os potenciais aplicados foram $\sim 0,15$ V (vs. Ag/AgCl”) para grafite/NPG e grafite não modificado.

O semicírculo na região de alta frequência do espectro representa o processo eletroquímico limitado pela resistência de transferência de carga (R_{CT} , *resistance of charge transfer* em inglês) na interface eletrodo/solução.¹²⁸ O grafite não modificado

apresentou semicírculo com 644 Ω . A deposição do filme NPG diminuiu a resistência para 3 Ω sugerindo um aumento na taxa de transferência eletrônica. Os semicírculos foram analisados pelo método *electrochemical circle fit* disponível no programa Nova 2.1 (Metrohm Inc.), que considera o circuito elétrico equivalente de Randles sem levar em consideração o processo de transporte de massa controlado por difusão (constante de Warburg, W). Caso a superfície do eletrodo fosse plana a constante W seria representado por uma cauda linear em baixas frequências de perturbação. Como não é o caso do nosso dispositivo, a cauda apresentou um comportamento curvo resultado das microestruturas irregulares do grafite e da presença de estruturas nanométricas de Au.¹²⁹

Figura 33: Gráficos de Nyquist registrados em solução aquosa de KNO_3 0,1 mol L^{-1} com 2 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ usando mina de grafite (vermelho) ou grafite/NPG (azul) como eletrodo de trabalho. Em anexo é ampliação do gráfico obtido com grafite/NPG em altas frequências.

Em um outro experimento, considerando o ácido ascórbico (AA) como molécula sonda. Por CV foi observado uma maior definição da onda anódica larga do AA atribuído à oxidação do ascorbato a dehidroascorbato envolvendo dois elétrons,¹¹⁷ à medida que se utilizou potencial com maior energia para eletrodeposição do Au, inferindo melhora na

rapidez de transferência eletrônica (Figura 34A). Além disso, observamos uma leve antecipação do início do pico anódico atingindo uma diferença de 0,05 V, se comparados os sinais obtidos utilizando grafite/NPG fabricado com -4 V (vs. Ag/AgCl) e a mina de grafite não modificada como eletrodos de trabalho.

O deslocamento para potencial menor foi observado também nos CVs registrados com grafite/NPG e eletrodo de Au convencional onde foi visto antecipação de 0,3 V do início do pico anódico (Figura 34B), um comportamento semelhante foi visto com eletrodo de disco de Au modificado com NPG.¹¹⁷ Este efeito pode ser explicado pela adsorção da molécula à superfície do eletrodo que afeta o estado de transição e, portanto, a energia de ativação para a reação química acontecer na superfície.¹²² Átomos em dobras e bordas interagem mais fortemente com analito^{122,121} que os em superfícies planas. A geometria do material influencia os planos cristalinos, e estes por sua vez interagem de forma distintas com os analitos conferindo atividade catalítica em maior ou menor grau, nanocubos de Cu_2O que possuem orientação (100) apresentam grande potencialidade na detecção não-enzimática e seletiva de glicose.¹³⁰ A mistura de facetas produzem materiais com contribuição mista que pode melhorar a sua performance, planos cristalográficos $2(111) \times (100) = (311)$ do Au possuem maior efeito catalítico que superfície monocristalina (111) ou (100) na detecção de glicose.¹³¹ O nosso eletrodo grafite/NPG possui planos (100) e (111), majoritariamente, que conferiu melhor performance eletroquímica que o eletrodo de Au convencional e o grafite não modificado.

Além do mais, a adsorção pode diminuir a barreira energética ativando a molécula.¹²² Consequentemente, irá ocorrer mais reação química em um dado tempo aumentando a cinética da reação. Por ora, esse efeito foi refletido na definição da onda anódica atribuída a transferência eletrônica rápida.¹¹⁷ Mas, caso estes dados estivessem normalizados pela área eletroativa do eletrodo se poderia constatar esse efeito na maior

intensidade de corrente. Dessa forma, o aumento do sinal não estaria relacionado ao aumento da área eletroativa ou da rugosidade.¹³² Uma das formas recomendadas de se determinar a área de eletrodos nanoestruturados é através da variação da corrente não faradaica em função da velocidade de varredura, a inclinação da curva linear é a capacitância da dupla camada elétrica. A razão entre as capacitâncias do eletrodo e do eletrodo plano do material correspondente é o coeficiente de rugosidade, que quando multiplicado pela área geométrica do eletrodo nanoestruturado fornece a área eletroativa.¹³²

Figura 34: (A) CVs registrados com eletrodos de trabalhos grafite não modificado (a) e grafite/NPG preparado aplicando-se -1 V (b), -2 V (c), -3 V (d) e -4 V (e) (vs. Ag/AgCl) por cronoamperometria. (B) CVs registrados com grafite/NPG preparado com -4 V (linha azul) e eletrodo de Au convencional (linha vermelha). Os CVs foram registrados com velocidade de varredura de 2 mV s^{-1} em solução PBS (pH 7,4) com 5 mmol L^{-1} de AA.

Vale a pena notarmos na Figura 34 que quando usamos grafite como eletrodo, o transporte de massa se aproximou ao regime estado estacionário, observado quando o raio do eletrodo é menor que a camada de difusão.¹³³ A superfície com lamelas e tactóides do grafite e a estrutura do filme de Au podem ter criado microregiões promovendo tal semelhança. Em contraste, quando se usou eletrodo de Au convencional foi visto

transporte de massa em regime transiente. Esse comportamento é visto quando a camada de difusão é menor que o raio do eletrodo.¹³³

4.3.4 Teste de reprodutibilidade do eletrodo grafite/NPG

Como já discutido anteriormente, ao aplicar -3 e -4 V (vs. Ag/AgCl) formou um filme NPG mais bem distribuído na superfície do grafite. Por conta da maior energia, o potencial de -4 V reduziu maior quantidade de Au que foi distribuído de forma homogênea pelo substrato, consequentemente, pôde-se obter um método de preparação com taxa de reprodutibilidade relativamente alta de 83%. Ou seja, do total de 12 eletrodos fabricados, 10 apresentaram recobrimento adequado pelo filme NPG, os picos em 1,26, 1,43 e 0,95 V tiveram desvio padrão relativo (RSD, *Relative Standard Deviation* em inglês) de 7,5, 6,8 e 9,5%, respectivamente (Figura 35). Por outro lado, ao aplicar -3 V a taxa caiu para 50%, 6 dos 12 eletrodos apresentaram recobrimento adequado.

Figura 35: CVs registrados em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} utilizando 10 eletrodos grafite/NPG diferentes (cores claras). Média das correntes dos CVs com desvio padrão $173 \pm 13 \text{ } \mu\text{A}$, $148 \pm 10 \text{ } \mu\text{A}$ e $-738 \pm 70 \text{ } \mu\text{A}$ dos picos em 1,26 V; 1,43 V e 0,95 V, respectivamente (azul marinho).

Adicionalmente, ao utilizar -4 V na fabricação do eletrodo, o RSD da altura do pico em 0,65 V da AMI foi de 8% ($56 \pm 4,5 \text{ } \mu\text{A}$) (Figura 36). Cabe ressaltar que o

potencial do pico anódico da AMI referenciado ao eletrodo Ag/AgCl (KCl 3 mol L⁻¹) no papel variou 5,5% ($0,72 \pm 0,04$ V) (Figura 36). Foi observado uma grande melhora em relação ao uso de pseudo-referência de Ag (14%, $0,36 \pm 0,05$ V). Tal fato se deve à utilização da solução de KCl que conecta o arranjo de três eletrodos protegendo a superfície do eletrodo de referência Ag/AgCl da solução da amostra. Ao contrário do pseudo-referência, que tem a superfície metálica exposta ao meio eletrolítico que pode sofrer adsorção de compostos químicos alterando o seu potencial causando, assim, variação no potencial de pico. Foi observado variações de potencial em ambos os eletrodos, porque para cada dispositivo PAD utilizado foi fabricado um eletrodo de Ag diferente.

Figura 36: DPVs registrados ($n = 7$) em PBS, pH 2, com 10 mmol L^{-1} de AMI utilizando ePAD com grafite/NPG, Ag/AgCl e Ag como eletrodo de trabalho, referência e auxiliar, respectivamente. As condições para registrar os voltamogramas foram 10 mV de potencial de passo, 25 mV de amplitude, 50 ms de tempo de modulação e 400 ms de intervalo de tempo.

4.3.5 Aplicação do dispositivo Color-ePAD em amostras de COC

As análises eletroquímicas das amostras de COC foram feitas por CV com 3 ciclos que duraram 155 segundos e requereu $50 \mu\text{L}$ de amostra preparada em PBS (pH

2). Cada eletrodo apresentou comportamento diferente frente a solução de AMI com variação do potencial de pico e intensidade de corrente de 5,5 e 8%, respectivamente (Figura 36). Na análise da amostra de COC com agente de corte AMI não foi diferente, observaram-se deslocamentos do potencial de pico da AMI ($0,73 \pm 0,04$ V) e diferentes intensidades de correntes (28 ± 2 μ A) (Figura 37).

Para contornar essas flutuações de sinais, a análise da amostra pode ser feita pelo método de adição de padrão, dessa forma, elimina-se a influência da matriz.²⁴ Mas, neste trabalho registramos as possíveis respostas voltamétricas e colorimétricas ($n = 5$) de cada solução de COC/AMI para compor o conjunto de calibração (banco de dados) da análise PCA – uma técnica quimiométrica não supervisionada que reduz um conjunto de variáveis em autovetores ortogonais (PC, principal componente) com o máximo de variância possível.¹¹⁰ Dessa forma, desenvolvemos um método analítico utilizando Color-ePAD que por similaridade dos sinais, a composição das amostras podem ser determinadas e os analitos, quantificados de forma rápida e sem necessitar de pessoas treinadas para realizar a análise.

Figura 37: CVs com 50 mV s^{-1} de velocidade de varredura registrados em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ usando diferentes eletrodos grafite/Au referenciados a Ag/AgCl convencional (lado esquerdo). No lado direito são os CVs com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} registrados usando os mesmos eletrodos de trabalho, porém, referenciados a Ag/AgCl' em solução de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2 (linha tracejada), com 10 mmol L^{-1} de AMI (linha contínua).

As correntes dos CVs sem subtrair as correntes de fundo foram usados para compor a matriz de dados e cada coluna foi autoescalado para minimizar a influência de uma variável dominante, isto é, variáveis que teriam valores mais altos em relação às outras.¹¹¹ Conforme o gráfico de escores da PCA (Figura 38A), a PC1 das 25 amostras de COC descreve 53% da variância dos dados originais discriminando-as ao longo do eixo em função da concentração de AMI. Quanto maior foi a concentração de AMI, a amostra estava deslocada para valores mais negativos. A posição de cada amostra, no caso deste trabalho, levou em consideração a contribuição de todas as 1024 variáveis (correntes) de cada CV. No entanto, analisando pontualmente as principais variáveis do gráfico dos pesos das PCs (Figura 38B), o deslocamento para valores negativos da PC1 das amostras

com altas concentrações de AMI se deve às correntes altas em $\sim 1,1$ V da varredura direta e 0,9 e 0,8V da varredura reversa.

Figura 38: (A) Gráfico de escores da PCA obtidos com os CVs das amostras de COC. (B) Gráfico dos pesos das variáveis (correntes dos CVs) na PCA, estão em destaque o potencial aplicado onde se obteve os valores de corrente. Os potenciais das varreduras reversas estão indicados com (*). (C) CVs das amostras de COC registrados com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} utilizando ePAD com grafite/NPG, Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$) e Ag como eletrodo de trabalho, referência e auxiliar, respectivamente. (D) Gráfico dos CVs mostrado em C com a respectiva região ampliada. As amostras 100:0, 80:20, 50:50, 20:80 e 0:100 estão representadas pelas cores vermelha, verde, preta, roxa e azul, respectivamente.

Ainda, à medida que a concentração de COC na amostra aumentou, observou-se um alargamento do pico e um leve deslocamento para potencial positivo dos picos da AMI devido à possível adsorção da COC no eletrodo. Assim, foi visto um aumento da corrente no início do primeiro pico anódico da AMI em 0,7 V da amostra 50:50, o que deslocou a amostra para valores positivos da PC1. Outra variável que contribuiu para o

deslocamento positivo da PC1, no entanto passaria despercebida, pois não há processo faradaico envolvido, foi a corrente anódica em 0,07 V. As amostras contendo concentrações altas de COC apresentaram correntes altas contribuindo para o deslocamento. Semelhantemente, a corrente em 0,6 V causou deslocamento positivo, por isso a amostra 100:0 apresentou maior deslocamento entre as amostras 50:50, 80:20 e 100:0. Apesar das amostras 0:100 e 20:80 também apresentarem correntes altas em 0,6 V, elas estavam posicionadas do lado negativo, provavelmente, porque outras variáveis, como as já citadas, exerceram maiores pesos. Adicionalmente, a mesma corrente em 0,6 V contribuiu para deslocamento positivo na PC2 posicionando as amostras 0:100 e 20:80 no quadrante 1 e 100:0 no quadrante 2.

Não obstante, a PC2 contribuiu com 20% para a discriminação das amostras no eixo vertical. As correntes em 0,5 e 0,25 V deslocaram positivamente as amostras que apresentaram correntes catódicas intensas atribuídas a redução do produto formado em $\sim 0,8$ V,¹²³ como 0:100 e 20:80. Por último, a corrente em $-0,1$ V da varredura reversa deslocou para valores negativos amostras que apresentaram correntes pequenas como 50:50 e 80:20.

Apesar da CV fornecer boas discriminações das amostras 100:0, 80:20 e 50:50, mesmo sem o sinal eletroquímico da COC. Ela não foi capaz de discriminar de forma clara as amostras 20:80 e 0:100.

Visando melhorar discriminação das amostras de COC, acoplou-se um dispositivo PAD microfluídico com detecção colorimétrica (ColorPAD) para produzir mais informações sobre as amostras. Esta análise precisou de 20 minutos para ser realizada. Nesse sentido, os dispositivos PADs pode integrar facilmente técnicas de detecções distintas apenas utilizando um *design* adequado pré-moldado em programa de

computador¹³⁴ ou, como o nosso caso, acoplando os dispositivos ao PAD.^{31,107} Dessa forma, foi possível identificar a presença da COC pela reação com tiocianato de cobalto e pela intensidade de cor resultante, quantificá-la, mesmo com presença de composto com potencial de interferência. Os complexos com COC e AMI formados e o papel produzem cores azuis com tonalidades diferentes, o que dificulta a discriminação a olho nu. O papel interage de forma diferente com cada produto formado e por conta da capilaridade é possível realizar uma separação cromatográfica. Para tanto, transformamos as cores observadas em cada região em dados de entrada RGB para análise PCA. Os dados foram usados sem descontar o sinal de fundo.

A Figura 39 mostra a variação de cores das amostras de COC usadas como dados de calibração em função do tempo. Foi observado que as intensidades das cores tinham relação direta com o tempo e a concentração dos analitos. Os valores RGB foram coletados para compor a matriz de dados em cada dispositivo conforme o tempo e regiões do dispositivo, em uma das regiões é encontrado o complexo com COC (RGB) e a outra com AMI ($R^*G^*B^*$). A Tabela 3 mostra os valores RGB de cada região conforme o tempo e concentrações. Nota-se que os valores de R e R^* diminuíram com o passar do tempo, e por outro lado os valores de B e B^* aumentaram. E os valores de B foram maiores em amostras que continham maiores concentrações de COC, já B^* apresentaram maiores valores em amostras com maiores concentrações de AMI. Cada coluna da matriz PCA foi centrado no seu valor de média, para dar o mesmo peso a todas as variáveis.¹¹¹

Figura 39: Fotos da zona de detecção dos dispositivos ColorPADs com tempo e concentrações de COC e AMI variáveis.

Tabela 3: Valores de RGB registrados no Color-ePAD das amostras de COC com AMI conforme o tempo. Foram registrados em duas regiões diferentes do dispositivo: um na região de formação do complexo com COC (R, G e B) e a outra na região do complexo com AMI (R*, G* e B*). n = 5

Composição da amostra 100:0					Composição da amostra 80:20				
Tempo / min.	2	5	10	20	Tempo / min.	2	5	10	20
R	55,8 ± 0,6	52,9 ± 0,9	50,3 ± 0,8	42,4 ± 2,5	R	56,1 ± 1,5	53,2 ± 2,1	51,5 ± 1,8	45,7 ± 2,9
G	57,0 ± 0,2	56,6 ± 0,6	57,2 ± 0,6	56,1 ± 1,1	G	55,8 ± 1,2	56,5 ± 1,4	57,8 ± 0,8	56,9 ± 1,4
B	59,0 ± 0,6	59,4 ± 0,5	60,1 ± 0,6	62,9 ± 0,4	B	58,3 ± 1,1	59,6 ± 1,1	61,7 ± 0,6	62,4 ± 1,2
R*	58,9 ± 0,6	56,1 ± 1,2	52,8 ± 0,9	37,7 ± 2,5	R*	57,4 ± 1,2	54,5 ± 2,1	51,6 ± 3,0	38,0 ± 3,4
G*	47,2 ± 1,1	47,0 ± 1,8	48,9 ± 0,5	44,9 ± 2,4	G*	46,9 ± 1,6	47,8 ± 1,9	50,7 ± 2,3	46,2 ± 2,2
B*	50,4 ± 0,8	51,2 ± 1,3	53,5 ± 0,9	57,7 ± 0,9	B*	50,0 ± 1,7	52,1 ± 2,4	57,0 ± 1,4	58,1 ± 1,7

Composição da amostra 50:50					Composição da amostra 20:80				
Tempo / min.	2	5	10	20	Tempo / min.	2	5	10	20
R	57,7 ± 0,5	57,1 ± 0,6	56,7 ± 1,8	47,4 ± 0,7	R	59,0 ± 0,2	56,6 ± 1,5	48,7 ± 1,2	46,1 ± 2,6
G	54,1 ± 0,9	56,0 ± 1,1	58,9 ± 2,2	56,2 ± 0,6	G	55,1 ± 0,8	53,9 ± 1,1	50,4 ± 1,3	55,0 ± 2,3
B	56,3 ± 0,8	58,0 ± 1,0	62,3 ± 2,6	61,8 ± 0,5	B	57,1 ± 0,6	57,0 ± 1,1	56,0 ± 2,2	61,3 ± 0,4
R*	57,4 ± 1,0	55,5 ± 1,1	54,3 ± 2,6	36,9 ± 3,2	R*	55,5 ± 1,7	50,6 ± 2,2	43,4 ± 3,0	32,6 ± 0,8
G*	46,8 ± 2,0	46,3 ± 2,1	51,3 ± 3,6	46,1 ± 2,8	G*	44,7 ± 2,1	44,3 ± 2,1	44,5 ± 2,9	44,2 ± 1,0
B*	49,8 ± 1,6	50,3 ± 1,8	56,8 ± 3,5	57,8 ± 1,6	B*	48,3 ± 1,7	49,9 ± 1,9	52,1 ± 1,7	57,5 ± 0,7

Composição da amostra 0:100									
Tempo / min.	2	5	10	20					
R	58,3 ± 1,9	57,0 ± 0,6	49,2 ± 1,7	49,8 ± 1,6					
G	52,6 ± 2,7	52,5 ± 0,8	49,7 ± 1,2	56,6 ± 1,0					
B	55,7 ± 1,8	54,6 ± 1,3	54,4 ± 0,9	61,8 ± 1,0					
R*	57,0 ± 2,2	52,6 ± 3,8	45,0 ± 3,3	33,9 ± 4,1					
G*	48,1 ± 1,2	48,3 ± 1,5	47,6 ± 1,7	47,5 ± 1,3					
B*	51,8 ± 0,6	51,9 ± 1,1	54,2 ± 2,3	58,9 ± 0,8					

Conforme o gráfico de escores da Figura 40, em cada instante da análise há uma tendência de discriminação das amostras, mais acentuada em 5 e 10 minutos, onde se observou agrupamento das amostras. Mas, os dados se mostraram muito dispersos e foi visto regiões de sobreposições. Contornou-se esse problema reunindo todas essas variáveis em uma matriz, ou seja, os valores RGB coletados em cada período de análise em cada dispositivo obtendo, assim, uma discriminação mais clara das amostras com maior confinamento (Figura 41).

Figura 40: Gráficos de escores PCA feitos com dados de entrada RGB obtidos em (A) 2, (B) 5, (C) 10 e (D) 20 minutos de análise das amostras de COC/AMI com dispositivo ColorPAD. As amostras de 100:0, 80:20, 50:50, 20:80 e 0:100 são representadas pelas cores vermelha, verde, preta, roxa e azul, respectivamente.

As PC1 e PC2 representaram 41 e 18% dos dados das 25 amostras, respectivamente (Figura 41A). As amostras que contiveram maiores concentrações de AMI foram discriminadas pela PC1 em ordem crescente de concentração. Já no eixo da PC2 as amostras foram separadas em ordem crescente de COC. Interessantemente, as variáveis coletadas na região onde se formou o complexo com COC tiveram maiores contribuições para discriminação das amostras com concentrações altas de AMI. E, por

outro lado, as que foram coletadas na região de formação do complexo com AMI contribuíram para discriminação das amostras com concentrações altas de COC, como se pode observar no gráfico de peso da Figura 41B.

Figura 41: (A) Gráfico de escores da PCA feito com dados de entrada RGB obtidos em 2, 5, 10 e 20 minutos de análise das amostras de COC/AMI com dispositivo ColorPAD. As amostras de 100:0, 80:20, 50:50, 20:80 e 0:100 são representadas pelas cores vermelha, verde, preta, roxa e azul, respectivamente. (B) Gráfico de peso das variáveis RGB, que são representadas pelo tempo, pela letra da respectiva cor e presença ou ausência de (*), que representam dados obtidos na região de formação do complexo azul com COC e AMI, respectivamente.

A discriminação das amostras foi melhorada combinando as informações eletroquímicas e colorimétricas obtidas com o Color-ePAD. Reunimos em uma matriz as variáveis autoescaladas que exerceram maiores pesos (destacadas anteriormente) nas PC1 e PC2 de ambas as análises. Consequentemente, vimos um gráfico de escores (Figura 42A) com características discriminatórias das duas PCAs com discriminação tanto na PC1, quanto na PC2. Infelizmente, não conseguimos melhorar a separação das amostras 20:80 e 0:100, porque pela análise eletroquímica elas encontravam-se agrupadas no gráfico de escores, mas, conseguimos agregar melhor as amostras. Adicionalmente, amostras de COC apreendida foram sinteticamente simuladas. Observou-se que foi possível discriminar essas amostras de acordo com a composição (Figura 42B).

Figura 42: (A) Gráfico de escores da PCA dos dados combinados da CV e RGB obtidos com 2, 5, 10 e 20 minutos de análise das amostras de treinamento de COC/AMI feitas com dispositivo Color-ePAD. As amostras de 100:0, 80:20, 50:50, 20:80 e 0:100 são representadas por círculos vermelhos, verdes, pretos, roxos e azuis, respectivamente. (B) Gráfico de escores da PCA dos mesmos dados da análise anterior mais amostra simulada de COC/AMI (estrelas).

Assim, desenvolvemos um método rápido assistido por quimiometria realizado com dispositivo Color-ePAD que em 20 minutos e 50 μL de amostra nos forneceu a composição da amostra de COC apreendida. Às técnicas eletroquímica e colorimétrica, pode-se integrar a detecção Raman intensificada por superfície (SERS, *surface enhanced Raman scattering* em inglês), uma vez que o eletrodo grafite/NPG possui nanoestrutura de Au. Consequentemente, espectros como o da molécula levamisol, outro fármaco utilizado como agente de corte que em algumas condições experimentais não apresenta eletroatividade,¹⁶ pode ser identificada através do dispositivo PAD. Portanto, espectros SERS como mostrado na Figura 43 podem ser adicionados à matriz de dados da PCA aumentando o potencial discriminatório da análise. Apesar deste método baseado em PCA não necessitar de analistas treinados para determinar a composição de uma amostra de COC apreendida, ele depende de uma base de dados grande que precisa de ser constantemente alimentado.

Figura 43: Espectros SERS das amostras (A) 100:0, (B) 0:100 e (C) 50:50 usando Color-ePAD. Condições experimentais: *laser* de 785 nm, tempo integração de 10 s, acumulação de 1 e lente de aumento de 20 vezes.

4.3.6 Outras aplicações

4.3.6.1 Detecção não enzimática de glicose com ePAD

Aplicamos, também, o dispositivo grafite/NPG recoberto com Nafion na detecção eletroquímica e não enzimática de glicose no plasma sanguíneo humano (pH 7,4)¹³⁵ presente em concentrações que variam entre 1 e 30 mmol L⁻¹.¹³⁵ O plasma sanguíneo é uma matriz rica em proteína e, principalmente, em eletrólito, o que diminui a queda ôhmica causada pela resistência da solução.¹³⁶ O Nafion é um polímero não eletroativo que serviu de barreira física filtrando moléculas grandes e a sua densidade de carga negativa repeliu ânions eletroativos como ascorbato.

Por DPV o pico em -0,1 V (vs. Ag) da glicose foi monitorado, a Figura 44 mostra a variação da densidade de corrente conforme adição direta e sucessiva de amostra padrão de glicose no plasma sanguíneo obtido de voluntário saudável, onde a concentração de

2,3 mmol L⁻¹ de glicose foi quantificada. Pelo mesmo gráfico é possível observar a faixa linear de resposta foi de 1 a 64 mmol L⁻¹ para detecção de glicose (Figura 44B). O nosso dispositivo apresentou resposta linear por uma faixa de concentração que abrange a janela de concentração de glicose no plasma sanguíneo humano.

Para comparação, a concentração da glicose na mesma amostra foi quantificada pelo método padrão de espectrofotometria, onde se determinou a concentração de 2 mmol L⁻¹. Assim, quantificamos com ePAD a concentração de glicose no plasma pelo método de adição de padrão. Onde determinamos um valor de $2,3 \pm 0,7$ mmol L⁻¹ que é comparável à concentração de $2,0 \pm 0,1$ mmol L⁻¹ determinada pelo método convencional espectrofotometria.

Figura 44: (A) LSV registrado com ePAD utilizando grafite/NPG como eletrodo de trabalho e Ag como eletrodo de referência e auxiliar, a velocidade de varredura foi de 10 mV s⁻¹ em solução PBS, pH 7, (linha tracejada) com 5 mmol L⁻¹ de glicose (linha sólida). (B) DPVs registrados com ePAD em plasma sanguíneo de voluntário com concentrações de glicose crescentes. Condição da análise foi velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹, passo de 15 mV, amplitude de 125 mV, tempo de modulação de 50 ms e intervalo de 200 ms. Em anexo é a curva de calibração, onde pode se observar a variação da densidade de corrente em função da concentração de glicose. As análises foram feitas em triplicatas.

4.3.6.2 Modificação do fio de Pt com Au eletrodepositado e síntese de nanopartícula a partir da folha de Au

Modificação da superfície do eletrodo de Pt com Au monocristalino gravado eletroquimicamente da folha de ouro: Durante o processo eletroquímico de gravação do ouro, a solução de surfactante incolor ficou marrom-amarelada, característica de uma solução $[\text{AuBr}_4]^-$, resultado do consumo de Au da folha de ouro à medida que corrente anódica fluiu pelo sistema; além disso, a cor da ponta do fio Pt mudou de prata para marrom escuro, indicativo de deposição de Au. A superfície modificada do fio Pt é evidente na imagem fotográfica apresentada na Figura 45A. O CV registrado na solução de H_2SO_4 usando essa superfície de Pt modificada (Figura 45B) exibiu um perfil bem definido correspondendo a uma estrutura Au monocristalina, com faces de alto índice (311).¹⁰⁵ A corrente anódica é atribuída à formação de uma monocamada de óxido de ouro, enquanto o pico catódico a $\sim 0,90$ V está relacionado à redução desse óxido. Para fins de comparação, o CV de um eletrodo Au policristalino foi registrado na mesma solução (Figura 45C). Uma comparação de corrente direta entre o eletrodo de ouro não modificado e o eletrodo de Pt modificado não é possível devido à diferença nas geometrias dos eletrodos. Entretanto, a superfície de ouro policristalino não exibiu um pico anódico bem marcado, como apresentado no CV adquirido usando o fio Pt modificado por Au, confirmando que é possível modificar a superfície do eletrodo Pt com estrutura de cristalinidade única usando estrutura policristalina da folha de ouro.

Figura 45: (A) Fotografia do fio de Pt antes e depois da deposição de Au. CVs obtidos usando o eletrodo de trabalho (B) Pt recoberto com estrutura Au e (C) o eletrodo comercial policristalino Au, ambos registrados em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, usando velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} por 12 ciclos. Um fio Pt de 1 mm de diâmetro e um $Ag/AgCl$ (KCl 3 mol L^{-1}) foram utilizados como eletrodos auxiliar e de referência, respectivamente.

Síntese de nanopartículas de ouro de baixo para cima: O experimento anterior pretendia inicialmente fabricar nanopartículas de ouro através de folhas de ouro. No entanto, apenas Au de face única foi obtida após a modificação do fio de Pt. Consequentemente, tentamos produzir nanopartículas de ouro a partir de uma solução de folha de ouro dissolvida. A síntese de AuRDs pela redução dos íons precursores $AuCl_4^-$ é muito comum na literatura,^{137–139} e o tetracloroaurato é geralmente adquirido como $HAuCl_4$. Aproveitando a disponibilidade da folha de ouro, foi realizada a rápida preparação em microescala de baixo custo do $AuCl_4^-$ através da dissolução do ouro conforme a Equação 3 (página 86).

O procedimento de síntese deste trabalho foi adaptado das sínteses de AuRDs descritas anteriormente na literatura,^{72,140} onde altas concentrações de CTAB ($\sim 100 \text{ mmol L}^{-1}$) e a adição de íons Ag^+ são necessárias durante o processo de redução de Au^+ por ácido ascórbico. No entanto, *nanorices* de Au foram obtidos em vez de AuRDs; esse resultado é discutido abaixo.

O espectro de UV-vis da suspensão de nanopartículas de Au é mostrado na Figura 46, na qual são observadas duas bandas de extinção de *nanorice* de Au; estes correspondem às absorções de plasmon de superfície. Ambas as bandas, em comprimentos de onda mais longos e mais curtos são atribuídas a oscilações coerentes de elétrons livres ao longo dos eixos longo e curto da partícula, respectivamente.¹⁴¹ O comportamento da banda de comprimento de onda mais curto (550 nm) é inesperado, pois geralmente é menos intensa que o comprimento maior (652 nm).¹⁴² No entanto, a absorção da banda foi larga e intensa, o que poderia indicar a presença de partículas com diferentes tamanhos e formatos na suspensão AuRD. A inserção da Figura 46 exibe uma imagem fotográfica que mostra claramente a cor violeta da solução, característica dessas nanopartículas.

Figura 46: Espectro UV-Vis da suspensão de nanopartículas de Au. A imagem inserida mostra a cor da suspensão de nanopartículas de Au (violeta).

A forma de arroz das nanopartículas de Au é evidente por microscopia TEM (Figura 47 A-D); o comprimento e largura médios das partículas *nanorice* foram de $68,3 \pm 10,1$ nm ($n = 61$) e $34,0 \pm 4,4$ nm ($n = 61$), respectivamente. As partículas têm nanoestruturas penta-geminadas, como relatado por Zheng e colaboradores,¹⁴³ que são evidentes na imagem da partícula *nanorice* de Au na Figura 47C. As imagens de TEM revelaram a presença de nanopartículas de Au com formas semi-esféricas e *nanorices* de Au, o que poderia explicar a banda de extinção larga no menor comprimento de onda no espectro UV-visível. O rendimento do *nanorice* foi calculada em ~50% (150 *nanorices* em um total de 302 nanopartículas de ouro contadas). A imagem de alta resolução do *nanorice* de Au (Figura 47D) revela franjas cristalinas. O padrão de difração de elétrons (Figura 47E) é indexado à estrutura de Au cúbica de face centrada; o padrão de ponto hexagonal observado no espaço recíproco corresponde ao plano (111),¹⁴⁴ consistente com uma única estrutura cristalina.

Figura 47: (A), (B) e (C) micrografias TEM de nanopartículas de Au em formato de arroz sintetizadas através de folha de Au, (D) padrão de difração de elétrons de área selecionada a partir da imagem em (E) e (E) TEM de alta resolução mostrando a distância entre franjas do nanorice de Au (espaçamento $d = 0,23 \text{ nm}$).

Uma possível explicação para a mudança de forma de AuRD para *nanorice* e o baixo rendimento, quando comparada com relatos da literatura,^{72,140} está relacionado com a presença de íons NO_3^- ($16,4 \text{ mmol L}^{-1}$) e Cl^- ($4,2 \text{ mmol L}^{-1}$) na solução de crescimento,

originários da solução água régia usado para dissolver a folha de ouro. De acordo com Pérez-Juste e colaboradores,¹⁴⁵ a dupla camada de surfactante tem um papel importante na formação de AuRDs, a adição de sal aumenta a força iônica do meio e afeta a energia livre da interação micela e Au. Outra condição experimental importante que poderia afetar a síntese de AuRDs é o pH da solução; no nosso caso, o pH foi de 3,5. Meios ácidos são mais favoráveis à formação de AuRD do que meios alcalinos, de acordo com Okitsu e colaboradores.¹⁴⁶ Portanto, a mudança no formato das nanopartículas, de AuRD para *nanorice*, pode ser atribuída à presença de uma concentração relativamente alta de íons NO_3^- em solução.

4.4 Conclusões parciais

Nessa etapa, reportamos um método de fabricação PAD utilizando papel de filtro e mina de grafite modificada com filme de Au poroso. O dispositivo permitiu acoplar as detecções eletroquímica e colorimétrica fornecendo maiores informações sobre a amostra de COC adulterada com AMI. O precursor do NPG, AuCl_4^- , foi sintetizado dissolvendo-se folha de Au em água régia reversa e reduzido em meio ácido aplicando-se potencial de -4 V. Demonstramos que à medida que se utilizou potenciais cada vez mais negativos para depositar o Au, o recobrimento da superfície do grafite tornou-se mais efetivo, o que conferiu menor resistência de transferência eletrônica (3Ω). A estrutura com partículas submicrométricas apresentou bordas e dobras e planos cristalográficos de ouro (110) e, principalmente, (111) e (100), que apresentaram efeito eletrocatalítico antecipando processos eletroquímicos. O tamanho da zona de detecção do ColorPAD foi otimizado para detectar o complexo tiocianato de Co com COC em região diferente do complexo com AMI.

Utilizamos o dispositivo para analisar amostra de COC com AMI. Usamos as técnicas CV e colorimetria para gerar dados de entrada (corrente e RGB) para análise PCA que classificou as amostras conforme a quantidade de cada composto. O método classificou com sucesso amostras simuladas de COC apreendida com base no banco de dados montado neste trabalho.

Adicionalmente, o ePAD com grafite/NPG recoberto com filme de Nafion foi aplicado para detectar glicose em plasma sanguíneo humano. O dispositivo permitiu a detecção não enzimática da glicose em sobrepotencial baixo de $-0,1\text{ V}$ (vs. Ag) e apresentou resposta linear no intervalo de $1\text{--}64\text{ mmol L}^{-1}$ em plasma sanguíneo. Finalmente, o dispositivo foi usado para quantificar a glicose em amostra real, o resultado de $2,3\text{ mmol L}^{-1}$ foi comparável ao resultado de $2,0\text{ mmol L}^{-1}$ obtido pelo método convencional espectrofotometria.

Além da fabricação de eletrodos, as folhas de folha de ouro foram usadas para sintetizar nanopartículas de ouro e como fonte de galvanoplastia. O CV do eletrodo de Pt galvanizado com ouro, registrado em solução de H_2SO_4 , exibiu o perfil característico de Au monocristalino (311). Durante a tentativa de preparação das nanopartículas de Au, formaram-se *nanorices* em vez de AuRDs; essas nanopartículas exibiram estruturas penta-geminadas e forma alongada. O rendimento do *nanorice* foi calculada em 50% a partir de uma fonte de ouro barata, em vez dos sais de ouro de alta pureza mais comumente usados.

4.5 Perspectivas desta etapa

- Nos próximos passos serão estudados a constante cinética de formação do complexo tiocianato de cobalto com COC e AMI.

- Continuar a atualização do banco de dados com outros adulterantes e aumentar a variabilidade de composição.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho apresentou métodos simples e de baixo custo de fabricação de PADs, seja pelo método *drop-drying* de AuNPs em papel sulfite ou eletrodeposição de Au em grafite. Neste último caso, utilizamos a folha de Au como fonte do metal para realizar a modificação. O dispositivo preparado em papel sulfite pôde ser usado tanto como eletrodo, quanto substrato SERS. O PAD com grafite/Au foi acoplado a um dispositivo colorimétrico, assim, foi possível realizar dupla detecção (eletroquímica e colorimetria). Caracterizamos os dispositivos por microscopias para conhecer a morfologia, por técnicas de raio-X para conhecer as estruturas cristalográficas, por eletroquímica para avaliar seu desempenho, por espectroscopia Raman para verificar o aumento do espalhamento de fóton e, finalmente, fizemos testes de reprodutibilidade. Aplicamos esses dispositivos de natureza portátil com dupla detecção para análise *in-loco* de amostras de COC apreendidas com objetivo determinar o perfil químico da amostra – uma ferramenta importante que fornece informações sobre a dinâmica das atividades e redes das organizações criminosas e novas ou conhecidas rotas de distribuição da droga. Pela análise com SERS-ePAD quantificamos por eletroquímica a CAF e o PAR com correspondência de ~96% dos valores obtidos por HPLC, e por SERS detectamos compostos não eletroativos como o LEV em amostra de COC de rua apreendida. Já, com o Color-ePAD assistido pela ferramenta quimiométrica PCA, extraímos um maior número de informações da amostra de COC através da eletroquímica e colorimetria, assim, pudemos classificar as amostras simuladas de COC adulteradas com AMI de

acordo a quantidade de cada composto de forma rápida e por um método que não exige analistas treinados.

Adicionalmente, o ePAD com grafite/NPG recoberto com filme de Nafion foi aplicado para detectar glicose em plasma sanguíneo humano. O dispositivo permitiu a detecção não enzimática da glicose e obtivemos resultado comparável à concentração detectada pelo método convencional espectrofotometria. Além da fabricação de eletrodos, as folhas de ouro foram usadas para sintetizar nanopartículas de ouro em forma de arroz e como fonte de galvanoplastia para modificar o fio de Pt.

6. COLABORAÇÕES

6.1 Colaboração 1

Angewandte Chemie International Edition

10.1002/anie.201708527

COMMUNICATION

WILEY-VCH

Single-step Reagentless Laser Scribing Fabrication of Electrochemical Paper-based Analytical Devices

William R. de Araujo, Carolina M.R. Frasson, Wilson A. Ameku, José R. Silva, Lúcio Angnes, and Thiago R.L.C. Paixão*

Abstract: Herein we describe the use of a single-step laser scribing process to pattern nanostructured electrodes on paper-based devices. This facile and low-cost technique eliminates the need for chemical reagents or controlled conditions. Our process involves

because of the of paper's composition, structure and grammage (mass per unit area), and until now there have been no reports of the direct laser patterning of electrodes on paper. The only reported paper pyrolysis method for the production of carbon electrode

Neste trabalho desenvolvemos um PAD com detecção eletroquímica portátil e descartável de baixo custo, sem necessitar de reagentes. O método foi baseado na pirólise superficial do papelão com *laser* utilizado em sistema de corte. A sua produção pode ser feita em grande escala. A trilha condutiva do dispositivo era do tipo grafeno decorado com nanopartículas de aluminossilicato e de natureza gráfica não grafetizada, ou seja, estrutura carbônica condutiva do tipo grafite, porém não ordenado. Apresentou performance eletroquímica como resistência de transferência eletrônica superiora aos eletrodos impresso de carbono disponível comercialmente e carbono vítreo, a natureza reversiva do ferricianeto foi mantida e o transporte de massa era controlado por difusão como em células eletroquímicas tradicionais.

Os parâmetros de fabricação do PAD foram otimizados e o dispositivo foi caracterizado extensivamente por técnicas diversas e a aplicação foi demonstrada como prova de conceito, a minha contribuição foi caracterizar o PAD por microscopia de varredura eletrônica e de transmissão e registrar espectros de raio-X por dispersão em energia e Raman.

6.2 Colaboração 2

Gold leaf: From gilding to the fabrication of disposable, wearable and low-cost electrodes

Mauro Sérgio Ferreira Santos, Wilson Akira Ameku, Ivano Gebhardt Rolf Gutz*,
Thiago Regis Longo Cesar Paixão*

Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, 05508-000 São Paulo, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Low-cost gold sensor
Wearable sensor
Wearable chemical-sensing material

ABSTRACT

Gold is among the most used materials in electrocatalysis. Despite this, this noble metal is still too expensive to be used in the fabrication of low cost and disposable devices. In the present work, gold-leaf sheets, usually employed in decorative crafts and wedding candies, is introduced as an inexpensive source of gold. Planar-disc and nanoband gold electrodes were simply and easily manufactured by combining gold leaf and polyimide tape. The planar disc electrode exhibited electrochemical behavior similar to that of a commercial gold electrode in

Desenvolvemos um eletrodo flexível e descartável de baixo custo utilizando fita kapton (poliimida) e folha de Au, disponível comercialmente e usado em artesanato e doces de casamento. O dispositivo apresentou resistência mecânica a deformação podendo ser utilizado em superfícies não planar, fácil renovação de superfície simplesmente cortando com lâmina de barbear, o ferricianeto comportou de forma quasi-reversível e o transporte de massa era controlado por difusão. A folha de Au apresenta dimensões macro e sub-micrométrica, por isso pudemos observar comportamento de macro e ultramicroeletrodo.

O dispositivo foi fabricado e caracterizado e minha contribuição foi registrar microscopia de varredura eletrônica.

6.3 Colaboração 3

Entrevista:

Título: Bolsista CAPES Cria Papel para Ajudar na Luta Antidroga concedida para CAPES.

QR Code para acessar ao vídeo da CAPES.

7. REFERÊNCIAS

- (1) WHO. Novel Coronavirus (2019-NCoV) Situation Report - 52. *WHO Bull.* **2020**, 12 MARCH 20202.
- (2) Wang; Li, Z.; Yi, Y.; Luo, X.; Xiong, N.; Liu, Y.; Li, S.; Sun, R.; Wang, Y.; Hu, B.; Chen, W.; Zhang, Y.; Wang, J.; Huang, B.; Lin, Y.; Yang, J.; Cai, W.; Wang, X.; Cheng, J.; Chen, Z.; Sun, K.; Pan, W.; Zhan, Z.; Chen, L.; Ye, F. Development and Clinical Application of a Rapid IgM-IgG. *J. Med. Virol.* **2020**, 1–7. <https://doi.org/10.1002/jmv.25727>.
- (3) Guo, Y. R.; Cao, Q. D.; Hong, Z. S.; Tan, Y. Y.; Chen, S. D.; Jin, H. J.; Tan, K. Sen; Wang, D. Y.; Yan, Y. The Origin, Transmission and Clinical Therapies on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak- A n Update on the Status. *Mil. Med. Res.* **2020**, 7 (1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>.
- (4) Kampf, G.; Todt, D.; Pfaender, S.; Steinmann, E. Persistence of Coronaviruses on Inanimate Surfaces and Their Inactivation with Biocidal Agents. *J. Hosp. Infect.* **2020**, 104 (3), 246–251. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.022>.
- (5) WHO. Novel Coronavirus (2019-NCoV) Situation Report - 1. *WHO Bull.* **2020**, No. 21 JANUARY 2020, 1–7.
- (6) WHO. Novel Coronavirus (2019-NCoV) Situation Report - 118. *WHO Bull.* **2020**, No. 17 MAY 2020, 1–15.
- (7) Anderson, R. M.; Heesterbeek, H.; Klinkenberg, D.; Hollingsworth, T. D. How Will Country-Based Mitigation Measures Influence the Course of the COVID-19 Epidemic? *Lancet* **2020**, 395 (10228), 931–934. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30567-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30567-5).
- (8) Schneiders, L.; Beraldo, N. Ministério da Saúde <https://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/46848-programa-diagnosticar-para-cuidar-preve-aco-es-de-testagem-em-2020> (accessed May 17, 2020).
- (9) Prado, I. C.; Chino, M. E. T. A.; dos Santos, A. L.; Souza, A. L. A.; Pinho, L. G.; Lemos, E. R. S.; De-Simone, S. G. Development of an Electrochemical Immunosensor for the Diagnostic Testing of Spotted Fever Using Synthetic Peptides. *Biosens. Bioelectron.* **2018**, 100 (August 2017), 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.08.029>.
- (10) Cheng, C.-M.; Martinez, A. W.; Gong, J.; Mace, C. R.; Phillips, S. T.; Carrilho, E.; Mirica, K. A.; Whitesides, G. M. Paper-Based ELISA. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2010**, 49, 4771–4774.
- (11) Oliveira, K. A.; De Oliveira, C. R.; Da Silveira, L. A.; Tomazelli Coltro, W. K.

- Laser-Printing of Toner-Based 96-Microzone Plates for Immunoassays. *Analyst* **2013**, *138* (4), 1114–1121. <https://doi.org/10.1039/c2an36532d>.
- (12) Paschoalino, W. J.; Kogikoski, S.; Barragan, J. T. C.; Giarola, J. F.; Cantelli, L.; Rabelo, T. M.; Pessanha, T. M.; Kubota, L. T. Emerging Considerations for the Future Development of Electrochemical Paper-Based Analytical Devices. *ChemElectroChem*. 2019, pp 10–30. <https://doi.org/10.1002/celec.201800677>.
 - (13) Paixão, T. R. L. C.; Bertotti, M. Fabrication of Disposable Voltammetric Electronic Tongues by Using Prussian Blue Films Electrodeposited onto CD-R Gold Surfaces and Recognition of Milk Adulteration. *Sensors Actuators, B Chem.* **2009**, *137* (1), 266–273. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2008.10.045>.
 - (14) Winquist, F.; Holmin, S.; Krantz-Rülcker, C.; Wide, P.; Lundström, I. A Hybrid Electronic Tongue. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *406* (2), 147–157. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00767-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00767-9).
 - (15) Santos, M. S. F.; Ameku, W. A.; Gutz, I. G. R.; Paixão, T. R. L. C. Gold Leaf: From Gilding to the Fabrication of Disposable, Wearable and Low-Cost Electrodes. *Talanta* **2018**, *179* (October 2017), 507–511. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.11.021>.
 - (16) Ameku, W. A.; de Araujo, W. R.; Rangel, C. J.; Ando, R. A.; Paixão, T. R. L. C. Gold Nanoparticle Paper-Based Dual-Detection Device for Forensics Applications. *ACS Appl. Nano Mater.* **2019**, *2* (9), 5460–5468. <https://doi.org/10.1021/acsanm.9b01057>.
 - (17) Noviana, E.; Henry, C. S. Simultaneous Electrochemical Detection in Paper-Based Analytical Devices. *Curr. Opin. Electrochem.* **2020**, *23*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2020.02.013>.
 - (18) Nery, E. W.; Kubota, L. T. Sensing Approaches on Paper-Based Devices: A Review. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405* (24), 7573–7595. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-6911-4>.
 - (19) de Araujo, W. R.; Frasson, C. M. R.; Ameku, W. A.; Silva, J. R.; Angnes, L.; Paixão, T. R. Single-Step Reagentless Laser Scribing Fabrication of Electrochemical Paper-Based Analytical Devices. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2017**.
 - (20) Ataíde, V. N.; Mendes, L. F.; Gama, L. I. L. M.; De Araujo, W. R.; Paixão, T. R. L. C. Electrochemical Paper-Based Analytical Devices: Ten Years of Development. *Anal. Methods* **2020**, *12* (8), 1030–1054. <https://doi.org/10.1039/c9ay02350j>.
 - (21) Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Butte, M. J.; Whitesides, G. M. Patterned Paper as a Platform for Inexpensive, Low-Volume, Portable Bioassays. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2007**, *46* (8), 1318–1320. <https://doi.org/10.1002/anie.200603817>.
 - (22) Dungchai, W.; Chailapakul, O.; Henry, C. S. Electrochemical Detection for Paper-Based Microfluidics. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 5821–5826.
 - (23) Sameenoi, Y.; Na Nongkai, P.; Nouanthavong, S.; Henry, C. S.; Nacaprich, D. One-Step Polymer Screen-Printing for Microfluidic Paper-Based Analytical Device (MPAD) Fabrication. *Analyst*. 2014, pp 6580–6588. <https://doi.org/10.1039/c4an01624f>.

- (24) Noiphung, J.; Songjaroen, T.; Dungchai, W.; Henry, C. S.; Chailapakul, O.; Laiwattanapaisal, W. Electrochemical Detection of Glucose from Whole Blood Using Paper-Based Microfluidic Devices. *Anal. Chim. Acta* **2013**, 788, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.06.021>.
- (25) Ellerbee, A. K.; Phillips, S. T.; Siegel, A. C.; Mirica, K. A.; Martinez, A. W.; Striehl, P.; Jain, N.; Prentiss, M.; Whitesides, G. M. Quantifying Colorimetric Assays in Paper-Based Microfluidic Devices by Measuring the Transmission of Light through Paper. *Anal. Chem.* **2009**, 81 (20), 8447–8452. <https://doi.org/10.1021/ac901307q>.
- (26) Liu, F.; Zhang, C. A Novel Paper-Based Microfluidic Enhanced Chemiluminescence Biosensor for Facile, Reliable and Highly-Sensitive Gene Detection of *Listeria Monocytogenes*. *Sensors Actuators, B Chem.* **2015**, 209, 399–406. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.099>.
- (27) Costa, M. N.; Veigas, B.; Jacob, J. M.; Santos, D. S.; Gomes, J.; Baptista, P. V.; Martins, R.; Inácio, J.; Fortunato, E. A Low Cost, Safe, Disposable, Rapid and Self-Sustainable Paper-Based Platform for Diagnostic Testing: Lab-on-Paper. *Nanotechnology* **2014**, 25 (9). <https://doi.org/10.1088/0957-4484/25/9/094006>.
- (28) Channon, R. B.; Nguyen, M. P.; Scorzelli, A. G.; Henry, E. M.; Volckens, J.; Dandy, D. S.; Henry, C. S. Rapid Flow in Multilayer Microfluidic Paper-Based Analytical Devices. *Lab Chip* **2018**, 18 (5), 793–802. <https://doi.org/10.1039/c7lc01300k>.
- (29) Liu, C.; Gomez, F. A.; Miao, Y.; Cui, P.; Lee, W. A Colorimetric Assay System for Dopamine Using Microfluidic Paper-Based Analytical Devices. *Talanta* **2019**, 194 (February 2018), 171–176. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.039>.
- (30) Pradela-Filho, L. A.; Noviana, E.; Araújo, D. A. G.; Takeuchi, R. M.; Santos, A. L.; Henry, C. S. Rapid Analysis in Continuous-Flow Electrochemical Paper-Based Analytical Devices. *ACS Sensors* **2020**, 5 (1), 274–281. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b02298>.
- (31) Silva, T. G.; de Araujo, W. R.; Muñoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Santana, M. H. P.; Coltro, W. K. T.; Paixão, T. R. L. C. Simple and Sensitive Paper-Based Device Coupling Electrochemical Sample Pretreatment and Colorimetric Detection. *Anal. Chem.* **2016**, 88, 5145–5151.
- (32) Chiang, C. K.; Kurniawan, A.; Kao, C. Y.; Wang, M. J. Single Step and Mask-Free 3D Wax Printing of Microfluidic Paper-Based Analytical Devices for Glucose and Nitrite Assays. *Talanta* **2019**, 194 (October 2018), 837–845. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.104>.
- (33) Sengupta, J.; Hussain, C. M. Graphene and Its Derivatives for Analytical Lab on Chip Platforms. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2019**, 114, 326–337. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.015>.
- (34) Park, J.; Shin, J. H.; Park, J. K. Pressed Paper-Based Dipstick for Detection of Foodborne Pathogens with Multistep Reactions. *Anal. Chem.* **2016**, 88 (7), 3781–3788. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04743>.
- (35) Santhiago, M.; Strauss, M.; Pereira, M. P.; Chagas, A. S.; Bufon, C. C. B. Direct

- Drawing Method of Graphite onto Paper for High-Performance Flexible Electrochemical Sensors. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, 9 (13), 11959–11966. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b15646>.
- (36) Dias, A. A.; Cardoso, T. M. G.; Chagas, C. L. S.; Oliveira, V. X. G.; Munoz, R. A. A.; Henry, C. S.; Santana, M. H. P.; Paixão, T. R. L. C.; Coltro, W. K. T. Detection of Analgesics and Sedation Drugs in Whiskey Using Electrochemical Paper-Based Analytical Devices. *Electroanalysis* **2018**, 30 (10), 2250–2257. <https://doi.org/10.1002/elan.201800308>.
 - (37) de Araujo, W. R.; Paixão, T. R. L. C. Fabrication of Disposable Electrochemical Devices Using Silver Ink and Office Paper. *Analyst* **2014**, 139, 2742–2747.
 - (38) da Silva, G. O.; de Araujo, W. R.; Paixão, T. R. L. C. Portable and Low-Cost Colorimetric Office Paper-Based Device for Phenacetin Detection in Seized Cocaine Samples. *Talanta* **2018**, 176 (July 2017), 674–678. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.08.082>.
 - (39) de Araujo, W. R.; Cardoso, T. M. G.; da Rocha, R. G.; Santana, M. H. P.; Muñoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Paixão, T. R. L. C.; Coltro, W. K. T. Portable Analytical Platforms for Forensic Chemistry: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2018**, 1034, 1–21.
 - (40) Mettakoonpitak, J.; Boehle, K.; Nantaphol, S.; Teengam, P.; Adkins, J. A.; Srisa-Art, M.; Henry, C. S. Electrochemistry on Paper-Based Analytical Devices: A Review. *Electroanalysis* **2016**, 28, 1420–1436.
 - (41) Cate, D. M.; Adkins, J. A.; Mettakoonpitak, J.; Henry, C. S. Recent Developments in Paper-Based Microfluidic Devices. *Anal. Chem.* **2015**, 87 (1), 19–41. <https://doi.org/10.1021/ac503968p>.
 - (42) Yamada, K.; Shibata, H.; Suzuki, K.; Citterio, D. Toward Practical Application of Paper-Based Microfluidics for Medical Diagnostics: State-of-the-Art and Challenges. *Lab Chip* **2017**, 17 (7), 1206–1249. <https://doi.org/10.1039/c6lc01577h>.
 - (43) Carrell, C.; Kava, A.; Nguyen, M.; Menger, R.; Munshi, Z.; Call, Z.; Nussbaum, M.; Henry, C. Beyond the Lateral Flow Assay: A Review of Paper-Based Microfluidics. *Microelectron. Eng.* **2019**, 206 (November 2018), 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.mee.2018.12.002>.
 - (44) Yetisen, A. K.; Akram, M. S.; Lowe, C. R. Paper-Based Microfluidic Point-of-Care Diagnostic Devices. *Lab Chip* **2013**, 13, 2210–2251.
 - (45) Dincer, C.; Bruch, R.; Costa-Rama, E.; Fernández-Abedul, M. T.; Merkoçi, A.; Manz, A.; Urban, G. A.; Güder, F. Disposable Sensors in Diagnostics, Food, and Environmental Monitoring. *Adv. Mater.* **2019**, 31 (30). <https://doi.org/10.1002/adma.201806739>.
 - (46) United Nation Office on Drug and Crime. *World Drug Report 2019 (United Nations Publication, Sales No. E.19.XI.8)*; Vienna, 2019.
 - (47) Lee, K. C.; Ladizinski, B.; Federman, D. G. Complications Associated with Use of Levamisole-Contaminated Cocaine: An Emerging Public Health Challenge. *Mayo Clin. Proc.* **2012**, 87 (6), 581–586.

<https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2012.03.010>.

- (48) Velho, J. A.; Bruni, A. T.; Andrade, J. F. de. Introdução à Química Forense. In *Fundamentos de Química Forense*; Bruni, A. T., Velho, J. A., Oliveira, M. F. de, Eds.; Millennium: Campinas, 2019; pp 1–14.
- (49) Maldaner, A. O.; Botelho, É. D. Perfil Químico de Drogas de Abuso: O Exemplo Da Cocaína. In *Fundamentos de Química Forense*; Bruni, A. T., Velho, J. A., Oliveira, M. F. de, Eds.; Millennium: Campinas, 2019; pp 33–56.
- (50) Broséus, J.; Baechler, S.; Gentile, N.; Esseiva, P. Chemical Profiling: A Tool to Decipher the Structure and Organisation of Illicit Drug Markets. An 8-Year Study in Western Switzerland. *Forensic Sci. Int.* **2016**, *266*, 18–28.
- (51) Broséus, J.; Gentile, N.; Esseiva, P. The Cutting of Cocaine and Heroin: A Critical Review. *Forensic Sci. Int.* **2016**, *262*, 73–83.
- (52) Maldaner, A. O.; Botelho, É. D.; Zacca, J. J.; Melo, R. C. A.; Costa, J. L.; Zancanaro, I.; Oliveira, C. S. L.; Kasakoff, L. B.; Paixão, T. R. L. C. Chemical Profiling of Street Cocaine from Different Brazilian Regions. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27* (4), 719–726. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150321>.
- (53) Monfreda, M.; Varani, F.; Cattaruzza, F.; Ciambone, S.; Proposito, A. Fast Profiling of Cocaine Seizures by FTIR Spectroscopy and GC-MS Analysis of Minor Alkaloids and Residual Solvents. *Sci. Justice* **2015**, *55* (6), 456–466. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2015.06.002>.
- (54) Moore, J. M.; Casale, J. F.; Klei, R. F. X.; Cooper, D. A. Determination and In-Depth Chromatographic Analyses of Alkaloids in South American and Greenhouse- Cultivated Coca Leaves. *J. Chromatogr. A* **1994**, *659*, 163–175. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- (55) Casale, J. F.; Mallette, J. R. Illicit Coca Grown in Mexico: An Alkaloid and Isotope Profile Unlike Coca Grown in South America. *Forensic Chem.* **2016**, *1*, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2016.05.001>.
- (56) Bruni, A. T.; Velho, J. A.; Oliveira, M. F. de. *Fundamentos de Química Forense*, 2nd ed.; Millennium: Campinas, 2019.
- (57) Lapachinske, S. F.; Okai, G. G.; dos Santos, A.; de Baires, A. V.; Yonamine, M. Analysis of Cocaine and Its Adulterants in Drugs for International Trafficking Seized by the Brazilian Federal Police. *Forensic Sci. Int.* **2015**, *247*, 48–53.
- (58) Evrard, I.; Legleye, S.; Cadet-Taïrou, A. Composition, Purity and Perceived Quality of Street Cocaine in France. *Int. J. Drug Policy* **2010**, *21* (5), 399–406. <https://doi.org/10.1016/j.drugpo.2010.03.004>.
- (59) de Araujo, W. R.; Maldaner, A. O.; Costa, J. L.; Paixão, T. R. L. C. Development of an Electroanalytical Method for the Quantification of Aminopyrine in Seized Cocaine Samples. *Microchem. J.* **2015**, *121*, 213–218.
- (60) Farquharson, S.; Shende, C.; Sengupta, A.; Huang, H.; Inscore, F. Rapid Detection and Identification of Overdose Drugs in Saliva by Surface-Enhanced Raman Scattering Using Fused Gold Colloids. *Pharmaceutics* **2011**, *3* (3), 425–439. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics3030425>.

- (61) SWGDRUG. *Construction of an Analytical Scheme - Supplemental Document SD-7*; 2019.
- (62) Vieira, M. L.; Velho, J. A. Exame Preliminar e Definitivo de Droga de Abuso. In *Fundamentos de Química Forense*; Bruni, A. T., Velho, J. A., Oliveira, M. F. de, Eds.; Millennium: Campinas, 2019; pp 15–32.
- (63) Martinis, B. S. de; Oliveira, M. F. de. *Química Forense Experimental*; Cengage Learning: São Paulo, 2015.
- (64) Tsumura, Y.; Mitome, T.; Kimoto, S. False Positives and False Negatives with a Cocaine-Specific Field Test and Modification of Test Protocol to Reduce False Decision. *Forensic Sci. Int.* **2005**, *155* (2–3), 158–164.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.11.011>.
- (65) Mettakoonpitak, J.; Boehle, K.; Nantaphol, S.; Teengam, P.; Adkins, J. A.; Srisa-Art, M.; Henry, C. S. Electrochemistry on Paper-Based Analytical Devices: A Review. *Electroanalysis* **2016**, *28*, 1420–1436.
- (66) Polavarapu, L.; Porta, A. La; Novikov, S. M.; Coronado-Puchau, M.; Liz-Marzán, L. M. Pen-on-Paper Approach toward the Design of Universal Surface Enhanced Raman Scattering Substrates. *Small* **2014**, *10*, 3065–3071.
- (67) Guntupalli, B.; Liang, P.; Lee, J. H.; Yang, Y.; Yu, H.; Canoura, J.; He, J.; Li, W.; Weizmann, Y.; Xiao, Y. Ambient Filtration Method to Rapidly Prepare Highly Conductive, Paper-Based Porous Gold Films for Electrochemical Biosensing. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7*, 27049–27058.
- (68) Shiroma, L. Y.; Santhiago, M.; Gobbi, A. L.; Kubota, L. T. Separation and Electrochemical Detection of Paracetamol and 4-Aminophenol in a Paper-Based Microfluidic Device. *Anal. Chim. Acta* **2012**, *725*, 44–50.
- (69) Hu, C.; Bai, X.; Wang, Y.; Jin, W.; Zhang, X.; Hu, S. Inkjet Printing of Nanoporous Gold Electrode Arrays on Cellulose Membranes for High-Sensitive Paper-like Electrochemical Oxygen Sensors Using Ionic Liquid Electrolytes. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 3745–3750.
- (70) Määttänen, A.; Ihalainen, P.; Pulkkinen, P.; Wang, S.; Tenhu, H. J.; Peltonen, J. Inkjet-Printed Gold Electrodes on Paper - Characterisation and Functionalisation. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2012**, *4*, 955–964.
- (71) Villa, J. E. L.; Poppi, R. J. A Portable SERS Method for the Determination of Uric Acid Using a Paper-Based Substrate and Multivariate Curve Resolution. *Analyst* **2016**, *141*, 1966–1972.
- (72) Lee, C. H.; Tian, L.; Singamaneni, S. Paper-Based SERS Swab for Rapid Trace Detection on Real-World Surfaces. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2010**, *2*, 3429–3435.
- (73) www.unodc.org/unodc/en/drug-trafficking/index.html, visited in 02/18/2018. United Nations Office on Drugs and Crime World Drug Report.
- (74) Pereira De Oliveira, L.; Rocha, D. P.; Reis De Araujo, W.; Abarza Muñoz, R. A.; Longo Cesar Paixão, T. R.; Oliveira Salles, M. Forensics in Hand: New Trends in Forensic Devices (2013–2017). *Anal. Methods* **2018**, *10*, 5135–5163.

- (75) Zacca, J. J.; Botelho, É. D.; Vieira, M. L.; Almeida, F. L. A.; Ferreira, L. S.; Maldaner, A. O. Brazilian Federal Police Drug Chemical Profiling - The PeQui Project. *Sci. Justice* **2014**, *54* (4), 300–306.
- (76) Wu, K.; Wang, H.; Chen, F.; Hu, S. Electrochemistry and Voltammetry of Procaine Using a Carbon Nanotube Film Coated Electrode. *Bioelectrochemistry* **2006**, *68*, 144–149.
- (77) Salles, M. O.; Araujo, W. R.; Paixão, T. R. L. C. Development of a Molecularly Imprinted Modified Electrode to Evaluate Phenacetin Based on the Preconcentration of Acetaminophen. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27*, 54–61.
- (78) Freitas, J. M.; Ramos, D. L. O.; Sousa, R. M. F.; Paixão, T. R. L. C.; Santana, M. H. P.; Muñoz, R. A. A.; Richter, E. M. A Portable Electrochemical Method for Cocaine Quantification and Rapid Screening of Common Adulterants in Seized Samples. *Sensors Actuators, B Chem.* **2017**, *243*, 557–565.
- (79) De Oliveira Penido, C. A. F.; Pacheco, M. T. T.; Lednev, I. K.; Silveira, L. Raman Spectroscopy in Forensic Analysis: Identification of Cocaine and Other Illegal Drugs of Abuse. *J. Raman Spectrosc.* **2016**, *47*, 28–38.
- (80) D'Elia, V.; Montalvo, G.; Ruiz, C. G. Analysis of Street Cocaine Samples in Nasal Fluid by Raman Spectroscopy. *Talanta* **2016**, *154*, 367–373.
- (81) Lombardi, J. R.; Birke, R. L. Single Molecule SERS Spectral Blinking and Vibronic Coupling. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 4540–4545.
- (82) Kimling, J.; Maier, M.; Okenve, B.; Kotaidis, V.; Ballot, H.; Plech, A. Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110* (95 mL), 15700–15707. <https://doi.org/10.1021/jp061667w>.
- (83) Turkevich, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J. A Study of the Nucleation and Growth Processes in the Synthesis of Colloidal Gold. *Discuss. Faraday Soc.* **1951**, *11*, 55–75.
- (84) Liu, X.; Atwater, M.; Wang, J.; Huo, Q. Extinction Coefficient of Gold Nanoparticles with Different Sizes and Different Capping Ligands. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2007**, *58*, 3–7.
- (85) Burke, L. D.; Nugent, P. F. The Electrochemistry of Gold: I The Redox Behaviour of the Metal in Aqueous Media. *Gold Bull.* **1997**, *30*, 43–53.
- (86) Jeanmaire, D. L.; Van Duyne, R. P. Surface Raman Spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, Aromatic, and Aliphatic Amines Adsorbed on the Anodized Silver Electrode. *J. Electroanal. Chem.* **1977**, *84* (1), 1–20. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(77\)80224-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(77)80224-6).
- (87) Tobjörk, D.; Aarnio, H.; Pulkkinen, P.; Bollström, R.; Määttänen, A.; Ihalainen, P.; Mäkelä, T.; Peltonen, J.; Toivakka, M.; Tenhu, H.; Österbacka, R. IR-Sintering of Ink-Jet Printed Metal-Nanoparticles on Paper. *Thin Solid Films* **2012**, *520*, 2949–2955.
- (88) Hamelin, A. Cyclic Voltammetry at Gold Single-Crystal Surfaces. Part 1. Behaviour at Low-Index Faces. *J. Electroanal. Chem.* **1996**, *407*, 1–11.
- (89) Kwon, K.; Lee, K. Y.; Lee, Y. W.; Kim, M.; Heo, J.; Ahn, S. J.; Han, S. W.

- Controlled Synthesis of Icosahedral Gold Nanoparticles and Their Surface-Enhanced Raman Scattering Property. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 1161–1165.
- (90) Kim, F.; Connor, S.; Song, H.; Kuykendall, T.; Yang, P. Platonic Gold Nanocrystals. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2004**, *43*, 3673–3677.
- (91) Rauchfuss, T. B. *Progress in Inorganic Chemistry*, 1st ed.; Lippard, S. J., Ed.; John Wiley and Sons. Inc., 2007.
- (92) Fang, Y.; Seong, N.-H.; Dlott, D. D. Measurement of the Distribution of Site Enhancements in Surface-Enhanced Raman Scattering. *Science (80-.)*. **2008**, *321* (July), 388–392.
- (93) Kupka, T.; Wrzalik, R.; Pasterna, G.; Pasterny, K. Theoretical DFT and Experimental Raman and NMR Studies on Thiophene, 3-Methylthiophene and Selenophene. *J. Mol. Struct.* **2002**, *616*, 17–32.
- (94) Hoogvliet, J.; Dijkma, M.; Kamp, B.; van Bennekom WP. Electrochemical Pretreatment of Polycrystalline Gold Electrodes to Produce a Reproducible Surface Roughness for Self-Assembly: A Study in Phosphate Buffer PH 7.4. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 2016–2021.
- (95) Asiala, S. M.; Schultz, Z. D. Characterization of Hotspots in a Highly Enhancing SERS Substrate. *Analyst* **2011**, *136*, 4472–4479.
- (96) Yu, W. W.; White, I. M. Inkjet Printed Surface Enhanced Raman Spectroscopy Array on Cellulose Paper. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 9626–9630.
- (97) Buffat, P.; Borel, J. P. Size Effect on the Melting Temperature of Gold Particles. *Phys. Rev. A* **1976**, *13*, 2287–2298.
- (98) Jeykumari, D. R. S.; Narayanan, S. S. Functionalized Carbon Nanotube-Bienzyme Biocomposite for Amperometric Sensing. *Carbon N. Y.* **2009**, *47*, 957–966.
- (99) Jurczakowski, R.; Hitz, C.; Lasia, A. Impedance of Porous Au Based Electrodes. *J. Electroanal. Chem.* **2004**, *572*, 355–366.
- (100) Meng, J.; Tang, X.; Zhou, B.; Xie, Q.; Yang, L. Designing of Ordered Two-Dimensional Gold Nanoparticles Film for Cocaine Detection in Human Urine Using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Talanta* **2017**, *164*, 693–699.
- (101) Schneider, S.; Meys, F. Analysis of Illicit Cocaine and Heroin Samples Seized in Luxembourg from 2005-2010. *Forensic Sci. Int.* **2011**, *212*, 242–246.
- (102) Terrettaz-Zufferey, A. L.; Ratle, F.; Ribaux, O.; Esseiva, P.; Kanevski, M. Pattern Detection in Forensic Case Data Using Graph Theory: Application to Heroin Cutting Agents. *Forensic Sci. Int.* **2007**, *167*, 242–246.
- (103) Nematollahi, D.; Shayani-Jam, H.; Alimoradi, M.; Niroomand, S. Electrochemical Oxidation of Acetaminophen in Aqueous Solutions: Kinetic Evaluation of Hydrolysis, Hydroxylation and Dimerization Processes. *Electrochim. Acta* **2009**, *54*, 7407–7415.
- (104) Spătaru, N.; Sarada, B. V.; Tryk, D. A.; Fujishima, A. Anodic Voltammetry of Xanthine, Theophylline, Theobromine and Caffeine at Conductive Diamond Electrodes and Its Analytical Application. *Electroanalysis* **2002**, *14*, 721–728.

- (105) Hamelin, A.; Martins, A. M. Cyclic Voltammetry at Gold Single-Crystal Surfaces. Part 2. Behaviour at High-Index Faces. *J. Electroanal. Chem.* **1996**, *407*, 1–11.
- (106) da Silva, A. F.; Grobério, T. S.; Zacca, J. J.; Maldaner, A. O.; Braga, J. W. B. Cocaine and Adulterants Analysis in Seized Drug Samples by Infrared Spectroscopy and MCR-ALS. *Forensic Sci. Int.* **2018**, *290*, 169–177.
- (107) Rattanarat, P.; Dungchai, W.; Cate, D.; Volckens, J.; Chailapakul, O.; Henry, C. S. Multilayer Paper-Based Device for Colorimetric and Electrochemical Quantification of Metals. *Anal. Chem.* **2014**, *86* (7), 3555–3562. <https://doi.org/10.1021/ac5000224>.
- (108) Carrilho, E.; Martinez, A. W.; Whitesides, G. M. Understanding Wax Printing: A Simple Micropatterning Process for Paper-Based Microfluidics. *Anal. Chem.* **2009**, *81* (16), 7091–7095. <https://doi.org/10.1021/ac901071p>.
- (109) Rattanarat, P.; Dungchai, W.; Cate, D.; Volckens, J.; Chailapakul, O.; Henry, C. S. Multilayer Paper-Based Device for Colorimetric and Electrochemical Quantification of Metals. *Anal. Chem.* **2014**, *86* (7), 3555–3562. <https://doi.org/10.1021/ac5000224>.
- (110) Salles, M. O.; Meloni, G. N.; De Araujo, W. R.; Paixão, T. R. L. C. Explosive Colorimetric Discrimination Using a Smartphone, Paper Device and Chemometrical Approach. *Anal. Methods* **2014**, *6* (7), 2047–2052. <https://doi.org/10.1039/c3ay41727a>.
- (111) Ferreira, M. M. C. *Quimiometria - Conceitos, Métodos e Aplicações*; UNICAMP, E., Ed.; Campinas, 2015.
- (112) Huang, C. J.; Chiu, P. H.; Wang, Y. H.; Yang, C. F. Synthesis of the Gold Nanodumbbells by Electrochemical Method. *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, *303* (2), 430–436. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.07.073>.
- (113) Lan, W. J.; Maxwell, E. J.; Parolo, C.; Bwambok, D. K.; Subramaniam, A. B.; Whitesides, G. M. Paper-Based Electroanalytical Devices with an Integrated, Stable Reference Electrode. *Lab Chip* **2013**, *13* (20), 4103–4108. <https://doi.org/10.1039/c3lc50771h>.
- (114) Vidal-Iglesias, F. J.; Solla-Gullón, J.; Rodes, A.; Herrero, E.; Aldaz, A. Understanding the Nernst Equation and Other Electrochemical Concepts: An Easy Experimental Approach for Students. *J. Chem. Educ.* **2012**, *89* (7), 936–939. <https://doi.org/10.1021/ed2007179>.
- (115) David, I. G.; Popa, D.; Buleandra, M. Pencil Graphite Electrodes : A Versatile Tool in Electroanalysis. *J. Anal. Methods Chem.* **2017**, *2017* (Cv).
- (116) Sukeri, A.; Bertotti, M. Electrodeposited Honeycomb-like Dendritic Porous Gold Surface: An Efficient Platform for Enzyme-Free Hydrogen Peroxide Sensor at Low Overpotential. *J. Electroanal. Chem.* **2017**, *805* (July), 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.10.004>.
- (117) Kumar, A.; Gonçalves, J. M.; Selva, J. S. G.; Araki, K. Correlating Selective Electrocatalysis of Dopamine and Ascorbic Acid Electrooxidation at Nanoporous Gold Surfaces with Structural-Defects. **2019**, *166* (14), 704–711.

<https://doi.org/10.1149/2.0821914jes>.

- (118) Gonçalves, J. M.; Bertotti, M.; Kumar, A.; Sukeri, A.; Araki, K. Correlating Surface Growth of Nanoporous Gold with Electrodeposition Parameters to Optimize Amperometric Sensing of Nitrite. *Sensors Actuators B Chem.* **2018**, *263*, 237–247. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.02.125>.
- (119) Kumar, A.; Furtado, V. L.; Gonçalves, J. M.; Bannitz-Fernandes, R.; Netto, L. E. S.; Araki, K.; Bertotti, M. Amperometric Microsensor Based on Nanoporous Gold for Ascorbic Acid Detection in Highly Acidic Biological Extracts. *Anal. Chim. Acta* **2020**, *1095*, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.10.022>.
- (120) Liu, H. C.; Tsai, C. C.; Wang, G. J. Glucose Biosensors Based on a Gold Nanodendrite Modified Screen-Printed Electrode. *Nanotechnology* **2013**, *24* (21). <https://doi.org/10.1088/0957-4484/24/21/215101>.
- (121) Sukeri, A.; Bertotti, M. Nanoporous Gold Surface: An Efficient Platform for Hydrogen Evolution Reaction at Very Low Overpotential. *J. Braz. Chem. Soc.* **2018**, *29* (2), 226–231. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170132>.
- (122) Wittstock, A.; Biener, J.; Bäumer, M. Nanoporous Gold: A New Material for Catalytic and Sensor Applications. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12* (40), 12919. <https://doi.org/10.1039/c0cp00757a>.
- (123) Bacil, R. P.; Buoro, R. M.; Campos, O. S.; Ramos, M. A.; Sanz, C. G.; Serrano, S. H. P. Electrochemical Behaviour of Dipyrone (Metamizole) and Others Pyrazolones. *Electrochim. Acta* **2018**, *273*, 358–366. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.04.082>.
- (124) Vieira, M. L.; Velho, J. A. Exame Preliminar e Definitivo Em Drogas de Abuso (Figura 3). In *Fundamentos de Química Forense*; Bruni, A. T., Velho, J. A., Oliveira, M. F. de, Eds.; Millennium Editora: Campinas, 2019; p 24.
- (125) Conceição, V. N.; Souza, L. M.; Merlo, B. B.; Filgueiras, P. R.; Poppi, R. J.; Romão, W. Estudo Do Teste de Scott via Técnicas Espectroscópicas: Um Método Alternativo Para Diferenciar Cloridrato de Cocaína e Seus Adulterantes. *Quim. Nova* **2014**, *37* (9), 1538–1544. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140240>.
- (126) Ferreira, C. I. PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS PP/GRAFITE ESFOLIADO, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, 2012. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- (127) Philip, D. Green Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles Using Hibiscus Rosa Sinensis. *Phys. E Low-Dimensional Syst. Nanostructures* **2010**, *42* (5), 1417–1424. <https://doi.org/10.1016/j.physe.2009.11.081>.
- (128) Tang, L.; Lv, J.; Kong, C.; Yang, Z.; Li, J. Facet-Dependent Nonenzymatic Glucose Sensing Properties of Cu₂O Cubes and Octahedra. *New J. Chem.* **2016**, *40* (8), 6573–6576. <https://doi.org/10.1039/c6nj00450d>.
- (129) Drbohlavova, J.; Kynclová, H.; Hrdý, R.; Přikrylová, K.; Svatoš, V.; Hubálek, J. Gold Nanostructured Surface for Electrochemical Sensing and Biosensing: Does Shape Matter? *Anal. Lett.* **2016**, *49* (1), 135–151.

<https://doi.org/10.1080/00032719.2015.1043662>.

- (130) Pastríán, F. A. C.; Da Silva, A. G. M.; Dourado, A. H. B.; De Lima Batista, A. P.; De Oliveira-Filho, A. G. S.; Quiroz, J.; De Oliveira, D. C.; Camargo, P. H. C.; Córdoba De Torresi, S. I. Why Could the Nature of Surface Facets Lead to Differences in the Activity and Stability of Cu₂O-Based Electrocatalytic Sensors? *ACS Catal.* **2018**, *8* (7), 6265–6272. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b00726>.
- (131) Adzic, R. R.; Hsiao, M. W.; Yeager, E. B. “Electrochemical Oxidation of Glucose on Single Crystal Gold Surfaces.” *Electrochim. Acta* **1989**, *260*, 475–485.
- (132) Voiry, D.; Chhowalla, M.; Gogotsi, Y.; Kotov, N. A.; Li, Y.; Penner, R. M.; Schaak, R. E.; Weiss, P. S. Best Practices for Reporting Electrocatalytic Performance of Nanomaterials. *ACS Nano* **2018**, *12* (10), 9635–9638. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b07700>.
- (133) Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, Second.; John Wiley & Sons: New York, 2001; Vol. 2. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00056-9>.
- (134) Apilux, A.; Dungchai, W.; Siangproh, W.; Praphairaksit, N.; Henry, C. S.; Chailapakul, O. Lab-on-Paper with Dual Electrochemical/ Colorimetric Detection for Simultaneous Determination of Gold and Iron. *Anal. Chem.* **2010**, *82* (5), 1727–1732. <https://doi.org/10.1021/ac9022555>.
- (135) Nery, E. W.; Kundys, M.; Jeleń, P. S.; Jönsson-Niedziółka, M. Electrochemical Glucose Sensing: Is There Still Room for Improvement? *Anal. Chem.* **2016**, *88* (23), 11271–11282. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b03151>.
- (136) Runo, J. R.; Peters, D. G. Climbing a Potential Ladder to Understanding Concepts in Electrochemistry. *J. Chem. Educ.* **1993**, *70* (9), 708–713. <https://doi.org/10.1021/ed070p708>.
- (137) Nikoobakht, B.; El-Sayed, M. A. Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed-Mediated Growth Method. *Chem. Mater.* **2003**, *15* (10), 1957–1962. <https://doi.org/10.1021/cm020732l>.
- (138) Jana, N. R.; Gearheart, L.; Murphy, C. J. Evidence for Seed-Mediated Nucleation in the Chemical Reduction of Gold Salts to Gold Nanoparticles. *Chem. Mater.* **2001**, *13* (7), 2313–2322. <https://doi.org/10.1021/cm000662n>.
- (139) Vianna, P. G.; Grasseschi, D.; Costa, G. K. B.; Carvalho, I. C. S.; Domingues, S. H.; Fontana, J.; De Matos, C. J. S. Graphene Oxide/Gold Nanorod Nanocomposite for Stable Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *ACS Photonics* **2016**, *3* (6), 1027–1035. <https://doi.org/10.1021/acsp Photonics.6b00109>.
- (140) Ha, T. H.; Koo, H.; Chung, B. H. Shape Controlled Syntheses of Gold Nanoprism and Nanorod Influenced by Specific Adsorption of Halide Ions. *Bioscience* **2007**, *111* (3), 1–8. <https://doi.org/10.1021/jp066454l>.
- (141) Pérez-Juste, J.; Pastoriza-Santos, I.; Liz-Marzán, L. M.; Mulvaney, P. Gold Nanorods: Synthesis, Characterization and Applications. *Coord. Chem. Rev.*

- 2005**, 249 (17-18 SPEC. ISS.), 1870–1901.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.01.030>.
- (142) El-sayed, M. a. Some Interesting Properties of Metals Confined in Time and Nanometer Space of Different Shapes. *Acc. Chem. Res.* **2001**, 34 (4), 4–6.
<https://doi.org/10.1021/ar960016n>.
- (143) Zheng, Y.; Tao, J.; Liu, H.; Zeng, J.; Yu, T.; Ma, Y.; Moran, C.; Wu, L.; Zhu, Y.; Liu, J.; Xia, Y. Facile Synthesis of Gold Nanorice Enclosed by High-Index Facets and Its Application for CO Oxidation. *Small* **2011**, 7 (16), 2307–2312.
<https://doi.org/10.1002/sml.201100106>.
- (144) Sun, Y.; Xia, Y. Shape-Controlled Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles 10.1126/Science.1077229. *Science* (80-.). **2002**, 298 (5601), 2176–2179.
- (145) Pérez-Juste, J.; Liz-Marzán, L. M.; Carnie, S.; Chan, D. Y. C.; Mulvaney, P. Electric-Field-Directed Growth of Gold Nanorods in Aqueous Surfactant Solutions. *Adv. Funct. Mater.* **2004**, 14 (6), 571–579.
<https://doi.org/10.1002/adfm.200305068>.
- (146) Okitsu, K.; Sharyo, K.; Nishimura, R. One-Pot Synthesis of Gold Nanorods by Ultrasonic Irradiation: The Effect of PH on the Shape of the Gold Nanorods and Nanoparticles. *Langmuir* **2009**, 25 (14), 7786–7790.
<https://doi.org/10.1021/la9017739>.

8. SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Wilson Akira Ameku (ORCID: 0000-0002-5850-2033)

Data e local de nascimento: 28/07/1988, São Paulo - SP

EDUCAÇÃO

Ensino Médio: E. E. Prof. João Dias da Silveira, São Paulo - SP

Ensino Superior: Bacharelado em Química, Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014

Especialização: Perícia Criminal e Ciências Forenses, IPOG, São Paulo, 2020

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2016 – Mini Curso: Assimilando a química forense: falta muito? – 18º Encontro Nacional de Química Analítica, Florianópolis.

2018 – 1ª Escola de Inverno de Ciências Forenses, UFRGS, Porto Alegre.

MONITORIA

QFL 1212 – Química Analítica II, 2016

OCUPAÇÃO

Bolsista de Doutorado Direto, CAPES (3359/2014, Pró- Forenses, Edital 25/2014), 2015 – 2019.

PUBLICAÇÕES

Artigos Científicos:

1. de Araujo W.R., Frasson C.M.R., Ameku W.A., Silva J.R., Angnes L., Paixão T.R.L.C. Single-step reagentless laser scribbling fabrication of electrochemical paper-based analytical devices. *Angewandte chemie*, 2017, 56 (47), 15113.
2. Santos M.S.F., Ameku W.A., Gutz I.G.R., Paixão T.R.L.C. Gold leaf: From gilding to the fabrication of disposable, wearable and low-cost electrodes. *Talanta*, 2018, 179, 507
3. Ameku W.A., de Araujo W.R., Rangel C.J., Ando R.A., Paixão T.R.L.C. Gold Nanoparticle Paper-Based Dual-Detection Device for Forensics Applications. *ACS Applied Nano Materials* 2019, 2, 9, 5460
4. Ameku W.A., Gonçalves J.M., Ataíde V.N., Santos M.S.F., Gutz I.G.R., Araki K., Paixão T.R.L.C. Hyphenated colorimetric and electrochemical paper-based device for qualitative chemometric analysis of seized cocaine samples, 2020, Submetido.

Resumos Publicados em Anais de Congressos:

1. Ameku W. A., de Araujo W. R., Paixão T.R.L.C. Fabricação de Dispositivos Eletroquímicos Portáteis Utilizando Nanopartículas de Ouro e Cobre Suportados em Plataformas de Papel Visando Aplicações Analíticas. In: 18° Encontro Nacional de Química Analítica, 2016, Florianópolis.
2. Ameku W. A., de Araujo W. R., Rangel C. J., Ando R. A., Paixão T.R.L.C. A Facile Drop-Casting Method Using Gold Nanoparticles Suspension to Paper-Based Devices for Electrochemical and SERS Sensing. In: I Encontro de Eletroquímica e Eletroanalítica IQ-USP, 2017, São Paulo
3. Ameku W. A., de Araujo W. R., Rangel C. J., Ando R. A., Paixão T.R.L.C. Paper-based Devices for Electrochemical and SERS Sensing. In: 46th World Chemistry Congress, 40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química e IUPAC 49th General Assembly, 2017, São Paulo – Apresentação Oral
4. Ameku W. A., de Araujo W. R., Paixão T.R.L.C. Desenvolvimento de método eletroquímico usando dispositivo analítico em papel para detecção de aminopirina em amostras de cocaína apreendidas. In: XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2017, Natal.
5. Ameku W. A., Ataide V. N., de Araujo W. R., Paixão T.R.L.C. Enzymeless rGO/AuNPs Electrochemical Paper-based Analytical Devices for Glucose Sensing. In: Pittcon Conference and Expo, 2018, Orlando.
6. Ameku W. A., Santos M. S. F., Gutz I. G. R., Paixão T.R.L.C. Gold Leaf: From Gilding to the Fabrication of AuNP-modified Electrochemical Sensor. In: 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2018, Foz do Iguaçu.
7. Ameku W. A., Moreira R. V., Faria D. L. A., Paixão T.R.L.C. Utilização de Imageamento Raman Assistida por Método Quimiométrico Multivariado (MCR-ALS) Visando à Detecção de Cocaína em Amostras Apreendidas. In:

InterFORENSICS – Conferência Internacional de Ciências Forenses, 2019, São Paulo.