

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS - IQSC

**SENSORES ELETROQUÍMICOS À BASE DE GRAFENO OBTIDOS
PELA INDUÇÃO A LASER DA CELULOSE BACTERIANA**

DESIREE TAMARA SCHEIDT

SÃO CARLOS - SP
2023

DESIREE TAMARA SCHEIDT

**SENSORES ELETROQUÍMICOS À BASE DE GRAFENO OBTIDOS
PELA INDUÇÃO A LASER DA CELULOSE BACTERIANA**

Defesa de doutorado, apresentado à Universidade de São Paulo, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Química pelo programa de Doutorado do Instituto de Química de São Carlos.

Orientador: Prof. Dr. Emanuel Carrilho

SÃO CARLOS - SP
2023

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.

Assinatura:

Data:

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao Usuário do SBI/IQSC

Scheidt, Desiree Tamara

Sensores eletroquímicos à base de grafeno obtidos pela indução a laser da celulose bacteriana / Desiree Tamara Scheidt. — São Carlos, 2023.
129 f.

Tese (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica) — Instituto de Química de São Carlos / Universidade de São Paulo, 2023.

Orientador: Prof. Dr. Emanuel Carrilho

1. ePAD. 2. Grafeno induzido a laser. 3. Celulose bacteriana. 4. Eletroanálises. I. Título.

Sonia Alves - CRB: 4280/8



Para meu querido pai, cuja dedicação e amor incondicional foram a força motriz por trás de cada passo do meu caminho. Sua vida foi um exemplo de sacrifício e comprometimento, sempre visando a nossa felicidade e êxito. Hoje, ao concluir meu doutorado, reconheço que essa conquista é também um reflexo do seu esforço e apoio inabalável. Meu amor e gratidão por você são eternos.

AGRADECIMENTOS

Em nossa jornada pela vida, o progresso e a realização pessoal são profundamente influenciados pelas pessoas ao nosso redor que oferecem suporte, amor, amizade e nos inspiram a alcançar grandes alturas. Ao refletir sobre minha própria trajetória, sou grata a muitos, mas é essencial começar expressando minha gratidão ao meu pai, Alvaro Ricardo Neiverth Scheidt. Em 2020, ele nos deixou fisicamente, criando uma lacuna imensa em nossos corações e em nosso cotidiano. No entanto, o legado de seu amor e dedicação permanece. Tudo o que conquistei e quem me tornei é um reflexo de seus incansáveis esforços para me proporcionar o melhor. Pai, embora você não esteja mais aqui para compartilhar minhas conquistas, sinto sua presença guiadora e sou eternamente grata por ter tido o privilégio de ser sua filha.

À minha mãe, Nadir dos Santos, que, apesar de ter estudado apenas até o quarto ano do ensino primário, sempre compreendeu a relevância do conhecimento e da informação, expressei minha profunda gratidão. Você é a base e a solidez da minha vida, meu principal apoio. Sua constante presença e encorajamento, mesmo à distância, foram fundamentais para que eu alcançasse o lugar em que me encontro hoje. Estendo meus agradecimentos também às minhas irmãs, Wanessa Fernanda Scheidt e Lizandra Tamiris Scheidt. Vocês foram minhas primeiras e são minhas melhores amigas, agradeço pelo apoio incondicional que sempre me deram.

Longe de minha família de sangue, encontrei o valor inestimável de construir novos laços, formando uma família do coração. Entre essas pessoas especiais está Danilo Amaral de Oliveira, meu namorado e parceiro de vida. Sou imensamente grata pela paciência, apoio e amor que ele me oferece diariamente, reforçando minha crença em minhas próprias capacidades e potencial. Além disso, quero expressar minha gratidão ao grupo de pesquisa BioMicS. O incentivo, as sugestões, a amizade e os momentos compartilhados de desabafos foram cruciais em minha jornada. Um agradecimento especial a Amanda Maciel Lima, Larissa Meneghin, Elsa Materón e Wenderson Andrey Sousa Lira, por estarem comigo a cada passo, tanto dentro quanto fora do laboratório. Sua presença e apoio foram essenciais em cada etapa deste caminho.

Expressei um agradecimento especialmente sincero ao meu orientador, Professor Dr. Emanuel Carrilho, pela chance inestimável de integrar o grupo de pesquisa BioMicS. Sua orientação, ensinamentos, compreensão e confiança foram pilares fundamentais no meu desenvolvimento profissional e pessoal. Também sou profundamente grata ao Professor Dr.

Hernane da Silva Barud, por ter me acolhido em seu laboratório na Uniara, em Araraquara, e por compartilhar seu vasto conhecimento comigo.

Além disso, gostaria de reconhecer e agradecer ao Instituto de Química de São Carlos pela excelente infraestrutura disponibilizada, que foi crucial para o avanço das minhas pesquisas. Um agradecimento especial também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro através da bolsa concedida, que possibilitou a continuidade e o sucesso dos meus estudos e pesquisas.

RESUMO

Scheidt, Desiree Tamara. **Sensores Eletroquímicos à base de Grafeno obtidos pela Indução a Laser da Celulose Bacteriana.** São Carlos, 2023.

A eletroquímica, aliada a plataformas sustentáveis como papel e celulose bacteriana, viabiliza dispositivos portáteis, econômicos e de fácil operação. Entretanto, as abordagens convencionais para desenvolver dispositivos analíticos eletroquímicos baseados em papel frequentemente se mostram complexas, com baixa reprodutibilidade e dificuldades de escalonamento. Propomos aqui uma metodologia inovadora, prática e de uma única etapa para a geração de grafeno induzido por laser em superfícies de celulose bacteriana. Esta técnica elimina a dependência de reagentes químicos e de condições ambientais específicas para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos. O método de produção, que inclui a aplicação de laser CO₂ e a funcionalização do substrato, foi otimizado. O grafeno obtido foi extensivamente caracterizado, destacando-se por seu elevado grau de grafitização, porosidade e elevada área superficial específica (300 mm²). A técnica de gravação a laser, de forma direta e eficiente, simplifica a fabricação de eletrodos em larga escala, garantindo uma notável consistência dos sinais potenciométricos, com mínima variação entre medições (3,41%) e entre dispositivos (1,09%). A eficácia do sensor recém-desenvolvido foi avaliada para a análise quantitativa do acetaminofeno. Esta avaliação revelou a alta precisão do sensor na determinação desse medicamento, evidenciada pelos limites de detecção e quantificação de 1,65 e 5,00 μmol L⁻¹, respectivamente. Adicionalmente, o sensor demonstrou grande potencial para uso em amostras biológicas, especificamente em urina, com taxas de recuperação do acetaminofeno variando entre 93% e 114%. Esses resultados, aliados à facilidade de acesso aos materiais, à simplicidade dos equipamentos empregados e às notáveis propriedades do material obtido, destacam este método como uma abordagem inovadora e sustentável para a fabricação e aplicação de sensores eletroquímicos baseados em papel.

Palavras-chave: ePAD; Grafeno induzido à laser; Celulose Bacteriana; Eletroanálises

ABSTRACT

Scheidt, Desiree Tamara. **Electrochemical Sensors Based on Graphene Obtained by Laser Induction of Bacterial Cellulose**. São Carlos, 2023.

Electrochemistry, combined with sustainable platforms like paper and bacterial cellulose, enables portable, economical, and user-friendly devices. However, conventional approaches to developing paper-based electrochemical analytical devices often prove complex, poorly reproducible and challenging to scale. We present an innovative, practical, and single-step methodology for the generation of laser-induced graphene on bacterial cellulose surfaces, eliminating chemical reagents and controlled condition needs. The production method, which includes applying of CO₂ laser and substrate functionalization, was optimized. The obtained graphene was extensively characterized, notable for its high degree of graphitization, porosity, and specific surface area (300 mm²). The direct and efficient laser engraving technique simplifies the fabrication of electrodes on a large scale, ensuring remarkable consistency of potentiometric signals, with minimal variation between measurements (3.41%) and between devices (1.09%). The efficacy of the newly developed sensor was evaluated for the quantitative analysis of acetaminophen. This evaluation revealed the sensor's high precision in determining this drug, evidenced by detection and quantification limits of 1.65 and 5.00 μmol L⁻¹, respectively. Additionally, the sensor demonstrated enormous potential for use in biological samples, specifically in urine, with acetaminophen recovery rates ranging from 93% to 114%. These results, coupled with the ease of access to materials, the simplicity of the equipment used, and the remarkable properties of the obtained material, highlight this method as an innovative and sustainable manufacturing and applying paper-based electrochemical sensors.

Keywords: ePAD; Laser induced graphene; Bacterial Cellulose; Electroanalysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática simplificada das unidades básicas de um sensor (seja ele químico ou físico).....	22
Figura 2. Figura representativa de uma célula eletroquímica contendo um eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência e um contra eletrodo	25
Figura 3. Variação do potencial com o tempo em uma voltametria cíclica. E_i representa o potencial inicial, E_f o potencial final.....	27
Figura 4. Representação de uma curva voltamétrica, apresentando os parâmetros obtidos com esta técnica: (I_{PA}) corrente do pico anódico, (I_{PC}) corrente do pico catódico, (E_{PA}) potencial de pico anódico e (E_{PC}) potencial de pico catódico.....	28
Figura 5. Ilustração da técnica de voltametria de onda quadrada, mostrando o sinal do potencial em função do tempo. τ representa o período de pulso; E_{STEP} o passo do potencial; ΔE_P é a amplitude do pulso; E_{sw} diz respeito a amplitude da onda quadrada; ΔI é a corrente resultante.....	30
Figura 6. Espectro de impedância faradaica representada na forma do diagrama de Nyquist, onde Z' , no eixo X, representa impedância real e Z'' , no eixo Y, representa a impedância imaginária.	31
Figura 7. Esquema do processo de síntese de LIG a partir de poliimida	36
Figura 8. Representação esquemática o processo de fabricação de eletrodos em substrato de papel utilizando a técnica de gravação a laser	37
Figura 9. Estrutura química da celulose.	38
Figura 10. Esquema de ilustração da construção do biosensor no substrato de celulose bacteriana.....	39
Figura 11 a) Ativação do meio de cultura HS sólido com a bactéria gram-negativa <i>Komagataeibacter hansenii</i> ; (b) Preparação do meio de cultura HS líquido; (c) Ativação do meio de cultura líquido e preparo do pré-inóculo; (d) Preparo do inóculo, obtenção e purificação da celulose bacteriana.....	46
Figura 12 Processo para aumento da gramatura dos filmes finos de CB: (a) Corte do filme de CB em pequenos pedaços - aproximadamente 5 - 10 mm); (b) Adição de 1000 mL de água purificada e posterior trituração para formação do hidrogel; (c) Filtragem à vácuo para retirada do excesso de água adicionado; (d) Etapa de moldagem do filme utilizando o suporte de acrílico e subsequente prensagem na prensa manual, à fim de compactar o bolo úmido de CB; Em	

seguida, (e) o molde é fechado com o auxílio de parafusos e a CB é levada para secagem por 24 h em uma estufa; (f) Obtenção do filme de CB de alta gramatura.48

Figura 13 Modificação dos filmes de celulose bacteriana por meio do processo de sonificação com (a) ácido cítrico em três diferentes concentrações (0,03; 0,15 e 0,3 mol L⁻¹); (b) Citrato de sódio em três diferentes concentrações (0,03; 0,15 e 0,3 mol L⁻¹);(c) Cloreto de sódio em três diferentes concentrações (0,03; 0,15 e 0,3 mol L⁻¹).....49

Figura 14 Representação esquemática do processo de fabricação dos dispositivos eletroquímicos: (a) filme de BC após o aumento da gramatura; (b) etapa de impermeabilização com spray impermeabilizante; (c) gravação a laser dos eletrodos; (d) dimensionamento do eletrodo e sua etapa de padronização (delimitação da área usando esmalte, além da pintura dos contatos elétricos com tinta de prata; (e) Imagem de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução da área carbonácea/condutora.51

Figura 15. (a) Pré-tratamento eletroquímico com ácido sulfúrico (0,5 mol L⁻¹) aplicando a técnica de voltametria cíclica (b) voltamograma obtido quando aplica-se a sonda eletroquímica de ferricianeto de potássio/ ferrocianeto de potássio diluída em KCl 0,5 mol L⁻¹ e um potencial de -0,5 a +0,5 V55

Figura 16. Microscopia eletrônica de transmissão apresentando bactéria de *K. hansenii* produzindo microfibras de celulose.57

Figura 17. Fotografias das membranas de CB produzidas em cultura estática, utilizando-se o meio de cultura ágar Hestrin e Schramm (HS) e a bactéria *gram-negativa Komagataeibacter hansenii* (A) antes de passar pelo processo de purificação (solução aquosa de NaOH 1 mol L⁻¹ a 80 °C por 40 min) para retirada do meio de cultura e irradiação da bactéria e (B) após o processo de purificação.58

Figura 18. Fotografias das membranas de CB após secagem (B.O.D a 28 °C), sendo a fotografia (a) de uma amostra produzida em erlenmeyer e, portanto, apresenta um formato arredondado e (b) produzidas em recipientes (como bandejas de vidro) retangulares.....59

Figura 19. Testes para formação de caminhos condutores via indução à laser no filme de celulose bacteriana pura, de alta gramatura (750 g m²), aplicando a cortadora a laser de CO₂ nos parâmetros: (a) potência 12%, velocidade 10 mm s⁻¹ e distância entre o substrato e o bico do laser de 11 mm (b) potência 12%, velocidade 15 mm s⁻¹ e distância entre o substrato e a ponta do laser de 11 mm..... 60

Figura 20. Testes na cortadora a laser com os filmes de celulose bacteriana modificados com (a) de cloreto de sódio; (b) Citrato de sódio e (c) ácido cítrico, fixando-se a potência do laser

em 12%, a distância entre o substrato e o laser de 11 mm e variando-se a velocidade do laser entre 60 e 5 mm s ⁻¹	62
Figura 21. MEV-FEG e EDS correspondentes aos <i>nanopaper</i> de celulose bacteriana (a) puro (b) modificado com citrato de sódio (c) modificado com cloreto de sódio.....	65
Figura 22. MEV-FEG correspondentes ao <i>nanopaper</i> de celulose bacteriana, modificado com citrato de sódio, após ser exposto ao laser de CO ₂ na condição ótima de: potência 12%, distância entre o substrato e o laser de 11 mm e velocidade do laser de 5 mm s ⁻¹ . As imagens são aproximadas 1.000×, (b) 10.000×, (c) 25.000×, (d) 50.000×. A figura (e) corresponde ao espectro EDS do <i>nanopaper</i> de celulose bacteriana modificado com citrato de sódio obtido nas mesmas condições de queima.....	66
Figura 23. MEV-FEG correspondentes ao <i>nanopaper</i> de celulose bacteriana, modificado com cloreto de sódio, após ser exposto ao laser de CO ₂ na condição ótima de: potência 12%, distância entre o substrato e o laser de 11 mm e velocidade do laser de 5 mm s ⁻¹ . As imagens são aproximadas 1.000×, (b) 10.000×, (c) 25.000×, (d) 50.000×. A figura (e) corresponde ao espectro EDS do <i>nanopaper</i> de celulose bacteriana modificado com cloreto de sódio obtido nas mesmas condições de queima.....	67
Figura 24. Análises termogravimétricas (TGA e DTG) do <i>Nanopaper</i> de CB (A) puro (B) modificado com citrato de sódio (C) modificado com cloreto de sódio.	69
Figura 25. Espectro Raman dos filmes de CB modificados com citrato de sódio (A) e com cloreto de sódio (B) após serem expostos ao laser de CO ₂ na condição ótima de: potência 12%, distância entre o substrato e o laser de 11 mm e velocidade do laser de 5 mm s ⁻¹	72
Figura 26. Espectro Raman do <i>nanopaper</i> CB/CtS/CF (a) antes do tratamento com o laser de CO ₂ e (b) após o tratamento com o laser de CO ₂ na condição ótima de: potência 12%, distância entre o substrato e o laser de 11 mm e velocidade do laser de 5 mm s ⁻¹	73
Figura 27. Análise do ângulo de contato do <i>nanopaper</i> de CB/CtS (a) antes e (b) após a impermeabilização com o spray impermeabilizante a base de resina fluorcarbono.....	74
Figura 28. Difratoograma de raios X dos <i>nanopapers</i> de CB, CB/CtS e CB/CtS/CF (a) antes e (b) após o tratamento com o laser de CO ₂ na condição ótima de: potência 12%, distância entre o substrato e o laser de 11 mm e velocidade do laser de 5 mm s ⁻¹	75
Figura 29 Análise por espectroscopia no infravermelho do (a) citrato de sódio (linha preta) e do impermeabilizante de resina fluorcarbono (linha vermelha); (b) do <i>nanopaper</i> da CB pura (linha azul), do <i>nanopaper</i> modificado com citrato de sódio 0,3 mol L ⁻¹ e impermeabilizado com a resina fluorcarbono - CB/CtS/CF - (linha amarela), e da CB após o tratamento com o laser de CO ₂ - CB-LIG - (linha verde).....	78

Figura 30. Espectro XPS desconvoluído na região C1s para os <i>nanopapers</i> (a) de celulose bacteriana pura, (b) modificada com citrato de sódio 0,3 mol L ⁻¹ (c) modificada com citrato de sódio 0,3 mol L ⁻¹ e tratada com o laser de CO ₂ , (d) modificada com citrato de sódio 0,3 mol.L ⁻¹ , impermeabilizada com a resina fluorcarbono e tratada com o laser de CO ₂	80
Figura 31. Varredura completa do espectro XPS para os <i>nanopapers</i> (a) de celulose bacteriana pura, (b) modificada com citrato de sódio 0,3 mol L ⁻¹ e tratada com o laser de CO ₂ , (c) modificada com citrato de sódio 0,3 mol L ⁻¹ , impermeabilizada com a resina fluorcarbono e tratada com o laser de CO ₂	81
Figura 32. Foto com as dimensões reais do eletrodo produzido aplicando-se a cortadora a laser de CO ₂ (modo gravação - 5 mm s ⁻¹ e 12% da força do laser) e utilizando o substrato de celulose bacteriana modificado com citrato de sódio 0,3 mol L ⁻¹	82
Figura 33. (a) Voltamograma de 10 varreduras consecutivas referentes a etapa de limpeza eletroquímica com solução H ₂ SO ₄ - taxa de potencial de -5,0 a +0,5 V e taxa de varredura de 100 mV s ⁻¹ ; (b) Gráfico de Nyquist registrado antes (verde) e depois (vermelho) da etapa de limpeza eletroquímica, obtido aplicando-se 5 mmol L ⁻¹ da sonda eletroquímica ferri/ferrocianeto de potássio diluída em KCl 0,5 mol L ⁻¹ - taxa de potencial de -5,0 a +0,5 V e taxa de varredura de 50 mV s ⁻¹	83
Figura 34. Caracterização eletroquímica do eletrodo fabricado aplicando-se a técnica de voltametria cíclica - taxa de potencial de -5,0 a +0,5 V e taxa de varredura de 50 mV s ⁻¹ – e 5 mmol L ⁻¹ da sonda eletroquímica ferri/ferrocianeto de potássio diluída em KCl 0,5 mol L ⁻¹ ; (a) Análise de reprodutibilidade, aplicando-se 5 eletrodos diferentes (b) Análise de repetitividade, aplicando-se 10 varreduras consecutivas; (c) Análise de estabilidade, simulando o uso descontinuo do eletrodo em 5 medidas diferentes.....	84
Figura 35. Estudo da influência de diferentes velocidades de varredura. (a) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades; (b) relação entre o pico de anódico e a raiz quadrada da velocidade de varredura; (c) logaritmo da relação entre o pico de anódico e velocidade de varredura.....	87
Figura 36. Comparação de respostas eletroquímicas entre o eletrólito de suporte, tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ – pH 7,4 (linha tracejada) e o analito, fármaco acetaminofeno 100 μmol L ⁻¹ (linha sólida) utilizando a voltametria de onda quadrada, sob os parâmetros: faixa de potencial entre -0,5 e +1,0 V; potencial de passo 5 mV; amplitude de modulação 75 mV; frequência de 10 Hz; taxa de varredura 50 mV s ⁻¹	91
Figura 37. Voltamogramas SWV - faixa de potencial entre -0,5 e +1,0 V; potencial de passo 5 mV; amplitude de modulação 75 mV; frequência de 10 Hz; taxa de varredura 50 mV s ⁻¹ - da	

BC-LIG em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ com 100 μmol L⁻¹ AC, rastreando a oxidação de Ipa em uma faixa de pH de 3,0 a 8,0; (b) Gráfico mostrando a relação entre a mudança de pH *versus* o potencial no pico de oxidação; (c) mecanismo de oxidação/redução proposto para o AC ... 93

Figura 38. Voltamogramas SWV para AC em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6) em concentrações variando entre 10 μmol L⁻¹ e 85 μmol L⁻¹, com parâmetros de análise ajustados em: faixa de potencial de -0,5 e +1,0 V; amplitude de modulação 75 mV; frequência de 10 Hz; taxa de varredura 50 mV s⁻¹. 94

Figura 39. Aplicação da SWV – faixa de potencial entre -0,5 e +1,0 V; potencial de passo 5 mV; amplitude de modulação 75 mV; frequência de 10 Hz; taxa de varredura 50 mV s⁻¹ - para o estudo de seletividade do sensor de CB-LIG frente as moléculas de (a) cafeína, (b) ácido ascórbico e (c) ácido úrico puras e misturadas como Acetaminofeno, além da análise (d) da urina pura. 97

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Parâmetros empregados na cortadora a laser de CO ₂ , (modo <i>engraving</i>), utilizando a celulose bacteriana como substrato.....	50
Tabela 2. Comparação em nível de LoD de sensores eletroquímicos aplicados para a determinação de Acetaminofeno.	95
Tabela 3. Resultados obtidos para a determinação eletroquímica do acetaminofeno em amostras reais de urina. Para cada amostra, a primeira coluna apresenta a concentração (em mol L ⁻¹) encontrada e a coluna 2 indica a recuperação padrão do acetaminofeno.....	101

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

AC	Acetaminofeno
AA	cido Ascórbico
AU	cido rico
ATR-FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier de Reflectância Total Atenuada
CA	Cafeína
CB	Celulose Bacteriana
CB-LIG	Eletrodo de celulose bacteriana induzida  laser
Ct	Citrato de Sódio
CF	Resina Fluorcarbono
I _C	Corrente capacitiva
I _{PA}	Corrente do pico anódico
I _{PC}	Corrente do pico catódico
I _F	Corrente faradaica
CV	Voltametria Cíclica
CE	Contra Eletrodo
D	Coefficiente de Difusão
DPV	Voltametria de pulso diferencial
DRX	Difraco de Raio X
EDS	Espectroscopia de Energia Dispersiva
E _i	Potencial inicial
E _f	Potencial final
ET	Eletrodo de Trabalho
ER	Eletrodo de Referência
EI	Espectroscopia de Impedância
ePADs	Dispositivo eletroquímico baseado em papel
ESW	Amplitude da onda quadrada
k	Velocidade heterogênea
G	Energia Livre de Gibbs
LIG	Grafeno induzido  laser
LoD	Limite de Deteco
LoQ	Limite de Quantificao

MEV-FEG	Microscopia eletrônica de Varredura com Canhão de Emissão por Campo
n	Número de elétrons
NPV	Voltametria de pulso normal
RTC	Resistência à Transferência de Carga
RSD	Desvio Padrão Relativo
r	Coefficiente de Correlação
r ²	Coefficiente de Determinação
SWV	Voltametria de onda Quadrada
TGA	Análise Termogravimétrica
XPS	Espectroscopia de Fotoelétrons
Z'	Impedância real
Z''	Impedância imaginária
ΔEP	Amplitude do pulso
ΔI	Corrente resultante
τ	Período de pulso
ω	Frequência

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1. SENSORES QUÍMICOS E ELETROQUÍMICOS	22
2.1.1 <i>Voltametria Cíclica</i>	26
2.1.2 <i>Voltametria de onda quadrada</i>	28
2.1.3 <i>Impedância Eletroquímica</i>	30
2.2 DISPOSITIVOS ELETROQUÍMICOS BASEADOS EM PAPEL	32
2.3 TÉCNICA DE INDUÇÃO A LASER PARA A OBTENÇÃO DE MATERIAS CONDUTORES	33
2.3.1 <i>Gravação à laser de CO2 para a obtenção de materiais a base de grafeno</i>	34
2.4 CELULOSE BACTERIANA	37
2.5 APLICAÇÃO DOS SENSORES ELETROQUÍMICOS PARA MONITORAMENTO DE FÁRMACOS	40
3. OBJETIVOS.....	42
3.1 OBJETIVO GERAL.....	42
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	44
4.1 REAGENTES.....	44
4.2 PRODUÇÃO DA MEMBRANA DE CELULOSE BACTERIANA.....	44
4.3 AUMENTO DA GRAMATURA DO FILME DE CELULOSE BACTERIANA	47
4.4 MODIFICAÇÃO DO FILME DE CELULOSE BACTERIANA.....	48
4.5 TESTES PRELIMINARES COM A CORTADORA A LASER.....	49
4.6 FABRICAÇÃO DOS DISPOSITIVOS ANALÍTICOS ELETROQUÍMICOS.....	50
4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	51
4.7.1 <i>Microscopia Eletrônica de Alta Resolução (MEV-FEG)</i>	51
4.7.2 <i>Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)</i>	52
4.7.3 <i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	52
4.7.4 <i>Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier de Refletância Total Atenuada (ATR-FTIR)</i>	52
4.7.5 <i>Espectroscopia Raman</i>	53

4.7.6 Espectroscopia de Fotoelétrons - XPS.....	53
4.7.7 Ângulo de contato	54
4.7.8 Difração de Raio X - DRX.....	54
4.7.9 Caracterização Eletroquímica.....	54
4.7.10 Estudo do pH e investigação da resposta eletroquímica do sensor CB-LIG para a determinação analítica do acetaminofeno	55
4.7.11 Estudo de seletividade e investigação da aplicabilidade do sensor BC-LIG em amostras reais de urina	56
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1 OBTENÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA	56
5.2 AUMENTO DA GRAMATURA DO FILME DE CELULOSE BACTERIANA E TESTES PRELIMINARES NA CORTADORA A LASER	59
5.3 MODIFICAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS FILMES DE CELULOSE BACTERIANA.....	60
5.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS MATERIAIS OBTIDOS	64
5.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura com canhão de emissão por campo (MEV-FEG) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).....	64
5.4.2 Análise Termogravimétrica (TG).....	67
5.4.3 Espectroscopia Raman.....	69
5.4.4 Análise do ângulo de contato	74
5.4.5 Difração e Raio X - DRX.....	75
5.4.6 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	77
5.4.7 Espectroscopia de Fótons Elétrons Excitados por Raios X - XPS.....	78
5.5 CONSTRUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS E ELETRODOS.....	81
5.5.1 Caracterização eletroquímica do eletrodo de grafeno induzido a laser	82
5.5.2 Influência da velocidade de varredura na resposta eletroquímica do eletrodo.....	86
5.6 PROVA DE CONCEITO: QUANTIFICAÇÃO ELETROQUÍMICA DO ACETAMINOFENO	90
5.6.1 Análise da influência do pH	91
5.6.2 Resposta Eletroquímica do Sensor CB-LIG para a Determinação analítica do Paracetamol.....	93
5.6.3 Estudo de Seletividade.....	96
5.6.4 Investigação da aplicabilidade do sensor BC-LIG em amostras reais de urina	99

6. CONCLUSÃO.....	102
7. REFERÊNCIAS	104

1. INTRODUÇÃO

Os métodos eletroquímicos para detecção e monitoramento analítico estão se destacando progressivamente, tanto no âmbito científico quanto no industrial, graças à sua notável habilidade em produzir resultados eficientes a custos operacionais e de produção consideravelmente reduzidos. Esta eficácia econômica é particularmente marcante quando comparada as técnicas analíticas convencionais (DENNANY; BROWN, 2023). Além disso, avanços tecnológicos recentes permitiram a miniaturização e o consequente aumento da portabilidade desses dispositivos, facilitando análises precisas e práticas em locais que não requerem infraestrutura elaborada ou a presença de especialistas (DA SILVA et al., 2017). Entre os sensores eletroquímicos portáteis mais relevantes na sociedade atual, destacam-se aqueles utilizados no monitoramento do diabetes, como as tiras de medição de glicose, e os sistemas de bafômetro para detecção de etanol, ressaltando seu impacto e aplicabilidade prática (DENNANY; BROWN, 2023; KILLARD, 2017).

À medida que os métodos eletroanalíticos evoluem e se aprimoram, observa-se um crescente interesse por dispositivos portáteis e miniaturizados para monitoramento em campo. Este avanço tecnológico impulsionou a demanda por sensores eletroquímicos integrados em suportes biodegradáveis e descartáveis. A vantagem desses dispositivos está na eficiência de seu custo-benefício e na facilidade de serem produzidos em grande escala. Além disso, um fator crucial na concepção desses sensores é a aderência aos princípios de sustentabilidade ambiental. Isso se reflete na necessidade de utilizar substratos tanto biodegradáveis quanto recicláveis, garantindo que a tecnologia avance de forma responsável e ambientalmente consciente (KILLARD, 2017; KULYK et al., 2021). Guiados por esse propósito, o papel emergiu como um substrato amplamente utilizado na fabricação de dispositivos eletroquímicos descartáveis (ADKINS; HENRY, 2015; METTERS et al., 2013; NOVIANA; HENRY, 2020). Referidos como dispositivos eletroquímicos baseados em papel (ePADs), esses instrumentos, originários da pesquisa de DUNGCHAI et al. em 2009, são agora reconhecidos como um substituto prático para eletrodos tradicionais em estudos eletroanalíticos.

Os materiais e o método de fabricação aplicados para a construção dos eletrodos exerce um papel primordial no desempenho dos ePADs, assim como é para todos os tipos de sensores eletroquímicos (METTAKOONPITAK et al., 2016). Existem várias técnicas de fabricação que têm sido demonstradas para fabricação de ePADs, tais como a serigrafia, (ORZARI et al., 2019) estêncil, (KAVA; HENRY, 2021) desenho com lápis, (FOSTER et al., 2016), impressão

3D (ROCHA et al., 2020) e litografia, (KLASNER et al., 2010). A construção dos caminhos condutores normalmente envolve o uso de diferentes tintas ou pastas à base de carbono, selecionadas devido a relação custo-benefício, funcionalidade superficial e ampla janela de potencial (MCCREERY, 2008). Contudo, os métodos tradicionais geralmente requerem o uso de solventes nocivos, o que pode torná-los impraticáveis ou arriscados, além de gerar preocupações quanto à precisão e reprodutibilidade. Essas questões representam um obstáculo significativo para a produção em larga escala.

Neste contexto, a gravação à laser emergiu como uma técnica inovadora para fabricação de sensores eletroquímicos baseados em papel. Também referido como grafeno induzido por laser (LIG), este processo é capaz de sintetizar grafeno de forma eficiente e rápida transformando precursores altamente celulósicos em uma espuma de grafeno (ARANTES et al., 2023; BOSSARD et al., 2022; DE ARAUJO et al., 2017). Realizado sob condições ambientais e sem quaisquer reagentes químicos, a gravação à laser permite a pirólise localizada de áreas definidas no substrato em uma única etapa. Assim, apresenta-se como uma técnica ambientalmente amigável, reprodutível, rápida e escalável para fabricação de ePADs (BEZERRA MARTINS et al., 2019; KULYK et al., 2021).

Em 2017, DE ARAUJO et al. foi pioneiro na aplicação de um laser de CO₂ para criar dispositivos eletroquímicos baseados em papel. Eles documentaram a formação de estruturas porosas de folhas de grafeno na superfície do papel cartão kraft após a indução a laser. O novo sensor mostrou-se eficaz na detecção de ácido ascórbico e ácido cafeico, posicionando-se como uma solução econômica para a criação de dispositivos descartáveis. Adotando uma abordagem semelhante, KULYK et al., 2021 examinou a formação de LIG através da irradiação de laser de CO₂ em papel de filtro. Eles exploraram como a variação dos parâmetros do laser, incluindo velocidade de varredura, distância focal e potência do laser, afetavam a transformação da celulose em LIG. Ajustando esses parâmetros, os autores transformaram com sucesso o papel de filtro em uma estrutura porosa com excelente condutividade elétrica, alcançando resistências de folha de apenas 32 Ω sq⁻¹.

A capacidade de sintetizar grafeno pela indução a laser a partir de materiais celulósicos representa um avanço significativo, abrindo possibilidades para uma ampla gama de aplicações. Dentro deste contexto, a celulose bacteriana emerge como um substrato particularmente promissor para a formação de LIG. Esta escolha é justificada pela sua pureza excepcional, isenta de impurezas como lignina, hemicelulose e pectina, que são comumente encontradas na celulose natural. Além disso, a celulose bacteriana se destaca pelo seu potencial intrínseco para a modificação de poros e pela sua capacidade de adaptação e personalização para atender

especificações técnicas variadas. Essas características únicas tornam a celulose bacteriana uma opção altamente viável e atraente para o desenvolvimento avançado de tecnologias baseadas em LIG (HORUE et al., 2020; WAHID et al., 2019).

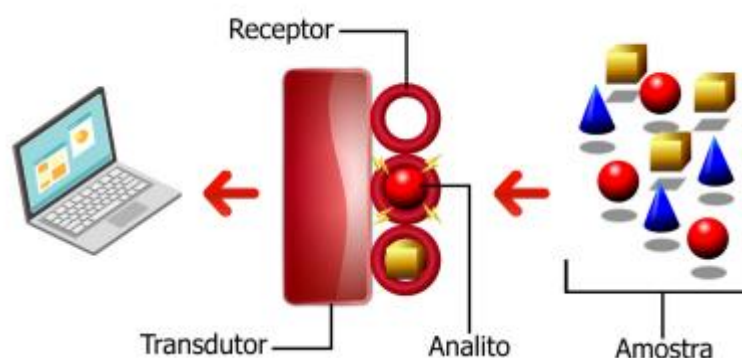
Este trabalho apresenta uma nova abordagem para a fabricação de um dispositivo eletroquímico baseado em papel. Um laser de CO₂ contínuo foi empregado para transformar papel de celulose bacteriana em LIG, sob condições ambientes, resultando em uma superfície de grafeno altamente porosa e nanoestruturada. Até onde sabemos, isso constitui o primeiro uso de celulose bacteriana como precursor para a síntese de LIG. Para validar a eficácia desta técnica, o ePAD desenvolvido foi utilizado para a determinação analítica do acetaminofeno, um medicamento terapêutico amplamente utilizado no tratamento de dor e febre. Apesar de sua ampla aplicação, este medicamento pode causar disfunção hepática quando administrado em doses elevadas e, por isso, deve ser monitorado (FORREST; CLEMENTS; PRESCOTT, 1982). Os resultados obtidos foram promissores, demonstrando a capacidade do sensor de detectar eficientemente o acetaminofeno. Este achado ressalta o potencial prático do dispositivo, evidenciando sua utilidade na monitorização segura e eficaz de medicamentos comuns, como o acetaminofeno, em diversos contextos clínicos e terapêuticos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. SENSORES QUÍMICOS E ELETROQUÍMICOS

O sensor é um dispositivo de aquisição e processamento de informações, o qual possui a capacidade de transformar dados de entrada em um sinal de saída legível. Esses dispositivos são compostos por dois componentes básicos: o receptor e o transdutor (VLASOV et al., 2010; YU et al., 2023). O receptor consiste na parte ativa do sensor, ou seja, é responsável por transformar as informações químicas ou físicas do analito em informações quantificáveis e interpretáveis. Já o transdutor equivale ao sistema de conversão de sinal, que transforma essas informações em dados mensuráveis (AMARAL et al., 2022). A **Figura 1** mostra a representação esquemática simplificada das unidades básicas de um sensor.

Figura 1. Representação esquemática simplificada das unidades básicas de um sensor (seja ele químico ou físico)



Fonte: (AMARAL et al., 2022)

Os sensores podem ser divididos em duas amplas categorias, que incluem os sensores físicos (detectam atributos físicos como luz, som, temperatura e pressão) e os sensores químicos. Os sensores químicos, objeto de interesse desta pesquisa, é empregado quando se deseja obter informações a respeito da composição, concentração ou identidade de uma determinada substância. Existem algumas estratégias analíticas que podem ser aplicadas para detectar a interação entre o analito e os elementos sensores, as quais irão depender dos mecanismos de transdução aplicados (VLASOV et al., 2010; YU et al., 2023). O transdutor tem como função converter a reação química, resultante da interação analito/receptor, em um sinal demonstrável, que pode ser quantificado em termos de óptica, massa ou eletroquímica.

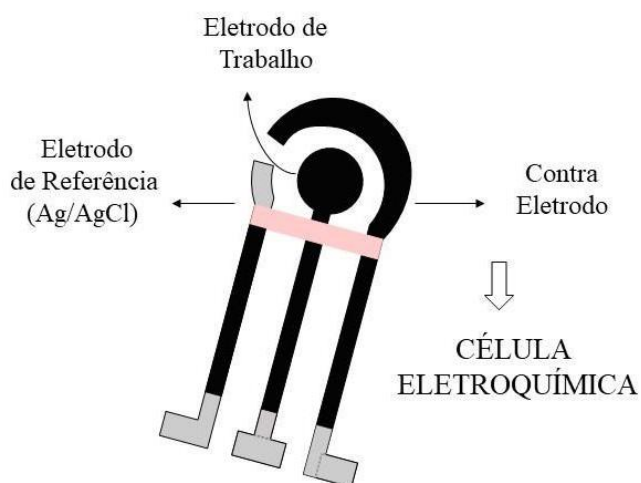
Os sensores ópticos empregam a transdução óptica para extrair as informações do analito. As técnicas de transdução mais amplamente empregadas são a absorção óptica e luminescência, porém sensores baseados em métodos espectroscópicos também têm sido desenvolvidos. Os sensores ópticos podem ser categorizados em duas vertentes mais amplas: sensores diretos e sensores mediados por reagentes. Em um sensor óptico direto o analito é detectado devido a alguma propriedade óptica intrínseca, tal como a luminescência ou a absorção de luz. Em sistemas mediados por reagentes, como o próprio nome sugere, o analito não possui propriedades ópticas e resposta só pode ser registrada mediante o uso de um reagente (MCDONAGH; BURKE; MACCRAITH, 2008).

No que se trata dos sensores químicos de massa, também chamados de gravimétricos, seu princípio de funcionamento se baseia no fato de que, quando uma determinada massa é absorvida em um micro sistema (como em um micro ressonador – dispositivo capaz de ressoar em uma frequência específica ou em um conjunto limitado de frequências) ocorre uma diminuição na frequência de ressonância do sistema. A frequência de ressonância é a frequência na qual um sistema vibra naturalmente. Essa mudança é continuamente medida para detectar a presença e/ou a quantidade uma determinada molécula que foi adsorvida quimicamente na superfície do micro ressonador (FANGET et al., 2011; KUSHWAHA et al., 2022).

Sistemas eletroquímicos envolvem fenômenos químicos associados a separação de cargas. Essa separação de cargas leva a uma transferência de elétrons (reações de oxidação e redução), a qual ocorre heterogeneamente na superfície do eletrodo (BRETT; BRETT, 1993). Sendo assim, um sensor eletroquímico envolve a utilização de um transdutor (que nesse caso também pode ser chamado de detector ou eletrodo) capaz de monitorar as variações nas propriedades elétricas (corrente, potencial, capacitância ou resistência) que ocorrem devido as transferência de elétrons entre a superfície do eletrodo e os analitos de interesse (KARUNAKARAN; RAJKUMAR; BHARGAVA, 2015). Em um sensor eletroquímico, as reações acontecem na interface eletrodo e solução (eletrólito), região essa onde a distribuição de cargas diferem daquelas encontradas na região *bulk*. Para que a transferência de elétrons entre as espécies doadoras eceptoras ocorra, os níveis de energia dos orbitais eletrônicos envolvidos devem ser compatíveis ou muito próximos. Em um eletrodo, o elétron é transferido do último orbital preenchido. No caso de eletrodos metálicos, por exemplo, esse orbital é conhecido como nível de energia de Fermi. Para as espécies solúveis, o elétron que participa da reação é o elétron da camada de valência (BRETT; BRETT, 1993). Para entendermos melhor o princípio de funcionamento de um sensor eletroquímico devemos ter conhecimento do que é uma célula eletroquímica (**Figura 2**). Uma célula eletroquímica é composta de um eletrodo de

trabalho (ET), um eletrodo de referência (ER) e um contra eletrodo (CE), os quais estarão imersos em uma solução contendo as espécies eletroativas (WANG, 2006). A reação química que ocorre em uma célula eletroquímica se divide em duas semirreações distintas. Essas semirreações são fundamentais para criar a diferença de potencial observada entre os eletrodos de trabalho e de referência. Isso significa que o potencial medido no eletrodo de trabalho é avaliado em comparação com o potencial resultante da semirreação no eletrodo de referência. Em análises práticas, o interesse se concentra em apenas uma dessas semirreações, que ocorre especificamente no eletrodo de trabalho (BARD; FAULKNER, 2001). Como é no ET que a reação de interesse acontece, ele atua como o transdutor e deve fornecer uma resposta reprodutível, com características de sinal-ruído altas. Para focarmos na reação que está acontecendo no eletrodo de trabalho, padroniza-se o ER com componentes de meia-células que possuem potenciais fixos e reprodutíveis. O eletrodo de Ag/AgCl (prata/cloreto de prata) é o mais utilizado em sensores eletroquímicos tradicionais (BRETT; BRETT, 1993). Para manter constante o potencial no ER, utiliza-se um terceiro eletrodo conhecido como contra eletrodo ou eletrodo auxiliar. Sua função é completar o circuito na célula eletroquímica. Isso significa que, dependendo da operação do ET, o contra eletrodo atuará como cátodo ou ânodo. Quando o ET funciona como ânodo, o contra eletrodo age como cátodo, e o inverso também é verdadeiro. Essa configuração impede que o ER participe das reações, mantendo seu potencial inalterado. Em resumo, o potencial é regulado entre o ET e o ER, enquanto a corrente circula entre o ET e o CE (MALHOTA; ALI, 2018). Como a corrente está fluindo entre o ET e CE, a área total do CE normalmente é maior que do ET, para que ele não seja um fator limitante na cinética do processo eletroquímico que está sob investigação (KARUNAKARAN; RAJKUMAR; BHARGAVA, 2015). Um potenciostato controla a corrente que passa através dos eletrodos de trabalho e do eletrodo auxiliar, e também ajusta a tensão para manter a diferença de potencial entre os eletrodos de trabalho e de referência (BARD; FAULKNER, 2001).

Figura 2. Figura representativa de uma célula eletroquímica contendo um eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência e um contra eletrodo



A depender da técnica que é aplicada para converter as informações químicas em um sinal mensurável, os sensores eletroquímicos podem ser classificados em potenciométricos, de espectroscopia de impedância, amperométricos e voltamétricos (BRETT; BRETT, 1993). Este estudo concentrou-se na aplicação das técnicas voltamétricas, as quais tem como princípio de funcionamento a medição das correntes catódicas/anódicas obtidas pelos processos de oxidação/redução. Estas correntes são decorrentes das espécies eletroativas presentes na solução, que são induzidas quando se aplica uma janela de potencial. O gráfico resultante é chamado de voltamograma e é expresso em termos de corrente (i) *versus* potencial (E). O voltamograma registrado reflete o comportamento eletroquímico das espécies redox envolvidas na reação de oxidação ou redução, e fornece informações qualitativas e quantitativas (como a concentração) do analito de interesse (BARD; FAULKNER, 2001; GHANAM et al., 2022). Além das correntes faradaicas também se registra uma corrente capacitiva, devido ao carregamento da dupla camada elétrica que ocorre na interface eletrodo/eletrólito (BRETT; BRETT, 1993; RIU; GIUSSANI, 2020).

Para entendermos melhor a correlação entre as correntes medidas e a concentração do analito, vamos elucidar o um experimento eletroquímico padrão. Primeiramente uma célula eletroquímica é submersa em uma solução contendo o analito de interesse. Uma diferença de potencial é estabelecida nos eletrodos através de uma fonte de alimentação externa, induzindo um fluxo de corrente no circuito externo. Este fluxo ocorre à medida que os elétrons se movem pelas interfaces eletrodo/eletrólito, associados às reações eletroquímicas em curso. A quantidade de elétrons transferidos através de uma interface está estequiometricamente

relacionada às quantidades de reagente consumido e de produto formado. Essa transferência de elétrons é quantificada pela carga total (Q) que circula pelo circuito, medida em Coulombs (C), onde 1 C corresponde a aproximadamente $6,24 \times 10^{18}$ elétrons. A relação entre a carga elétrica e a quantidade de produto formado na reação é explicada pela Lei de Faraday, que estabelece que a transferência de 96.485,4 C corresponde à formação de 1 mol de produto. A corrente elétrica (i), também referida como corrente faradaica, é definida como a taxa de transferência de coulombs (ou elétrons), expressa em Amperes (A), sendo que 1 A equivale a 1 C s^{-1} (coulomb por segundo) (BARD; FAULKNER, 2001). Dessa forma, entende-se que a corrente obtida em uma medida eletroquímica é diretamente proporcional a concentração do analito.

O tipo de técnica voltamétrica que será aplicada para a detecção da resposta eletroquímica irá depender do controle de potencial estabelecido. As técnicas voltamétricas de pulso e as técnicas voltamétricas de varredura são as mais comumente empregadas em análises eletroquímicas (RIU; GIUSSANI, 2020). Neste estudo, a técnica de varredura utilizada foi a Voltametria Cíclica (CV) e a de pulso, a Voltametria de Onda Quadrada (SWV). A CV foi aplicada na etapa de caracterização eletroquímica do sensor desenvolvido, já a SWV foi utilizada na determinação analítica da amostra de interesse. Essas metodologias serão agora discutidas com mais detalhes.

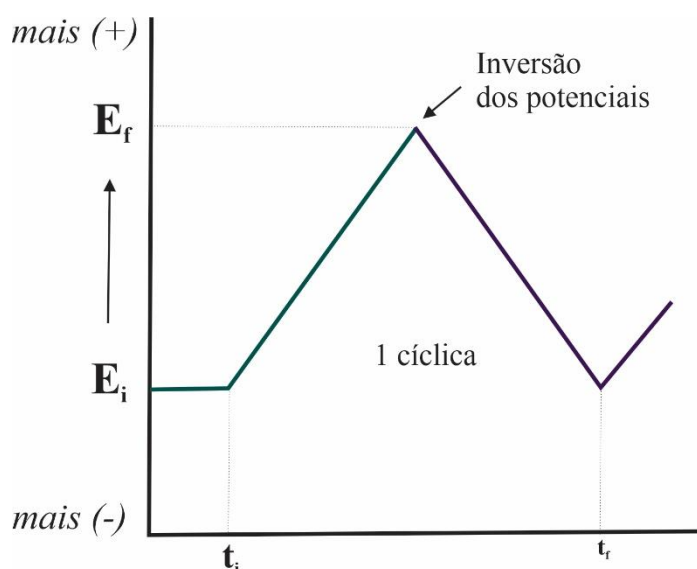
2.1.1 Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica é uma técnica eletroquímica amplamente empregada no desenvolvimento de novas plataformas sensoras. Esta técnica não apenas fornece dados quantitativos, mas também fornece informações acerca das dinâmicas eletroquímicas que ocorrem na interface eletrodo/eletrólito. Através da CV, é possível extrair informações pertinentes sobre parâmetros termodinâmicos e cinéticos, incluindo o coeficiente de difusão (D), a energia livre de Gibbs (G), o número de elétrons envolvidos na reação (n) e a constante de velocidade heterogênea (k) (GHANAM et al., 2022). A técnica também revela detalhes sobre os processos de transferência de elétrons que ocorrem na interface eletrodo/eletrólito, categorizados em reversíveis (Nernstianos), quase reversíveis ou irreversíveis (GHANAM et al., 2022; MALHOTA; ALI, 2018). Além disso, a voltametria cíclica é especialmente eficaz quando para investigar a superfície dos eletrodos, como sua área superficial (MALHOTA; ALI, 2018).

Em um experimento de voltametria cíclica, o potencial de um eletrodo é ciclado de um valor de potencial inicial (E_i), até um valor de potencial final (E_f) e de volta para o inicial.

Durante essa varredura, o potenciostato mede a corrente (entre o ET e o CE) resultante do potencial aplicado (KARUNAKARAN; RAJKUMAR; BHARGAVA, 2015), como mostra a **Figura 3**.

Figura 3. Variação do potencial com o tempo em uma voltametria cíclica. E_i representa o potencial inicial, E_f o potencial final.



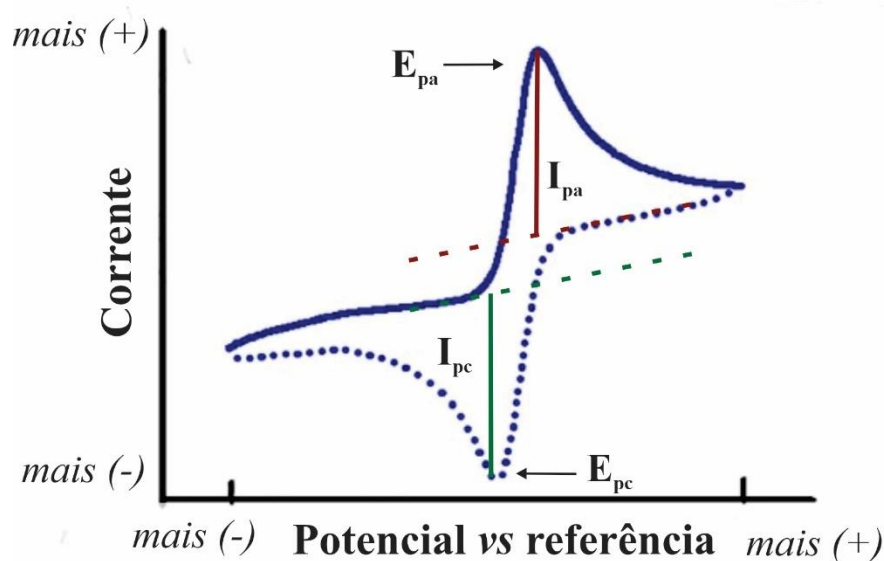
Fonte: Adaptado de (GHANAM et al., 2022)

Tendo como exemplo o voltamograma cíclico obtido de uma sonda eletroquímica de ferricianeto de potássio ($K_3[Fe(CN)_6]$) e de ferrocianeto de potássio ($K_4[Fe(CN)_6]$), temos a seguinte interpretação: quando o potencial negativo aplicado torna-se suficientemente forte para reduzir o $[Fe^{III}(CN)_6]^{3-}$, a corrente catódica aumenta rapidamente, até que a concentração do $[Fe^{III}(CN)_6]^{3-}$ na superfície do eletrodo diminui substancialmente, causando o pico da corrente. A corrente então começa a diminuir à medida que a solução de $[Fe^{III}(CN)_6]^{3-}$ ao redor do eletrodo se esgota devido à sua conversão eletrolítica em $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$. Quando a varredura inversa (positiva) é iniciada, o potencial ainda é suficientemente negativo para reduzir $[Fe^{III}(CN)_6]^{3-}$, então a corrente catódica ainda continua. Quando o eletrodo se torna um oxidante suficientemente forte, $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$ pode ser agora oxidado, causando a corrente anódica. A corrente anódica aumenta até a concentração do $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$ diminuir, causando o pico da corrente. A corrente então começa a cair na medida que a solução de $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$ ao redor do eletrodo vai se esgotando. O ciclo então é completado quando atinge o potencial inicial aplicado para o experimento (KARUNAKARAN; RAJKUMAR; BHARGAVA, 2015).

As reações redox que irão ocorrer no eletrodo de trabalho serão representadas na curva voltamétrica pelo pico anódico (I_{pa}), proveniente da reação de oxidação, e pelo pico catódico

(I_{pc}) oriundo da reação de redução, como mostra a **Figura 4**. Outras informações importantes que podem ser tiradas da CV são os potenciais de pico anódico (E_{pa}) e catódico (E_{pc}) e a velocidade de varredura do potencial (v) (KARUNAKARAN; RAJKUMAR; BHARGAVA, 2015).

Figura 4. Representação de uma curva voltamétrica, apresentando os parâmetros obtidos com esta técnica: (I_{PA}) corrente do pico anódico, (I_{PC}) corrente do pico catódico, (E_{PA}) potencial de pico anódico e (E_{PC}) potencial de pico catódico.



Fonte: Adaptado de (GHANAM et al., 2022)

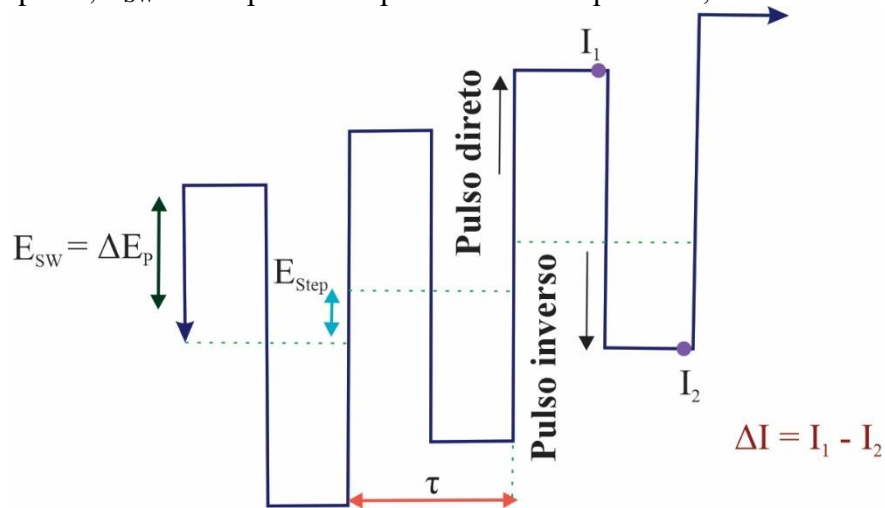
2.1.2 Voltametria de onda quadrada

A técnica de voltametria cíclica, como vimos, é excelente para diagnóstico das espécies redox, porém possui uma limitação do que diz respeito a sua sensibilidade. Os limites de detecção alcançado com a CV ficam em torno de 10^{-3} a 10^{-5} mol L^{-1} . Além disso, as correntes obtidas nessa técnica são uma soma das correntes faradaicas (I_F) e correntes capacitivas (I_C), o que atrapalha ainda mais a quantificação dos analitos. A discriminação entre as I_F e I_C aumenta a sensibilidade dos sensores e pode ser realizada aplicando-se os métodos de pulso, também chamada de voltametria de pulso (GHANAM et al., 2022). A voltametria de pulso foi inicialmente desenvolvida para uso em eletrodos de gotejamento de mercúrio. Objetivo era sincronizar os pulsos elétricos com o crescimento da gota de mercúrio, a fim de reduzir a contribuição da corrente capacitiva. Como já mencionado anteriormente, a I_C é uma corrente que não está relacionada com a reação química. Ao sincronizar os pulsos com a vida da gota de

mercúrio, a I_c pode ser minimizada e a corrente I_f fica mais distinta. Este fenômeno ocorre devido ao fato de que, ao se aplicar um pulso de potencial, a corrente capacitiva se atenua mais rapidamente em comparação à corrente faradaica. Como a medição da corrente é realizada apenas no término do pulso, a influência da corrente capacitiva é significativamente reduzida. Esta característica específica da técnica proporciona uma melhoria notável na sensibilidade do sensor, aprimorando suas propriedades para uso em aplicações analíticas. Tal aperfeiçoamento é fundamental para aumentar a precisão e eficácia dos resultados analíticos obtidos (BARD; FAULKNER, 2001; BRETT; BRETT, 1993). As principais técnicas voltamétricas de pulso são divididas em voltametria de pulso normal (NPV) voltametria de pulso diferencial (DPV) e voltametria de onda quadrada (SWV). Como a SWV foi a técnica aplicada nesse trabalho para a determinação analítica, discutiremos mais a respeito do seu princípio de funcionamento.

A SWV é uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápida, alcançando até $1,0 \text{ V s}^{-1}$ (volts por segundo). Isso é possível porque, diferente das outras técnicas de pulso, não há a renovação da camada de difusão (GHANAM et al., 2022). Foi inventada por Barker, em 1952, mas devido as limitações eletrônicas da época, foi pouco utilizada. Com o avanço das instrumentações, ela se tornou uma técnica analítica muito importante em eletroanálises (BRETT; BRETT, 1993). Como em todas as técnicas de pulso, o eletrodo é submetido a uma série de ciclos de medição; no caso da SWV, o sinal de excitação consiste em um pulso quadrado simétrico de amplitude constante (E_{sw}), o qual é sobreposto a uma forma de onda em escada, como mostra a **Figura 5**. A corrente líquida ($\Delta I [I_1 - I_2]$) é obtida subtraindo a corrente medida no final do pulso reverso (corrente 1) da corrente medida no final do pulso direto (corrente 2). Para uma reação redox reversível, a espécie eletroativa reduzida no eletrodo durante o pulso direto é reoxidada pelo pulso reverso. Outra vantagem que podemos citar da SWV está relacionada com o ΔI medido que, nessa técnica, é maior que as correntes diretas ou inversas. Desse modo, a altura do pico é facilmente detectada, aumentando assim a precisão do método (GHANAM et al., 2022).

Figura 5. Ilustração da técnica de voltametria de onda quadrada, mostrando o sinal do potencial em função do tempo. τ representa o período de pulso; E_{STEP} o passo do potencial; ΔE_P é a amplitude do pulso; E_{SW} diz respeito a amplitude da onda quadrada; ΔI é a corrente resultante



Fonte: Adaptado de (GHANAM et al., 2022)

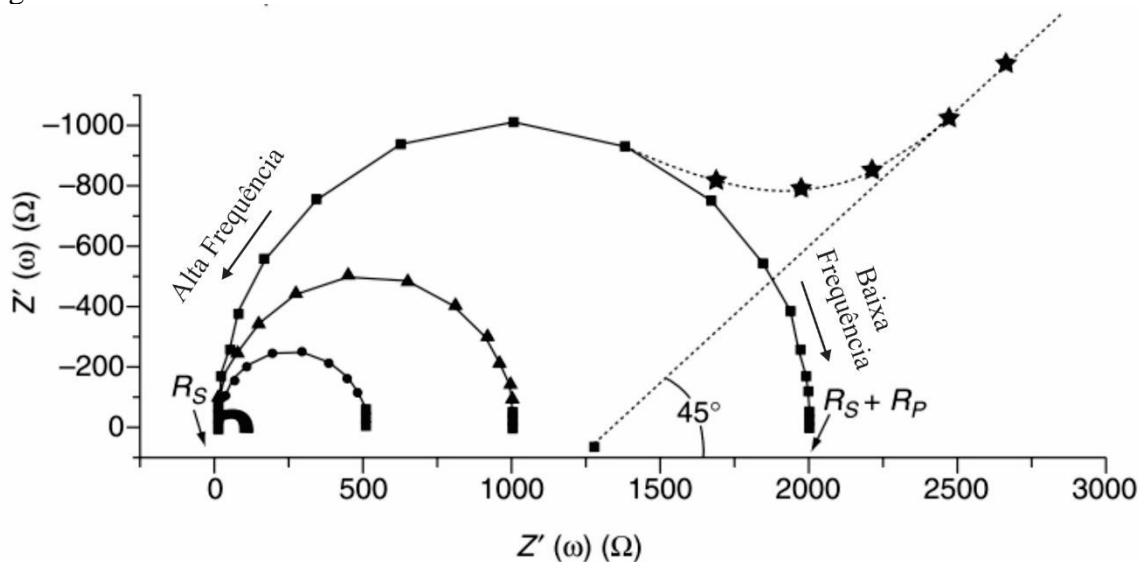
2.1.3 Impedância Eletroquímica

As técnicas eletroquímicas previamente discutidas estudavam as reações do eletrodo por meio de grandes perturbações no sistema. Isso acontece porque, quando se realiza uma varredura de potenciais ou se aplicam potenciais de pulso, o eletrodo é levado a um estado distante do seu equilíbrio. Em contraste, na Espectroscopia de Impedância (EI), a resposta do sistema é investigada mediante a aplicação de uma perturbação mínima na célula eletroquímica, geralmente um sinal senoidal de baixa amplitude, em uma frequência específica (ω). Portanto, a EI destaca-se como uma técnica robusta para a aquisição de informações detalhadas sobre as propriedades químicas do eletrodo e para a compreensão aprofundada das dinâmicas das reações eletroquímicas (BARD; FAULKNER, 2001; WANG, 2006).

A impedância pode ser descrita como a resistência encontrada quando uma corrente flui através de um circuito composto de resistores, capacitores ou indutores. As transformações eletroquímicas que ocorrem na interface eletrodo/eletrólito podem ser modeladas de acordo com um circuito equivalente que corresponde ao espectro de impedância experimental. Esse circuito pode incluir os seguintes componentes: a capacitância da dupla camada elétrica (C_d), a resistência ôhmica da solução eletrolítica (R_s), a resistência do eletrodo (R_p) e a impedância de Warburg (W) resultante da difusão dos íons da camada *bulk* da solução até a superfície do eletrodo. O espectro de impedância faradaica obtido é representada por duas partes: a

impedância real (Z') e a impedância imaginária (Z''). O diagrama de *Nyquist* corresponde a dependência da Z'' versus a Z' (WANG, 2006), como mostra a **Figura 6**.

Figura 6. Espectro de impedância faradaica representada na forma do diagrama de *Nyquist*, onde Z' , no eixo X, representa impedância real e Z'' , no eixo Y, representa a impedância imaginária.



Fonte: Adaptado de (WANG, 2006)

Por meio do diagrama de *Nyquist* é possível tirar informações importantes a respeito da interface eletrodo/eletrólito e sobre as reações de transferência de elétrons que estão acontecendo. O diagrama inclui uma região onde um semicírculo é formado, seguido de uma linha reta (como mostrado na **Figura 6**). O semicírculo é observado em altas frequências e corresponde a um processo limitado pela transferência de carga. Já a linha reta acontece em frequências mais baixas e representa o processo limitado por difusão. O diagrama de *Nyquist* é muito importante, pois a partir dele é possível extrair dados da cinética e da transferência de elétrons que estão acontecendo no eletrodo. Quando o processo de transferência de elétrons acontece de maneira muito rápida, observa-se apenas a linha reta no diagrama. De modo similar, quando o processo de transferência de carga é muito lento, observa-se apenas a região de semicírculo no gráfico. O diâmetro do semicírculo demonstra a resistência a transferência de carga observado na interface eletrodo/eletrólito (WANG, 2006).

A impedância eletroquímica apresenta algumas vantagens, frente a outras técnicas eletroanalíticas. Primeiramente, ela é uma técnica de alta precisão. Essa característica está relacionada com sua capacidade em obter respostas estáveis que, portanto, podem ser medida por um longo período. Isso implica em medições mais confiáveis e com uma margem de erro

reduzida. Além disso, a IE é aplicada em condições próximas ao equilíbrio, diferente das outras técnicas discutidas. Essa característica facilita o tratamento dos aspectos cinéticos e difusão do sistema (BARD; FAULKNER, 2001).

Como foi discutido durante esse sessão, os sensores eletroquímicos apresentam uma excelente capacidade de detecção via monitoramento de mudanças nos parâmetros elétricos, seja via monitoramento do potencial, da corrente ou da impedância eletroquímica, o que os levou a serem procurados para aplicações comerciais (ENSAFI, 2019) Utilizados em diferentes áreas, como diagnósticos, medicina, monitoramento ambiental, controle de qualidade, indústria alimentícia e indústria agrícola (MALHOTRA; ALI, 2018; PUNDIR; JAKHAR; NARWAL, 2019), esses dispositivos oferecem informações rápidas e em tempo real e correspondem a classe sensores mais comumente utilizada.

Na produção de eletrodos, o substrato desempenha um papel crucial, especialmente no contexto de sensores eletroquímicos miniaturizados e descartáveis. Sob esta ótica, a adoção de papel como substrato para a construção de eletrodos surgiu como uma alternativa mais viável tanto em termos econômicos quanto ecológicos. Essa abordagem representa um avanço significativo no desenvolvimento de eletrodos descartáveis, combinando eficiência com responsabilidade ambiental

2.2 DISPOSITIVOS ELETROQUÍMICOS BASEADOS EM PAPEL

Reportado pela primeira vez em um trabalho publicado por DUNGCHAI CHAILAPAKUL & HENRY, (2009), os dispositivos eletroquímicos baseados em papel (*ePADs*) representam uma inovadora alternativa aos eletrodos convencionais empregados em eletroanálises. Esta tecnologia, que substitui os substratos tradicionalmente empregados (vidro, polímeros sintéticos e cerâmica), pela aplicação de suportes de papel, destaca-se devido às características notáveis do papel, que é um material barato, leve, biodegradável e facilmente descartável. Estes atributos conferem ao papel uma vantagem distinta, posicionando-o como um substrato ideal para o desenvolvimento de sensores portáteis, econômicos e descartáveis, com potencial significativo para aplicações práticas em diversas áreas (METTERS et al., 2013; NOVIANA; HENRY, 2020).

Os *ePADs*, oferecem vantagens no que diz respeito a aplicação de diagnóstico em campo, principalmente para os países em desenvolvimento. As tecnologias de diagnóstico típicas, facilmente aplicadas no mundo economicamente desenvolvido, são difíceis de usar nos países em desenvolvimento. Além do alto custo aplicado aos testes convencionais, fatores de

infraestruturas básicas como; energia confiável, refrigeração e pessoal treinado geralmente não estão disponíveis nessas áreas, o que justifica ainda mais a exigência de sensores baratos e portáteis que possam fornecer diagnóstico em campo sem a necessidade de pessoal especializado e equipamentos de alto custo (METTERS et al., 2013)

A construção dos eletrodos na superfície do substrato de papel para a fabricação dos *ePADs* geralmente envolve o uso de tintas, pastas, ou microfios condutores, os quais são depositadas sobre a área desejada para criar os caminhos condutores. Essa etapa de deposição pode ser feita de diferentes modos, incluindo a técnica de impressão em tela ou estêncil (METTERS et al., 2013), desenho à mão com canetas condutoras ou lápis (FOSTER et al., 2016), impressão por jato de tinta (MÄÄTTÄNEN et al., 2013) ou usando microfios condutores (ADKINS; HENRY, 2015).

Embora as técnicas tradicionais para a fabricação de dispositivos eletroquímicos baseados em papel sejam bem estabelecidas e amplamente utilizadas, elas apresentam limitações notáveis, incluindo baixa resolução e reprodutibilidade, além do consumo elevado de tinta condutora. Este último aspecto é particularmente problemático quando se trata de materiais de alto custo ou com propriedades perigosas. Em resposta a essas desvantagens, surgiram métodos inovadores para a fabricação de eletrodos em substratos de papel. Um exemplo notável é a técnica de gravação a laser, que emprega o laser de CO₂ para a criação de caminhos condutores. Esta abordagem oferece uma alternativa promissora, potencialmente superando os desafios associados aos métodos convencionais.

2.3 TÉCNICA DE INDUÇÃO A LASER PARA A OBTENÇÃO DE MATERIAS CONDUTORES

No início dos anos noventa, os pesquisadores estavam em busca de uma técnica que fosse capaz de aumentar a condutividade elétrica de materiais poliméricos, sem comprometer suas propriedades mecânicas e térmicas. Eles tinham como intenção substituir os processos trabalhosos que eram empregados, até então, na fabricação de semicondutores. Já se sabia que a exposição de materiais poliméricos ao laser produzia estruturas mecânicas altamente definidas. Tendo isso em vista, SCHUMANN, SAUERBREY & SMAYLING, (1991) começaram a investigar como a irradiação ultravioleta alterava a condutividade desses materiais. Para isso, o polímero poliimida foi irradiado com um laser KrF (fluoreto de criptônio), de comprimento de onda de 248 nm e, sem seguida, sua condutividade foi medida. A exposição do filme à irradiação ultravioleta formou regiões escuras eletricamente condutoras

com uma condutividade aproximadamente 15 vezes maior que o substrato do polímero não irradiado. Os autores atribuíram esse aumento na condutividade do material à formação de grafite, no entanto, excetuando a análise de condutividade elétrica, nenhuma outra caracterização que comprovasse a sua formação foi realizada (SCHUMANN; SAUERBREY; SMAYLING, 1991).

Em um trabalho bastante semelhante realizado por PHILLIPS et al. (1993), os autores deram início a caracterização do material condutor formado na superfície dos polímeros quando expostos ao laser ultravioleta. Para isso, eles fizeram uso das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e da análise exploratória aplicada a espectros de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR). Por meio dessas análises, pode-se verificar que ocorria a formação de aglomerados de carbono na região exposta ao laser. Ainda no mesmo ano, o trabalho de GU (1993) complementou essas informações utilizando a espectroscopia Raman. Os espectros das áreas expostas ao laser forneceram evidências diretas de que o material continha carbono grafítico e amorfo, visto que foram identificadas as bandas características desse material, conhecidas como band D e banda G, por volta de 1336 e 1593 cm^{-1} , respectivamente.

Alguns anos mais tarde, o grafeno, um alótropo do carbono grafítico, passou a chamar a atenção dos pesquisadores para a obtenção de materiais condutores, que passaram a investigar a técnica de irradiação à laser para a obtenção de materiais à base de grafeno.

2.3.1 Gravação à laser de CO₂ para a obtenção de materiais a base de grafeno

O termo grafeno é usado quando temos uma única camada de átomos de carbono sp^2 hibridizados e densamente empacotados em uma estrutura hexagonal (tipo favo de mel). Ele é a unidade estrutural básica de diferentes nanoestruturas de carbono, como nanotubos de carbono, fulerenos e grafite (MELO DE LIMA et al., 2018; NOVOSELOV et al., 2004)). Presumia-se, até o ano de 2004, que o próprio grafeno plano não exista no estado livre. No entanto, em uma pesquisa publicada por NOVOSELOV e colaboradores em 2004, trabalho que rendeu aos autores o prêmio Nobel da física em 2010, obteve-se, pela primeira vez, folhas grafíticas com apenas algumas camadas atômicas de espessura (incluindo grafeno de camada única) por meio da técnica de esfoliação mecânica. Grafeno de alta cristalinidade, como o que foi obtido pelos pesquisadores, é a chave para a obtenção das propriedades superlativas desse material, incluindo elevada transparência óptica ($\sim 98\%$) (FALKOVSKY, 2008) excelente condutividade térmica ($\sim 5 \text{ kW mK}^{-1}$) (BALANDIN et al., 2008), alta resistência mecânica (1

Tpa) (LEE et al., 2008) e grande área superficial específica ($\sim 2630 \text{ g m}^{-2}$) (ZUTTEL et al., 2004).

Desde sua descoberta, muitos cientistas foram atraídos por essas propriedades, o que fez com que o grafeno passasse a ser estudado em diversos campos. A partir de então, outras técnicas de obtenção do grafeno surgiram, além da esfoliação mecânica, tais como deposição química a vapor (BAE et al., 2010) e redução do óxido de grafeno (WANG et al., 2010). No entanto, as vias de obtenção acima mencionadas envolvem altas temperaturas ou rotas sintéticas químicas com diversas etapas, o que acaba diminuindo o grande potencial de aplicação que esse material apresenta. Dessa forma, a síntese direta de materiais à base de grafeno, em especial em uma abordagem escalonável, passou a ser um objetivo a se alcançar. Tendo isso em vista e levando-se em consideração as vantagens já discutidas da exposição de materiais poliméricos ao laser para a obtenção de materiais gráfiticos, a técnica de irradiação a laser passou a ser explorada para a fabricação escalonável de dispositivos baseados em grafeno.

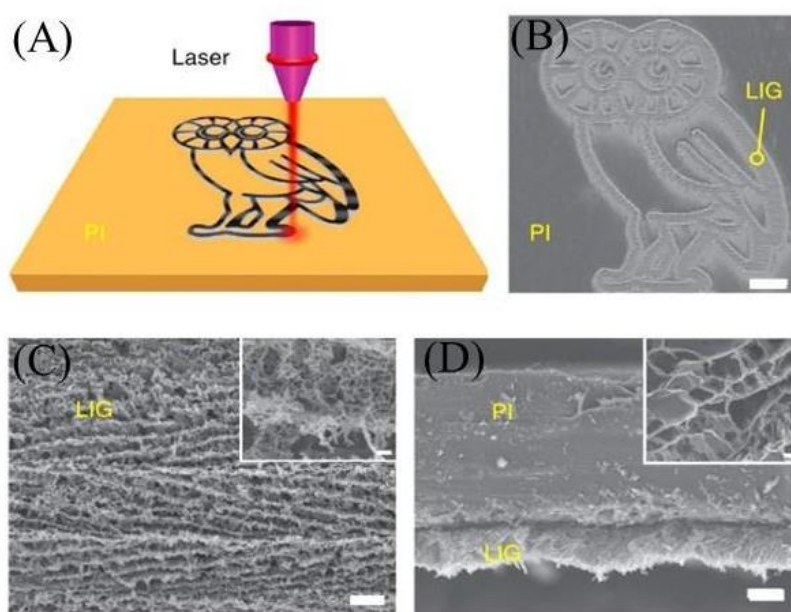
É sabido que a conversão direta de carbono sp^3 para carbono sp^2 , e a remoção dos grupos funcionais contendo oxigênio, são dois processos que acontecem durante o processo de redução a laser (WAN et al., 2018). Porém, o mecanismo para a produção de materiais a base de grafeno irá depender fortemente do comprimento de onda do laser aplicado, o que irá determinar o envolvimento de efeitos fotoquímicos e/ou fototérmicos no processo de redução induzido a laser. Diferentes lasers com variados comprimentos de onda, como o laser ultravioleta (248 nm), semiconductor (405 nm), infravermelho próximo (1,064 nm) e laser de CO_2 (10,6 μm) foram reportados na literatura para a produção de materiais a base de grafeno por meio da técnica de gravação a laser (KURRA et al., 2019).

O laser CO_2 é altamente energético e pode transformar fontes naturais de carbono em materiais baseados em grafeno. Por apresentar essa capacidade, os materiais obtidos por meio dessa técnica passaram a ser conhecidos como “grafeno induzido a laser” (*laser-induced graphene - LIG*), “grafeno gravado à laser” (*laser-scribed graphene - LSG*) ou ainda “grafeno derivado do laser” (*laser-derived graphene LDG*). Nesse caso, usa-se a nomenclatura grafeno, apesar de não se tratar estritamente de uma única, ou algumas, folha de rede de carbono sp^2 (KURRA et al., 2019; LIN et al., 2014)

O grupo de pesquisa de Tour et al. (2014) foram os pioneiros na produção de filmes baseados em grafeno a partir de um polímero comercial por meio da indução ao laser de CO_2 (**Figura 7**). Para isso, eles irradiaram um filme de poliimida usando o laser de CO_2 e, com isso, obtiveram padrões gráfiticos condutores em camadas 3D porosas na superfície do polímero isolante. O processo de obtenção do material envolveu apenas uma etapa e ocorreu sob

condições ambientes, mostrando que a indução a laser em materiais poliméricos proporciona uma abordagem simples, de alta precisão, fácil processamento e de baixo custo para a obtenção de grafeno poroso.

Figura 7. Esquema do processo de síntese de LIG a partir de poliimida

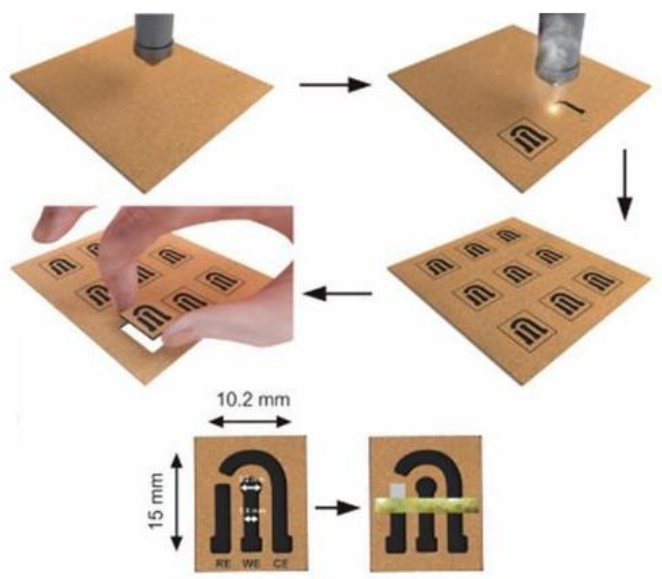


Fonte: (LIN et al., 2014)

Á partir dos trabalhos do grupo de pesquisa de Tour et al. (2014), a indução a laser passou a ser amplamente empregada para a obtenção de materiais a base de grafeno, tendo aplicações em diversas áreas, como na fabricação de supercapacitores (LI et al., 2016b; PENG et al., 2015), eletrocatalisadores (ZHANG et al., 2018) sensores (BARBER et al., 2021; LUO; HOANG; LIU, 2016) e biosensores (XUAN et al., 2018b; ZAHED et al., 2020). No entanto, até então, essa técnica era limitada ao uso da poliimida como precursor para a formação de LIG.

Em um trabalho publicado por DE ARAUJO et al. (2017) demonstrou-se, pela primeira vez, o uso da técnica LIG em substratos de papel. Para isso, eles utilizaram um papel cartão de gramatura 665 g m^{-2} e otimizaram os parâmetros do laser de CO_2 para preservar a estrutura do papel. A otimização dos parâmetros se mostrou um fator determinante para o sucesso na obtenção de grafeno poroso por indução a laser, pois a velocidade e a força adequada promoveram a formação de grafeno e parâmetros diferentes formaram grafite. Dessa forma, os autores mostraram ser possível obter caminhos condutores à base de grafeno em substratos de papel de uma maneira rápida e eficiente, sem ser necessário controlar as condições atmosféricas (**Figura 8**).

Figura 8. Representação esquemática o processo de fabricação de eletrodos em substrato de papel utilizando a técnica de gravação a laser



Fonte: (DE ARAUJO et al., 2017)

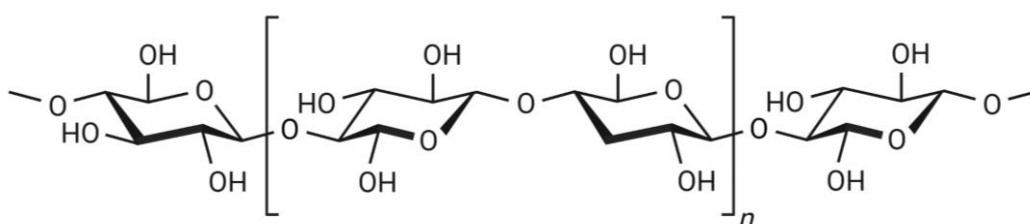
Comparativamente à poliimida, que até então era o polímero mais empregado para obtenção de grafeno induzido a laser, a adoção do papel apresenta um leque de novas oportunidades para a geração de materiais à base de grafeno a partir de fontes renováveis. Esta abordagem, além de oferecer uma opção mais econômica para a produção de LIG, emerge como uma alternativa promissora para a construção de dispositivos eletroquímicos baseados em papel. Esse potencial despertou interesse na pesquisa sobre o uso de materiais celulósicos como substrato para obtenção de grafeno e desenvolvimento de novos eletrodos, visando explorar suas vantagens em termos de custo, disponibilidade e sustentabilidade.

2.4 CELULOSE BACTERIANA

A celulose ((C₆H₁₀O₅)_n) é o polímero de ocorrência natural mais abundante na biosfera, a qual pode ser encontrada em uma ampla variedade de organismos vivos, como plantas, animais marinhos, algas, fungos, bactérias e invertebrados. Independente da sua fonte, a celulose pode ser caracterizada como um homopolímero de alto peso molecular composto por unidades anidras-D-glicose-β-1,4 ligados com alto nível de simetria em uma estrutura molecular anfifílica (**Figura 9**). As ligações de hidrogênio presente em sua estrutura podem ocorrer entre os grupos de hidroxilas das cadeias de celulose (ligações de hidrogênio

intermoleculares) que conferem a propriedade cristalina da celulose e sua insolubilidade em água, ou podem ocorrer dentro das cadeias de celulose (ligações de hidrogênio intramoleculares), proporcionando sua rigidez (CHEN et al., 2021; KOIZUMI et al., 2008) Embora a celulose seja um produto vegetal bem conhecido e muito empregado, algumas bactérias ganharam atenção como uma fonte alternativa e sustentável de celulose (JANG et al., 2017).

Figura 9. Estrutura química da celulose.



Criado com Biorender

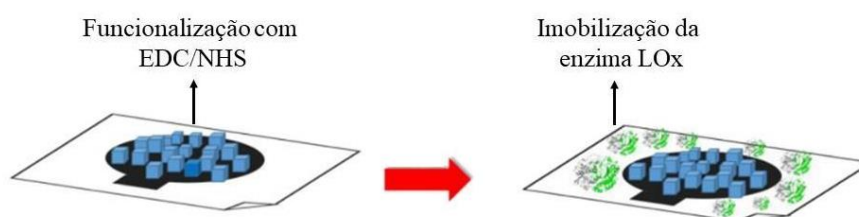
A celulose bacteriana (CB) é um polímero natural produzido extracelularmente por diversas espécies de bactérias, incluindo *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella* e *Sarcina ventriculi*. Dentre essas, as espécies mais eficientes e comumente empregadas na síntese de celulose são *Gluconacetobacter xylinum*, *Gluconacetobacter hansenii* e *Gluconacetobacter pasteurianus* (TORRES; ARROYO; TRONCOSO, 2019). A biossíntese da CB é um processo complexo que envolve a polimerização de unidades de glicose em cadeias lineares de β -1,4-glucanas. Essas cadeias são secretadas extracelularmente, formando e cristalizando-se em fitas hierarquicamente organizadas. Como resultado, forma-se uma rede tridimensional de nanofibras de celulose paralela à superfície do meio de cultura, que é líquido. Essa estrutura tem sua geometria definida por ligações de hidrogênio tanto intra quanto intermoleculares, e por interações de van der Waals. Estas ligações de hidrogênio conferem uma significativa estabilidade e resistência mecânica à sua estrutura (CZAJA et al., 2007; DOMENEGUETTI et al., 2023).

Diferentemente da celulose vegetal, que é composta de lignina, hemiceluloses, pectina e apenas 40-70 % de celulose, a CB é composta de nanofibras de celulose pura e possui uma variedade de propriedades notáveis, como alta resistência à tração, estrutura de rede de nanofibras, alta capacidade de retenção de água, elevada cristalinidade, possibilidade de modificação dos poros, além da sua capacidade em ser sintetizada de acordo como as

necessidades específicas (tamanho, peso e espessura) (TORRES; ARROYO; TRONCOSO, 2019). As propriedades únicas da celulose bacteriana têm facilitado sua incorporação em uma gama diversificada de aplicações práticas, como no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis (AZEREDO et al., 2019), no campo biomédico para o tratamento de feridas (HORUE et al., 2020; SULAEVA et al., 2020), no desenvolvimento de dispositivos ópticos de elevada transparência (YANO et al., 2005) e na funcionalização de biossensores (LI et al., 2016a; LV et al., 2018; ZHANG et al., 2010) com o intuito de aprimorar a biocompatibilidade e auxiliar na imobilização eficaz das biomoléculas no eletrodo de trabalho.

O emprego da CB como substrato na fabricação de eletrodos foi explorado pela primeira vez no trabalho de GOMES et al (2020). Utilizando a técnica de impressão em tela, os pesquisadores conseguiram construir eletrodos sobre um filme fino de CB. Em um passo subsequente, procederam à imobilização da enzima lactato oxidase. Esta imobilização se destacou por ser realizada através da ligação covalente direta entre a biomolécula e o substrato de CB, diferenciando-se das técnicas convencionais que focam na superfície do eletrodo (conforme ilustrado na **Figura 10**). O eletrodo desenvolvido foi aplicado como sensor vestível. A proposta dos autores em utilizar a CB como substrato em plataformas de detecção emergiu como uma via promissora. Isso se deve, principalmente, às notáveis propriedades do material, como a excepcional resistência mecânica, inclusive em condições de umidade, e a sua acentuada biocompatibilidade, características que prenunciam o desenvolvimento de dispositivos vestíveis eficientes.

Figura 10. Esquema de ilustração da construção do biossensor no substrato de celulose bacteriana.



Fonte: Adaptado de (GOMES et al., 2020)

Recentemente, filmes de nanocelulose (material com propriedades semelhantes às da celulose bacteriana, mas obtido por uma via sintética diferente), começaram a ser estudados como precursores de materiais baseados em grafeno por meio da técnica de indução a laser de CO₂. Em um estudo publicado por LEE & JEON (2019), os autores investigaram a aplicação de filmes de nanocelulose, obtidos pela processo de oxidação da polpa de celulose branqueada,

como substrato no processo de indução a laser. Apesar de se tratar de um filme de baixa gramatura, a irradiação a laser levou a formação de carbono grafítico em sua superfície. Os autores atribuíram o sucesso do experimento à presença de sódio na estrutura da nanocelulose, o qual abaixou a energia de ativação na etapa de desidratação do material, tornando possível sua conversão em um material grafítico. No entanto, o estudo não englobou uma etapa de aplicação do material obtido.

Até o momento, não há relatos na literatura a respeito do uso da celulose bacteriana em combinação com a técnica de indução a laser para a formação de grafeno. Da mesma forma, a aplicação desse material em dispositivos para eletroanálise ainda não foi explorada, representando uma área promissora de pesquisa.

2.5 APLICAÇÃO DOS SENSORES ELETROQUÍMICOS PARA MONITORAMENTO DE FÁRMACOS

Diante do crescimento populacional acelerado e da rápida disseminação de doenças, observa-se um aumento significativo no consumo de drogas terapêuticas (medicamentos). A resposta no organismo para esses medicamentos pode variar consideravelmente entre diferentes indivíduos. Por isso, torna-se importante o monitoramento de sua eficácia e segurança, visando assegurar não apenas o efeito terapêutico desejado, mas também para prevenir e controlar possíveis efeitos adversos que esses medicamentos possam provocar no organismo. Este acompanhamento é fundamental para otimizar os resultados do tratamento e garantir a saúde do paciente (HITCHINGS, 2023). O monitoramento dessas drogas normalmente é feito mediante a regulação da sua concentração em fluidos biológicos, como urina e sangue (HAJIPOUR; ZAMANI; KARIMI-MALEH, 2023)

O Acetaminofeno (*N-acetil-p-aminofenol*), popularmente conhecido como Paracetamol, é um medicamento utilizado mundialmente. Ele é utilizado principalmente como analgésico (para alívio de dor) e antipirético (para redução da febre) e possui mínimas propriedades anti-inflamatórias. A eficácia analgésica do acetaminofeno (AC) está principalmente relacionada à inibição da enzima ciclo-oxigenase, que interfere na síntese de prostaglandinas, mas sem a ação analgésica dos opioides. Embora o AC seja considerado um medicamento seguro quando usado conforme sua prescrição, é indispensável seguir as diretrizes de dosagem específicas para cada grupo etário e não exceder as doses diárias recomendadas. O uso excessivo desse medicamento pode causar danos ao fígado e aos rins, devido à hepatotoxicidade e nefrotoxicidade, que pode levar à morte (DURASAMY et al.,

2023; TRETTIN et al., 2011). Isso pode acontecer porque o acetaminofeno é predominantemente metabolizado no fígado, sendo um dos principais metabólicos os conjugados de sulfato e glicuronídeo. Uma pequena fração desse medicamento é convertida em um metabólito alquilante altamente reativo. Esse metabólito é inativado pela glutatona reduzida, um antioxidante encontrado em nosso organismo, e é excretado na urina sob a forma de conjugados de cisteína e ácido mercaptúrico. Devido à depleção (diminuição) da glutatona, grandes doses de AC (em torno de 4 g/dia, a depender do organismo) podem causar necrose hepática aguda, visto que o metabólito reativo em excesso irá se ligar às estruturas das células hepáticas (DURASAMY et al., 2023; FORREST; CLEMENTS; PRESCOTT, 1982) .

Devido a importante aplicação do acetaminofeno em atender demandas relacionadas a doenças muito rotineiras, a implementação de um método analítico capaz de determinar a concentração desse medicamento em amostras biológicas de forma rápida e eficaz é fundamental, principalmente durante atendimentos médicos de emergência ou em locais remotos. Os métodos analíticos comumente empregados para a quantificação de acetaminofeno são técnicas sofisticadas e caras, como o GC-MS (cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massa), LC-MS (cromatografia líquida acoplada a espectroscopia de massa) e o HPLC (cromatografia líquida de alta resolução). Além do alto valor atrelado a essas técnicas laboratoriais, elas necessitam de pessoas qualificadas para seu manuseio e são incapazes de serem aplicadas para monitoramento local (DURASAMY et al., 2023; FORREST; CLEMENTS; PRESCOTT, 1982).

Os sensores eletroquímicos emergem como uma alternativa promissora às técnicas tradicionais anteriormente descritas. Como abordado ao longo deste texto, as técnicas eletroquímicas se destacam pela capacidade de fornecer respostas rápidas e altamente sensíveis. Além disso, são caracterizadas por baixos custos operacionais e a possibilidade de oferecer monitoramento em campo. A eletroanálise, como campo de estudo, está repleta de potenciais para avanços tecnológicos. Isso inclui tanto o desenvolvimento de novos materiais para uso em eletrodos de trabalho quanto a exploração de plataformas sensoras inovadoras. Um exemplo notável é a utilização de celulose bacteriana como substrato e a aplicação de laser de CO₂ na criação de dispositivos eletroquímicos avançados. Essas inovações têm aplicabilidade significativa na eletroanálise e na determinação analítica de medicamentos, abrindo caminhos para refinamentos e descobertas no campo da análise química.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Esse trabalho tem como objetivo a construção de um novo dispositivo analítico eletroquímico baseado em papel (*ePADs*) utilizando celulose bacteriana como substrato. Para a construção dos eletrodos, será empregada a técnica de gravação a laser, a qual permite a formação de caminhos condutores a base de grafeno diretamente no papel. Posteriormente, esse dispositivo eletroquímico será aplicado para o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para monitoramento de fármaco em matrizes biológicas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O projeto pode ser dividido em objetivos primários e secundários. Os objetivos primários envolvem as etapas de construção do eletrodo, assim como sua caracterização físico-química e eletroquímica. São elas:

- Aumentar a gramatura dos filmes finos de celulose bacteriana e investigar maneiras de modificar suas fibras, a fim de preparar um substrato que suporte as altas temperaturas do laser de CO₂;
- Encontrar os melhores parâmetros (força e velocidade do laser, além da distância entre o laser e o substrato) na cortadora a laser de CO₂ para obtenção de um material condutor que permita a construção do eletrodo;
- Investigar a estrutura e composição química do material obtido, após a indução a laser da celulose bacteriana, por meio de testes de caracterização físico-química (MEV, EDS, FTIR, TG, XPS, DRX e RAMAN);
- Construir os eletrodos na superfície do filme de celulose bacteriana de alta gramatura e empregar testes de reprodutibilidade, estabilidade e repetitividade, a fim investigar o desempenho do sensor desenvolvido. A técnica eletroquímica empregada nessa etapa será a voltametria cíclica e a espectroscopia de impedância;

Os objetivos secundários envolvem a aplicação sensor eletroquímico desenvolvido para a determinação analítica do acetaminofeno. São elas:

- Investigar, por meio da técnica de voltametria de onda quadrada, a capacidade do sensor desenvolvido em detectar o fármaco acetaminofeno;
- Conduzir uma investigação sobre como o pH do eletrólito de suporte afeta a atividade electrocatalítica do Acetaminofeno na superfície do eletrodo;
- Empregar testes de seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, além de curvas de calibração para validar o biossensor desenvolvido;
- Aplicar o sensor eletroquímico para a determinação analítica do acetaminofeno em amostras reais de urina. Para isso, o sensor foi submetido ao método de recuperação padrão, e a porcentagem de recuperação foi calculada.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 REAGENTES

A celulose bacteriana utilizada no presente trabalho foi obtida em colaboração com professor Dr. Hernane da Silva Barud, da startup de biotecnologia - BioSmart Nanotechnology LTDA - localizada na cidade de Araraquara/SP. Os reagentes fosfato de potássio monobásico monohidratado (99%), fosfato de potássio dibásico monohidratado (99%), hexacianoferrato de potássio (III) (99%), hexacianoferrato de potássio (II), cloreto de potássio (99%) e o fármaco acetaminofeno foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Todas as soluções foram preparadas com água de alta pureza (resistividade $> 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$). O ácido ascórbico (99%), a cafeína (99%) e o ácido úrico (99%), aplicados nos testes de seletividade, foram adquiridos da Synth.

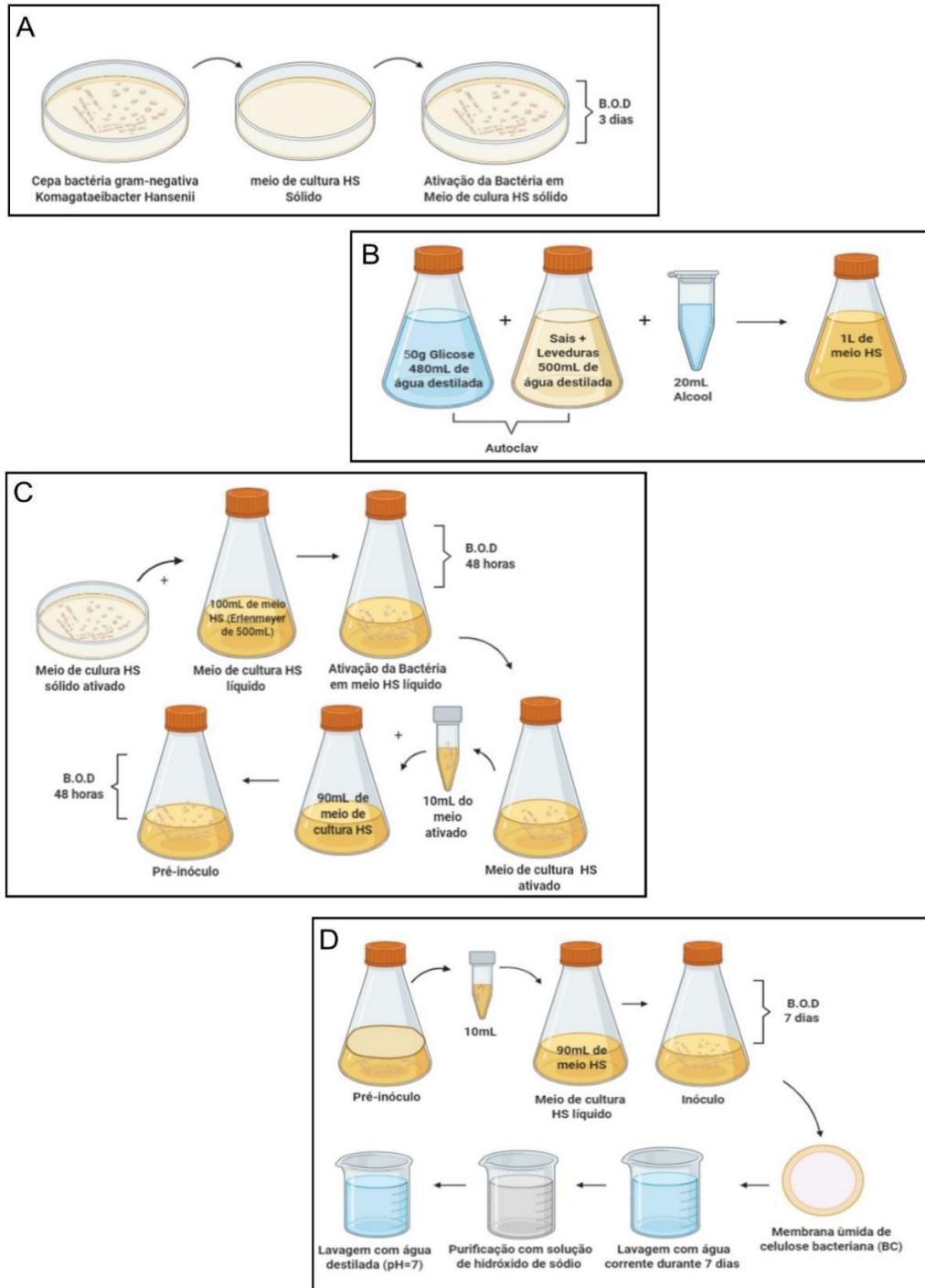
4.2 PRODUÇÃO DA MEMBRANA DE CELULOSE BACTERIANA

Utilizou-se como meio de cultura o meio ágar HS, desenvolvido por HESTRIN, ASCHNER & MAGER (1947), e cepa empregada foi a *AF1 Komagataeibacter rhaeticus*. Os instrumentos utilizados na produção de CB foram previamente esterilizados e todo manuseio realizado dentro da capela de exaustão empregou o uso do bico de Bunsen aceso, à fim de se evitar a contaminação do meio de cultura. Previamente ao início da produção de CB, o meio de cultura HS sólido foi preparado utilizando-se 20 g de D-glicopirranase, 5 g de extrato de levedura, 5 g de peptona, 2,7 g de Na_2HPO_4 , 1,16 g de ácido cítrico, 20 g de Ágar e 980 mL de água de purificada.

Para a produção da celulose bacteriana, primeiramente manteve-se a cepa em meio sólido ágar HS, em uma estufa B.O.D à 28°C , durante três dias para que houvesse o crescimento bacteriano (**Figura 11-a**). Posteriormente, a bactéria crescida em meio sólido foi semeada para o meio de cultura HS líquido. Para o preparo do meio de cultura HS líquido, a glicose (50 g de D-glicose) foi diluída em 480 mL de água purificada e transferida para um erlenmeyer de 1 L, separadamente dos sais (0,73 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 2 g de KH_2PO_4) e do extrato de levedura (4 g), que foram diluídos em outros 500 mL de água Mili-Q e transferidas para um segundo erlenmeyer. como mostra a **Figura 11-b**. Os erlenmeyers contendo as soluções foram então autoclavados por 20 min. Subsequentemente, as duas soluções foram misturadas e adicionou-se 20 mL de álcool P.A., totalizando 1L de meio de cultura. Após 48 h de ativação da cepa no meio HS líquido, mantido em B.O.D à 28°C , preparou-se o pré-inoculo (**Figura 11-c**). Para

isso, transferiu-se 10 mL do meio ativado para um erlenmeyer de 500 mL, contendo 90 mL do meio HS líquido, que também foi encubado a 28 °C por 48 h. Por se tratar de uma bactéria aeróbica, a qual necessita de oxigênio para fazer a biossíntese da celulose, é importante que o volume livre no recipiente seja quatro vezes maior que o volume ocupado pelo pré-inóculo. Posteriormente, preparou-se o inóculo, transferindo-se 10 mL do pré-inóculo para um erlenmeyer de 500 ml contendo 90 mL do meio líquido HS, que foi mantido na B.O.D à 28 °C por pelo menos 7 dias (**Figura 11-d**). Após o período de cultivo da CB, um biofilme de espessura variável foi produzido. Para a remoção do meio de cultura e para a irradicação da bactéria, a celulose bacteriana passou por um processo de purificação, onde as películas obtidas foram primeiramente lavadas abundantemente com água corrente e, posteriormente, aquecidas em uma solução aquosa de NaOH 1 mol L⁻¹ a 80 °C por 40 min. Por fim, os filmes foram lavados com água purificada para remoção do álcali (**Figura 11-d**).

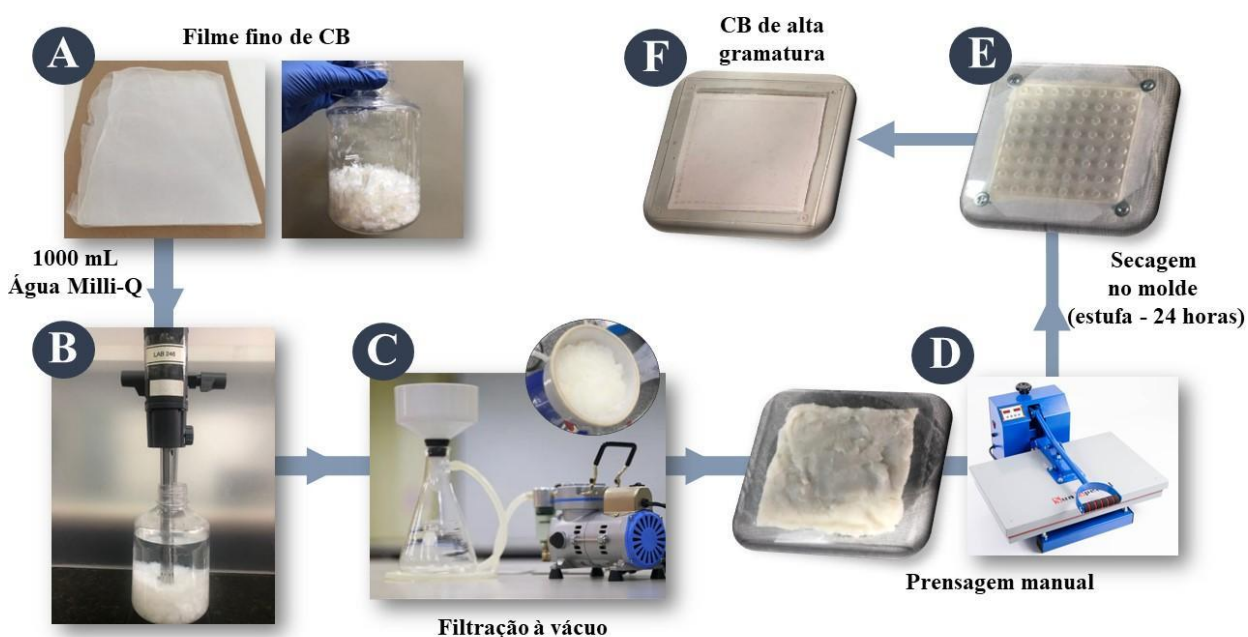
Figura 11 a) Ativação do meio de cultura HS sólido com a bactéria gram-negativa *Komagataeibacter hansenii*; (b) Preparação do meio de cultura HS líquido; (c) Ativação do meio de cultura líquido e preparo do pré-inóculo; (d) Preparo do inóculo, obtenção e purificação da celulose bacteriana.



4.3 AUMENTO DA GRAMATURA DO FILME DE CELULOSE BACTERIANA

Películas secas de celulose bacteriana, produzidas pelo método previamente descrito, foram utilizadas para o aumento da gramatura do filme. As películas secas de CB foram cortadas em pequenos pedaços (aproximadamente 5–10 mm), misturadas com 1000 mL de água purificada e então homogeneizadas por 30 min utilizando um dispersor (Ika T25 digital ultraturrax) até ocorrer a formação de um hidrogel. Este hidrogel foi filtrado a vácuo em um papel de filtro quantitativo de celulose de 125 mm de diâmetro (Unifil, C40 – faixa branca; filtros redondos de filtração média) com o auxílio de uma bomba de vácuo. Em seguida, removeu-se o bolo úmido de CB obtido do papel de filtro usado e o mesmo foi transferido para um molde de acrílico, previamente desenhado e cortado utilizando uma cortadora a laser, o qual tinha como função delimitar a área do filme (10 cm²) e evitar sua retração durante a secagem. Em seguida, o molde contendo a CB foi prensando entre dois papéis mata-borrões, ideais para retirada de umidade (dimensão da folha: 31 × 43; 180 g m⁻²) em uma prensa térmica manual até observar a completa compactação do material. Posteriormente, o filme produzido foi colocado em uma estufa de secagem de laboratório (Nova Ética) a 45 °C, por 24 h, para completa retirada da água. As etapas acima descritas são apresentadas na **Figura 12**. Ao fim do processo, obteve-se filmes de BC com gramatura entre 700 e 750 g m⁻².

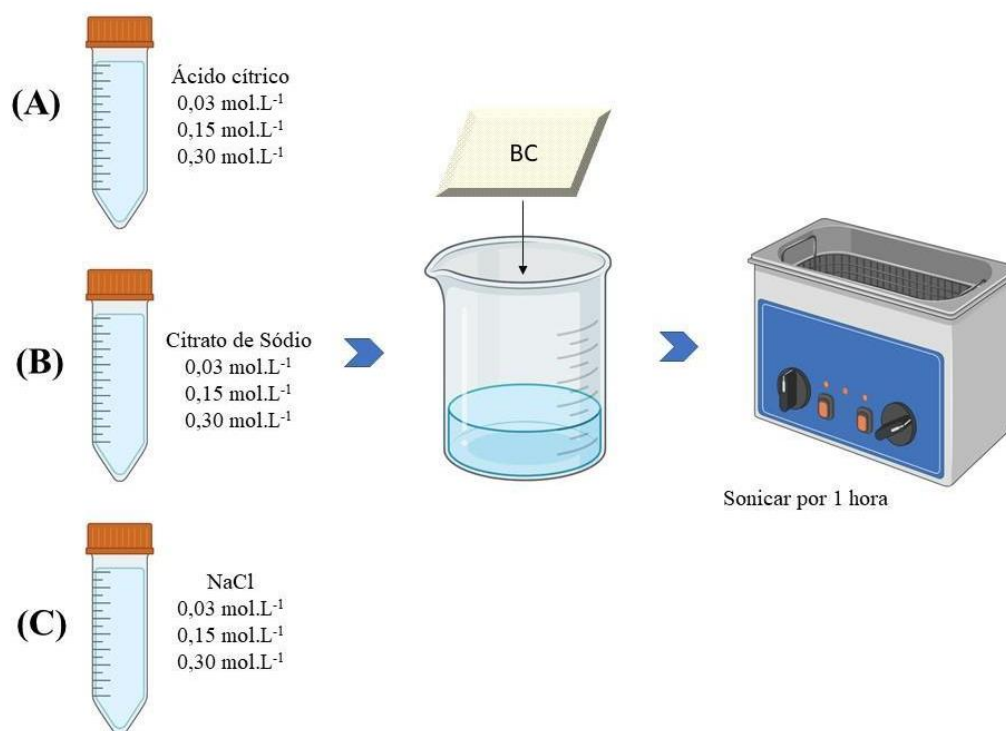
Figura 12 Processo para aumento da gramatura dos filmes finos de CB: (a) Corte do filme de CB em pequenos pedaços - aproximadamente 5 - 10 mm); (b) Adição de 1000 mL de água purificada e posterior trituração para formação do hidrogel; (c) Filtragem à vácuo para retirada do excesso de água adicionado; (d) Etapa de moldagem do filme utilizando o suporte de acrílico e subsequente prensagem na prensa manual, à fim de compactar o bolo úmido de CB; Em seguida, (e) o molde é fechado com o auxílio de parafusos e a CB é levada para secagem por 24 h em uma estufa; (f) Obtenção do filme de CB de alta gramatura.



4.4 MODIFICAÇÃO DO FILME DE CELULOSE BACTERIANA

Após a secagem do filme de celulose bacteriana previamente preparado no item 3.1 realizou-se, por meio do processo de sonificação, a impregnação de três diferentes compostos nas fibras de CB: o ácido cítrico ($C_6H_8O_7$), citrato de sódio ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$) e o cloreto de sódio (NaCl). Para cada composto foram preparadas três soluções em diferentes concentrações ($0,3 \text{ mol L}^{-1}$, $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,03 \text{ mol L}^{-1}$ em água purificada), a fim de se verificar como a concentração interferiria para uma impregnação homogênea nos filmes de CB. Para tanto, essas soluções foram transferidas (separadamente) para um béquer, juntamente com o filme de CB e levados para sonificação durante 1 h, como mostra a **Figura 13**. Posteriormente, o filme de CB foi removido do béquer e levado até a estufa de secagem de laboratório a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ até completa evaporação da água. Nessa etapa também se utilizou o molde de acrílico para evitar a retração do filme de CB.

Figura 13 Modificação dos filmes de celulose bacteriana por meio do processo de sonificação com (a) ácido cítrico em três diferentes concentrações (0,03; 0,15 e 0,3 mol L⁻¹); (b) Citrato de sódio em três diferentes concentrações (0,03; 0,15 e 0,3 mol L⁻¹); (c) Cloreto de sódio em três diferentes concentrações (0,03; 0,15 e 0,3 mol L⁻¹)



4.5 TESTES PRELIMINARES COM A CORTADORA A LASER

Os testes para gravação a laser na superfície do filme de celulose bacteriana foram conduzidos com um sistema de cortadora a laser CO₂ (Laser cutting *Kawai* 600w) e foram iniciados com o filme de celulose bacteriana puro, antes da modificação. Para isso, o filme previamente preparado no **item 4.2** foi exposto ao laser e os parâmetros velocidade, distância e potência, foram investigados. A escolha correta dos parâmetros do laser é um fator determinante na obtenção de material carbonáceo ao expor materiais celulósicos ao laser. Testes preliminares já haviam mostrado que valores de potência acima de 15% danificavam muito o material. Sendo assim, manteve-se o valor de potência constante em 12%, a distância entre o laser e o filme de CB em 11 mm e a variável foi a velocidade (60 a 5 mm s⁻¹), como mostra a **Tabela 1**. Posteriormente, o mesmo teste foi realizado com todos os filmes modificados (**item 4.3**). Por meio desse teste, foi possível verificar em quais filmes ocorre a formação de material carbonáceo após a gravação a laser.

Tabela 1. Parâmetros empregados na cortadora a laser de CO₂, (modo *engraving*), utilizando a celulose bacteriana como substrato

Distância (mm)	Potência (%)	Velocidade (mm s ⁻¹)
11	12	60
		50
		40
		30
		20
		15
		10
		5

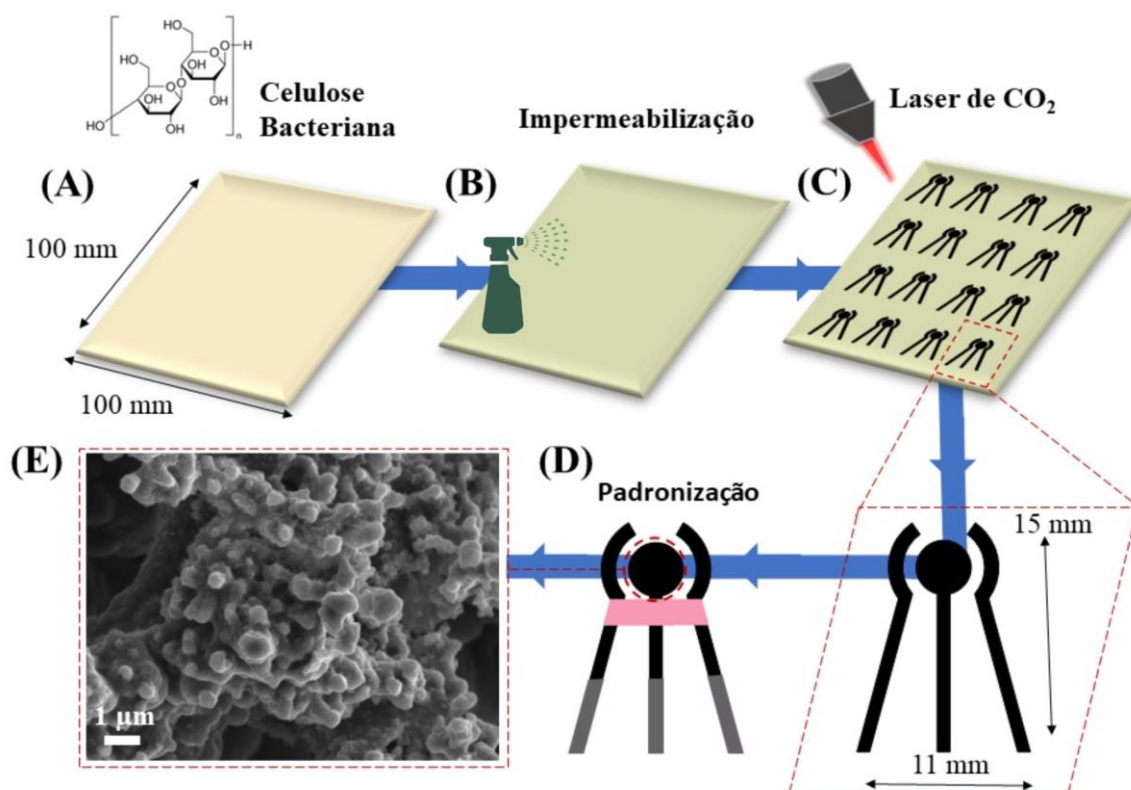
4.6 FABRICAÇÃO DOS DISPOSITIVOS ANALÍTICOS ELETROQUÍMICOS

Após os testes preliminares com a cortadora a laser, pode-se verificar em quais filmes houve a formação do material carbonáceo e seguiu-se com a gravação do eletrodo. Previamente a gravação do eletrodo, o filme de CB foi impermeabilizado com um *spray* impermeabilizante, que tinha como objetivo evitar a adsorção das soluções em posteriores análises eletroquímicas. Para isso, uma camada do *spray* foi depositada em ambos os lados do filme de CB de alta gramatura.

A gravação a laser dos eletrodos foi realizada diretamente na superfície do filme de CB, utilizando uma cortadora a laser de CO₂, sem que fosse necessário controlar as condições atmosféricas. Os melhores parâmetros, determinados no item 3.4. foram utilizados para a gravação a laser do eletrodo. O *layout* dos eletrodos, compreendeu um eletrodo de trabalho (ET) um eletrodo de referência (ER) e um eletrodo auxiliar (CE), o qual foi desenhado em um AutoCAD *software* (Autodesk). O padrão do eletrodo previamente desenhado no *Autocad* foi transferido para o *software* da cortadora a laser (*laser-cut*) e os melhores parâmetros ajustados.

Após obtenção dos eletrodos, uma área de delimitação foi criada usando um esmalte comum para definir as áreas do eletrodo e proteger a área de contato do eletrólito. Finalmente, para melhor estabilidade eletroquímica, tinta de prata foi pintada tanto nos contatos elétricos, sob o filme de carbono gravado. Na **Figura 14** pode-se ver o *layout* dos eletrodos e a ilustração de como a gravação a laser foi realizada.

Figura 14 Representação esquemática do processo de fabricação dos dispositivos eletroquímicos: (a) filme de BC após o aumento da gramatura; (b) etapa de impermeabilização com spray impermeabilizante; (c) gravação a laser dos eletrodos; (d) dimensionamento do eletrodo e sua etapa de padronização (delimitação da área usando esmalte, além da pintura dos contatos elétricos com tinta de prata); (e) Imagem de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução da área carbonácea/condutora.



4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

4.7.1 Microscopia Eletrônica de Alta Resolução (MEV-FEG)

A análise morfológica dos filmes desenvolvidos neste estudo foi conduzida no Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista (UNESP), localizado em Araraquara. Utilizamos um microscópio eletrônico de varredura de alta precisão com canhão de emissão por campo (*Field Emission Gun Scanning Electron Microscope* - FEG-SEM), modelo JEOL JSM-7500F, T-300 series. Este equipamento, operado pelo software PC-SEM versão 2.1.0.3, é dotado de detectores de elétrons secundários e retroespalhados, oferecendo imagens detalhadas. O microscópio foi ajustado para um feixe de elétrons de 2 kV durante as análises. Para otimizar a condutividade e a qualidade das imagens, as amostras foram revestidas com uma camada de

6 nm de carbono utilizando um sistema de revestimento BAL-TEC, modelo SCD-50. Esse sistema estava equipado com uma bomba de vácuo turbomolecular de alta eficiência, modelo EDWARDS T-STATION/75DX-NW40.

4.7.2 Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

As análises de Energia Dispersiva de Raios X (EDS) foram realizadas na Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI/IQSC/USP), empregando um sistema avançado EDX LINK ANALYTICAL, modelo Isis System Series 300. Este equipamento é equipado com um detector de SiLi Pentafet e uma janela ultrafina ATW II (*Atmosphere Thin Window*), que proporciona uma resolução de 133 eV a 5,9 keV e possui uma área de detecção de 10 mm². Para as análises, o sistema foi acoplado a um Microscópio Eletrônico ZEISS LEO 440, fabricado em Cambridge, Inglaterra. A calibração foi feita usando um padrão de cobalto (Co), com um feixe de elétrons de 20 kV, distância focal de 25 mm, *dead time* ajustado para 30%, corrente de 2,82 A e corrente do *probe* (I probe) de 2,5 nA. A área da amostra submetida à análise foi de 320 × 320 μm, permitindo uma investigação detalhada da composição química.

4.7.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas foram realizadas no Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista (UNESP), localizado em Araraquara, utilizando um equipamento de alta precisão da Mettler Toledo, modelo TG/DSC. Estas análises foram conduzidas sob uma taxa controlada de aquecimento de 10 °C min⁻¹, em uma atmosfera de nitrogênio com fluxo constante de 50 mL min⁻¹. O intervalo de temperatura estabelecido para as medições variou de 30 a 600 °C. Para essas análises, utilizou-se um cadinho de alumínio, garantindo a precisão e a integridade dos resultados obtidos. Este método permite uma análise detalhada das propriedades termogravimétricas das amostras em estudo.

4.7.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier de Refletância Total Atenuada (ATR-FTIR)

A caracterização detalhada da estrutura química tanto do filme de celulose bacteriana pura quanto dos filmes modificados foi realizada na Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI/IQSC/USP). Esta análise foi efetuada utilizando um espectrômetro avançado da Bruker, modelo 70, que está equipado com uma célula ATR (*Attenuated Total Reflectance*) Golden Gate horizontal de alta eficiência. O equipamento foi ajustado para uma resolução de 4 cm^{-1} , realizando 16 varreduras. Os espectros infravermelhos foram coletados na faixa de 3500 a 500 cm^{-1} , empregando o modo de transmissão. Este procedimento permite uma análise abrangente das estruturas moleculares das amostras.

4.7.5 Espectroscopia Raman

As análises espectroscópicas Raman foram conduzidas na Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI/IQSC/USP), utilizando o equipamento LabRam HR Evolution da Horiba. Para estas análises, empregou-se uma linha de laser de 633 nm , ajustada para uma potência de 50% , garantindo uma excitação ótima para as amostras. O espectro foi coletado numa ampla faixa de 50 até 4000 cm^{-1} , permitindo uma análise detalhada das características vibracionais das amostras.

4.7.6 Espectroscopia de Fotoelétrons - XPS

As análises de Espectroscopia de Fotoelétrons de Raios-X (XPS) foram conduzidas no Laboratório de Nanomateriais e Cerâmicas Avançados (NACA), utilizando um espectrômetro de ponta ScientaOmicron ESCA+. Este equipamento está equipado com um analisador hemisférico de alto desempenho (EA 125), configurado para uma energia de passagem de 30 eV . A fonte de excitação utilizada foi uma radiação monocromática $\text{Al K}\alpha$, com energia de fóton de $1486,6\text{ eV}$. Durante as análises, a câmara de ultra-alto vácuo (UHV) manteve uma pressão operacional aproximada de $2 \times 10^{-9}\text{ mbar}$. Para as medições, utilizaram-se passos de energia de $0,5\text{ eV}$ para os espectros *survey* e de $0,05\text{ eV}$ para os espectros de alta resolução. Um neutralizador de cargas foi empregado durante as análises para prevenir o acúmulo de cargas na superfície das amostras. A calibração energética baseou-se no pico de C 1s , fixado em $284,8\text{ eV}$. Os dados coletados foram analisados com o auxílio do software CasaXPS, facilitando a interpretação dos resultados.

4.7.7 Ângulo de contato

A análise do ângulo de contato foi realizada no instituto de Física de São Carlos, no laboratório de polímeros, utilizando uma câmera KS CAM 200, acoplada ao computador. Em uma seringa, adiciona-se água purificada que, manualmente, é dosada na ponta da seringa. Com um clique, essa gota é depositada na superfície sólida, ao mesmo tempo que várias fotos são registradas. Por fim, escolhe-se a foto onde a gota está mais estável e realiza-se a medida do ângulo de contato.

4.7.8 Difração de Raio X - DRX

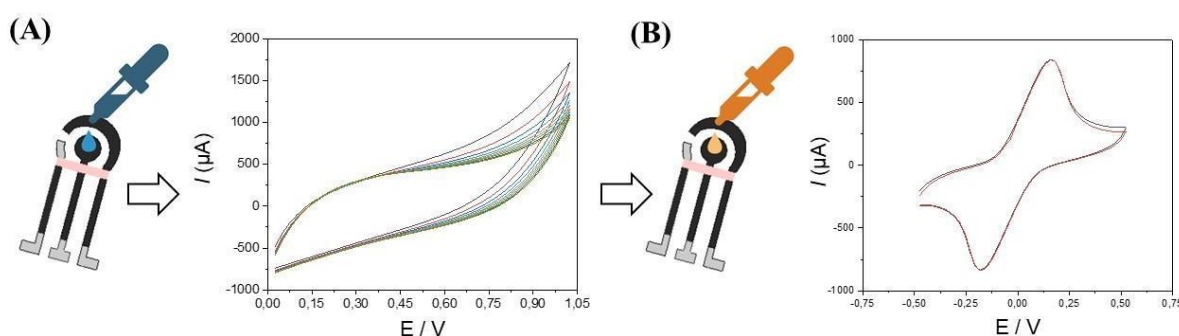
As medições de difração de raios-X foram efetuadas na Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI/IQSC/USP). Para estas análises, utilizou-se um difratômetro de alta precisão da Bruker, modelo D8 Advance. Este equipamento estava equipado com uma fonte de radiação de cobre (Cu) com comprimento de onda de $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$. Além disso, contava com um detector do tipo PSD (*Position Sensitive Detector*), proporcionando uma leitura precisa e detalhada. O difratômetro operou sob condições otimizadas de 40 kV e 40 mA. As medidas foram realizadas em um intervalo angular de 5 a 70 graus, com um passo incremental de 0,02 graus e um tempo de irradiação de 0,5 segundos por passo. Este procedimento assegura uma coleta de dados abrangente e detalhada, crucial para uma análise precisa da estrutura cristalina das amostras.

4.7.9 Caracterização Eletroquímica

A avaliação do desempenho eletroquímico dos eletrodos gravados à laser foi efetuada por meio das técnicas de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica. Inicialmente, os sensores passaram por um pré-tratamento eletroquímico, exemplificado na **Figura 15-a**. Este pré-tratamento foi realizado aplicando a voltametria cíclica, que operou em uma faixa de potencial de -0,5 a +0,1 V e a uma taxa de varredura de 100 mV s^{-1} . A solução utilizada para o pré-tratamento foi o ácido sulfúrico, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Esse passo é crucial para garantir a precisão e a consistência nas medições subsequentes. Para os experimentos de caracterização eletroquímica, enfocando reprodutibilidade, estabilidade e repetitividade (ilustrados na **Figura 15-b**), foi utilizada uma solução de 5 mmol L^{-1} contendo uma mistura de ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) e ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) em KCl $0,5$

mol L⁻¹. As medições foram realizadas com varreduras de potencial de -0,5 a +0,5 V a uma taxa de 50 mV s⁻¹. A espectroscopia de impedância eletroquímica foi conduzida utilizando a mesma solução redox. Neste procedimento, aplicou-se uma perturbação senoidal de 10 mV sobre o potencial de circuito aberto (OCP) em uma faixa de frequências de 10.000 Hz a 0,01 Hz. Todas as medições e aquisições de dados foram realizadas com o potenciostato Autolab PGTAT302 (Eco Chimie, Holanda), controlado pelo *software* NOVA 2.1.5. Os diagramas de Nyquist obtidos foram analisados utilizando-se o mesmo software. Adicionalmente, foi conduzido um estudo sobre a influência da velocidade de varredura na resposta eletroquímica dos sensores. Para isso, as velocidades de varredura foram variadas de 125 a 300 mV s⁻¹, empregando novamente a solução de 5 mmol L⁻¹ do par redox ferri/ferrocianeto de potássio em KCl 0,5 mol L⁻¹.

Figura 15. (a) Pré-tratamento eletroquímico com ácido sulfúrico (0,5 mol L⁻¹) aplicando a técnica de voltametria cíclica (b) voltamograma obtido quando aplica-se a sonda eletroquímica de ferricianeto de potássio/ ferrocianeto de potássio diluída em KCl 0,5 mol L⁻¹ e um potencial de -0,5 a +0,5 V



4.7.10 Estudo do pH e investigação da resposta eletroquímica do sensor CB-LIG para a determinação analítica do acetaminofeno

Inicialmente, investigou-se do pH do eletrólito de suporte, que neste estudo foi o tampão fosfato. O pH do tampão fosfato foi variado de 3 a 8 para determinar as condições ótimas. Durante este processo, a concentração de acetaminofeno foi mantida constante em 100 μmol L⁻¹. Posteriormente, para estabelecer a curva analítica, preparou-se soluções de paracetamol em tampão fosfato com concentração de 0,1 mol L⁻¹, ajustando o pH para o valor ideal identificado na fase anterior. A concentração de paracetamol nas soluções foi variada entre 10 e 85 μmol L⁻¹. As análises eletroquímicas foram conduzidas utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. Os parâmetros aplicados foram criteriosamente escolhidos: uma faixa de potencial

de -0,5 a +1,0 V, um potencial de passo de 5 mV, uma amplitude de modulação de 75 mV, uma frequência de 10 Hz, e uma taxa de varredura de 50 mV s⁻¹. Esses parâmetros foram otimizados para garantir a precisão e eficácia das medições eletroquímicas.

4.7.11 Estudo de seletividade e investigação da aplicabilidade do sensor BC-LIG em amostras reais de urina

A avaliação da seletividade do dispositivo eletroquímico foi realizada por meio da análise da resposta do sensor frente a diferentes substâncias, especificamente ácido ascórbico, cafeína e ácido úrico. Para isso, soluções destas substâncias foram preparadas utilizando tampão fosfato com um pH ajustado para 6,0, cada uma com uma concentração de 100 µmol L⁻¹. Em seguida, a aplicabilidade prática do dispositivo eletroquímico baseado em papel foi examinada em amostras reais de urina. Neste contexto, utilizou-se o método analítico de adição padrão, que consiste na adição de uma concentração conhecida de analito à matriz biológica, neste caso, a urina. Para atenuar possíveis interferências causadas pela complexidade da matriz da urina, a amostra foi diluída em uma proporção de 1000 vezes em tampão fosfato. Para as medições eletroquímicas, foram empregados os mesmos parâmetros estabelecidos anteriormente na fase de determinação de acetaminofeno. Esses parâmetros incluíram uma faixa de potencial entre -0,5 e +1,0 V, um potencial de passo de 5 mV, uma amplitude de modulação de 75 mV, uma frequência de 10 Hz e uma taxa de varredura de 50 mV s⁻¹.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OBTENÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA

Os filmes de celulose bacteriana utilizadas no presente trabalho foram produzidas em parceria com uma startup de biotecnologia (BioSmart) localizada em Araraquara e sob a administração do Prof. Dr. Hernane Barud, colaborador do nosso projeto. O processo de produção da CB adotado pela startup é um dos mais difundidos na literatura, o qual ocorre em cultura estática utilizando-se a bactéria *gram-negativa Komagataeibacter hansenii* em meio de cultura ágar Hestrin e Schramm (HS). O meio de cultura HS tem a glicose como fonte de carbono e precursora da biossíntese do biopolímero, e o extrato de levedura atua como fonte de nitrogênio (CAMPANO et al., 2016; SONG; KIM, 2019). As bactérias do gênero *Komagataeibacter* são amplamente reconhecidas como organismos modelos cruciais para o

estudo da síntese de celulose bacteriana. Estes microrganismos, caracterizados por serem não patogênicos e estritamente aeróbicos, destacam-se por sua habilidade notável em produzir celulose na forma de uma película fina na interface líquido-ar do meio de cultivo. Esta propriedade torna o gênero *Komagataeibacter* fundamental para pesquisas na área de microbiologia e biotecnologia, especialmente no que tange à produção e ao estudo das características da celulose bacteriana (DUDMAN, 1960; IYER et al., 2010)

A biossíntese da CB é um processo realizado por bactérias através da fermentação. Durante este processo, os microrganismos metabolizam os açúcares presentes no meio de cultura, como a glicose, resultando na formação de celulose. Este processo de biossíntese ocorre entre a membrana externa e a membrana citoplasmática dos micro-organismos. Uma vez fora da célula, as cadeias de celulose se interligam através de pontes de hidrogênio, formando fibras, como ilustrado na **Figura 16**. Com o tempo, estas fibras acumulam-se, formando uma membrana espessa e gelatinosa de celulose na superfície do meio de cultura. Este fenômeno é fundamental para a compreensão da dinâmica de produção de celulose por esses organismos (CAMPANO et al., 2016).

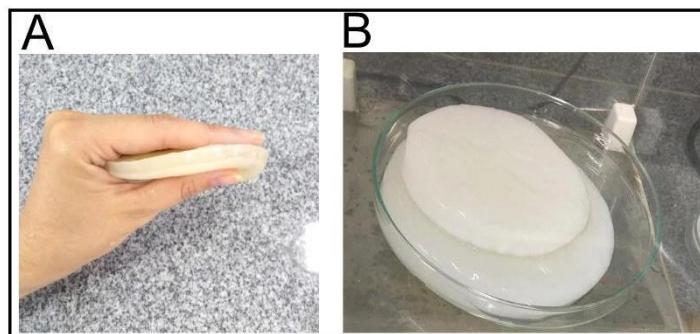
Figura 16. Microscopia eletrônica de transmissão apresentando bactéria de *K. hansenii* produzindo microfibras de celulose.



Fonte: (HIRAI; TSUJI; HORII, 2002)

A **Figura 11**, apresentada na metodologia, demonstrou todas as etapas envolvidas no processo produtivo da celulose bacteriana, que dura em torno de 3-4 semanas. Já na **Figura 17** temos a imagem real da CB úmida que foi obtida nesse processo, sendo apresentada antes (a) e após (b) a etapa de purificação. Com aproximadamente 1 L de meio de cultura, pode-se produzir 8 membranas de CB, como as mostradas na **Figura 17**, levando-se em consideração que 100 mL são utilizados para a ativação do meio de cultura e outros 90 mL para o preparo do pré-inóculo.

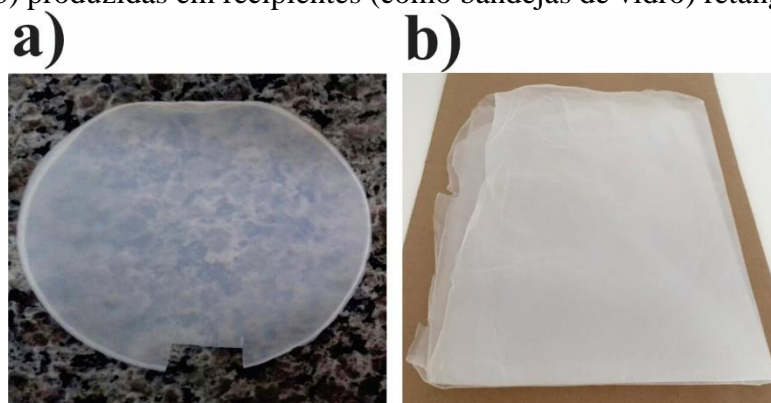
Figura 17. Fotografias das membranas de CB produzidas em cultura estática, utilizando-se o meio de cultura ágar Hestrin e Schramm (HS) e a bactéria *gram-negativa Komagataeibacter hansenii* (A) antes de passar pelo processo de purificação (solução aquosa de NaOH 1 mol L⁻¹ a 80 °C por 40 min) para retirada do meio de cultura e irradiação da bactéria e (B) após o processo de purificação.



Fonte: As fotografias foram retiradas no laboratório de biopolímeros e biomateriais (BioPolMat) do professor Dr. Hernane Barud, localizado na Uniara (Universidade de Araraquara), em Araraquara-SP.

A membrana de CB possui uma alta capacidade de retenção de água (alta hidrofiliabilidade) devido a abundância de grupos hidroxila (-OH) presente em sua estrutura (SONG; KIM, 2019). Seu teor de água equivale a 90% ou mais da composição do biofilme de CB produzido (KLEMM et al., 2005). Após a remoção completa da água por secagem em B.O.D a 28 °C (para evitar contaminação), a celulose bacteriana forma um filme de espessura bem fina, como mostra a **Figura 18-a**. As membranas de CB enviadas pela BioSmart para o desenvolvimento do projeto já haviam passado pelo processo de secagem. Vale ressaltar que as películas úmidas apresentadas na **Figura 17** foram produzidas em um erlenmeyer e, portanto, possuem uma forma arredondada. No entanto, a CB pode ser produzida em qualquer recipiente, buscando-se o formato desejado. Na **Figura 18-b**, por exemplo, temos um filme de celulose bacteriana retangular, que se aproxima ao formato de uma folha A-4.

Figura 18. Fotografias das membranas de CB após secagem (B.O.D a 28 °C), sendo a fotografia (a) de uma amostra produzida em erlenmeyer e, portanto, apresenta um formato arredondado e (b) produzidas em recipientes (como bandejas de vidro) retangulares.



Devido às altas temperaturas que o laser de CO₂ pode alcançar (acima de 2500 °C), a gramatura dos materiais celulósicos que são expostos a gravação a laser é um fator importante a ser considerado. A pirólise deve acontecer apenas na superfície do substrato, sem que ele seja danificado, objetivo que acaba sendo difícil de alcançar em materiais de espessura mais fina. Dessa forma, implementou-se um protocolo para aumentar a espessura do filme de celulose bacteriana, de forma com que a CB fosse capaz de aguentar as altas temperaturas do laser de CO₂ e possa ser transformada em grafeno.

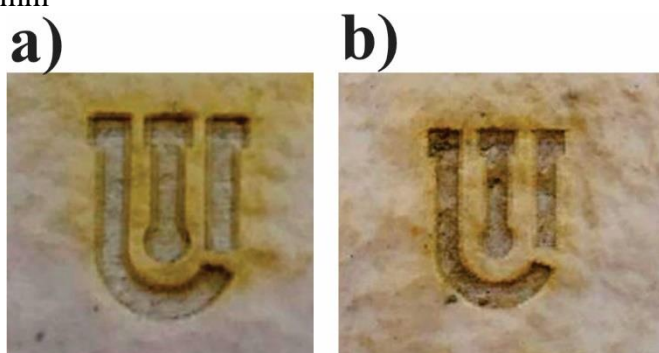
5.2 AUMENTO DA GRAMATURA DO FILME DE CELULOSE BACTERIANA E TESTES PRELIMINARES NA CORTADORA A LASER

Os testes foram iniciados adaptando-se a metodologia proposta por MAUTNER et al., (2015) para a produção do que chamaremos de *nanopaper* de celulose bacteriana e as etapas envolvidas são mostradas detalhadamente na metodologia (**Figura 12**). Explicando sucintamente, os filmes finos de celulose bacteriana foram picados em pequenos pedaços (aproximadamente 5–10 mm) e foram triturados, como o auxílio de um triturador e adicionando-se 1000 mL de água purificada, até a formação de um hidrogel. O hidrogel obtido foi filtrado a vácuo para a remoção da água em excesso e, subsequentemente, foi posicionado em um molde de acrílico (10 cm²) e prensado com uma prensa manual. Após a secagem desse material em uma estufa a 45 °C, obteve-se o *nanopaper* de CB com gramatura em torno de 750 – 800 g m⁻². Para sabermos a quantidade correta de filmes secos de celulose bacteriana que precisaríamos utilizar para produzir o *nanopaper* de alta gramatura, estipulou-se uma massa de

aproximadamente 8.5 g de CB (levando-se em consideração a perda de material durante o processo de aumento de gramatura).

Após a obtenção de *nanopaper* de CB que suportasse as altas temperaturas do laser, iniciou-se os testes preliminares para a gravação do eletrodo na superfície da CB pura e o resultado obtido é mostrado na **Figura 19**.

Figura 19. Testes para formação de caminhos condutores via indução à laser no filme de celulose bacteriana pura, de alta gramatura (750 g m^{-2}), aplicando a cortadora a laser de CO_2 nos parâmetros: (a) potência 12%, velocidade 10 mm s^{-1} e distância entre o substrato e o bico do laser de 11 mm (b) potência 12%, velocidade 15 mm s^{-1} e distância entre o substrato e a ponta do laser de 11 mm



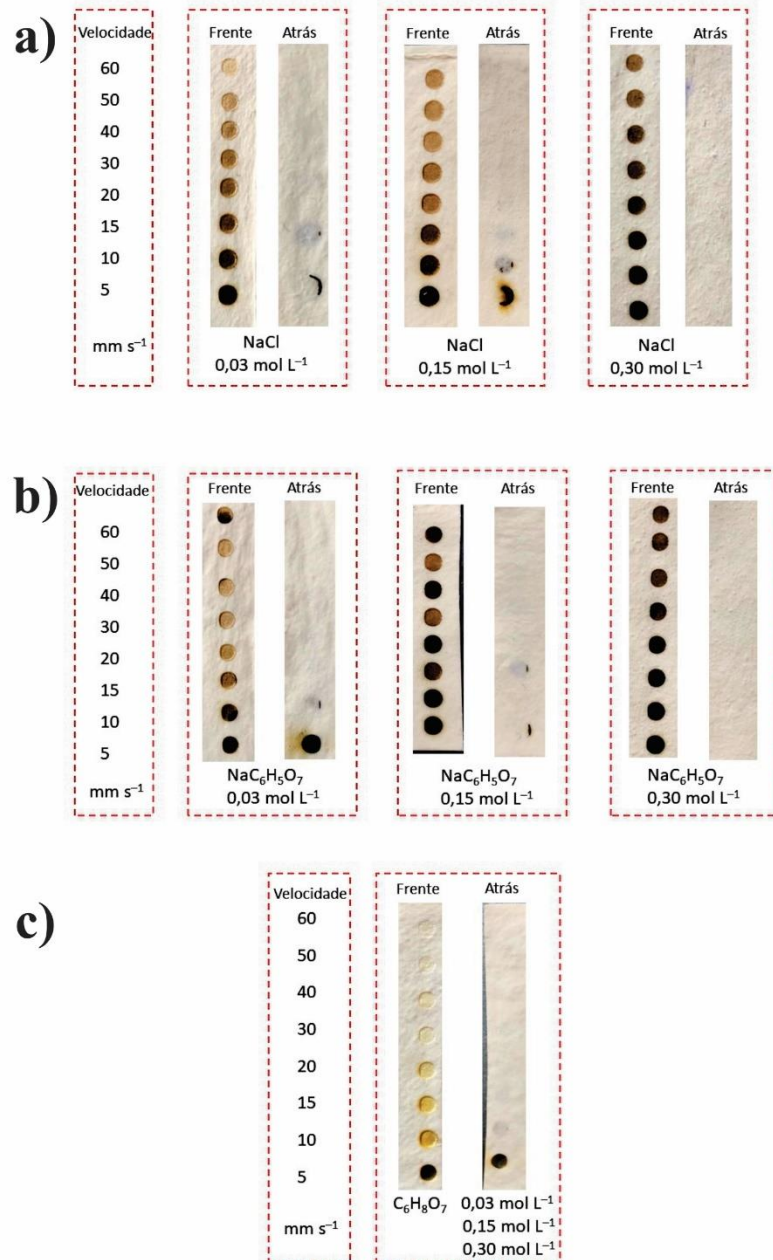
Como podemos observar, o filme de celulose bacteriana puro não foi capaz de formar material carbonáceo ao ser exposto ao laser de CO_2 , mesmo variando todos os parâmetros apresentados na **Tabela 1**. Como o filme de CB é um material puro, sem a presença lignina, hemicelulose, ou outros compostos químicos que estão presentes em papéis comerciais, a conversão desse substrato em *LIG* pode ser mais complicada. Isso acontece porque, quando os carboidratos, como a celulose, são expostos a altas temperaturas, eles começam a se decompor em levoglucosan, que posteriormente se decompõe em compostos voláteis (CHYAN et al., 2018) o que dificulta a formação do material carbonáceo. Uma das maneiras de contornar esse problema é modificando o filme de celulose bacteriano com compostos que permitam a desidratação mais lenta da celulose, e que ajudem a formação de materiais gráfiticos durante sua exposição ao laser.

5.3 MODIFICAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS FILMES DE CELULOSE BACTERIANA

Em um trabalho recente publicado na literatura, os autores notaram que a presença do sódio nas nanofibras de celulose desempenha um papel importante na obtenção de materiais gráfiticos. O sódio abaixa a energia de ativação na etapa de desidratação e ajuda no crescimento

de materiais carbonáceos, que podem ser transformados em carbono grafítico sob altas temperaturas (LEE; JEON, 2019). Dessa forma, os testes subsequentes incluíram uma etapa de modificação da CB com dois diferentes compostos contendo sódio: o citrato de sódio e cloreto de sódio. Além disso, para nos certificarmos que a formação do material carbonáceo foi devido a presença do sódio no filme, realizou-se também a modificação do *nanopaper* com uma solução de ácido cítrico, visto que esse composto contém o íon citrato, também presente no citrato de sódio. O protocolo de modificação está descrito detalhadamente na metodologia. Os resultados obtidos após os testes na cortadora a laser de CO₂, variando-se os parâmetros de queima (**Tabela 1**), são apresentados na **Figura 20**. As figuras mostram tanto a parte da frente, como a de trás dos filmes, para que fique mais claro analisar como o substrato suportou as altas temperaturas do laser.

Figura 20. Testes na cortadora a laser com os filmes de celulose bacteriana modificados com (a) de cloreto de sódio; (b) Citrato de sódio e (c) ácido cítrico, fixando-se a potência do laser em 12%, a distância entre o substrato e o laser de 11 mm e variando-se a velocidade do laser entre 60 e 5 mm s⁻¹



Os testes foram iniciados com os *nanopapers* de CB modificados com citrato de sódio. No filme contendo o composto de menor concentração (0,03 mol L⁻¹) podemos notar que não foi possível converter a celulose em carbono de forma eficaz, mesmo aplicando velocidades do laser baixas (5 mm s⁻¹) a qual acabou por perfurar o substrato. Já nos filmes contendo citrato

de sódio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, o problema observado foi que não houve a distribuição uniforme do composto em suas fibras, visto que as áreas onde obteve-se materiais carbonáceos não os produziu de forma homogênea. No caso dos *nanopapers* de CB contendo citrato de sódio $0,30 \text{ mol L}^{-1}$, os resultados observados foram bastantes satisfatórios. Pode-se observar a formação de um material carbonáceo em sua superfície aplicando-se diferentes velocidades do laser (15 , 10 e 5 mm s^{-1}), sem que houvesse a perfuração do substrato. Dentre as velocidades aplicadas em que foi possível converter a CB em material carbonáceo, a de 5 mm s^{-1} se mostrou a melhor escolha para os testes subsequentes, visto que com esse parâmetro o material carbonáceo formado estava mais bem aderido ao substrato. Desse modo, para membrana de CB modificada com citrato de sódio os melhores parâmetros encontrados para exposição ao laser foi: concentração de $0,30 \text{ mol L}^{-1}$; potência 12% ; distância entre o laser e o substrato de 11 mm ; velocidade do laser 5 mm s^{-1} .

Subsequentemente, a fim de se confirmar se a formação do material carbonáceo no substrato modificado com citrato de sódio era devido a presença de sódio em suas fibras, realizou-se testes com o cloreto de sódio e com ácido cítrico. O cloreto de sódio foi escolhido por também conter o íon sódio em sua fórmula molecular, e o ácido cítrico por conter o íon citrato.

No filme modificado com NaCl $0,03$ e $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ podemos notar que, apesar ter sido observada a formação de materiais carbonáceos quando se aplicava valores de velocidade mais baixos, especialmente na velocidade de 5 mm s^{-1} , o substrato não suportou as altas temperaturas do laser e acabou sendo danificado. Além disso, o material formado tinha pouca aderência a superfície da CB e logo se soltava. Quando realizou-se os testes com a concentração mais alta (NaCl $0,3 \text{ mol L}^{-1}$), os resultados foram mais animadores. Não apenas obteve-se a conversão da CB em um material carbonáceo quando se aplicou uma velocidade de 5 mm s^{-1} , como também o filme de CB conseguiu resistir às elevadas temperaturas do laser e não foi perfurado. Apesar da velocidade de 10 mm.s^{-1} também fornecer a formação de um material carbonáceo, o mesmo problema de aderência apresentado nas membranas foi observado. Desse modo, para membrana de CB modificada com NaCl os melhores parâmetros encontrados para exposição ao laser foi: concentração de $0,30 \text{ mol L}^{-1}$; potência 12% ; distância entre o laser e o substrato de 11 mm ; velocidade do laser 5 mm s^{-1} .

Por fim, testes foram realizados com os *nanopapers* modificados com ácido cítrico. Nesse caso, mesmo variando-se as concentrações do composto ou alterando os parâmetros do laser, não foi possível alcançar a carbonização do substrato, o que confirma que o fator

determinante para a obtenção de materiais grafíticos em substratos de materiais celulósicos é o sódio.

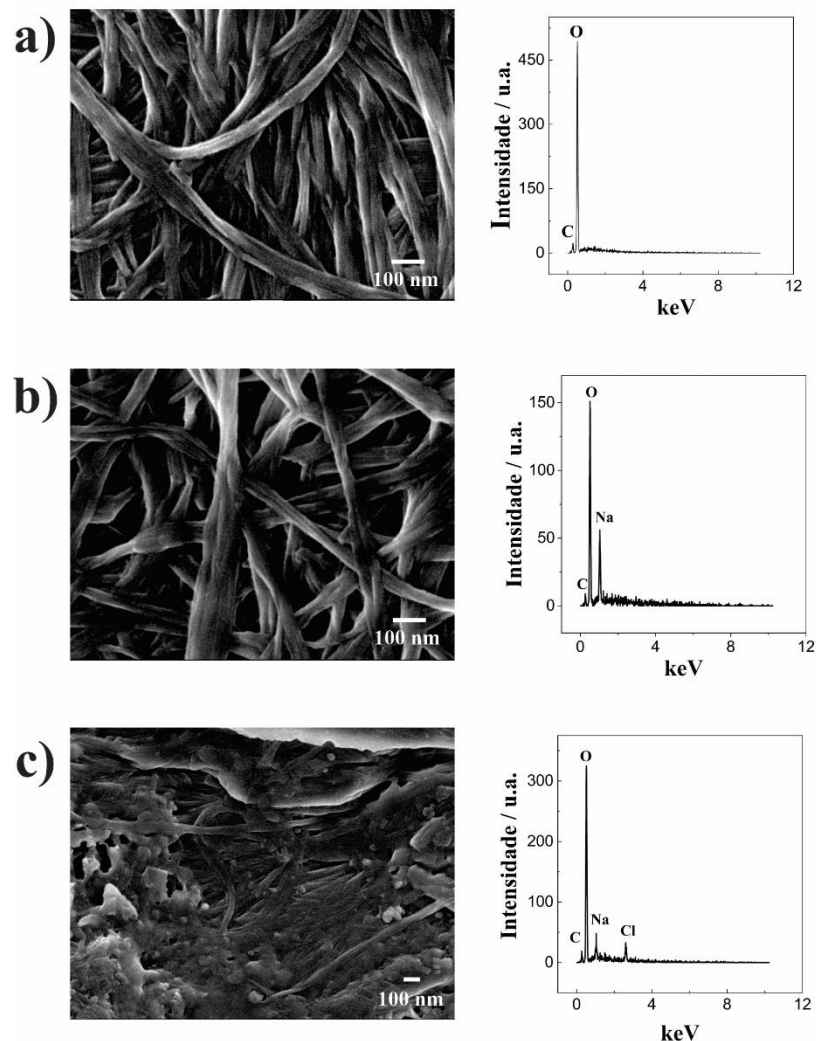
Como visto, as melhores modificações para conversão da CB em material carbonáceo foram encontradas utilizando-se os *nanopapers* modificados com citrato de sódio e cloreto de sódio 0,3 mol L⁻¹. A fim de se compreender melhor o material obtido com as modificações e com a exposição desses materiais ao laser, assim como selecionar a melhor modificação para a construção do eletrodo, análises físico-químicas foram realizadas e são mostradas na etapa subsequente.

5.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS MATERIAIS OBTIDOS

5.4.1 *Microscopia Eletrônica de Varredura com canhão de emissão por campo (MEV-FEG) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)*

A morfologia superficial do filme puro e dos filmes modificados, antes e após serem expostos ao laser, foram avaliados por MEV-FEG e a determinação qualitativa da composição desses materiais foi investigada utilizando-se a técnica de EDS. Os resultados são mostrados na **Figura 21**. Analisando-se o *nanopaper* de CB puro, pode-se observar que, mesmo após passar por vários processos mecânicos, incluindo moagem, filtração a vácuo e prensagem, as fibras de celulose bacteriana não perderam suas propriedades. A CB possui fibras longas de centenas de microm e de espessura nanométrica, formando uma forte rede tridimensional, que conferem a esse material propriedades nanométricas. Da mesma forma, o filme modificado com citrato de sódio não apresentou mudanças na estrutura nanométrica da CB. Com relação ao filme modificado com cloreto de sódio, observou-se a formação de uma camada espessa em sua superfície, sugerindo que a concentração utilizada possa ter sido muito elevada. As partículas não conseguiram se dispersar de forma homogênea, o que favoreceu a formação de aglomerados em sua superfície. A determinação qualitativa das amostras antes e após a modificação mostraram que a incorporação dos compostos foi realizada de forma efetiva, visto que os picos referentes aos íons sódio e cloreto (**Figura 21-b e 21-c**), que antes não apareceriam no filme de CB pura (**Figura 21-a**) foram observados nos gráficos de EDS.

Figura 21. MEV-FEG e EDS correspondentes aos *nanopaper* de celulose bacteriana (a) puro (b) modificado com citrato de sódio (c) modificado com cloreto de sódio



As áreas expostas ao laser também foram investigadas pela microscopia eletrônica de varredura e são apresentadas nas **Figuras 22 e 23**. As imagens revelam que as nanofibras de CB desapareceram e deram origem a um material carbonáceo desordenado, quando as membranas modificadas com citrato de sódio (**Figura 22**) e com cloreto de sódio (**Figura 23**) foram expostas ao laser, resultando em uma estrutura mais aberta, decorrente da liberação rápida de produtos gasosos (ZAHED et al., 2020). No filme modificado com cloreto de sódio, nota-se que houve uma menor abertura da estrutura da CB, o que pode indicar que não houve a completa pirólise e, conseqüentemente, houve uma liberação menos acentuada de produtos gasosos nessas membranas. No que diz respeito ao *nanopaper* de CB modificado com citrato de sódio, nota-se, ao inspecionar maiores ampliações do MEV-FEG, que os material obtido é altamente poroso, o que acarreta em uma área superficial maior, excelente para aplicações eletroquímicas (XUAN et al., 2018b). O EDS empregado para esses *nanopapers* também

mostraram a presença do sódio (**Figuras 22-e e 23-e**) e de cloro (**Figura 21-e**) em sua composição, indicando que os compostos adicionados ao filme de CB resistiram as altas temperaturas do laser.

Figura 22. MEV-FEG correspondentes ao *nanopaper* de celulose bacteriana, modificado com citrato de sódio, após ser exposto ao laser de CO₂ na condição ótima de: potência 12%, distância entre o substrato e o laser de 11 mm e velocidade do laser de 5 mm s⁻¹. As imagens são aproximadas 1.000×, (b) 10.000×, (c) 25.000×, (d) 50.000×. A figura (e) corresponde ao espectro EDS do *nanopaper* de celulose bacteriana modificado com citrato de sódio obtido nas mesmas condições de queima.

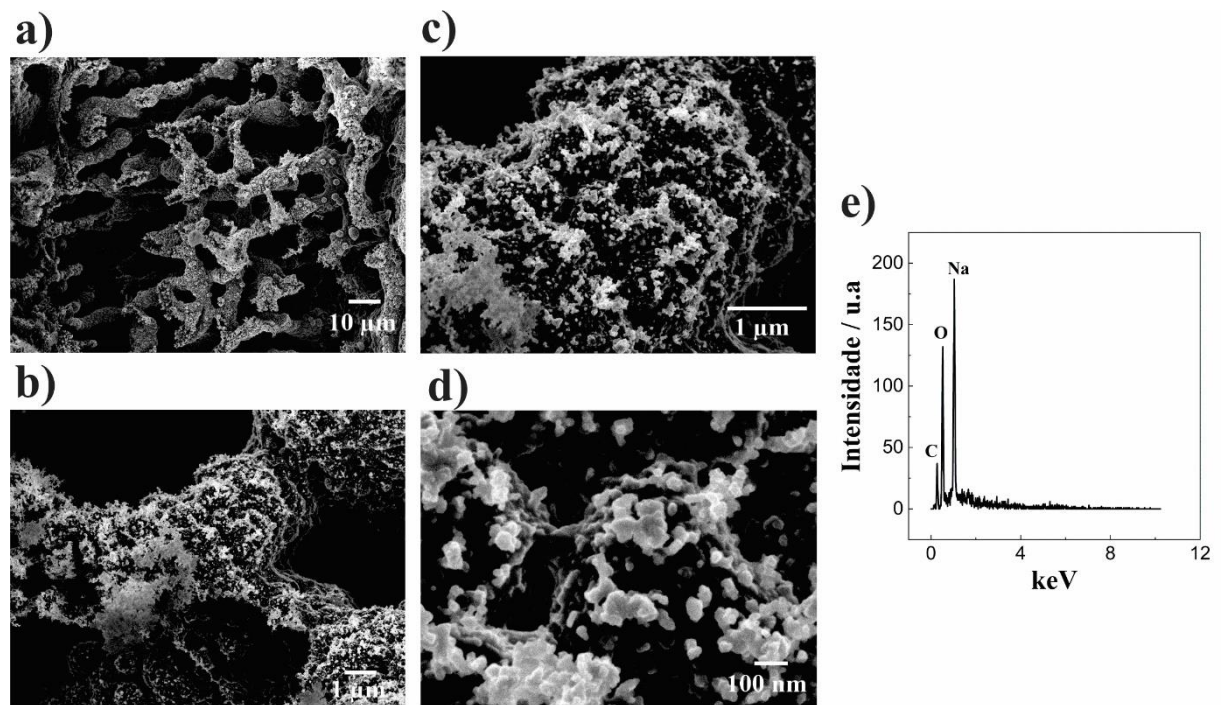
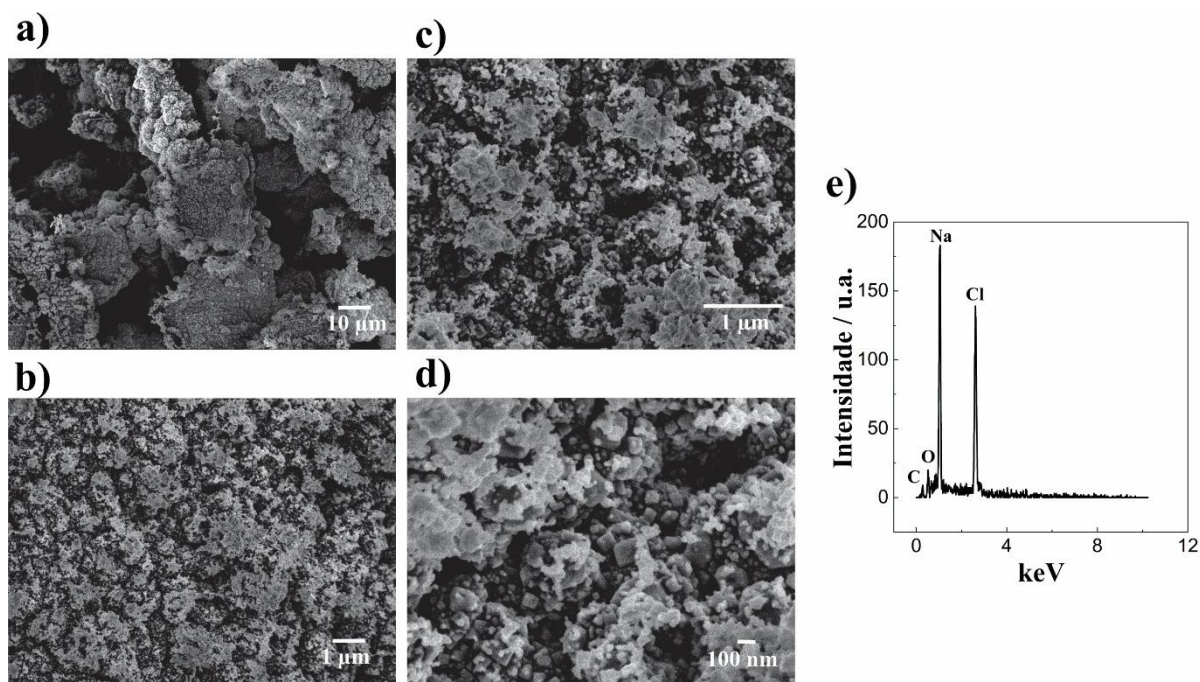


Figura 23. MEV-FEG correspondentes ao *nanopaper* de celulose bacteriana, modificado com cloreto de sódio, após ser exposto ao laser de CO₂ na condição ótima de: potência 12%, distância entre o substrato e o laser de 11 mm e velocidade do laser de 5 mm s⁻¹. As imagens são aproximadas 1.000×, (b) 10.000×, (c) 25.000×, (d) 50.000×. A figura (e) corresponde ao espectro EDS do *nanopaper* de celulose bacteriana modificado com cloreto de sódio obtido nas mesmas condições de queima.

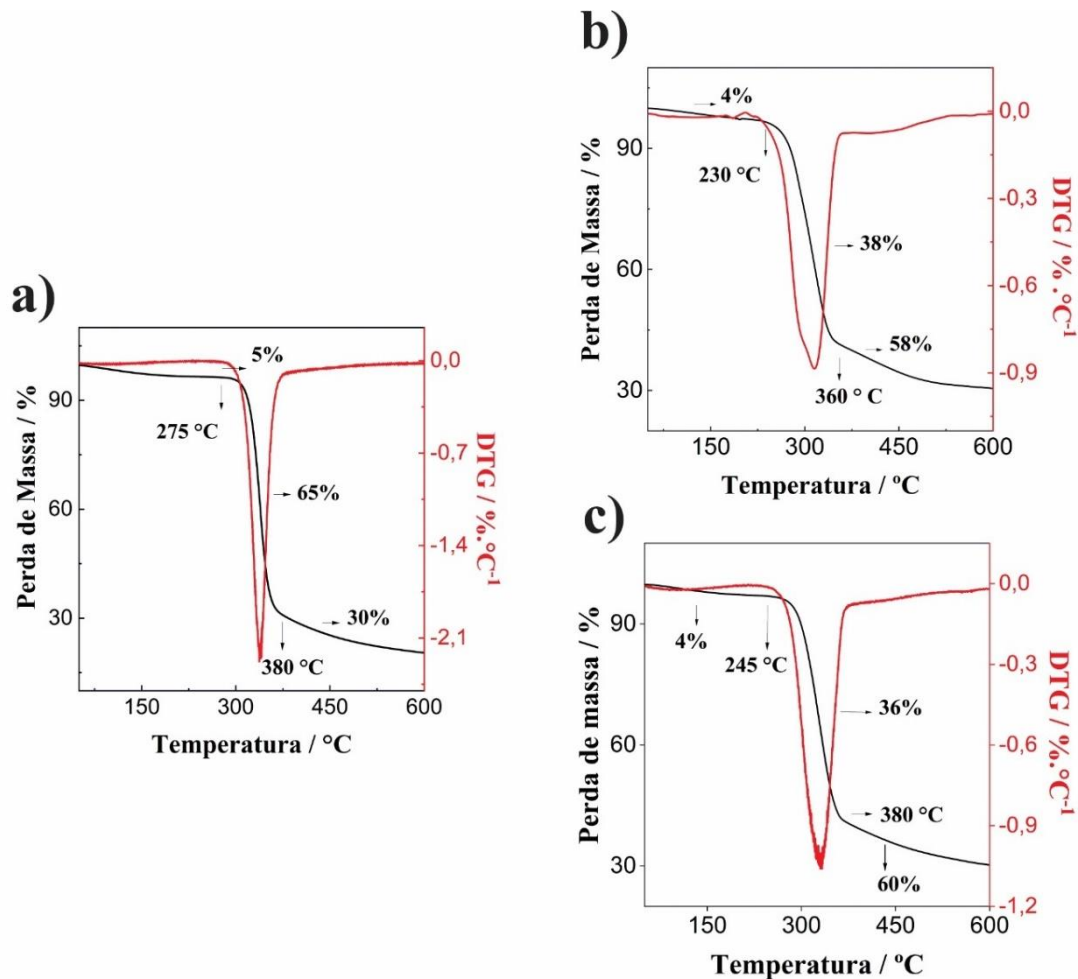


5.4.2 Análise Termogravimétrica (TG)

As análises térmicas são um grupo de técnicas que monitoram mudanças nas propriedades físicas ou químicas de uma determinada amostra à medida em que ela é submetida a um programa de temperatura. Os analisadores termogravimétricos (TG), especificamente, monitoram e registram a massa, o tempo e a temperatura da amostra. Com isso, obtém-se um termograma (curva obtida na análise), que nada mais é do que a representação gráfica da perda de massa que a amostra teve em função da faixa de temperatura a qual ela foi exposta (SAADATKHAH et al., 2020). Os termogramas são únicos para cada composto e comunicam, entre outras coisas, a estabilidade térmica do material. Dessa forma, buscou-se, com o emprego da técnica de TG, avaliar se as modificações realizadas nos filmes de CB, tanto com o citrato de sódio como com o cloreto de sódio, alteram a estabilidade térmica do material.

De uma forma geral, as análises de TG apontaram os eventos térmicos referentes à perda de água (até 100 °C) e à degradação das cadeias de celulose (230-250 °C), tanto para o *nanopaper* de CB pura (**Figura 24-a**), como para os modificados com citrato de sódio (**Figura 24-b**) e cloreto de sódio (**Figura 24-c**). A ausência de outros eventos térmicos, não relacionados à celulose, demonstram a pureza do material (ROMAN. M; WINTER. WT, 2004). Analisando mais detalhadamente cada termograma, nota-se que o filme de CB puro apresentou alta resistência térmica, relatando uma temperatura inicial de degradação de aproximadamente 250 °C, onde ocorre um pico de perda de massa de 65%. Após a temperatura 390 °C houve a completa degradação do material. O resultado obtido está de acordo com os dados de termogravimetria da CB disponíveis na literatura (HORUE et al., 2020; MENEGUIN et al., 2020). Após a modificação do filme de CB com citrato de sódio e cloreto de sódio, houve algumas mudanças no perfil de degradação do filme, como mostra a **Figura 24-b**. Apesar da degradação ter iniciado em uma temperatura levemente mais baixa, de 230 °C, ela aconteceu de forma mais lenta. Até a temperatura de 360 °C, apenas 38% do filme tinha sido degradado e 58 % da perda de massa ocorreu em temperaturas acima desse valor. Algo muito parecido também foi observado nos filmes modificados com cloreto de sódio, que apresentou temperatura inicial de degradação em 245 °C, mas também teve uma perda de massa mais lenta. Como podemos ver no gráfico (**Figura 24-c**) até a temperatura de 380 °C tinha ocorrido a degradação de apenas 36% do material, sendo que a maior parte de perda de massa (60%) ocorreu apenas após a pico de degradação. Esses dados corroboram com a premissa de que o sódio abaixa a energia de ativação na etapa de degradação de filmes celulósicos, o que, conseqüentemente, ajuda no crescimento de materiais carbonáceos, que podem ser transformados em carbono grafítico sob altas temperaturas. Essa degradação mais lenta favorece a formação de materiais grafíticos amorfos que, quando atingem temperaturas mais altas, são transformados em carbono grafítico condutor (LEE; JEON, 2019).

Figura 24. Análises termogravimétricas (TGA e DTG) do *Nanopaper* de CB (A) puro (B) modificado com citrato de sódio (C) modificado com cloreto de sódio.



5.4.3 Espectroscopia Raman

As técnicas espectroscópicas, como a espectroscopia Raman, é uma técnica experimental baseada na interação da luz com a matéria. Ao incidir uma radiação eletromagnética monocromática, a espectroscopia Raman registra o espalhamento inelástico da luz, conhecido como espalhamento Raman, e analisa os quanta de energia vibracionais (chamados de fônons) que foram trocados entre o campo eletromagnético e o material. Existem dois tipos de espalhamento inelásticos Raman, conhecidos como Stokes e anti-Stokes. Quando fóton espalhado tem energia mais baixa que o fóton incidente, tem-se o espalhamento Stokes, e quando o inverso ocorre, dá-se o espalhamento anti-Stokes. Esses fenômenos são diferentes do espalhamento de Rayleigh elástico, no qual o fóton espalhado possui a mesma energia do fóton de entrada (CHILDRES et al., 2013; SZYBOWICZ; NOWICKA; DYCHALSKA, 2018). A espectroscopia Raman é uma excelente técnica de pesquisa não destrutiva que permite a

identificação do grafeno, assim como determinar o número de camadas e a quantidade de defeitos que o grafeno apresenta.

O espectro Raman do grafeno de camada única é marcado pela presença de dois picos proeminentes em 1.580 cm^{-1} e 2.680 cm^{-1} , chamados de bandas G e 2D, respectivamente. A banda D, localizada por volta de 1.350 cm^{-1} , não é visível no grafeno puro devido às simetrias dos cristais. Para que um pico D ocorra, um portador de carga deve ser excitado e espalhado inelasticamente por um fônon, então um segundo espalhamento elástico, ocasionado por um defeito, deve ocorrer para resultar em uma recombinação. Dessa forma, a intensidade do pico D está correlacionada com a densidade de defeitos presente na estrutura do grafeno. Em contraste, a banda 2D está sempre presente nos espectros de Raman e pode ser um bom indicador do número de camadas que o material baseado em grafeno pode ter (CHILDRES et al., 2013; SZYBOWICZ; NOWICKA; DYCHALSKA, 2018). Ressalta-se que a posição desses picos pode variar dependendo da energia de excitação do laser aplicada durante a análise do Raman, que podem ser de 473, 532, 633 e 785 nm.

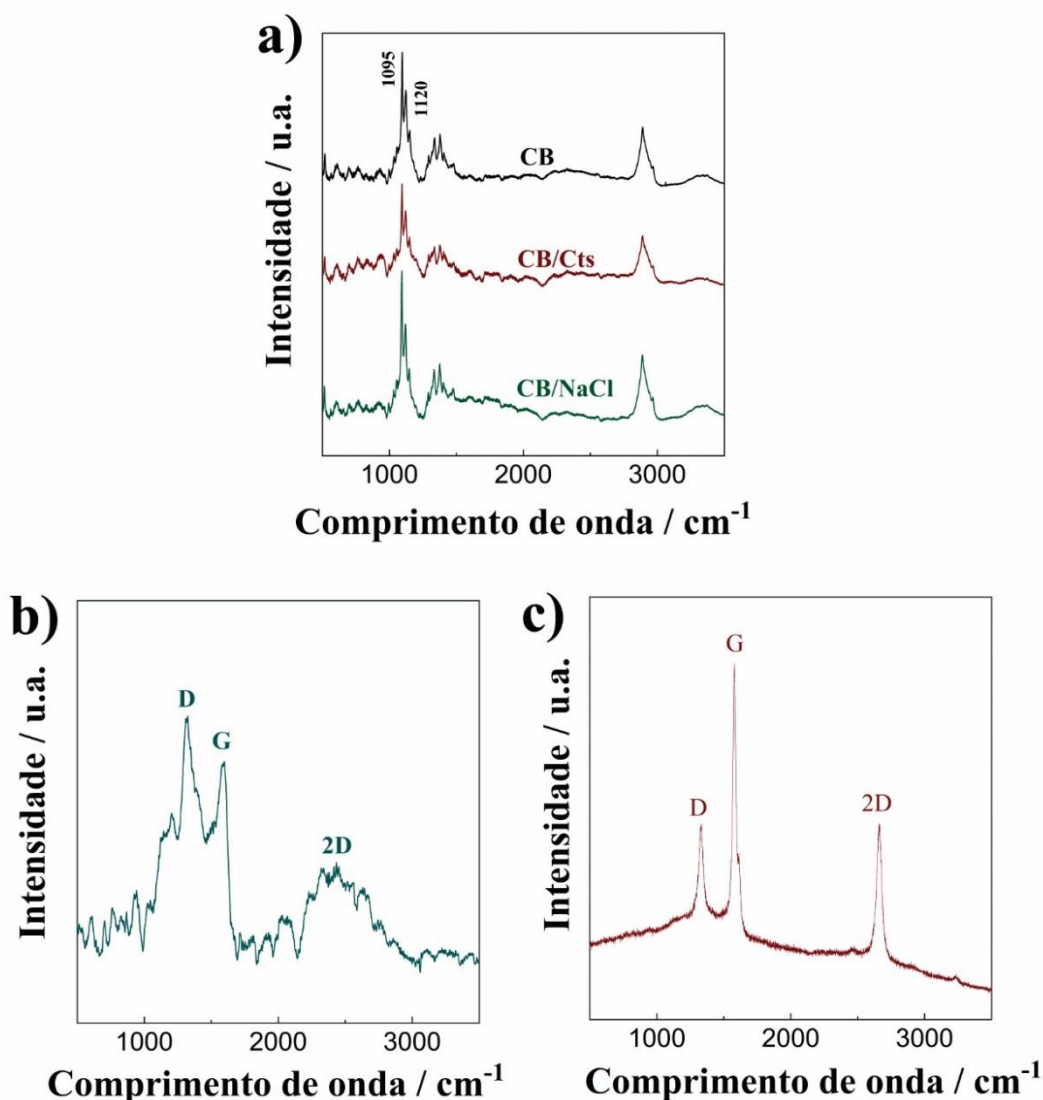
Uma forma de caracterizar materiais gráfiticos ou baseados em grafeno é avaliar a posição, intensidade e a razão dos picos D, G e 2D. A posição da banda G, por exemplo, traz informações referentes a espessura das camadas de grafeno, sendo deslocada para comprimentos de onda menores com o aumento dessa espessura (CHILDRES et al., 2013; SZYBOWICZ; NOWICKA; DYCHALSKA, 2018). Além disso, o número de camadas de grafeno pode ser investigado analisando-se a razão da intensidade dos picos I_{2D}/I_G , sendo que o grafeno de camada única tem a razão $I_{2D}/I_G > 1$. Valores abaixo de 1 indicam a formação de um grafeno de multicamadas (MIKHEEV K. G. et al., 2022; PAPANAI; SHARMA; GUPTA, 2020). Usando a razão entre as intensidades de I_D/I_G , o espectro Raman também pode ser usado para caracterizar o nível de desordem no grafeno, ou seja, o nível de defeitos. A razão I_D/I_G irá aumentar, visto que uma densidade de defeitos mais alta cria um espalhamento mais elástico (LUCCHESI et al., 2010). É importante salientar que, na caracterização de grafeno por meio da espectroscopia Raman, esses valores são apenas uma estimativa e, para apontar exatamente quantas camadas de grafeno tem o material, e sua quantidade de defeitos, de forma exata, o entendimento da técnica deve ser mais aprofundado.

Dadas as informações acima mencionadas sobre a espectroscopia Raman, empregou-se essa técnica para investigar o grau de grafitação e a presença de defeitos no material à base de carbono formado após os filmes de celulose bacteriana (modificadas com citrato de sódio e cloreto de sódio) serem submetidos ao tratamento com laser de CO_2 . Para facilitar a discussão, a partir de agora vamos chamar *nanopaper* de CB modificado com citrato de sódio de CB/CtS

e o que foi modificado com cloreto de sódio de CB/NaCl. Primeiramente avaliamos o espectro Raman do CB/CtS após seu tratamento com o laser de CO₂, como mostra a **Figura 25-b**. Observa-se nesse espectro três bandas proeminentes, característicos do grafeno de multicamadas: a banda G (em 1.580 cm⁻¹), a banda 2D (próximo a 2.660 cm⁻¹), e a banda D (1.332 cm⁻¹). A razão I_{2D}/I_G foi calculada e obteve-se um valor de 0,5, indicando que houve de fato a formação de um grafeno de camadas múltiplas. Além disso, a intensidade da razão dos I_D/I_G foi igualmente avaliada, sendo o valor encontrado também de 0,5, mostrando que o material formado tem uma baixa densidade de defeitos. No caso do CB-NaCl tratado com o laser de CO₂, apesar das bandas D e G aparecerem por volta de 1.309 e 1.588 cm⁻¹ (**Figura 25-c**), respectivamente, a banda 2D, que obrigatoriamente deve aparecer nos espectros Raman do grafeno, não tem uma forma definida e deixa dúvidas sobre de fato ser o pico 2D ou ruídos da medida. Sendo assim, não podemos confirmar que o material formado é de fato grafeno, podendo esse material estar mais próximo de carbono amorfo. A partir desses resultados, ficou claro que a modificação da celulose bacteriana com citrato de sódio foi mais assertiva na formação do grafeno e a técnica de indução a laser se mostrou eficiente para tal objetivo.

Realizou-se também a análise Raman dos filmes de CB pura e tratados com o citrato e cloreto de sódio (CB/CtS e CB/NaCl) (**conforme Figura 25-a**), com o intuito de comparar o perfil espectrômetro desses materiais com aqueles obtidos após seu tratamento com o laser CO₂. Observa-se que os *nanopapers* de CB, CB/CtS e CB/NaCl apresentam um perfil espectral idêntico, onde os picos característicos da celulose bacteriana são evidentes (DOMENEGUETTI et al., 2023). Por exemplo, em 1.095 e 1.121 cm⁻¹, encontramos os picos relacionados aos modos vibracionais simétricos e assimétricos da ligação C-O-C (PAPADAKI et al., 2024). Essa análise permitiu confirmar que a formação do grafeno se deu apenas após a exposição dos *nanopapers* celulósicos às elevadas temperaturas do laser de CO₂.

Figura 25. Espectro Raman dos filmes de CB modificados com citrato de sódio (A) e com cloreto de sódio (B) após serem expostos ao laser de CO₂ na condição ótima de: potência 12%, distância entre o substrato e o laser de 11 mm e velocidade do laser de 5 mm s⁻¹



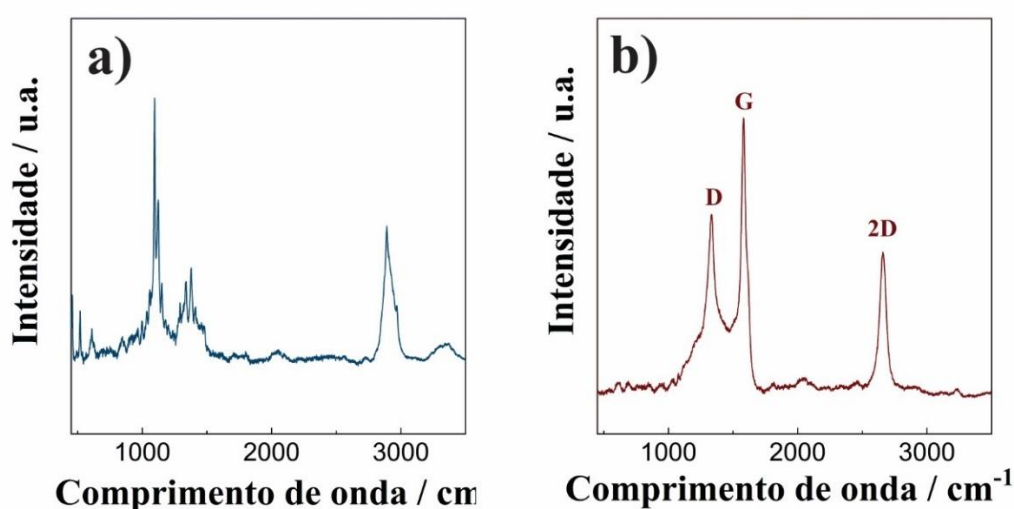
As próximas etapas do trabalho prosseguiram-se descartando-se o *nanopaper* de BC-NaCl e aplicando-se o *nanopaper* de BC-CtS. O material formado na conversão da celulose bacteriana em grafeno induzido a laser será, a partir de agora, chamado de BC-LIG. Como mencionado na sessão experimental e tendo em vista que o objetivo final do presente trabalho é aplicar a BC-LIG em eletroanálises, é necessário que o *nanopaper* de BC-CtS seja impermeável às soluções eletroquímicas. Para isso, fez-se uso de um *spray* impermeabilizante de roupas, baseado em resina fluorcarbono. O *spray* foi aplicado em toda superfície da CB-CtS antes desta ser tratada com o laser de CO₂.

A celulose bacteriana, agora modificada com citrato de sódio e impermeabilizada com a resina fluorcarbono (CB/CtS/CF), foi então tratada com o laser de CO₂, utilizando-se os

mesmos parâmetros anteriormente empregados. A análise Raman foi novamente aplicada, de modo a avaliar se a resina fluorcarbono alterou de alguma forma as características do material carbonáceo formado pela indução a laser da CB. Como podemos observar na **Figura 26-b**, as três bandas características do grafeno de multicamadas também aparecem no espectro Raman do *nanopaper* que foi impermeabilizado: a banda G (em 1.580 cm^{-1}), a banda 2D (próximo a 2.660 cm^{-1}), e a banda D (1.332 cm^{-1}), sendo que não houve deslocamento dos picos, em comparação com o espectro do *nanopaper* sem impermeabilização. Com relação as razões das intensidades dos picos I_{2D}/I_G e I_D/I_G , obteve-se valores de 0,6 e 0,8, respectivamente, mostrando que a impermeabilização não afetou a qualidade do grafeno obtido. Houve, no entanto, um pequeno aumento na razão I_D/I_G , indicando que o material possa ter uma maior densidade de defeitos. Visto que os defeitos em materiais carbonáceos são interessantes na eletroquímica por proporcionam propriedades catalíticas e de alta transferência de elétrons ao material, essa característica favorece à aplicação do grafeno obtido (DE ARAUJO et al., 2017)).

As análises por Raman auxiliaram não apenas na avaliação de qual modificação era mais apropriada para a conversão da celulose bacteriana em grafeno, ela também proporcionou uma maior compreensão do material desenvolvido. Os dados obtidos corroboram com trabalhos similares reportados na literatura (ARANTES et al., 2023; ATAIDE et al., 2021; KULYK et al., 2021), mostrando que a técnica de indução a laser é uma excelente ferramenta para a obtenção de grafeno de multicamadas.

Figura 26. Espectro Raman do *nanopaper* CB/CtS/CF (a) antes do tratamento com o laser de CO_2 e (b) após o tratamento com o laser de CO_2 na condição ótima de: potência 12%, distância entre o substrato e o laser de 11 mm e velocidade do laser de 5 mm s^{-1}



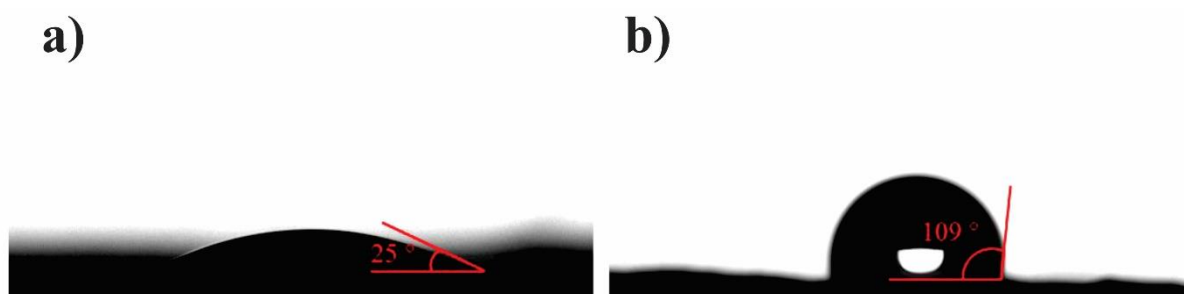
5.4.4 Análise do ângulo de contato

O ângulo de contato pode ser definido como o ângulo formado pela gota de um líquido em contato com uma superfície sólida e é uma medida da propriedade umectante do líquido, ou da molhabilidade da superfície sólida. A molhabilidade da superfície, que é um parâmetro físico, diminui com o aumento do ângulo de contato. Quando os valores do ângulo de contato estão próximos de 0 graus, indica que o líquido pode molhar totalmente aquela superfície; entretanto, à medida que o ângulo de contato ultrapassa 90 graus, fica estabelecido que o líquido não consegue molhar a superfície em que está em contato (ALBAYRAK; GÜL, 2023; SINGH; SINGH, 2022).

De modo a avaliar se a impermeabilização do *nanopaper* CB/CtS foi efetiva, investigou-se, por meio da análise do ângulo de contato, a molhabilidade de sua superfície antes e após a etapa de impermeabilização, como mostra a **Figura 27**. O ângulo de contato encontrado para o *nanopaper* antes da impermeabilização foi de 25° (**Figura 27-a**), o que indica que o filme de CB/CtS é bastante hidrofílico. Esse resultado era esperado, visto que a celulose bacteriana é rica em hidroxilas, o que confere uma alta hidrofiliicidade ao material. Após o tratamento com o spray impermeabilizante, porém, o valor do ângulo de contato aumentou para 109° (**Figura 27-b**), sendo um indicativo da elevada hidrofobicidade que o *nanopaper* adquiriu após a impermeabilização.

Com esses resultados, avançamos para as análises de caracterização do material. A partir de agora, devemos levar em consideração que o substrato final, submetido ao laser de CO_2 para a geração de grafeno, consiste no *nanopaper* de CB modificado com citrato de sódio e tratado com a resina fluorcarbono (CB/CtS/CF).

Figura 27. Análise do ângulo de contato do *nanopaper* de CB/CtS (a) antes e (b) após a impermeabilização com o spray impermeabilizante a base de resina fluorcarbono.



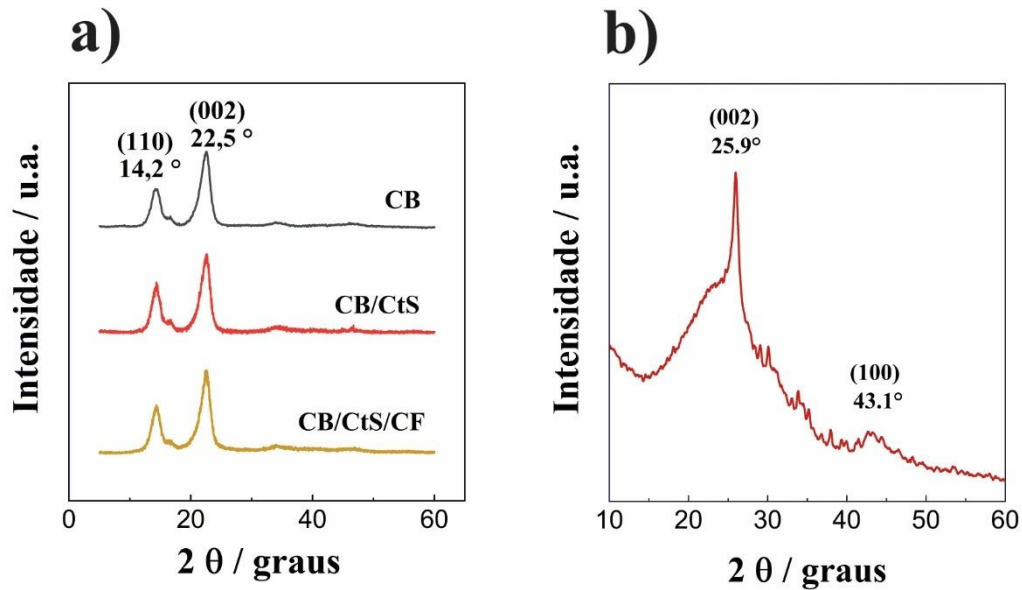
5.4.5 Difração e Raio X - DRX

A análise de difração de raio X (DRX) baseia-se na interação dos raios-X monocromáticos em uma amostra com uma determinada cristalinidade. Materiais cristalinos possuem uma rede de átomos que podem difratar os raios-X incidentes e gerar um padrão de interferência. Com isso, é possível obter informações sobre a estrutura atômica ou molecular do material (ALDERTON; HOLLOWAY, 2021).

Os materiais grafiticos, assim como aqueles baseados em grafeno, possuem camadas compostas por folhas hexagonais de rede de carbono (no caso do grafeno de camada única, sabemos que é apenas uma). Um fragmento isolado desta rede hexagonal é chamado de cristalito. Por meio da análise dos picos dos planos cristalográficos (como a largura e a intensidade do pico) encontrado nas análises DRX, é possível identificar o tamanho desses cristalitos, assim como o a distância interplanar desses picos, dados esses que ajudam na caracterização do material obtido (LEVCHUK et al., 2023).

A **Figura 28-a** mostra o difratograma de raio X dos *nanopapers* de CB pura, assim como nas etapas de modificação com citrato de sódio e impermeabilização com a resina fluorcarbono. Observa-se que não houve alteração no perfil do espectro desses materiais, e todos os três difratogramas apresentam a estrutura cristalina típica de materiais celulósicos, com seu plano cristalográfico [110] e [002] em $14,2^\circ$ e $22,5^\circ$, respectivamente (CANDRA et al., 2023). Já quando analisamos o difratograma do *nanopaper* após seu tratamento com o laser de CO_2 (**Figura 28-b**) e consequente conversão em grafeno, o perfil do espectro registra os picos nos valores 2θ de 26° e $43,1^\circ$, respectivamente, que são amplamente considerados relacionados a estrutura bidimensional no plano dos materiais baseados em grafeno (CAO et al., 2023; DE ARAUJO et al., 2017; MCDONALD-WHARRY; MANLEY-HARRIS; PICKERING, 2016; XUAN et al., 2018a).

Figura 28. Difratograma de raios X dos *nanopapers* de CB, CB/CtS e CB/CtS/CF (a) antes e (b) após o tratamento com o laser de CO_2 na condição ótima de: potência 12%, distância entre o substrato e o laser de 11 mm e velocidade do laser de 5 mm s^{-1}



Para o cálculo do tamanho dos cristalitos obtidos no grafeno induzido a laser, utilizamos a equação de Scherrer:

$$D = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta} \quad \text{Equação 1.}$$

onde:

D é o tamanho do cristalito (nm);

K diz respeito a constante de Scherrer (0,9);

λ é o comprimento de onda da fonte do raio X (0,15406 nm)

β corresponde a largura a meia altura (FWHM) do pico, dado em radianos

θ é a posição do pico em radianos

Já para o cálculo da distância interplanar “d”, aplicou-se a equação de Bragg:

$$d = \frac{n \cdot \lambda}{2 \cdot \sin \theta} \quad \text{Equação 2.}$$

onde:

d é a distância interplanar (Å);

n corresponde a ordem de difração (1);

λ é o comprimento de onda da fonte do raio X (1,5406 Å)

θ diz respeito a posição do pico em radianos

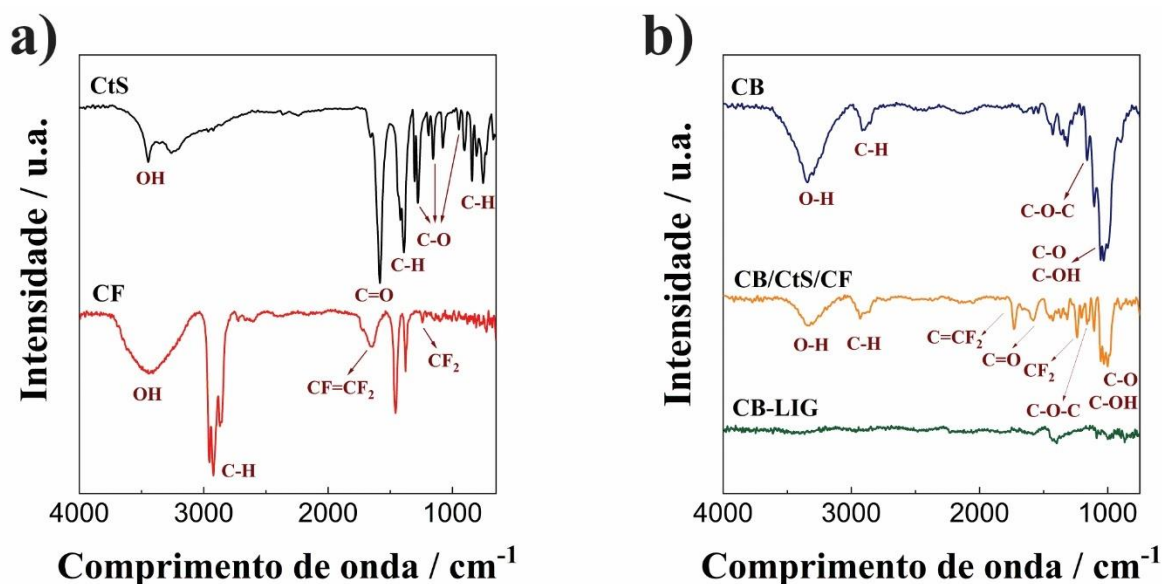
Os resultados obtidos para o tamanho do cristalito e distância interplanar dos picos foram de 9,65 nm e 0,34 nm, respectivamente. Esses valores, em especial a distância

interplanar, sugerem a obtenção de um material altamente grafitizado (CAO et al., 2023; MCDONALD-WHARRY; MANLEY-HARRIS; PICKERING, 2016; XUAN et al., 2018a), reforçando a habilidade da técnica de indução à laser na conversão de materiais celulósicos em materiais com elevado grau de grafitação.

5.4.6 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A análise estrutural do filme de celulose bacteriana pura bem como após a etapa de incorporação do citrato de sódio em suas fibras e posterior impermeabilização com a resina fluorcarbono, são apresentados na **Figura 29-b**. Ambos ATR-FTIR da CB e da CB/CtS/CF apresentam as bandas de absorção características da celulose (GEA et al., 2011; VILELA et al., 2020; YIN et al., 2020). A banda observada em 3.550 cm^{-1} corresponde a vibração de alongamento dos grupos O-H, grupo funcional predominante na CB, e àquelas encontradas entre 1.000 e 1.034 cm^{-1} dizem respeito a região de deformações angulares das ligações C-OH e C-H, características dos carboidratos. Temos ainda em 1.160 cm^{-1} a banda de absorção atribuída ao estiramento assimétrico C-O-C das ligações glicosídicas e em 2.890 cm^{-1} encontra-se região correspondente ao alongamento da vibração de C-H. Ainda observando o ATR-FTIR da CB/CtS/CF podemos observar o aparecimento de duas bandas em 1.720 e 1.230 cm^{-1} , as quais não aparecem no filme de CB pura. Como podemos ver na **Figura 29-a**, a qual mostra o perfil ATR-FTIR do CtS e do CF puros, essas bandas, apesar de levemente deslocadas, são atribuídas ao impermeabilizante fluorcarbono e correspondem ao grupamento $\text{CF}=\text{CF}_2$ e CF_2 , respectivamente (WANG et al., 2012; ZHANG et al., 2023). Ainda no filme CB/CtS/CF nota-se a presença de uma banda de absorção por volta de 1.580 cm^{-1} , também ausente no espectro da CB pura, a qual é atribuída o estiramento das ligações C=O, provenientes do citrato de sódio (MOGHADASSI; MORADI; BANDEHALI, 2020; THOTTOLI; UNNI, 2013). O ATR-FTIR da celulose bacteriana após a queima (BC-LIG) também foi realizado e é mostrado na **Figura 29-b**. No entanto, por se tratar de um material carbonáceo de tonalidade escura, ele não apresenta uma banda clara no ATR-FTIR. Esses materiais absorvem uma ampla gama de frequências na região do infravermelho, tornando difícil a detecção de bandas distintas. Para contribuir para o entendimento da estrutura química formada após a queima da celulose bacteriana com o laser de CO_2 , uma análise por espectroscopia de fótons elétrons por raios-x foi realizada e é apresentada no próximo tópico.

Figura 29 Análise por espectroscopia no infravermelho do (a) citrato de sódio (linha preta) e do impermeabilizante de resina fluorcarbono (linha vermelha); (b) do *nanopaper* da CB pura (linha azul), do *nanopaper* modificado com citrato de sódio 0,3 mol L⁻¹ e impermeabilizado com a resina fluorcarbono - CB/CtS/CF - (linha amarela), e da CB após o tratamento com o laser de CO₂ - CB-LIG - (linha verde).



5.4.7 Espectroscopia de Fótons Elétrons Excitados por Raios X - XPS

A Espectroscopia de Fótons elétrons Excitados por Raios X (XPS) é uma técnica avançada de análise de superfície que permite a identificação e a quantificação precisas dos elementos químicos presentes na superfície de uma amostra. Esta técnica é extremamente importante na exploração da composição química e das propriedades eletrônicas dos materiais. No decorrer das medições de XPS, as amostras são submetidas à irradiação por raios-X com uma energia da ordem de keV. O número de fotoelétrons emitidos é então registrado em função de sua energia cinética, gerando um espectro. A energia de ligação dos fotoelétrons permite determinar a distribuição das energias de ligação presentes, fornecendo informações sobre o elemento químico e seu estado de oxidação (PINTORI; CATTARUZZA, 2022). Dessa forma, o XPS é aplicado quando se deseja obter uma análise detalhada de superfícies, contribuindo para o entendimento das propriedades e comportamentos de materiais.

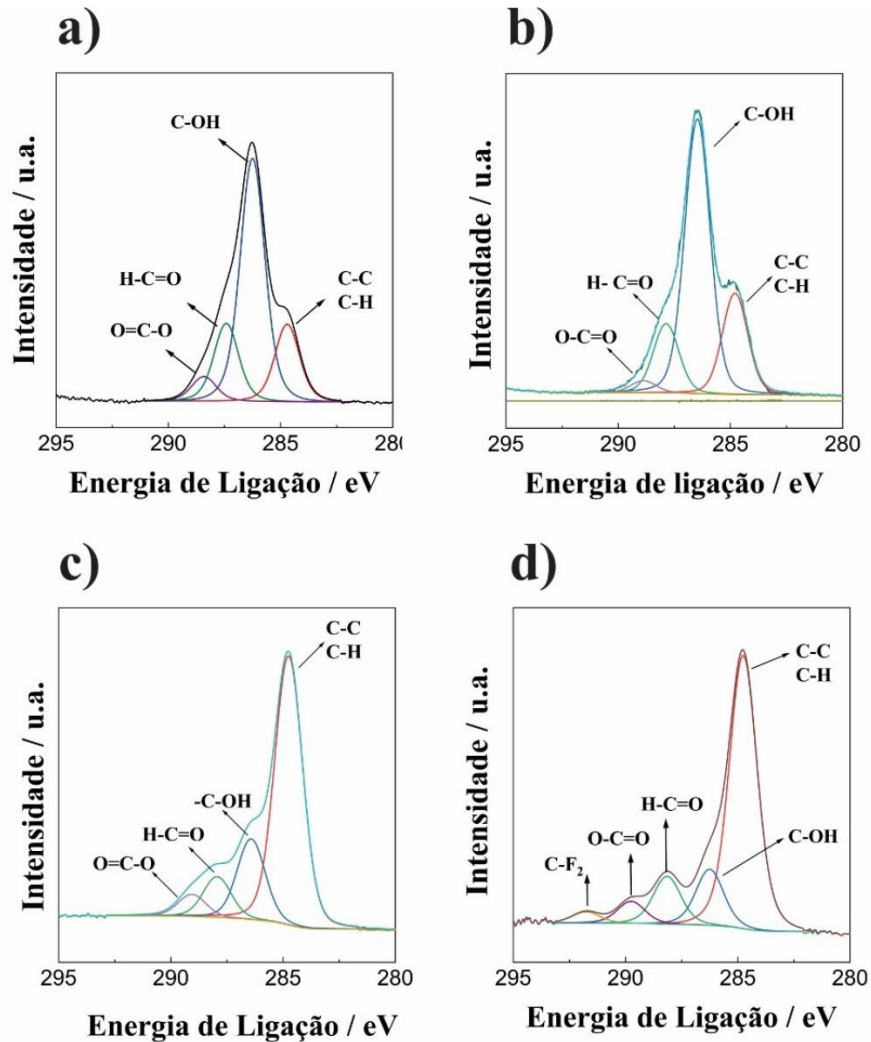
Neste estudo, por meio da técnica de XPS, buscou-se avaliar as ligações químicas presentes na estrutura da celulose bacteriana antes, e após ela ao ser exposta ao tratamento com o laser de CO₂, com o objetivo de obtermos maiores informações a respeito da transformação da CB em grafeno. Espera-se que, com a conversão da CB em LIG, ocorra um aumento das

ligações C-C e uma diminuição das ligações C-O e C=O. Esse comportamento é esperado visto que, no processo de queima da CB com o laser de CO₂, ocorre a quebra das ligações químicas do carbono com o oxigênio e, em contrapartida, há um aumento das ligações C-C do tipo sp² (NASRAOUI et al., 2023). Adicionalmente, conduzimos uma análise para determinar se a resina fluorcarbono, empregada na impermeabilização do nanopaper de CB/CtS, exerceria alguma influência na qualidade do grafeno obtido. Para este propósito, sujeitamos o filme de CB/CtS a duas abordagens distintas: primeiro, submetemos o material ao laser de CO₂ sem a etapa prévia de impermeabilização e avaliamos o grafeno resultante por meio da análise XPS. Em seguida, repetimos o protocolo, mas desta vez o nanopaper CB/CtS passou pelo processo de impermeabilização com a resina antes de ser tratado com o laser. O espectro da região C1s desconvoluído da celulose bacteriana pura, assim como dos *nanopapers* que foram tratadas com laser, são apresentadas na **Figura 30**.

Há um consenso na literatura há respeito da atribuição dos picos que foram encontrados nos espectros C1s dos *nanopapers* com e sem tratamento com laser (KUNDU et al., 2008; WAN et al., 2020). Em 284,5 eV estabelece-se as ligações C-C, ou C-H; as ligações simples do carbono e oxigênio (C-OH) das hidroxilas estão em 286,1 eV; em 287,5 eV estão as ligações duplas de carbono e oxigênio (H-C=O) dos aldeídos; as ligações do carbono com dois oxigênios (O=C-O) dos grupos carboxilas, estão em 288,7 eV. As hidroxilas, aldeídos e carboxilas são grupos funcionais característicos da estrutura da celulose bacteriana, o que mostra que os dados obtidos são coerentes, além de estarem condizentes com os gráficos XPS da celulose bacteriana encontrada na literatura (VASIL'KOV et al., 2022).

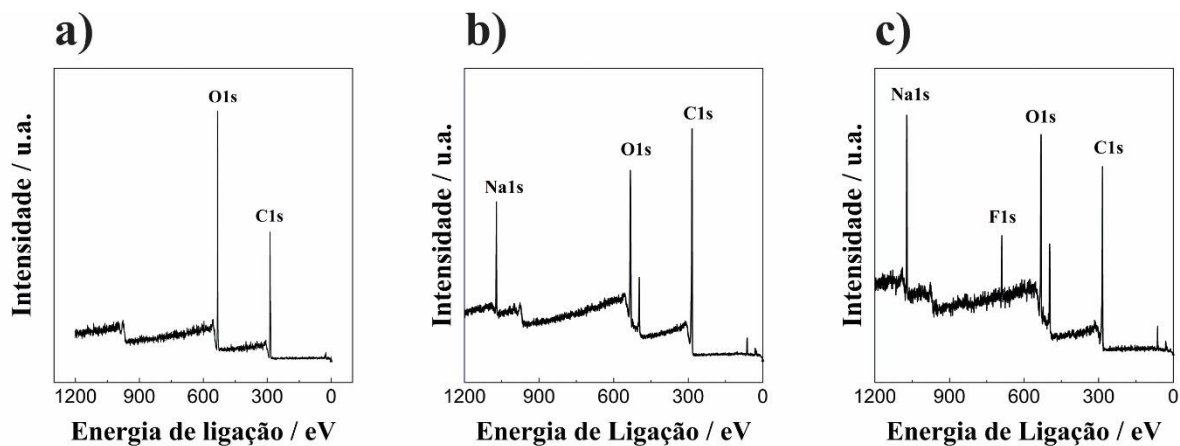
Quando comparamos o espectro XPS da celulose bacteriana pura (**Figura 30-a**), com aqueles obtidos após o tratamento com o laser de CO₂, seja com (**Figura 30-c**) ou sem (**Figura 30-b**) o agente impermeabilizante, nota-se que houve um aumento significativo das ligações C-C/C-H e uma diminuição das ligações C-O/C=O. Mais especificamente, a relação atômica relativa (em porcentagem) das ligações químicas C-C/C-H e C-O/C=O no *nanopaper* de celulose bacteriana pura era de 22,2% e 77,8%, respectivamente. Após o tratamento com o laser de CO₂, essa relação praticamente se inverteu, sendo que 65,3% das ligações químicas registradas na análise referiam-se as ligações C-C/C-H, e apenas 34,7% corresponderam as ligações C-O/C=O. Como mencionado anteriormente, esse comportamento era esperado e está condizente com os trabalhos que utilizam o laser de CO₂ para a conversão de materiais poliméricos em grafeno (ATAIDE et al., 2021; KULYK et al., 2022; NASRAOUI et al., 2023).

Figura 30. Espectro XPS desconvoluído na região C1s para os *nanopapers* (a) de celulose bacteriana pura, (b) modificada com citrato de sódio $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ (c) modificada com citrato de sódio $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ e tratada com o laser de CO_2 , (d) modificada com citrato de sódio $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$, impermeabilizada com a resina fluorcarbono e tratada com o laser de CO_2 .



Ao compararmos os espectros C1s de ambos os *nanopapers* expostos ao laser, notamos a presença de um pico adicional em 291,7 eV no *nanopaper* que foi submetido à impermeabilização com resina fluorcarbono. Este pico corresponde às ligações C-F₂, como indicado por BAHUGUNA et al., 2024 e LIU; CHEN; LI, 2023 e estão em acordo com os dados obtidos na análise ATR-FTIR. O espectro da varredura completa, apresentado na **Figura 31**, reafirma a presença do flúor no *nanopaper* impermeabilizado (**Figura 31-c**), o qual não é observado no *nanopaper* da CB pura ou que não passou pelo processo de impermeabilização (**Figura 31-b**). Além disso, como era esperado, observa-se a presença do sódio nos *nanopapers* de CB que forma modificados com citrato de sódio, o qual não aparece no *nanopaper* da CB pura.

Figura 31. Varredura completa do espectro XPS para os *nanopapers* (a) de celulose bacteriana pura, (b) modificada com citrato de sódio $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ e tratada com o laser de CO_2 , (c) modificada com citrato de sódio $0,3 \text{ mol L}^{-1}$, impermeabilizada com a resina fluorcarbono e tratada com o laser de CO_2 .

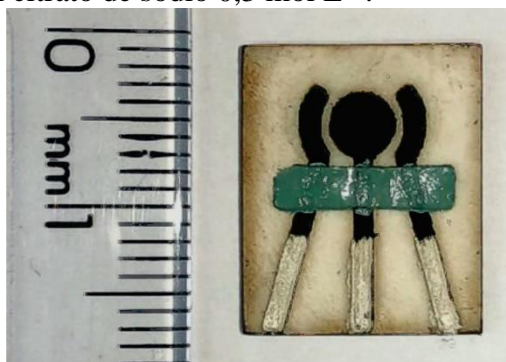


5.5 CONSTRUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS E ELETRODOS

Após todas as análises de caracterização físico-química acima discutidas, ficou evidente que a utilização do *nanopaper* de celulose bacteriana, previamente tratado com citrato de sódio, é altamente eficiente como material precursor para a obtenção de grafeno por meio da técnica de indução a laser. A próxima etapa desse trabalho consistiu em aplicar o material obtido na construção de um sensor eletroquímico. A grande vantagem dessa abordagem, além da obtenção de um material altamente condutor como o grafeno, é a possibilidade de escalonar a produção do eletrodo. Como descrito na metodologia, o *layout* do eletrodo, contendo um eletrodo de trabalho, um contra eletrodo e um eletrodo de referência, foi desenhado utilizando o AutoCAD e, posteriormente, transferido para o software da cortadora a laser de CO_2 . Em um *nanopaper* de 10 cm^2 foi possível gravar 30 eletrodos.

Dessa forma, o filme de CB modificado com citrato de sódio $0,30 \text{ mol L}^{-1}$ e impermeabilizado com a resina fluorcarbono, foi exposto ao laser de CO_2 empregando-se os parâmetros otimizados: velocidade de 5 mm s^{-1} , distância entre o laser e o substrato de 11 mm e força do laser de 12%. Os eletrodos obtidos foram padronizados, como descrito na metodologia, e é apresentado na **Figura 32**. Após a obtenção do eletrodo, iniciaram-se os testes de caracterização eletroquímica com o intuito de avaliar a viabilidade do eletrodo como sensor eletroquímico.

Figura 32. Foto com as dimensões reais do eletrodo produzido aplicando-se a cortadora a laser de CO₂ (modo gravação - 5 mm s⁻¹ e 12% da força do laser) e utilizando o substrato de celulose bacteriana modificado com citrato de sódio 0,3 mol L⁻¹.



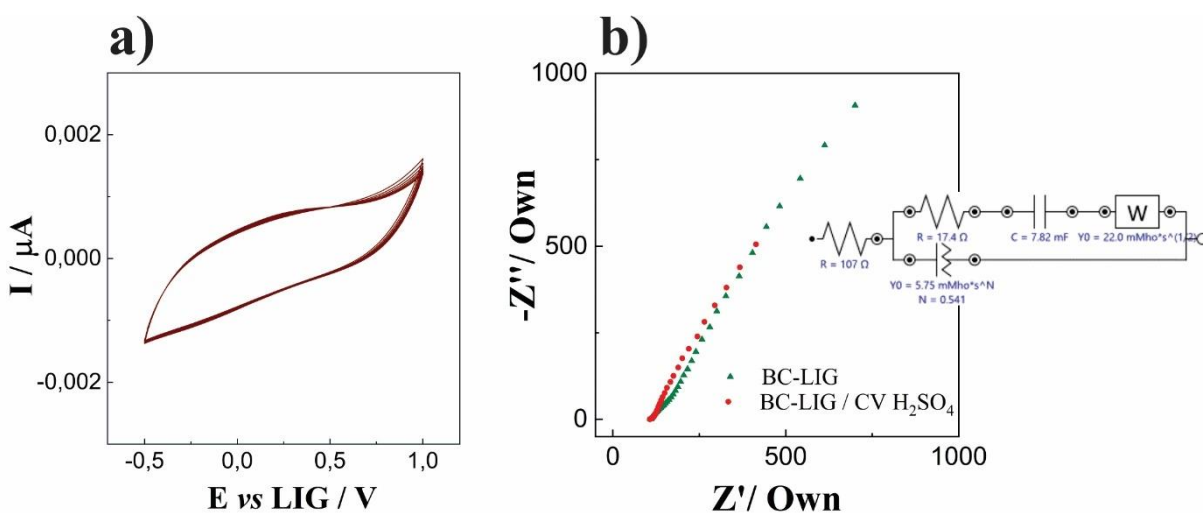
5.5.1 Caracterização eletroquímica do eletrodo de grafeno induzido a laser

Previamente ao início das medidas de caracterização, os sensores foram submetidos a um pré-tratamento eletroquímico usando uma solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,5 mol L⁻¹. Este pré-tratamento envolveu a aplicação da técnica de voltametria cíclica, realizando-se 10 voltamogramas consecutivos. Para isso, utilizou-se 60 µL da solução de ácido sulfúrico, estabelecendo uma faixa de potencial de -0,5 a +0,5 V e uma taxa de varredura de 100 mV s⁻¹, como ilustrado na **Figura 33-a**. Após este processo, os eletrodos foram minuciosamente lavados com água purificada e posteriormente levados à estufa a 45 °C para uma secagem rápida e eficiente. Este procedimento é crucial para assegurar a limpeza e a preparação adequada dos sensores para as análises subsequentes.

O método de ciclagem eletroquímica é comumente aplicado por pesquisadores para polir/limpar eletroquimicamente a superfície dos eletrodos (WANG et al., 2016) ou até mesmo para melhorar sua atividade eletroquímica (CUI et al., 2001). Dessa forma, a fim de investigarmos se a etapa de pré-tratamento influenciou de alguma forma a resposta eletroquímica do eletrodo, realizou-se medidas de impedância eletroquímica antes e após as ciclagens com o ácido sulfúrico. O diagrama de Nyquist foi obtido utilizando-se a sonda eletroquímica utilizada de 5 mmol L⁻¹ de ferricianeto de potássio (K₃[Fe(CN)₆]) e de ferrocianeto de potássio (K₄[Fe(CN)₆]) diluída em KCl 0,5 mol L⁻¹ e é apresentado na **Figura 33-b**. Os dados da análise de impedância eletroquímica nos fornecem informações a respeito da Resistência a Transferência de Carga (RTC) que o material apresenta. Quanto menor o RTC do material, mais facilmente ocorre a transferência de elétrons na interface eletrodo/eletrólito, o que favorece as reações de oxirredução, responsáveis pela corrente faradaica registrada nos sensores eletroquímicos. Os dados obtidos foram ajustados no software do potenciostato

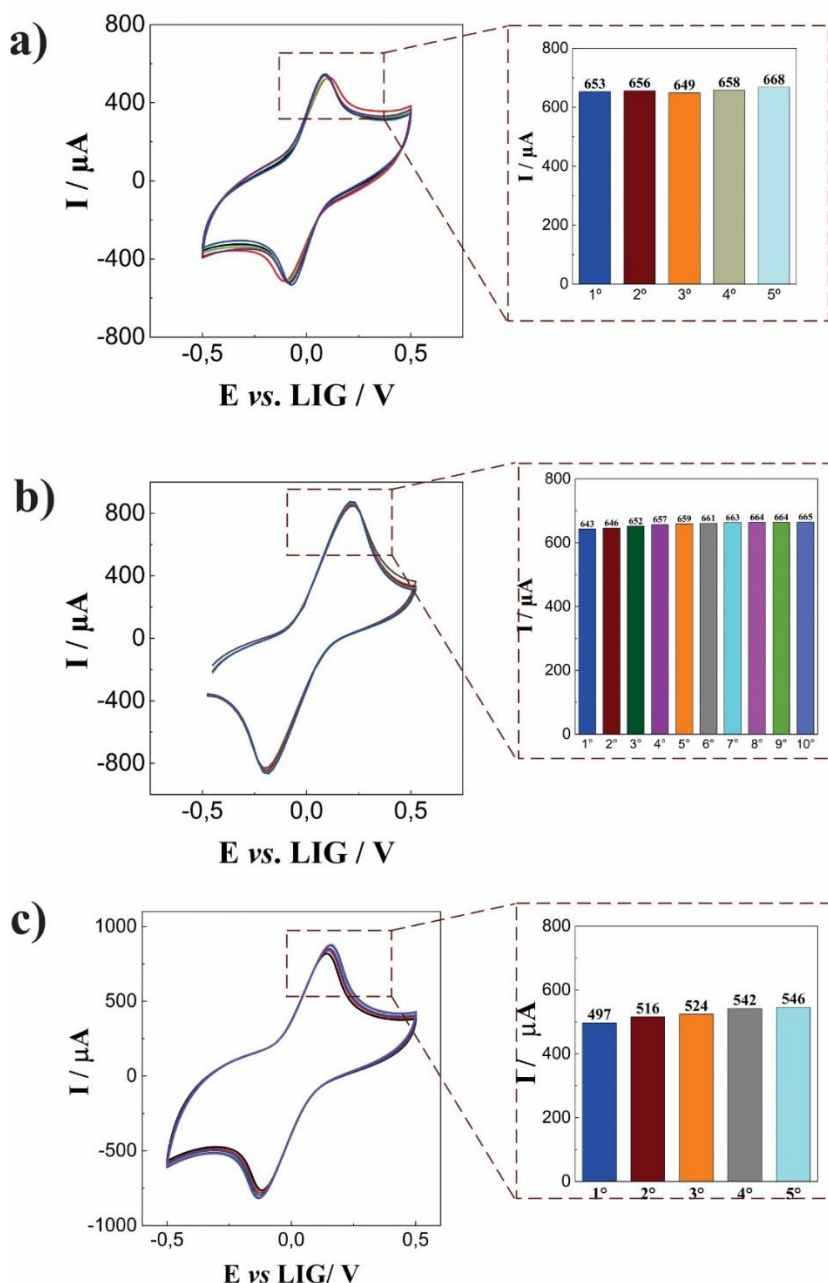
AutoLab (NOVA), o qual nos fornece o circuito equivalente e a RTC do material. Quando comparamos os diagramas obtidos para os eletrodos com e sem o pré-tratamento, podemos observar que houve uma mudança no perfil do gráfico, ocasionando em uma diferença na RTC. O eletrodo sem o pré-tratamento registrou uma RTC de 526Ω (erro estimado de 13%), já o que foi ciclado com a solução de H_2SO_4 apresentou uma RTC de apenas 17Ω (erro estimado de 6,5%). Esses resultados demonstraram que a etapa de pré-tratamento é, para os eletrodos obtidos nesse trabalho, uma etapa importante de se realizar previamente as medidas eletroquímicas.

Figura 33. (a) Voltamograma de 10 varreduras consecutivas referentes a etapa de limpeza eletroquímica com solução H_2SO_4 - taxa de potencial de $-5,0$ a $+0,5$ V e taxa de varredura de 100 mV s^{-1} ; (b) Gráfico de Nyquist registrado antes (verde) e depois (vermelho) da etapa de limpeza eletroquímica, obtido aplicando-se 5 mmol L^{-1} da sonda eletroquímica ferri/ferrocianeto de potássio diluída em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ - taxa de potencial de $-5,0$ a $+0,5$ V e taxa de varredura de 50 mV s^{-1} .



Após a etapa de pré-tratamento do eletrodo, demos sequência a etapa de caracterização eletroquímica. A caracterização eletroquímica de um novo sensor é muito importante para averiguar a viabilidade de aplicação desses dispositivos, por meio de análises de estabilidade, reprodutibilidade e repetitividade. Para este fim, empregou-se a técnica de voltametria cíclica e utilizou-se como sonda eletroquímica uma solução contendo 5 mmol L^{-1} de ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) e de ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) diluída em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. A varredura de potencial aplicada no potenciostato foi de $-0,5$ a $+0,5$ V com velocidade de 50 mV s^{-1} .

Figura 34. Caracterização eletroquímica do eletrodo fabricado aplicando-se a técnica de voltametria cíclica - taxa de potencial de $-5,0$ a $+0,5$ V e taxa de varredura de 50 mV s^{-1} - e 5 mmol L^{-1} da sonda eletroquímica ferri/ferrocianeto de potássio diluída em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$; (a) Análise de reprodutibilidade, aplicando-se 5 eletrodos diferentes (b) Análise de repetitividade, aplicando-se 10 varreduras consecutivas; (c) Análise de estabilidade, simulando o uso descontinuo do eletrodo em 5 medidas diferentes.



Entre as técnicas disponíveis para o estudo do eletrodo, os métodos de varredura de potenciais, como a voltametria cíclica, estão entre as técnicas mais amplamente empregadas. Ao aplicarmos uma faixa de potencial que varia com o tempo, ocorre reações de oxidação e/ou de redução, provenientes das espécies eletroativas presentes na solução, ocasionando as

correntes faradaicas. Além disso, também se registra a corrente capacitiva devido ao carregamento da dupla camada. A contribuição da corrente capacitiva aumenta com o aumento da velocidade empregada durante a varredura (BRETT; BRETT, 1993). Dessa forma, as respostas obtidas na voltametria cíclica mostram dois picos de correntes distintas, chamados de I_{pa} e I_{pc} , correspondentes aos potenciais anódicos (provenientes da reação de oxidação) e catódicos (provenientes da reação de redução), característicos do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ utilizado.

Os dados obtidos nas análises de caracterização foram extraídos dos picos anódicos e são expressos pelo desvio padrão relativo (RSD%), de acordo com a seguinte equação:

$$RSD\% = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{Equação 3.}$$

sendo \bar{X} a média das intensidades do pico e S o desvio padrão

A análise de reprodutibilidade (**Figura 34-a**) foi realizada em 5 eletrodos diferentes, todos eles sob as mesmas condições experimentais e do mesmo lote de produção, e investigou-se a mudança na intensidade no pico de oxidação em cada medida. Após descontarmos a corrente capacitiva, obteve-se uma média na intensidade dos picos anódicos de $656,8 \pm 7 \mu\text{A}$, com um desvio padrão relativo de 1,09% ($n = 5$). No estudo de repetitividade (**Figura 34-b**), analisou-se 10 voltametrias cíclicas consecutivas no mesmo eletrodo, e observou-se que o eletrodo de trabalho gerou picos anódicos bastante similares, com uma média de $657,4 \pm 8 \mu\text{A}$ e com um desvio padrão relativo entre os picos de 1,20 % ($n=10$), indicando que o eletrodo apresenta uma excelente resposta durante medidas consecutivas, não ocorrendo uma variabilidade no resultado. A estabilidade do eletrodo (**Figura 34-C**) foi avaliada simulando-se o uso descontínuo do eletrodo; voltametrias cíclicas independentes foram executadas cinco vezes; entre os ciclos de medição, o eletrodo foi lavado com água purificada e levado até a estufa para secagem a uma temperatura de 45°C . A similaridade dos picos de oxidação durante as 5 medidas foi avaliada e obteve-se uma média de $527 \pm 18 \mu\text{A}$, com um coeficiente de variação de 3,41%. É importante ressaltar que, os dados dos testes de estabilidade foram obtidos com eletrodos produzidos em lotes diferentes dos que foram usados nas análises de reprodutibilidade e repetitividade, o que justifica a diferença na média da intensidade do pico de oxidação.

Os resultados obtidos nas análises de caracterização eletroquímica demonstraram que a técnica aplicada para a produção dos eletrodos foi bastante satisfatória, obtendo-se sensores com respostas eletroquímicas similares entre si e com excelente estabilidade. Além disso,

apesar de apresentarmos a proposta de um eletrodo descartável, o sensor criado demonstrou que pode ser usado repetidas vezes, sem que isso altere significativamente o resultado da sua análise.

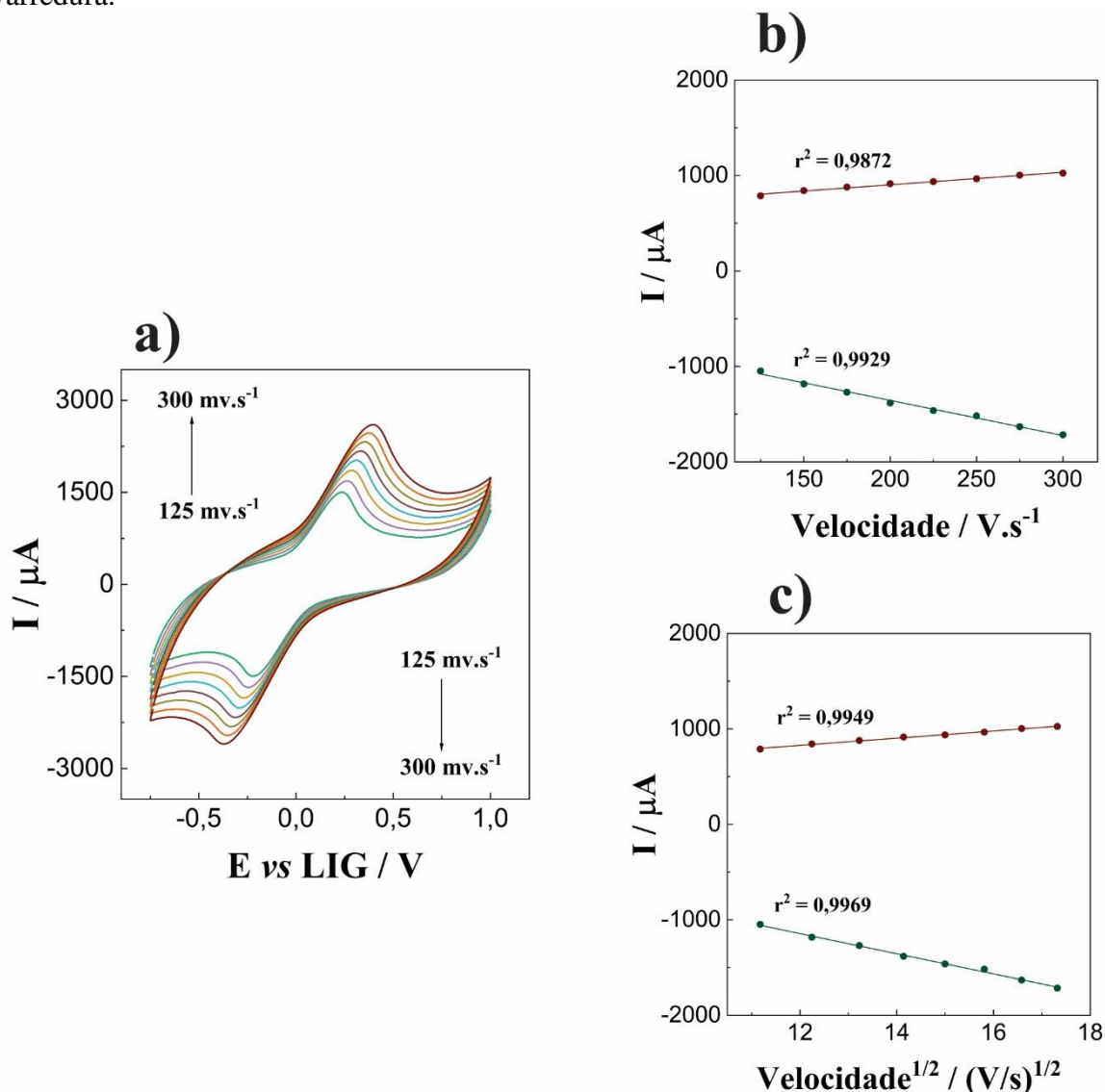
5.5.2 Influência da velocidade de varredura na resposta eletroquímica do eletrodo

A voltametria cíclica também é empregada quando queremos obter dados termodinâmicos e cinéticos a respeito das reações que estão acontecendo na interface eletrodo/eletrólito do seu sensor. Existem dois parâmetros de interesse que podem ser retirados das curvas de corrente *versus* potencial (voltamogramas cíclicos): a razão do pico das correntes catódicas e anódicas (I_{pa}/I_{pc}) e a separação dos potenciais catódicos (E_{pc}) e anódicos (E_{pa}), simbolizado por ΔE_p . Ambos os parâmetros nos dão informações a respeito da reversibilidade do sistema. Para um sistema nernstiano, ou seja, completamente reversível, a razão I_{pa}/I_{pc} deve ser unitária, independente da velocidade de varredura aplicada, e o ΔE_p é sempre 57 mV (BARD; FAULKNER, 2001; BRETT; BRETT, 1993).

Na eletroquímica, quando uma reação é reversível, a transferência de elétrons é rápida e as reações podem acontecer igualmente, para frente e para trás. Nesse caso, as curvas de voltametria direta e reversa são exatamente sobrepostas. Quando a reação na superfície do eletrodo não é completamente reversível (chamadas de quase-reversível) a transferência de elétrons é mais lenta e as reações não são exatamente iguais nas duas direções. Isso leva a uma diferença nos voltamogramas obtidos, visto que a transferência de elétrons mais lenta causa uma maior separação dos picos anódicos e catódicos. Esta separação é um reflexo das mudanças das concentrações na superfície do eletrodo, onde a reação de oxidação e redução acontecem em regiões de potenciais diferentes para cada varredura (BARD; FAULKNER, 2001; BRETT; BRETT, 1993).

Com o intuito de avaliarmos o eletrodo de CB-LIG frente as características acima mencionadas, fez-se o estudo da influência de diferentes velocidades de varredura e avaliou-se as curvas dos voltamogramas obtidos. Para este estudo também empregou-se uma sonda eletroquímica contendo 5 mmol L⁻¹ de ferricianeto de potássio (K₃[Fe(CN)₆]) e de ferrocianeto de potássio (K₄[Fe(CN)₆]) diluída em KCl 0,5 mol.L⁻¹. As medidas foram realizadas a uma taxa de potencial de -0,5 V a +0,5 V e plicando-se as seguintes velocidades de varredura: 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275 e 300 mV.s⁻¹. O conjunto de voltamogramas cíclicos obtido é mostrado na **Figura 35-a**.

Figura 35. Estudo da influência de diferentes velocidades de varredura. (a) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades; (b) relação entre o pico de anódico e a raiz quadrada da velocidade de varredura; (c) logaritmo da relação entre o pico de anódico e velocidade de varredura.



Ao examinar a forma dos voltamogramas obtidos, observa-se que a distância entre os picos anódico e catódico aumenta com o incremento da velocidade de varredura, indicando um comportamento de um sistema quase-reversível. Adicionalmente, a análise da relação entre os picos de corrente anódica e catódica (I_{pa}/I_{pc}) e a diferença de potencial entre eles (E_{pc} e E_{pa}) reforça a conclusão de que o sistema não é completamente reversível. Os valores de I_{pa}/I_{pc} inferiores a um e o aumento da diferença de potencial (ΔE_p) com o aumento da velocidade de varredura não são consistentes com as propriedades de sistemas reversíveis.

Além da reversibilidade do sistema, um importante fator a ser analisado quando falamos de sistemas eletroquímicos é o entendimento do transporte de massa da espécie eletroativa que ocorre na superfície do eletrodo quando uma diferença de potencial é aplicada. O transporte de massa surge devido a diferença no potencial elétrico ou no potencial químico entre dois locais distintos ou do movimento de um elemento dentro da solução. A transferência de massa é dividida em três modos: a migração, que diz respeito ao movimento de um corpo carregado sob a influência de um campo elétrico (gradiente de potencial elétrico); a difusão, que se trata do movimento de uma espécie sob a influência de um potencial químico (gradiente de concentração); e a convecção, que está relacionada ao transporte hidrodinâmico da solução. Se o transporte de massa ocorre predominantemente por difusão, significa que a velocidade com que as espécies eletroativas se movem em direção ao eletrodo é governada principalmente pelo gradiente de concentração, de modo que os transportes por convecção e migração podem ser ignorados (BARD; FAULKNER, 2001; BRETT; BRETT, 1993).

Para obtermos informações a respeito do transporte de massa que ocorre na interface eletrodo/eletrólito, devemos novamente olhar para o gráfico do estudo da influência de diferentes velocidades de varredura. Na **Figura 35-b**, temos os valores das correntes do pico anódico e catódico plotados no eixo y e os valores da velocidade de varredura plotados no eixo x . Podemos observar que tanto os picos de oxidação como os de redução aumentam à medida que a velocidade de varredura aumenta. Além disso, o aumento dos picos é linearmente proporcional à raiz quadrada da taxa de varredura, como podemos ver na **Figura 35-c**. Esses resultados sugerem que as reações que acontecem na interface eletrodo/eletrólito do eletrodo de BC-LIG é controlada predominantemente por difusão (BARD; FAULKNER, 2001; LI et al., 2022; NASRAOUI et al., 2023).

Os resultados analisados proporcionaram uma compreensão aprofundada dos processos eletroquímicos na interface eletrodo/eletrólito do nosso sistema. Observamos que as reações na superfície do eletrodo são quase-reversíveis e que o transporte de massa é dominado pela difusão. Com base nessa última observação, é possível inferir que a intensidade do pico de corrente é diretamente proporcional à área superficial do eletrodo em uso. Consequentemente, a equação de Randles-Sevcik pode ser empregada para estimar essa área (GOWDA; NANDIBEWOOR, 2014; MAIER, 2004; WONG et al., 2020). É crucial destacar que a equação permite o cálculo de duas áreas distintas, a depender das condições experimentais que serão aplicadas: a área geométrica, que presume uma interface de eletrodo perfeitamente plana; e a área eletroativa efetiva, que considera as imperfeições da interface, incluindo porosidade e rugosidade (PAIXÃO, 2020).

Como explica o artigo do PAIXÃO, 2020, a área descrita na equação de Randles-Sevcik é diretamente proporcional a seção transversal por onde ocorre a difusão das espécies redox em direção a superfície do eletrodo. Essa área não é estática e pode mudar dependendo do tempo aplicado no experimento eletroquímico, como, no caso, a voltametria cíclica. A corrente observada na análise é resultado direto da quantidade de espécies redox que atravessam essa área de seção transversal por unidade de tempo, ou seja, o fluxo de difusão. A intensidade da corrente medida será proporcional ao número de moléculas que reagem e chegam à superfície do eletrodo por segundo. Dito isso, é evidente que a velocidade de varredura aplicada durante o experimento eletroquímico irá influenciar diretamente na área superficial calculada por meio da equação de Randles-Sevcik. Velocidades de varreduras muito baixas irão levar a uma seção transversal de difusão mais amplas, muitas vezes maiores que a própria rugosidade e/ou porosidade do eletrodo de trabalho. Dessa forma, a área calculada será proporcional a área geométrica do eletrodo. Para contornar esse problema, apenas velocidades de varreduras mais rápidas devem ser aplicadas, e conseqüentemente, a espessura da camada de difusão será menor, em comparação a rugosidade/porosidade da superfície do eletrodo, e a área real superficial real será calculada.

Dada as informações acima discutidas, utilizou-se a equação de Randles-Sevcik (**Equação 4**) para o cálculo da área eletroativa, levando-se em consideração que as condições experimentais utilizadas estavam de acordo com a discussão proposta no artigo do PAIXÃO, 2020. Ou seja, as velocidades de varredura aplicadas para o experimento (**Figura 35-a**) foram altas, de modo a impedir que a camada difusional se sobressaísse á rugosidade/porosidade da superfície do eletrodo de BC-LIG.

$$I_{pa} = \pm 0,436 nFAC \sqrt{\frac{nFDV}{RT}} \quad \text{Equação 4.}$$

$$I_{pa} = k v^{1/2}, \text{ sendo } k \text{ é o coeficiente angular da curva } I_{pa} \text{ vs } v^{1/2}$$

Onde:

I_{pa} diz respeito a intensidade do pico da corrente anódica (em Amperes);

n é o número de elétrons envolvido na reação eletroquímica da sonda redox utilizada – 1 para o $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$;

F trata-se da constante de Faraday (96,480 C mol⁻¹);

v representa a velocidade de varredura aplicada (V s⁻¹);

R é a constante universal dos gases ($8,314 \text{ J K}^{-1}\text{mol}^{-1}$);

T diz respeito a temperatura em Kelvin (298 K);

D é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$) – $7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$ para o $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-4}$;

A representa área do eletrodo (cm^2).

Utilizando a equação de Randles-Sevcik e o coeficiente angular da relação entre a corrente de pico anódico (I_{pa}) e a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), conforme ilustrado na **Figura 35-c**, determinamos que a área superficial real do eletrodo é de 300 mm^2 . Comparando com a área geométrica do eletrodo, que é de 9 mm^2 , a área eletroativa é 33 vezes maior. Esse resultado destaca o potencial do eletrodo de BC-LIG para uso em sensores eletroquímicos, devido à sua área superficial excepcionalmente ampla.

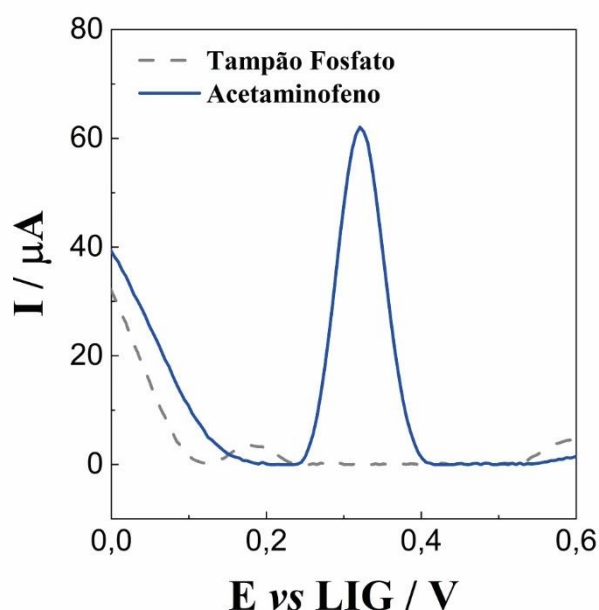
5.6 PROVA DE CONCEITO: QUANTIFICAÇÃO ELETROQUÍMICA DO ACETAMINOFENO

Para ilustrar o potencial de aplicação da CB-LIG como um dispositivo eletroquímico baseado em papel, conduzimos um estudo voltado para sua aplicação na análise quantitativa do acetaminofeno (AC), também conhecido como paracetamol, um biomarcador de significativa importância associado a diversas disfunções fisiológicas, incluindo hepatotoxicidade. Uma vez que a voltametria cíclica não oferece a sensibilidade desejada para fins de quantificação, optamos por utilizar a voltametria de onda quadrada (SWV) como técnica analítica. O método SWV foi otimizado para a determinação do Acetaminofeno, resultando nos seguintes parâmetros ideais: faixa de potencial entre $-0,5$ e $+1,0 \text{ V}$; potencial de passo 50 mV ; amplitude de modulação 75 mV ; frequência de 10 Hz ; taxa de varredura 50 mV s^{-1} . As soluções de paracetamol foram preparadas em um eletrólito de suporte tampão fosfato, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Com o objetivo de avaliarmos a capacidade do eletrodo de CB-LIG em detectar Acetaminofeno, iniciamos os estudos registrando a SWV do analito na concentração de $100 \mu \text{ mol L}^{-1}$, sob os parâmetros de análise otimizados anteriormente. Da mesma forma, a mesma medida também foi realizada para o eletrólito de suporte (o branco). Os voltamogramas obtidos são mostrados na **Figura 36**. O eletrólito de suporte, na ausência de qualquer molécula redox, não deveria registrar nenhum pico de oxidação. Entretanto, observou-se um pico em torno de $0,17 \text{ V}$, que se repetiu consistentemente em todas as medidas eletroquímicas obtidas por SWV, independentemente do lote de sensores utilizado. Esse achado nos levou a considerar que a formação desse pico pode estar associada ao processo de fabricação dos sensores CB-LIG, que,

por ser em grande parte artesanal, pode introduzir impurezas durante a sua produção, as quais permanecem no eletrodo de trabalho mesmo após o pré-tratamento eletroquímico com ácido sulfúrico. No entanto, é importante ressaltar que esse pico não interfere na determinação quantitativa do analito AC. Conforme evidenciado na **Figura 36**, o pico de oxidação do Acetaminofeno ocorre a aproximadamente 0,35 V, um potencial mais elevado do que o observado na SWV do eletrólito de suporte. Além disso, o pico atribuído a uma possível impureza no eletrodo de trabalho não se manifestou nas medidas da solução de AC, uma vez que a corrente medida para o analito é substancialmente maior do que a registrada no eletrólito de suporte. Assim, torna-se patente que o sensor BC-LIG demonstrou com sucesso sua capacidade de detectar o paracetamol.

Figura 36. Comparação de respostas eletroquímicas entre o eletrólito de suporte, tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ – pH 7,4 (linha tracejada) e o analito, fármaco acetaminofeno 100 μmol L⁻¹ (linha sólida) utilizando a voltametria de onda quadrada, sob os parâmetros: faixa de potencial entre -0,5 e +1,0 V; potencial de passo 5 mV; amplitude de modulação 75 mV; frequência de 10 Hz; taxa de varredura 50 mV s⁻¹



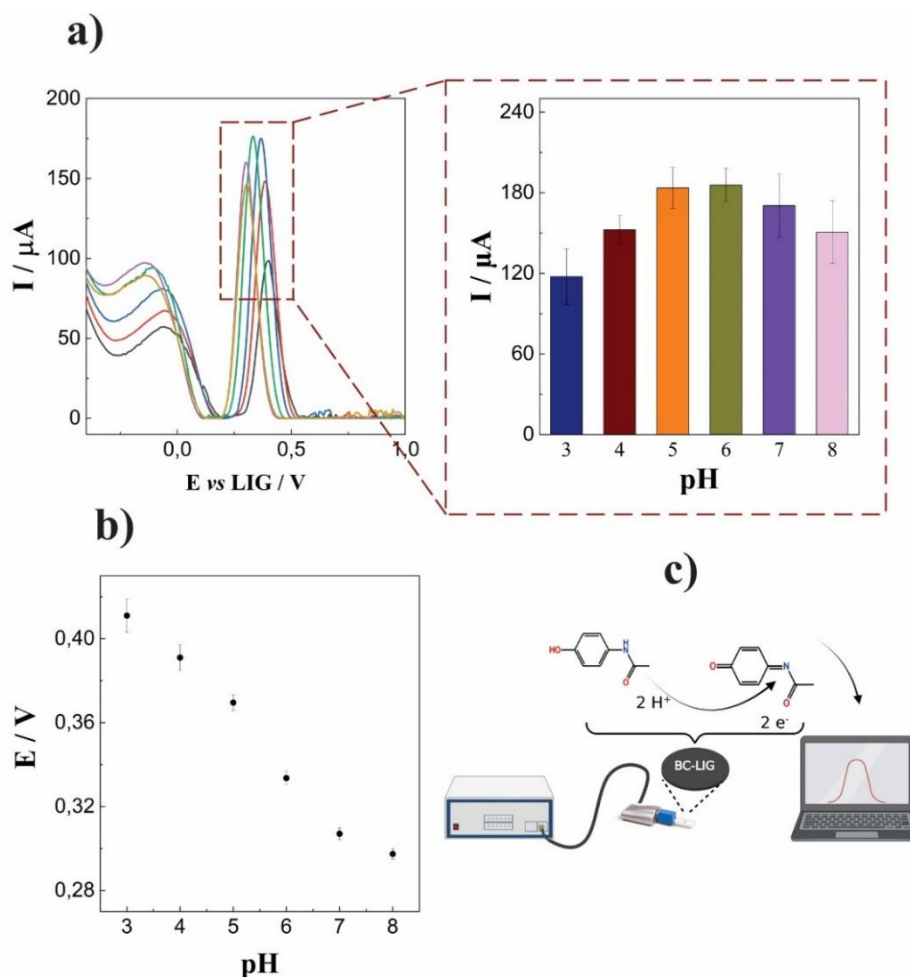
5.6.1 Análise da influência do pH

Foi conduzida uma investigação sobre como o pH do eletrólito de suporte afeta a atividade eletrocatalítica do acetaminofeno na superfície do eletrodo CB-LIG. Para isso, utilizamos um tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito, contendo 100 μmol de AC, variando o pH entre 3,0 e 8,0. Conforme ilustrado na **Figura 37-a**, observamos um aumento leve nos

picos da corrente de oxidação da SWV à medida que o pH aumenta (do pH 3,0 ao 6,0), seguido de uma diminuição nos pH 7,0 e 8,0. Os pHs que proporcionaram as maiores correntes oxidativas do analito foram encontrados entre 5,0 e 7,0. Decidimos trabalhar com o pH 6,0, uma vez que a etapa final do trabalho consiste em monitorar o analito AC em amostras reais de urina, que normalmente têm um pH entre 5,5 e 7,0. Dessa forma, garantimos que nosso experimento esteja alinhado com as condições de análise esperadas em amostras reais.

Além disso, ao analisar a influência do pH, também observamos mudanças no potencial de oxidação do analito, como mostrado na **Figura 37-b**. Essas mudanças ocorreram de forma gradual, com o potencial se tornando mais baixo à medida que o pH aumentava. Embora essa relação não seja completamente linear, ela indica a ocorrência de transferência de prótons na reação eletroquímica registrada no eletrodo de trabalho (LIU et al., 2016; QIN et al., 2022; WANG et al., 2023). O possível mecanismo para essa reação é explicado na **Figura 37-c**, onde podemos observar que o AC é oxidado através da transferência de dois prótons.

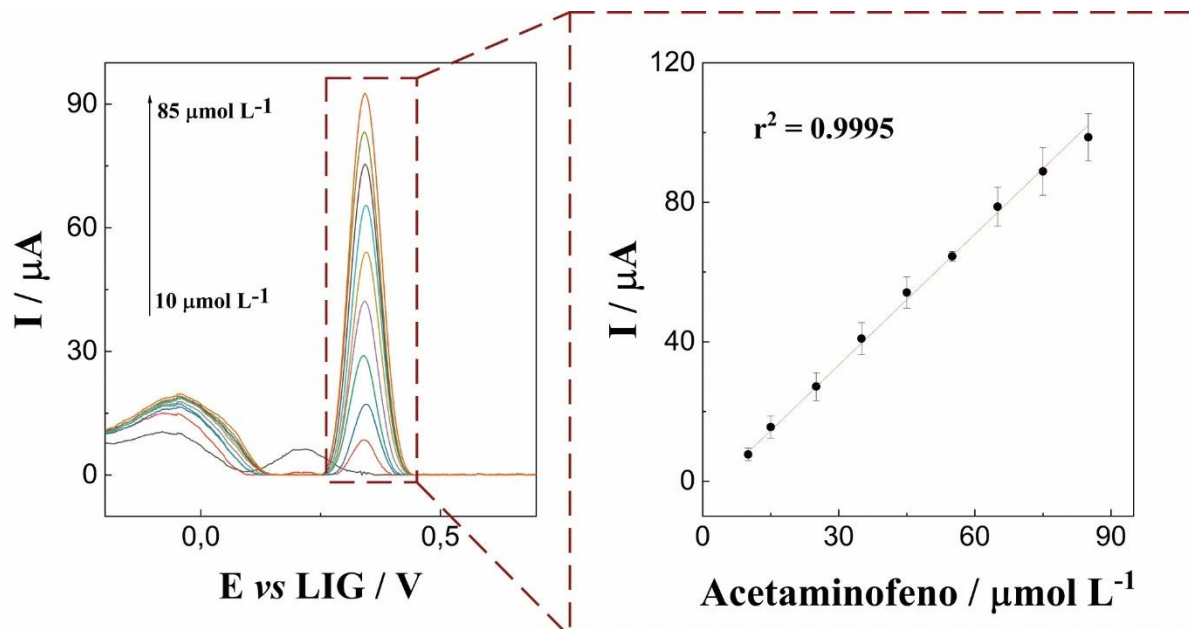
Figura 37. Voltamogramas SWV - faixa de potencial entre -0,5 e +1,0 V; potencial de passo 5 mV; amplitude de modulação 75 mV; frequência de 10 Hz; taxa de varredura 50 mV s⁻¹- da BC-LIG em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ com 100 μmol L⁻¹ AC, rastreamento a oxidação de Ipa em uma faixa de pH de 3,0 a 8,0; (b) Gráfico mostrando a relação entre a mudança de pH *versus* o potencial no pico de oxidação; (c) mecanismo de oxidação/redução proposto para o AC



5.6.2 Resposta Eletroquímica do Sensor CB-LIG para a Determinação analítica do Paracetamol

Sob as condições ótimas previamente discutidas, as quais incluem o pré-tratamento do sensor de CB-LIG em meio ácido (H_2SO_4 0,5 mol L⁻¹) e o pH do eletrólito de suporte (tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹) ajustado em 6,0, a voltametria de onda quadrada (nos parâmetros pré-determinados) foi aplicada para determinar a sensibilidade e o limite de detecção do sensor. Nessa etapa, estudamos a relação linear entre diferentes concentrações de Acetaminofeno em relação a corrente medida, como mostra a **Figura 38**.

Figura 38. Voltamogramas SWV para AC em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6) em concentrações variando entre 10 μmol L⁻¹ e 85 μmol L⁻¹, com parâmetros de análise ajustados em: faixa de potencial de -0,5 e +1,0 V; amplitude de modulação 75 mV; frequência de 10 Hz; taxa de varredura 50 mV s⁻¹.



Como esperado, o pico da corrente de oxidação do AC, que no pH 6,0 acontece no potencial de 0,3 V, aumenta linearmente com o aumento das concentrações de AC, que variou de 10 a 85 μmol L⁻¹. Para verificar a linearização da curva e estabelecer os limites de detecção (LoD) e de quantificação (LoQ), empregamos o Software ConfiLab (versão 1.0.30). Os resultados mostraram excelentes coeficientes de correlação (r) e determinação (r^2) ambos com valores de 0,99, com um LoD de 1,65 μmol e um LoQ de 5,00 μmol. Os dados brutos retirados dos experimentos e utilizados para os cálculos, assim como análises estatísticas adicionais, podem ser encontradas no Anexo-A. É importante observar que o LoQ acima apresentado é um valor calculado, o qual apresentou uma incerteza padrão de 42,72. O LoQ experimental foi de 10 μmol e apresentou uma incerteza padrão de 20,72.

Embora o sensor eletroquímico de CB-LIG não alcance níveis tão baixos de limite de detecção quanto os observados em estudos reportados na literatura para este analito (conforme mostrado na **Tabela 2**), é fundamental enfatizar que o eletrodo desenvolvido no presente trabalho é miniaturizado, portátil e não requer modificações complexas do eletrodo de trabalho. Apenas um simples pré-tratamento com H₂SO₄ foi realizado, e há margem para melhorias em nosso sinal. Além disso, um aspecto distintivo do nosso sensor é sua natureza biodegradável e descartável, uma característica que responde a preocupações ambientais crescentes. Muitos dos sensores mencionados na literatura para determinação do AC utilizam

eletrodos de carbono vítreo e aplicam modificações sofisticadas em suas superfícies. Mesmo quando sensores miniaturizados e portáteis são mencionados, eles costumam ser construídos com substratos poliméricos sintéticos, como os trabalhos propostos por GOMES & RAYMUNDO-PEREIRA, 2023 e do KARIKALAN et al., 2016, o que pode levantar questões ambientais. Até o momento desta defesa de doutorado, não encontramos nenhum outro sensor biodegradável aplicável à determinação de acetaminofeno.

Diante dessas considerações, é inegável que o sensor CB-LIG apresenta potencial significativo para uma variedade de aplicações em detecção eletroquímica. Suas vantagens incluem a facilidade de preparação, a perspectiva de aprimoramento do sinal e seu compromisso com práticas ecologicamente corretas. Isso o torna uma escolha promissora e responsável para futuras aplicações científicas e industriais.

Tabela 2. Comparação em nível de LoD de sensores eletroquímicos aplicados para a determinação de acetaminofeno.

Eletrodo	LoD (µM)	Eletrólito de suporte	Faixa de Detecção (µM)	Referência
GCE/GO/ZIF-8	0,014	Tampão fosfato – pH 7	0,05 – 1,3	(WANG et al., 2023)
GCE/Pd/MWCNTs	0,130	PBS – pH 7	0,5 – 100	(WU et al., 2020)
GCE/COF/3D NCNF-T/AuNps	0,050	PBS – pH 5,5	0,4 – 320	(GUAN et al., 2021)
GCE/Sn@C	0,020	PBS	0,2 – 100	(QIN et al., 2022)
GCE/Cu₃(HITP)₂/rGO	0,014	PBS – pH 6,0	0,1 – 100	(LI et al., 2022)
GCE/CuCo-NC	0,050	PBS – pH 7,0	0,1 – 400	(JIANG et al., 2022)
SPE/VC@Ru-PANI-NPs	0,024	Tampão fosfato – pH 5	0,1 – 382	(DURASAMY et al., 2023)
SPE/rGO-PDDA - Zensor R&D Co., Ltd	0,077	PBS – pH 7,4	0,794 – 68,90	(JUANG et al., 2023)
BSPE – Zensor R&D Co., Ltd	0,013	Tampão fosfato – pH 7,0	0,05 – 190	(KARIKALAN et al., 2016)
SPE – tinta de carbono em substratos de poliéster	0,306	PBS	0 – 14	(GOMES; RAYMUNDO-PEREIRA, 2023)
CB-LIG	1,651	Tampão fosfato – pH 6,0	10 – 100	Presente Trabalho

GCE: eletrodo de carbono vítreo / **GO:** óxido de grafeno / **ZIF-8:** Zn: estrutura organometálica / **MWCNTs:** nanotubos de carbono / **COF:** *covalente organic framework* / **NCNF-T:** carbono tridimensional contendo

nitrogênio / **AuNps**: nanopartículas de ouro / **Sn@C**: composto de estanho e carbono/ **CuCo-NC**: bimetálico suportado por carbono e dopado com nitrogênio / **Cu₃(HITP)**: estrutura organometálica / **rGO**: óxido de grafeno reduzido / **SPE**: eletrodos feitos por serigrafia / **sVC**: Carboneto de Vanádio / **Ru**: Rutênio / **PANI-NPs**: nanopartículas de polianilina / **PDDA**: Poli(cloreto de dialildimetilamônio) / **Zenzor R&D Co., Ltd**: empresa onde os eletrodos foram adquiridos.

5.6.3 Estudo de Seletividade

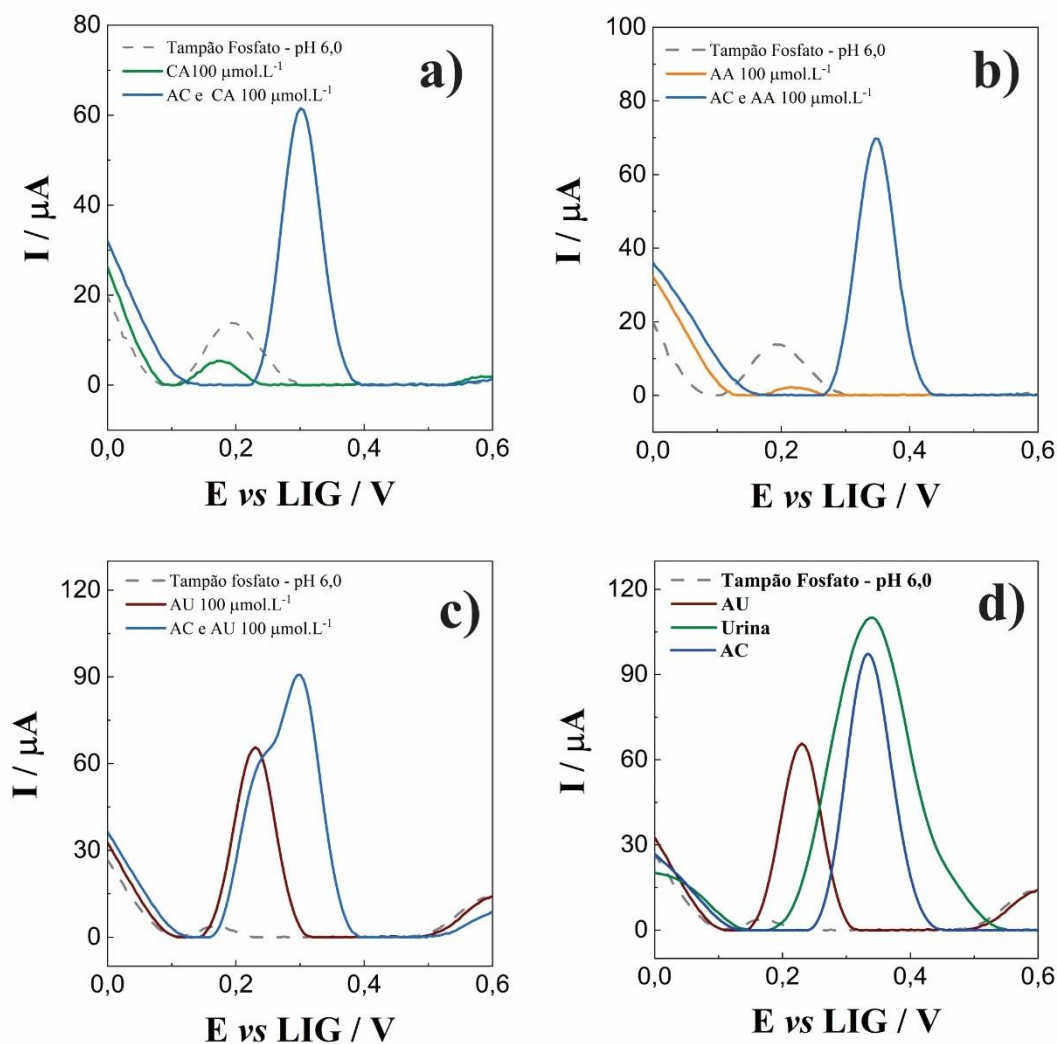
Além de apresentar uma ampla faixa de concentração e um baixo limite de detecção, a seletividade de um sensor eletroquímico desempenha um papel importante no desenvolvimento de biossensores. Esse cuidado deve ser redobrado quando desenvolvemos sensores cujo sinal analítico depende apenas da capacidade do analito em sofrer reações de oxidação e/ou redução (analitos eletroativos). Nesse caso, moléculas com propriedades eletroquímicas semelhantes podem sofrer reações de oxirredução no mesmo potencial do seu analito, sendo um interferente importante. O primeiro cuidado que devemos tomar ao investigarmos possíveis interferentes é analisar a matriz em que o analito será analisado, seja ela biológica ou de cunho ambiental, a fim de entender quais moléculas podem coexistir com seu analito nessa matriz. No presente trabalho, temos como objetivo quantificar o acetaminofeno em amostras de urina. Uma ampla variedade de moléculas pode coexistir com o AC nessa matriz. Optamos por investigar três delas: a cafeína (CA), o ácido ascórbico (AA) e o ácido úrico (AU).

As moléculas potencialmente interferentes acima mencionadas foram analisadas a uma concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, diluídas em solução tampão fosfato (pH 6,0) e seus voltamogramas foram registrados utilizando a voltametria de onda quadrada, nos mesmos parâmetros usados na detecção do Acetaminofeno. Como em um cenário real essas moléculas estariam coexistindo com o AC, cada uma delas foi misturada com o analito ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) e seus voltamogramas também foram registrados. Além disso, em todas as análises a medida no branco (tampão fosfato) também foi realizada, a fim de elucidar que o pico que aparece por volta de 0,17 V nos voltamogramas das moléculas analisadas é referente a possível impureza do eletrodo de trabalho, que sempre aparece em medidas onde o sinal do analito não é pronunciado.

Tendo em vista que a combinação de acetaminofeno e cafeína é muito comum na formulação dos analgésicos, iniciamos o estudo de seletividade analisando a molécula de Cafeína como possível interferente nas medidas do paracetamol. Como podemos ver na **Figura 39-a**, a cafeína pura (**linha sólida verde**), não apresentou sinal analítico na faixa de potencial investigada. Da mesma forma, quando analisamos a mistura das moléculas CA com o AC (**linha**

sólida azul) o único pico registrado foi o de oxidação do analito, em 0,3 V, confirmando que a cafeína não é um interferente em nossas medidas.

Figura 39. Aplicação da SWV – faixa de potencial entre -0,5 e +1,0 V; potencial de passo 5 mV; amplitude de modulação 75 mV; frequência de 10 Hz; taxa de varredura 50 mV s⁻¹ - para o estudo de seletividade do sensor de CB-LIG frente as moléculas de (a) cafeína, (b) ácido ascórbico e (c) ácido úrico puras e misturadas como Acetaminofeno, além da análise (d) da urina pura.



O ácido ascórbico, devido à sua ação oxidante, é amplamente empregada para tratamentos de resfriados juntamente como acetaminofeno e também foi investigada na análise de seletividade. O voltamograma obtido é apresentado na **Figura 39-b**. O resultado registrado foi muito similar ao da cafeína, visto que nenhum pico de oxidação foi registrado na medida eletroquímica da solução pura de AA (**linha laranja sólida**) ou mesmo na mistura com o

acetaminofeno (**linha sólida azul**). Os dados indicam, portanto, que a molécula de AA não interfere na determinação eletroquímica do acetaminofeno.

Por fim, avaliamos a interferência do ácido úrico nas medidas do AC, visto que se trata de uma biomolécula abundante em nosso organismo, sendo produto endógeno da purina e excretado principalmente na urina. Quando avaliamos o voltamograma da solução de AU puro (**Figura 39-c, linha sólida vermelha**), notamos que ele apresentou um potencial de oxidação por volta de 0,25 V, muito próximo ao potencial do nosso analito, que fica em 0,3 V. Da mesma forma, ao investigarmos a mistura das moléculas de AC e AU (**Figura 39-c, linha sólida azul**), verificamos que o sinal analítico apresenta baixa resolução, devido a proximidade dos picos de oxidação de ambas as moléculas. Esse fato acontece devido à similaridade das propriedades eletroquímicas dos compostos analisados, ou seja, a facilidade com que o AC e o AU transferem elétrons e sofrem oxidação durante as medidas eletroquímicas. No entanto, as condições experimentais, como pH, e as propriedades catalíticas e eletroquímicas do eletrodo de trabalho também podem ter influenciado no desempenho seletivo do sensor (HUDARI et al., 2013).

Para entendermos se o ácido úrico iria afetar diretamente a determinação do AC em amostras reais de urina, realizou-se a voltametria de onda quadrada da urina pura, sem qualquer tratamento ou diluição. O resultado dessa medida foi comparado com a o sinal eletroquímico da molécula de ácido úrico e do Acetaminofeno, também puros, e são apresentados na **Figura 39-d**. A urina pura (**linha sólida verde**) apresentou um potencial de oxidação em 0,34 V, encobrendo completamente o pico do nosso analito. A partir dessa análise, ficou evidente que a urina possui moléculas eletroativas que oxidam exatamente no mesmo potencial que o acetaminofeno, além de apresentar um pico largo, atrapalhando ainda mais o sinal eletroquímico do nosso analito. Devido a proximidade do sinal catódico observado na urina pura e no AU, intui-se que a molécula eletroativa que estamos medindo na urina diz respeito a biomolécula do ácido úrico. O deslocamento dos picos pode estar relacionado com a complexidade da matriz biológica utilizada, que apresenta diversos compostos químicos e bioquímicos.

Para resolver o desafio da seletividade do nosso sensor em relação ao ácido úrico, que é encontrado em alta concentração na urina e afeta a determinação do acetaminofeno, decidimos diluir a amostra biológica para reduzir seu impacto nas medidas eletroquímicas. É importante destacar que poderíamos ter melhorado a separação dos picos de oxidação do AC e do AU por meio da modificação do eletrodo de trabalho, o que resolveria o problema de seletividade do sensor. No entanto, dada a natureza da nossa pesquisa, que busca aplicar o sensor de CB-LIG sem a necessidade de tratamentos complexos, optamos pela abordagem mencionada.

5.6.4 Investigação da aplicabilidade do sensor BC-LIG em amostras reais de urina

A etapa final do nosso trabalho envolveu a aplicação do sensor de CB-LIG para a determinação eletroquímica do acetaminofeno em amostras reais de urina. As amostras de urina foram doadas por quatro indivíduos saudáveis. Para isso, o sensor foi submetido ao método de recuperação padrão. O método de recuperação padrão é uma maneira de testar a aplicabilidade de uma nova plataforma sensora, onde uma concentração conhecida do analito é adicionada na matriz de interesse. Os valores resultantes dessa análise são comparados com os valores reais de concentração adicionados, em termos de porcentagem de recuperação. Sendo assim, concentrações conhecidas de acetaminofeno (entre 10 e 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foram adicionadas na amostra de urina, que, como discutido na sessão anterior, precisou ser diluída para mitigar sua interferência no sinal analítico do acetaminofeno. Essa diluição foi feita em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} , pH 6,00, sendo que a urina foi diluída mil (1.000) vezes. Em seguida, prosseguiu-se com as medidas eletroquímicas utilizando a SWV, nas mesmas condições experimentais empregadas anteriormente (faixa de potencial entre -0,5 e +1,0 V; amplitude de modulação 75 mV; frequência de 10 Hz; taxa de varredura 50 mV s^{-1}). As análises foram realizadas para quatro amostras de urina distintas, sendo que em todas elas as medidas eletroquímicas foram feitas em triplicata (três eletrodos diferentes). Os resultados obtidos são apresentados na **Tabela 3**. As porcentagens de recuperações alcançadas para o eletrodo desenvolvido neste trabalho foram bastante satisfatórias, variando de 93 a 114%, o que demonstra que nosso sensor tem potencial para aplicação em amostras reais. Além disso, para avaliação do efeito da matriz, utilizou-se novamente o software Confilab, onde foi avaliado a variância entre os coeficientes angulares do e intercepto obtidos nas curvas da matriz biológica e do tampão fosfato (pH=6,0), por meio dos testes “t” e “f” (anexo-b). Ambos mostraram que não houve variância entre as curvas, indicando que não houve efeito da matriz nas medidas.

É importante considerarmos alguns pontos na discussão acerca da aplicabilidade do sensor CB-LIG em amostras reais de urina. Estudos demonstram que, em pessoas saudáveis, o acetaminofeno é predominantemente (95% da dose terapêutica) metabolizado no fígado e excretado na urina na forma de metabólitos e, também, em sua forma pura. No entanto, cerca de 4% do acetaminofeno é excretado em sua forma pura (FORREST; CLEMENTS; PRESCOTT, 1982; TRETTIN et al., 2011). Se consideramos que uma pessoa ingeriu uma dose de AC de 1.000 mg, e que a bexiga tem um volume de 400 mL, podemos estimar que a concentração do analito na urina será de aproximadamente 625 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Como a matriz de urina foi diluída 1.000 \times , precisaríamos alcançar um limite de detecção em torno de 0,65 μmol

L^{-1} , ou menos, para afirmarmos que nosso sensor poderia detectar acetaminofeno em amostras reais de urina diluídas 1000 x. No entanto, como já foi apresentado, o sensor de CB-LIG possui um limite de detecção de 1,651 μmol , acima da concentração de AC estimada.

Frente aos resultados e as discussões apresentadas, constata-se que a questão da seletividade foi uma barreira importante na aplicação do sensor de CB-LIG para a determinação eletroquímica do acetaminofeno. Devido à alta concentração do ácido úrico na matriz biológica e seu comportamento eletroquímico em potenciais próximos ao com nosso analito, a aplicação do sensor em amostras reais ficou comprometida. No entanto, devemos enfatizar que esse problema pode ser contornado com modificações específicas no eletrodo de trabalho, que além de melhorar o sinal analítico do sensor, atingindo-se limites de detecção mais baixos, a diferença entre os potenciais de oxidação de ambas as moléculas pode ser amplificada. Estudos reportados na literatura corroboram com os dados encontrados em nossas análises. Os autores MAHANTHAPPA et al.(2022), por exemplo, desenvolveram um sensor eletroquímico para a determinação simultânea de quatro analitos, entre eles o acetaminofeno e o ácido úrico. Seus resultados demonstraram que o eletrodo de carbono vítreo puro não é capaz de identificar separadamente os picos de oxidação dos analitos, visto que eles se sobrepueram. Apenas após a modificação do eletrodo de trabalho, que envolveu a aplicação de esferas de carbono mesoporosas, duplamente dopada com nitrogênio e fósforo (NPHMCS), os picos de oxidação dos analitos puderam ser distinguidos. Os autores justificam essa mudança devido ao melhoramento na capacidade de transferência elétrons entre as biomoléculas e a interface do eletrodo, que levou a um aumento significativo da corrente, diminuição no alargamento do pico, e consequente separação nos potenciais de oxidação dos analitos. Trabalhos similares, como os do NGO et al. (2020), YANG et al. (2016) e HUDARI et al., (2013), também enfrentaram desafios semelhantes e só conseguiram a determinação analítica de ambas moléculas (AC e AU) após a modificação do eletrodo de trabalho.

Embora tenhamos discutido anteriormente algumas limitações do sensor desenvolvido neste estudo, nossos resultados evidenciam que, através de uma técnica simples de gravação a laser, conseguimos criar uma plataforma sensora altamente reprodutível e estável. Esta plataforma exhibe um notável potencial para aplicações na determinação analítica de moléculas como o acetaminofeno ou, até mesmo, o ácido úrico. Nossa pesquisa demonstra que os desafios identificados podem ser facilmente superados por meio do aprimoramento do eletrodo de trabalho, aproveitando a inovação da plataforma sensora que oferece um vasto leque de opções para otimizar o sinal analítico.

Tabela 3. Resultados obtidos para a determinação eletroquímica do acetaminofeno em amostras reais de urina. Para cada amostra, a primeira coluna apresenta a concentração (em mol L⁻¹) encontrada e a coluna 2 indica a recuperação padrão do acetaminofeno.

Concentração de AC adicionada / $\mu\text{mol L}^{-1}$	*Amostra 1		*Amostra 2		*Amostra 3		*Amostra 4	
	Concentração encontrada $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação %	Concentração encontrada $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação %	Concentração encontrada $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação %	Concentração encontrada $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação %
10	-	-	-	-	9,6 ± 0,4	96	11 ± 1	110
15	16 ± 1	110	14 ± 1	95	-	-	-	-
35	-	-	-	-	39 ± 1	112	34 ± 2	99
45	42 ± 1	93	47 ± 1	105	-	-	-	-
65	-	-	-	-	74 ± 4	114	70 ± 3	108
75	81 ± 4	109	85 ± 7	113				

*As medidas eletroquímicas das amostras foram realizadas em triplicata, ou seja, em três eletrodos diferentes.

% Recuperação (concentração encontrada/concentração adicionada) × 100

6. CONCLUSÃO

O objetivo central dessa pesquisa foi desenvolver um método inovador e simplificado para criar eletrodos altamente condutivos diretamente sobre o filme de celulose bacteriana, por meio de um processo de uma única etapa e facilmente escalável. Utilizamos o laser CO₂ como fonte de energia e a própria celulose bacteriana como precursora do material condutor, o grafeno. Ao longo deste estudo, enfrentamos diversos desafios. Um dos principais foi a fragilidade do filme fino de celulose bacteriana perante as altas temperaturas geradas pelo laser CO₂, que ultrapassam 2.500 °C e podem danificar a estrutura do material. Para contornar esse obstáculo, adotamos uma estratégia para aumentar a gramatura da celulose bacteriana, tornando-a resistente ao calor sem comprometer sua integridade. Graças à alta capacidade de retenção de água dos grupos hidroxila (-OH) presentes na celulose bacteriana, conseguimos formar hidrogéis ao hidratar esses filmes, o que permitiu aumentar sua gramatura de forma eficaz. Esta primeira etapa já demonstrou quão versátil pode ser esse o filme de CB, podendo ser preparado em diferentes gramaturas e no formato desejado.

Apesar do aumento na resistência mecânica, a conversão da celulose bacteriana em grafeno ainda enfrentava desafios, pois o material se deteriorava sob as elevadas temperaturas do processo a laser. Para contornar isso, recorremos a métodos físicos para modificar as nanofibras de celulose, em busca de uma técnica que atrasasse sua temperatura de degradação, tornando viável a sua pirólise. A característica estrutura porosa da celulose bacteriana favoreceu a incorporação do citrato de sódio em suas nanofibras, através de um processo de adsorção que se mostrou simples, rápido e eficaz. Esta adição de citrato de sódio foi crucial para desacelerar o processo de degradação da celulose bacteriana, abrindo caminho para sua eficiente conversão em grafeno. Com isso, e após a otimização dos parâmetros da cortadora a laser de CO₂ (velocidade do laser 5 mm.s⁻¹, potência de 12% e distância entre o laser e o substrato de 11 mm) o sistema de três eletrodos proposto foi gravado com sucesso na superfície da celulose bacteriana, sem que o material sofresse algum dano estrutural.

Apesar dos desafios inerentes à transformação de materiais celulósicos em grafeno induzido por laser, ilustramos neste estudo como a funcionalização direta de fibras de celulose bacteriana com citrato de sódio pode superar essas dificuldades. Um exame por espectroscopia Raman revelou as bandas de grafeno, características do material de carbono, enquanto a microscopia eletrônica de varredura afirmou a criação de uma superfície nanoestruturada e porosa. Assim, estabelecemos com sucesso um método simples e econômico para fabricar

eletrodos descartáveis gravados a laser usando celulose bacteriana como substrato. Nossos testes de reprodutibilidade, estabilidade e repetitividade para o eletrodo resultaram em um RSD de 1,09%, 3,41 e 1,20%, respectivamente, sinalizando a escalabilidade de nossa abordagem para produção em massa, dada sua simplicidade e adaptabilidade à automação. Para sublinhar a potencial aplicação do BC-LIG como sensores eletroquímicos portáteis, exemplificamos sua utilidade na detecção de acetaminofeno. Os ePADs analisaram com sucesso o medicamento em uma solução de fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 6), com valores calculados de LoD e LoQ de 1,65 μmol L⁻¹ e 5,00 μmol L⁻¹, respectivamente, demonstrando as capacidades promissoras de nossa abordagem. A aplicabilidade do ePAD desenvolvido também foi investigada na determinação de acetaminofeno em amostras biológicas de urina, obtendo-se resultados altamente satisfatórios. As porcentagens de recuperação variaram entre 93% e 114%, destacando o potencial significativo de nosso sensor em aplicações práticas e na análise de amostras biológicas.

O método que desenvolvemos para a produção de grafeno e a construção de eletrodos é uma contribuição significativa e inovadora no campo da pesquisa. Ele viabiliza a fabricação em larga escala de dispositivos eletroquímicos descartáveis e miniaturizados, aptos a serem acoplados a potenciostatos portáteis para diagnósticos rápidos em campo. Embora existam estudos que empregam papel para a construção de eletrodos similares, a nossa utilização de celulose bacteriana se destaca. Ajustar a gramatura da celulose bacteriana para atender aos requisitos específicos de cada pesquisa e a habilidade de modificar suas nanofibras de diferentes maneiras, sem comprometer a integridade mecânica, são diferenciais importantes. Estas propriedades oferecem uma maior flexibilidade no design de eletrodos, possibilitando melhorias na condutividade e a adaptação para ligações químicas específicas, abrindo caminho para o desenvolvimento de biossensores mais eficientes.

7. REFERÊNCIAS

- ADKINS, Jaclyn A.; HENRY, Charles S. Electrochemical detection in paper-based analytical devices using microwire electrodes. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 891, p. 247–254, 2015 DOI: 10.1016/j.aca.2015.07.019,
- ALBAYRAK, Sevda; GÜL, Canser. Contact angle studies of nanoscale polymer based coatings. *In*: THOMAS, Sabu; GEORGE, Jesiya Susan. **Polymer-based nanoscale materials for surface coatings**. Amsterdam: Elsevier, 2023. p. 217–233 DOI: 10.1016/B978-0-32-390778-1.00018-9.
- ALDERTON, David. X-Ray Diffraction (XRD). *In*: ENCYCLOPEDIA of geology. [S. l.]: Elsevier, 2021. p. 520–531, 2021. DOI: 10.1016/B978-0-08-102908-4.00178-8.
- AMARAL, Eduardo M. F.; ANDRADE, Jean C. B.; FREITAS, Leadno B.; TEIXEIRA, Gabriella T. L.; NASCIMENTO, João P. L.; GELAMO, Rogério V.; LEITE, Natália B.; MORETO, Jéferson A. Electrochemical sensors and biosensors: their basic working principles and some applications. **Revista Virtual de Química**, Uberaba, p. 1–18, 2022. DOI: 10.21577/1984-6835.20220112 Sensores.
- ARANTES, Iana V. S.; ATAIDE, Vanessa N.; AMEKU, Wilson A.; GONGONI, Juliana L. M.; SELVA, Jéssica S. G.; NOGUEIRA, Helton P.; BERTOTTI, Mauro; PAIXÃO, Thiago R. L. C. Laser-induced fabrication of gold nanoparticles onto paper substrates and their application on paper-based electroanalytical devices. **Sensors & Diagnostics**, Cambridge, v. 2, n. 1, p. 111–121, 2023. DOI: 10.1039/d2sd00176d.
- ATAIDE, Vanessa N.; AMEKU, Wilson A.; BACIL, Raphael P.; ANGNES, Lúcio; DE ARAUJO, William R.; PAIXÃO, Thiago R. L. C. Enhanced performance of pencil-drawn paper-based electrodes by laser-scribing treatment. **RSC Advances**, Cambridge, v. 11, n. 3, p. 1644–1653, 2021. DOI: 10.1039/d0ra08874a.
- AZEREDO, Henriette M. C.; BARUD, Hernane; FARINAS, Cristiane S.; VASCONCELLOS, Vanessa M.; CLARO, Amanda M. Bacterial cellulose as a raw material for food and food packaging applications. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, Lausanne, v. 3, 2019. DOI: 10.3389/fsufs.2019.00007.
- BAE, Sukang; KIM, Hyeongkeun; LEE, Youngbin; XU, Xiangfan; PARK, Jae-Sung; ZHENG, Yi; BALAKRISHNAN, Jayakumar; LEI, Tian; KIM, Hye Ri; SONG, Young Il; KIM, Young-Jin; KIM, Kwang S.; ÖZYILMAZ, Barbaros; AHN, Jong-Hyun; HONG, Byung Hee; IJIMA, Sumio. Roll-to-roll production of 30-inch graphene films for transparent electrodes. **Nature Nanotechnology**, London, v. 5, n. 8, p. 574–578, 2010. DOI: 10.1038/nnano.2010.132.
- BAHUGUNA, Gaurav; GAUR, Snehranj; PATEL, Avit; VERMA, Mohit; KIRUTHIKA, S.; GUPTA, Ritu. Deciphering the influence of fluorine on the electrochemical performance of MAX and derived MXene by selective electrophilic fluorination. **Materials Research Bulletin**, Oxford, v. 169, 2024. DOI: 10.1016/j.materresbull.2023.112497.
- BALANDIN, Alexander A.; GHOSH, Suchismita; BAO, Wenzhong; CALIZO, Irene; TEWELDEBRHAN, Desalegne; MIAO, Feng; LAU, Chun Ning. Superior thermal conductivity of single-layer graphene. **Nano Letters**, Washington, v. 8, n. 3, p. 902–907,

2008. DOI: 10.1021/nl0731872.

BARBER, Robert; CAMERON, Sarah, DEVINE, Amy; MCCOMBE, Andrew; POURSHAHIDI, L. Kirsty; CUNDELL, Jill; ROY, Souradeep; MATHUR, Ashish; CASIMERO, Charnete; PAPAKONSTANTINO, P.; DAVIS, J. Laser induced graphene sensors for assessing pH: application to wound management. **Electrochemistry Communications**, Jordanstown, v. 123, n. 106914, p. 1–6, 2021. DOI: doi.org/10.1016/j.elecom.2020.106914.

BARD, Allen J.; FAULKNER, Larry R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2. ed. Hoboken: John Wiley, 2001. p. 864.

BEZERRA MARTINS, Alisson; LOBATO, Alnilan; TASIĆ, Nikola; PEREZ-SANZ, Fernando J.; VIDINHA, Pedro; PAIXÃO, Thiago R. L. C.; MOREIRA GONÇALVES, Luís. Laser-pyrolyzed electrochemical paper-based analytical sensor for sulphite analysis. **Electrochemistry Communications**, Philadelphia, v. 107, p. 106541, 2019. DOI: 10.1016/j.elecom.2019.106541.

BOSSARD, Bruna; GROTHE, Renata Antunes; MARTINS, Alisson Bezerra; LOBATO, Alnilan; TASIĆ, Nikola; PAIXÃO, Thiago R. L. C.; GONÇALVES, Luís Moreira. Nanographene laser-pyrolyzed paper electrodes for the impedimetric detection of d-glucose via a molecularly imprinted polymer. **Monatshefte für Chemie**, Wien, v. 153, n. 12, p. 1129–1135, 2022. DOI: 10.1007/s00706-022-02997-7.

BRETT, Christopher M. A.; BRETT, Ana Maria Oliveira. **Electrochemistry: principles, methods, and applications**. Oxford: Oxford University Press, 1993. p. 424.

CAMPANO, Cristina; BALEA, Ana; BLANCO, Angeles; NEGRO, Carlos. Enhancement of the fermentation process and properties of bacterial cellulose: a review. **Cellulose**, Dordrecht, v. 23, n. 1, p. 57–91, 2016. DOI: 10.1007/s10570-015-0802-0. DOI: 10.1016/j.ccllet.2023.109238

CANDRA, Andy; DARGE, Haile Fentahun; AHMED, Yohannis Wondwosen; SARAGI, Indah Revita; KITAW, Sintayehu Leshe; TSAI, Hsieh Chih. Eco-benign synthesis of nano-gold chitosan-bacterial cellulose in spent ground coffee kombucha consortium: characterization, microbiome community, and biological performance. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 253, 2023. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.126869.

CAO, Tian; DING, Xuyin; PENG, Qiwen; ZHANG, Min; SHI, Guoyue. Intelligent laser-induced graphene sensor for multiplex probing catechol isomers. **Chinese Chemical Letters**, London, p. 109238, 2023.

CHEN, Xing; LIU, Yao; YANG, Qin Qin; WU, Yu Cheng. From natural cellulose to functional nanocomposites for environmental applications. *In*: MONDAL, I. H. (ed.). **Fundamentals of natural fibres and textiles**. Duxford, 2021. p. 111–151. DOI: 10.1016/B978-0-12-821483-1.00005-X.

CHILDRES, Isaac; JAUREGUI, Luiz A.; PARK, Wonjun; CAO, Helin; CHEN, Yong P. Raman spectroscopy of graphene and related materials. *In*: JANG, J. I. (ed.). **New**

developments in photon and materials research. London: Nova Science, 2013. p. 1-19. DOI: 10.1002/9783527678679.dg13293.

CHYAN, Yieu; YE, Ruquan; LI, Yilun; SINGH, Swatantra Pratap; ARNUSCH, Christopher J.; TOUR, James M. Laser-induced graphene by multiple lasing: toward electronics on cloth, paper, and food. **ACS Nano**, Washington, DC, v. 12, n. 3, p. 2176–2183, 2018. DOI: 10.1021/acsnano.7b08539.

CUI, Gang.; YOO, Jae Hyun; LEE, Joung Su; YOO, Jina; UHM, Jung Hee; CHA, Geun Sig; NAM, Hakhyum. Effect of pre-treatment on the surface and electrochemical properties of screen-printed carbon paste electrodes. **Analyst**, Cambridge, v. 126, n. 8, p. 1399–1403, 2001. DOI: 10.1039/b102934g.

CZAJA, Wojciech K.; YOUNG, David J.; KAWECKI, Marek; BROWN, R. Malcolm. The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications. **Biomacromolecules**, Washington, DC, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2007. DOI: 10.1021/bm060620d.

DA SILVA, Everson T. S. G.; SOUTO, Dênio E. P.; BARRAGAN, José T. C.; DE F. GIAROLA, Juliana; DE MORAES, Ana C. M.; KUBOTA, Lauro T. Electrochemical biosensors in point-of-care devices: recent advances and future trends. **ChemElectroChem**, Weinheim, v. 4, n. 4, p. 778–794, 2017. DOI: 10.1002/celec.201600758.

DE ARAUJO, William R.; FRASSON, Carolina M. R.; AMEKU, Wilson A.; SILVA, José R.; ANGNES, Lúcio; PAIXÃO, Thiago R. L. C. Single-step reagentless laser scribing fabrication of electrochemical paper-based analytical devices. **Angewandte Chemie - International Edition**, Weinheim, v. 56, n. 47, p. 15113–15117, 2017. DOI: 10.1002/anie.201708527.

DENNANY, Lynn; BROWN, Kelly. Electrochemical sensors for new challenges. *In*: YUCE, M. (ed.). **Encyclopedia of sensors and biosensors**. [S. l.]: Elsevier, 2023. v. 3, p. 158-173. DOI: 10.1016/b978-0-12-822548-6.00078-9.

DOMENEGUETTI, Rafael R.; SAKAI, Vanessa Y.; PEROTTI, Gustavo F.; SILVA, Isabel C.; TERCJAK, Agnieszka; BARUD, Hernane S.; PAVAN, Fernando; CONSTANTINO, Vera R. L.; RIBEIRO, Sidney J. Structural and morphological properties of in-situ biosynthesis of biocompatible bacterial cellulose/Laponite nanocomposites. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 234, p. 106851, 2023. DOI: 10.1016/j.clay.2023.106851.

DUDMAN, W. F. Cellulose production by *Acetobacter* strains in submerged culture. **Journal of General Microbiology**, London, v. 22, n. 1900, p. 25–39, 1960. DOI: 10.1099/00221287-22-1-25.

DUNGCHAI, Wijitar; CHAILAPAKUL, Orawon; HENRY, Charles S. Electrochemical detection for paper-based microfluidics. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 81, n. 14, p. 5821–5826, 2009. DOI: 10.1021/ac9007573.

DURASAMY, Murugesan; ELANCHEZIYAN, Mari; ESWARAN, Muthusankar; GANESAN, Sivarasan; ANSARI, Anees A.; RAJAMANICKAM, Govindaraj; LEE, Siew Ling; TSAI, Pei-Chen; CHEN, Yi-Hsun; PONNUSAMY, Vinoth Kumar. Novel ruthenium-doped vanadium carbide/polymeric nanohybrid sensor for acetaminophen drug detection in

human blood. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 244, p. 125329, 2023. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.125329.

ENSAFI, Ali A. An introduction to sensors and biosensors. *In*: ENSAFI, Ali A. (ed.). **Electrochemical biosensors**. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 1–10, 2019. DOI: 10.1016/B978-0-12-816491-4.00001-2.

FALKOVSKY, L. A. Optical properties of graphene. **Journal of Physics: conference series**, Bristol, v. 129, 2008. DOI: 10.1088/1742-6596/129/1/012004.

FANGET, S.; HENTZ, S.; PUGET, P.; ARCAMONE, J.; MATHERON, M.; COLINET, E.; ANDREUCCI, P.; DURAFFOURG, L.; MYERS, E.; ROUKES, M. L. Gas sensors based on gravimetric detection - a review. **Sensors and Actuators, B: chemical**, Amsterdam, v. 160, n. 1, p. 804–821, 2011. DOI: 10.1016/j.snb.2011.08.066.

FORREST, John A. H.; CLEMENTS, J. A.; PRESCOTT, L. F. Clinical pharmacokinetics of paracetamol. **Clinical Pharmacokinetics**, Auckland, v. 7, n. 2, p. 93–107, 1982. DOI: 10.2165/00003088-198207020-00001.

FOSTER, Christopher W.; BROWNSON, Dale A. C.; RUAS DE SOUZA, Ana P.; BERNALTE, Elena; INIESTA, Jesus; BERTOTTI, Mauro; BANKS, Craig E. Pencil it in: pencil drawn electrochemical sensing platforms. **Analyst**, Cambridge, v. 141, n. 13, p. 4055–4064, 2016. DOI: 10.1039/c6an00402d.

GEA, Saharman; REYNOLDS, Christopher T.; ROOHPOUR, Nima; WIRJOSENTONO, Basuki; SOYKEABKAEW, Nattakan; BILOTTI, Emiliano; PEIJS, Ton. Investigation into the structural, morphological, mechanical and thermal behaviour of bacterial cellulose after a two-step purification process. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 102, n. 19, p. 9105–9110, 2011. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.04.077.

GHANAM, Abdelghani; MOHAMMADI, Hasna; AMINE, Aziz; HADDOUR, Naoufel; BURET, François. Chemical sensors: voltammetric and amperometric electrochemical sensors. *In*: NARAYAN, R. **Encyclopedia of sensors and biosensors**. Amsterdam: Elsevier, 2022. v. 1–4, p. 161–177. DOI: 10.1016/B978-0-12-822548-6.00032-7.

GOMES, Nathalia O.; RAYMUNDO-PEREIRA, Paulo A. On-site therapeutic drug monitoring of paracetamol analgesic in non-invasively collected saliva for personalized medicine. **Small**, Weinheim, v. 19, n. 12, p. 1–8, 2023. DOI: 10.1002/sml.202206753.

GOMES, Nathalia Oezau; CARRILHO, Emanuel; MACHADO, Sergio Antonio Spinola; SGOBBI, Livia Florio. Bacterial cellulose-based electrochemical sensing platform: A smart material for miniaturized biosensors. **Electrochimica Acta**, Oxford, v. 349, p. 136341, 2020. DOI: 10.1016/j.electacta.2020.136341.

GOWDA, Jayant I.; NANDIBEWOOR, Sharanappa T. Electrochemical behavior of paclitaxel and its determination at glassy carbon electrode. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Singapore, v. 9, n. 1, p. 42–49, 2014. DOI: 10.1016/j.ajps.2013.11.007.

GU, X. J. Raman spectroscopy and the effects of ultraviolet irradiation on polyimide film. **Applied Physics Letters**, Melville, v. 62, n. 13, p. 1568–1570, 1993. DOI:

10.1063/1.108643.

GUAN, Qixia; GUO, Hao; WU, Ning; CAO, Yujuan; WANG, Mingyue; ZHANG, Longwen; YANG, Wu. Highly sensitive determination of acetaminophen and 4-aminophenol based on COF/3D NCNF-T/Au NPs composite electrochemical sensing platform. **Colloids and Surfaces A: physicochemical and engineering aspects**, Amsterdam, v. 630, p. 127624, 2021. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2021.127624.

HAIPOUR, Masoumeh; ZAMANI, Hassan Ali; KARIMI-MALEH, Hassan. Powerful and fast nanostructure electrochemical sensor for monitoring of carbidopa catechol-based drug in water and biological fluids. **Chemosphere**, Oxford, v. 312, 2023. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.137192.

HESTRIN, S.; ASCHNER, M.; MAGER, J. Synthesis of cellulose by resting cells of *Acetobacter Xylinum*. **Nature**, London, v. 160, n. 4053, p. 29–31, 1947.

HIRAI, Asako; TSUJI, Masaki; HORII, Fumitaka. TEM study of band-like cellulose assemblies produced by *Acetobacter xylinum* at 4 °C. **Cellulose**, Dordrecht, v. 9, n. 2, p. 105–113, 2002. DOI: 10.1023/A:1020195205030.

HITCHINGS, Andrew W. Monitoring drug therapy. **Medicine**, London, 2023. DOI: 10.1016/j.mpmed.2023.10.005. No prelo.

HORUE, Manuel; CACICEDO, Maximiliano L.; FERNANDEZ, Mariela A.; RODENAK-KLADNIEW, Boris; TORRES SÁNCHEZ, Rosa M.; CASTRO, Guillermo R. Antimicrobial activities of bacterial cellulose – silver montmorillonite nanocomposites for wound healing. **Materials Science and Engineering C**, Amsterdam, v. 116, p. 111152, 2020. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111152.

HUDARI, Felipe Fantinato; DUARTE, Eduardo Henrique; PEREIRA, Arnaldo César; DALL'ANTONIA, Luiz Henrique; KUBOTA, Lauro Tatsuo; TARLEY, César Ricardo Teixeira. Voltammetric method optimized by multi-response assays for the simultaneous measurements of uric acid and acetaminophen in urine in the presence of surfactant using MWCNT paste electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, Amsterdam, v. 696, p. 52–58, 2013. DOI: 10.1016/j.jelechem.2013.01.033.

IYER, Prashanti R.; GEIB, Scott M.; CATCHMARK, Jeff; KAO, Teh Hui; TIEN, Ming. Genome sequence of a cellulose-producing bacterium, *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769. **Journal of Bacteriology**, Washington, DC, v. 192, n. 16, p. 4256–4257, 2010. DOI: 10.1128/JB.00588-10.

JANG, Woo Dae; HWANG, Ji Hyeon; KIM, Hyun Uk; RYU, Jae Yong; LEE, Sang Yup. Bacterial cellulose as an example product for sustainable production and consumption. - **Microbial Biotechnology**, Sheffield, v. 10, n.5, p. 1181 - 1185, 2017. DOI: 10.1111/1751-7915.12744.

JIANG, Danfeng; HUANG, Xiandjun; ZHANG, Qingwen; GE, Yuancai; YE, Ying; XU, Changshun; CAI, Yu; ZHU, Yajie; YUAN, Meiling; LIU, Xianhu; CAI, Shengying; ZHU, Jiawei; WANG, Yi. A miniaturized electrochemical device based on the nitrogen, carbon-doped bimetal for real-time monitoring of acetaminophen and dopamine in urine.

Biosensors and Bioelectronics, Amsterdam, v. 218, n. October, p. 1–8, 2022. DOI: 10.1016/j.bios.2022.114773.

JUANG, Ruey-Shin; HSIEH, Chien-Te; LIN, Ting-An; SHAO, Yu-Chia; GANDOMI, Yasser Ashraf. Reduced graphene oxide decorated with poly(diallyldimethylammonium chloride) for sensitive detection of acetaminophen in water and human urine samples. **Colloids and Surfaces A: physicochemical and engineering aspects**, Amsterdam, v. 677, p. 132426, 2023. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2023.132426.

KARIKALAN, Natarajan; KARTHIK, Raj; CHEN, Shen Ming; VELMURUGAN, Murugan; KARUPPIAH, Chelladurai. Electrochemical properties of the acetaminophen on the screen printed carbon electrode towards the high performance practical sensor applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, Philadelphia, v. 483, p. 109–117, 2016. DOI: 10.1016/j.jcis.2016.08.028.

KARUNAKARAN, Chandran; RAJKUMAR, Raju; BHARGAVA, Kalpana. Introduction to biosensors. *In*: KARUNAKARAN, Chandran; BHARGAVA, Kalpana; BENJAMIN, Robson (ed.). **Biosensors and bioelectronics**, Amsterdam: Elsevier, 2015. p. 1 -68. DOI: 10.1016/B978-0-12-803100-1.00001-3.

KAVA, Alyssa A.; HENRY, Charles S. Exploring carbon particle type and plasma treatment to improve electrochemical properties of stencil-printed carbon electrodes. **Talanta**, Amsterdam, v. 221, p. 121553, 2021. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121553.

KILLARD, Anthony J. Disposable sensors. **Current Opinion in Electrochemistry**, Oxford, v. 3, n. 1, p. 57–62, 2017. DOI: 10.1016/j.coelec.2017.06.013.

KLASNER, Scott A.; PRICE, Alexander K.; HOEMAN, Kurt W.; WILSON, Rashaun S.; BELL, Kayla J.; CULBERTSON, Christopher T. Paper-based microfluidic devices for analysis of clinically relevant analytes present in urine and saliva. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 397, n. 5, p. 1821–1829, 2010. DOI: 10.1007/s00216-010-3718-4.

KLEMM, Dieter; HEUBLEIN, Brigitte; FINK, Hans Peter; BOHN, Andreas. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie - International Edition**, Weinheim, v. 44, n. 22, p. 3358–3393, 2005. DOI: 10.1002/anie.200460587.

KOIZUMI, S.; YUE, Z.; TOMITA, Y.; KONDO, T.; IWASE, H.; YAMAGUCHI, D.; HASHIMOTO, T. Bacterium organizes hierarchical amorphous structure in microbial cellulose. **The European Physical Journal E**, Heidelberg, v. 26, p. 137–142, 2008. DOI: 10.1140/epje/i2007-10259-3.

KULYK, Bohdan; PEREIRA, Sónia O.; FERNANDES, António J. S.; FORTUNATO, Elvira; COSTA, Florinda M.; SANTOS, Nuno F. Laser-induced graphene from paper for non-enzymatic uric acid electrochemical sensing in urine. **Carbon**, Oxford, v. 197, p. 253–263, 2022. DOI: 10.1016/j.carbon.2022.06.013.

KULYK, Bohdan; SILVA, Beatriz F. R.; CARVALHO, Alexandre F.; SILVESTRE, Sara; FERNANDES, Antonio J. S.; MARTINS, Rodrigo; FORTUNATO, Elvira; COSTA, Florinda M. Laser-induced graphene from paper for mechanical sensing. **ACS Applied Materials and**

Interfaces, Washington, DC, v. 13, n. 8, p. 10210–10221, 2021. DOI: 10.1021/acsami.0c20270.

KUNDU, Shankhamala; WANG, Yuemin; XIA, Wei; MUHLER, Martin. Thermal stability and reducibility of oxygen-containing functional groups on multiwalled carbon nanotube surfaces: a quantitative high-resolution xps and TPD/TPR study. **Journal of Physical Chemistry C**, Washington, DC, v. 112, n. 43, p. 16869–16878, 2008. DOI: 10.1021/jp804413a.

KURRA, Narendra; JIANG, Qiu; NAYAK, Pranati; ALSHAREEF, Husam N. Laser-derived graphene: a three-dimensional printed graphene electrode and its emerging applications. **Nano Today**, London, v. 24, p. 81–102, 2019. DOI: 10.1016/j.nantod.2018.12.003.

KUSHWAHA, Chandra Shekhar; SINGH, Pratibha; SHUKLA, Saroj K.; CHEHIMI, Mohamed M. Advances in conducting polymer nanocomposite based chemical sensors: an overview. **Materials Science and Engineering: B**, Wilmington, v. 284, 2022. DOI: 10.1016/j.mseb.2022.115856.

LEE, Changgu; WEI, Xiaoding; KYSAR, Jeffrey W.; HONE, James. Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene. **Science**, Washington, DC, v. 321, n. 5887, p. 385–388, 2008. DOI: 10.1126/science.1157996.

LEE, Sanghee; JEON, Sangmin. Laser-induced graphitization of cellulose nanofiber substrates under ambient conditions. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, Washington, DC, v. 7, n. 2, p. 2270–2275, 2019. DOI: 10.1021/acssuschemeng.8b04955.

LEVCHUK, Irina; LÄHDE, Anna; MEŠČERIAKOVAS, Arūnas; MEŠČERIAKOVĚ, Sara Maaria; MORENO-ANDRÉS, Javier; MURASHKO, Kirill. Challenges of synthesizing graphene-like and graphitic structures from biomass-based lignocellulosic wastes and its applications. *In*: HUSSAIN, Chaudhery Mustansar; SRIVASTAV, Ajeet Kumar; TIWARY, Chandra Sekhar; TOUR, James M. **Graphene extraction from waste: a sustainable synthesis approach for graphene and its derivatives**. [S. l.]: Elsevier, 2023. p. 173–212. DOI: 10.1016/B978-0-323-90914-3.00006-1.

LI, Guohui; SUN, Kaiyue; LI, Dawei; LV, Pengfei; WANG, Qingqing; HUANG, Fenglin; WEI, Qufu. Biosensor based on bacterial cellulose-Au nanoparticles electrode modified with laccase for hydroquinone detection. **Colloids and Surfaces A: physicochemical and engineering aspects**, Amsterdam, v. 509, p. 408–414, 2016. a. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2016.09.028.

LI, Lei; ZHANG, Jibo; PENG, Zhiwei; LI, Yilun; GAO, Caitian; JI, Yongsung; YE, Ruquan; KIM, Nam Dong; Zhong, Qifeng; Yang, Yang; FEI, Huilong; RUAN, Gedeng; TOUR, James M. High-performance pseudocapacitive microsupercapacitors from laser-induced graphene. **Advanced Materials**, Weinheim, v. 28, n. 5, p. 838–845, 2016. b. DOI: 10.1002/adma.201503333.

LI, Shanshan; DAI, Hongxia; CHEN, Hui; ZHANG, Jian; SHI, Xiaoning; ZHANG, Haobo. A novel electrochemical sensor based on conductive Cu₃(HITP)₂/electrochemical reduced graphene oxide nanocomposite for simultaneous determination of dopamine and acetaminophen. **International Journal of Electrochemical Science**, Amsterdam, v. 17, n.

12, p. 2212114, 2022. DOI: 10.20964/2022.12.95.

LIN, Jian; PENG, Zhiwei; LIU, Yuanyue; RUIZ-ZEPEDA, Francisco; YE, Ruquan; SAMUEL, Errol L. G.; YACAMAN, Miguel Jose; YAKOBSON, Boris I.; TOUR, James M. Laser-induced porous graphene films from commercial polymers. **Nature Communications**, London, v. 5, p. 1–8, 2014. DOI: 10.1038/ncomms6714.

LIU, Bingdi; OUYANG, Xiaoqian; DING, Yaping; LUO, Liqing; XU, Duo; NING, Yanqun. Electrochemical preparation of nickel and copper oxides-decorated graphene composite for simultaneous determination of dopamine, acetaminophen and tryptophan. **Talanta**, Amsterdam, v. 146, p. 114–121, 2016. DOI: 10.1016/j.talanta.2015.08.034.

LIU, Yaqiang; CHEN, Qingqing; LI, Peng. Influence of direct fluorination treatment on surface and optical properties of colorless and transparent polyimides. **Materials Chemistry and Physics**, Amsterdam, v. 308, 2023. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2023.128247.

LUCCHESI, M. M.; STAVALE, F.; FERREIRA, E. H. Martin.; VILANI, C.; MOUTINHO, M. V. O.; CAPAZ, Rodrigo B.; ACHETE, C. A.; JORIO, A. Quantifying ion-induced defects and raman relaxation length in graphene. **Carbon**, Oxford, v. 48, n. 5, p. 1592–1597, 2010. DOI: 10.1016/j.carbon.2009.12.057.

LUO, Sida; HOANG, Phong Tran; LIU, Tao. Direct laser writing for creating porous graphitic structures and their use for flexible and highly sensitive sensor and sensor arrays. **Carbon**, Oxford, v. 96, p. 522–531, 2016. DOI: 10.1016/j.carbon.2015.09.076.

LV, Pengfei; ZHOU, Huimin; MENSAH, Alfred; FENG, Quan; WANG, D.; HU, Xuena; CAI, Yibing; LUCIA, Lucian Amerigo; LI, Dawei; Wei, Qufu. A highly flexible self-powered biosensor for glucose detection by epitaxial deposition of gold nanoparticles on conductive bacterial cellulose. **Chemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 351, p. 177–188, 2018. DOI: 10.1016/j.cej.2018.06.098.

MÄÄTTÄNEN, Anni; VANAMO, Ulriika; IHALAINEN, Petri; PULKKINEN, Petri; TENHU, Heikki; BOBACKA, Johan; PELTONEN, Jouko. A low-cost paper-based inkjet-printed platform for electrochemical analyses. **Sensors and Actuators, B: chemical**, Amsterdam, v. 177, p. 153–162, 2013. DOI: 10.1016/j.snb.2012.10.113.

MAHANTHAPPA, Mallappa; DURAISAMY, Velu; ARUMUGAM, Palaniappan; MURUGESAN, Sakkarapalayam; KUMAR, Senthil. Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, uric acid, and acetaminophen on N, P-Doped hollow mesoporous carbon nanospheres. **ACS Applied Nano Materials**, Washington, DC, v. 5, n.12, p. 1817 - 1826, 2022. DOI: 10.1021/acsnm.2c04170

MALHOTA, Bansi Dhar; ALI, Md. Azahar. Nanomaterials for biosensors: fundamentals and applications. *In*: MALHOTRA, Bansi, D.; ALI, Azahar. **Nanomaterials in biosensors: fundamentals and applications**. [S. l.]: Elsevier, 2018. p. 1–74. DOI: 10.1016/B978-0-323-44923-6.00001-7.

MCCREERY, Richard L. Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry. **Chemical Reviews**, Washington, DC, v. 108, n. 7, p. 2646–2687, 2008. DOI: 10.1021/cr068076m.

MCDONAGH, Colette; BURKE, Conor S.; MACCRAITH, Brian D. Optical chemical sensors. **Chemical Reviews**, Washington, DC, v. 108, n. 2, p. 400–422, 2008. DOI: 10.1021/cr068102g.

MCDONALD-WHARRY, John S.; MANLEY-HARRIS, Merylyn; PICKERING, Kim L. Reviewing, combining, and updating the models for the nanostructure of non-graphitizing carbons produced from oxygen-containing precursors. **Energy and Fuels**, Washington, DC, v. 30, n. 10, p. 7811–7826, 2016. DOI: 10.1021/acs.energyfuels.6b00917.

MELO DE LIMA, Luiza R.; MARTINS, Filipe P.; LAGARINHOS, Joana N.; SANTOS, Laura; LIMA, Paulo; TORCATO, R.; MARQUES, Paula A. A. P.; RODRIGUES, Diogo L.; MELO, Sandra; GRILO, Júlio; OLIVEIRA, José M. Characterization of commercial graphene-based materials for application in thermoplastic nanocomposites. **Materials Today: proceedings**, Amsterdam, v. 20, p. 383–390, 2018. DOI: 10.1016/j.matpr.2019.10.077.

MENEGUIN, Andréia Bagliotti; DA SILVA BARUD, Hernane; SÁBIO, Rafael Miguel; DE SOUSA, Paula Zanin; MANIERI, Karyn Fernanda; DE FREITAS, Luís Alexandre Pedro; PACHECO, Guilherme; ALONSO, Jovan Duran; CHORILLI, Marlus. Spray-dried bacterial cellulose nanofibers: a new generation of pharmaceutical excipient intended for intestinal drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 249, p. 116838, 2020. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116838.

METTAKOONPITAK, Jaruwat; BOEHLE, Katherine; NANTAPHOL, Siriwan; TEENGAM, Prinjaporn; ADKINS, Jaclyn A.; SRISA-ART, Monpichar; HENRY, Charles S. Electrochemistry on paper-based analytical devices: a review. **Electroanalysis**, Weinheim, v. 28, p. 1420–1436, 2016. DOI: 10.1002/elan.201501143.

METTERS, Jonathan P.; HOUSSEIN, Said M.; KAMPOURIS, Dimitrios K.; BANKS, Craig E. Paper-based electroanalytical sensing platforms. **Analytical Methods**, Cambridge, v. 5, n. 1, p. 103–110, 2013. DOI: 10.1039/c2ay26396c.

MIKHEEV K. G.; ZONOV R. G.; SYUGAEV A. V.; BULATOV D. L.; MIKHEEV G. M. The effect of line-by-line laser scanning on the properties of laser-induced graphene. **Physics of the Solid State**, Moscow, v. 64, n. 5, p. 579, 2022. DOI: 10.21883/pss.2022.05.53520.277.

MOGHADASSI, Abdolreza; MORADI, Sara; BANDEHALI, Samaneh. Fabrication of antifouling mixed matrix NF membranes by embedding sodium citrate surfactant modified-iron oxide nanoparticles. **Korean Journal of Chemical Engineering**, New York, v. 37, n. 11, p. 1963–1974, 2020. DOI: 10.1007/s11814-020-0599-x.

NASRAOUI, Salem; AL-HAMRY, Ammar; MADEIRA, T. I.; AMEUR, Sami; ZAHN, D. R. T.; BEN ALI, Mounir; KANOUN, Olfa. Structural characterization and electrochemical performance of laser-induced graphene: Insights into electron transfer kinetics and 4-aminophenol sensing. **Diamond and Related Materials**, Lausanne, v. 138, p. 110207, 2023. DOI: 10.1016/j.diamond.2023.110207.

NGO, Huynh Truong; HOA, Le Thi; KHANH, Nguyen Tan; HOA, Tran Thi Bich; TOAN, Tran Thanh Tam; MAU, Tran Xuan; PHONG, Nguyen Hai; THANG, Ho Sy; KHIEU, Dinh Quang. ZIF-67/ g -C₃N₄-Modified electrode for simultaneous voltammetric determination of

uric acid and acetaminophen with cetyltrimethylammonium bromide as discriminating agent. **Journal of Nanomaterials**, London, 2020. DOI: 10.1155/2020/7915878.

NOVIANA, Eka; HENRY, Charles S. Simultaneous electrochemical detection in paper-based analytical devices. **Current Opinion in Electrochemistry**, Oxford, v. 23, p. 1–6, 2020. DOI: 10.1016/j.coelec.2020.02.013.

NOVOSELOV, K. S.; GEIM, A. K.; MOROZOV, S. V.; JIANG, D.; ZHANG, Y.; DUBONOS, S. V.; GRIGORIEVA, I. VI.; FIRSOV, A. A. Electric field effect in atomically thin carbon films. **Science**, Washington, DC, v. 306, n. 5696, p. 666–669, 2004. DOI: 10.1126/science.1102896.

ORZARI, Luiz Otávio; CRISTINA DE FREITAS, Rafaela; APARECIDA DE ARAUJO ANDREOTTI, Isabela; GATTI, Alexandre; JANEGITZ, Bruno Campos. A novel disposable self-adhesive inked paper device for electrochemical sensing of dopamine and serotonin neurotransmitters and biosensing of glucose. **Biosensors and Bioelectronics**, Amsterdam, v. 138, p. 111310, 2019. DOI: 10.1016/j.bios.2019.05.015.

PAIXÃO, Thiago R. L. C. Measuring electrochemical surface area of nanomaterials versus the Randles–Ševčík equation. **ChemElectroChem**, Weinheim, v. 7, n. 16, p. 3414–3415, 2020. DOI: 10.1002/celec.202000633.

PAPADAKI, Aikaterini; LAPPAS, Iliada K.; MANIKAS, Anastasios C.; PASTORE CARBONE, Maria Giovanna; NATSIA, Aikaterini; KACHRIMANIDOU, Vasiliki; KOPSAHELIS, Nikolaos. Grafting bacterial cellulose nanowhiskers into whey protein/essential oil film composites: effect on structure, essential oil release and antibacterial properties of films. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 147, 2024. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2023.109374.

PAPANAI, Girija Shankar; SHARMA, Indu; GUPTA, Bipin Kumar. Probing number of layers and quality assessment of mechanically exfoliated graphene via Raman fingerprint. **Materials Today Communications**, Oxford, v. 22, 2020. DOI: 10.1016/j.mtcomm.2019.100795.

PENG, Zhiwei; LIN, Jian; YE, Ruquan; SAMUEL, Errol L. G.; TOUR, James M. Flexible and stackable laser-induced graphene supercapacitors. **ACS Applied Materials and Interfaces**, Washington, DC, v. 7, n. 5, p. 3414–3419, 2015. DOI: 10.1021/am509065d.

PHILLIPS, H. A.; FEURER, T.; CALLAHAN, D. L.; SAUERBREY, R. Excimer laser induced electrical conductivity in polymers. **MRS Online Proceedings**, Heidelberg, v. 285, p. 175–180, 1993. DOI: doi:10.1557/proc-285-175.

PINTORI, Giovanna; CATTARUZZA, Elti. XPS/ESCA on glass surfaces: A useful tool for ancient and modern materials. **Optical Materials: X**, Amsterdam, v. 13, p. 100108, 2022. DOI: 10.1016/j.omx.2021.100108.

PUNDIR, C. S.; JAKHAR, Seema; NARWAL, Vinay. Determination of urea with special emphasis on biosensors: a review. **Biosensors and Bioelectronics**, Amsterdam, v. 123, p. 36–50, 2019. DOI: 10.1016/j.bios.2018.09.067.

QIN, Yuxuan; HANG, Chen; HUANG, Liping; CHENG, Haiyun; HU, Junqing; LI, Wenyao; WU, Jianghong. An electrochemical biosensor of Sn@C derived from ZnSn(OH)₆ for sensitive determination of acetaminophen. **Microchemical Journal**, Guangdong, v. 175, 2021, p. 107128, 2022. DOI: 10.1016/j.microc.2021.107128.

RIU, Jordi; GIUSSANI, Barbara. Electrochemical biosensors for the detection of pathogenic bacteria in food. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 126, p. 115863, 2020. DOI: 10.1016/j.trac.2020.115863.

ROCHA, Raquel G.; CARDOSO, Rafael M.; ZAMBIAZI, Priscilla J.; CASTRO, Silvia V. F.; FERRAZ, Thiago V. B.; APARECIDO, Gabriel de O.; BONACIN, Juliano A.; MUNOZ, Rodrigo A. A.; RICHTER, Eduardo M. Production of 3D-printed disposable electrochemical sensors for glucose detection using a conductive filament modified with nickel microparticles. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 1132, p. 1–9, 2020. DOI: 10.1016/j.aca.2020.07.028.

ROMAN. M; WINTER. WT. Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. **Biomacromolecules**, Washington, DC, v. 5, p. 1671–1677, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1021/bm034519+>.

SAADATKHAH, Nooshin; CARILLO GARCIA, Adrián; ACKERMANN, Sarah; LECLERC, Philippe; LATIFI, Mohammad; SAMIH, Said; PATIENCE, Gregory S.; CHAOUKI, Jamal. Experimental methods in chemical engineering: thermogravimetric analysis—TGA. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, Hoboken, v. 98, n. 1, p. 34–43, 2020. DOI: 10.1002/cjce.23673.

SCHUMANN, M.; SAUERBREY, R.; SMAYLING, M. C. Permanent increase of the electrical conductivity of polymers induced by ultraviolet laser radiation. **Applied Physics Letters**, Melville, v. 58, n. 4, p. 428–430, 1991. DOI: 10.1063/1.104624.

SINGH, Mukesh Kumar; SINGH, Annika. Contact angle and surface wettability measurement. *In*: SINGH, Mukesh Kumar; SINGH, Annika. **Characterization of polymers and fibres**. [S. l.]: Elsevier, 2022, p. 359–385. DOI: 10.1016/b978-0-12-823986-5.00013-0.

SONG, Ji Eun; KIM, Hye Rim. Bacterial cellulose as promising biomaterial and its application, *In*: CAVACO-PAULO, Artur; NIERSTRASZ, Vicente A.; Qiang; WANG. **Advances in textile biotechnolog**. [S. l.]: Elsevier, p. 263-277, 2019. DOI: 10.1016/B978-0-08-102632-8.00011-6.

SULAEVA, Irina; HETTEGGER, Hubert; BERGEN, Anna; ROHRER, Christian; KOSTIC, Mirjana; KONNERTH, Johannes; ROSENAU, Thomas; POTTHAST, Antje. Fabrication of bacterial cellulose-based wound dressings with improved performance by impregnation with alginate. **Materials Science and Engineering C**, Amsterdam, v. 110, p. 110619, 2020. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110619.

SZYBOWICZ, Mirosław; NOWICKA, Ariadna B.; DYCHALSKA, Anna. Characterization of carbon nanomaterials by raman spectroscopy. *In*: BHAGYARAJ, Sneha Mohan; OLUWAFEMI, Oluwatobi Samuel; KALATIKKAL, Nandakumar; THOMAS, Sabu. **Characterization of nanomaterials: advances and key technologies**. [S. l.]: Elsevier, p. 1-36 2018. DOI: 10.1016/B978-0-08-101973-3.00001-8.

THOTTOLI, Abdul Kareem; UNNI, Anu Kaliani Achuthan. Effect of trisodium citrate concentration on the particle growth of ZnS nanoparticles. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, Heidelberg, v. 3, n. 1, p. 1–12, 2013. DOI: 10.1186/2193-8865-3-56.

TORRES, F. G.; ARROYO, J. J.; TRONCOSO, O. P. Bacterial cellulose nanocomposites: an all-nano type of material. **Materials Science and Engineering C**, Amsterdam, v. 98, p. 1277–1293, 2019. DOI: 10.1016/j.msec.2019.01.064.

TRETTIN, Arne; ZOERNER, Alexander A.; BÖHMER, Anke; GUTZKI, Frank Mathias; STICHTENOTH, Dirk O.; JORDAN, Jens; TSIKAS, Dimitrios. Quantification of acetaminophen (paracetamol) in human plasma and urine by stable isotope-dilution GC-MS and GC-MS/MS as pentafluorobenzyl ether derivative. **Journal of Chromatography B: analytical technologies in the biomedical and life sciences**, Amsterdam, v. 879, n. 23, p. 2274–2280, 2011. DOI: 10.1016/j.jchromb.2011.06.012.

VASIL'KOV, Alexander; BUDNIKOV, Alexander; GROMOVYKH, Tatiana; PIGALEVA, Marina; SADYKOVA, Vera; ARKHAROVA, Natalia; NAUMKIN, Alexander. Effect of bacterial cellulose plasma treatment on the biological activity of ag nanoparticles deposited using magnetron deposition. **Polymers**, Basel, v. 14, n. 18, 2022. DOI: 10.3390/polym14183907.

VILELA, Carla; SILVA, Ana C. Q.; DOMINGUES, Eddy M.; GONÇALVES, Gil; MARTINS, Manuel A.; FIGUEIREDO, Filipe M. L.; SANTOS, Sónia A. O.; FREIRE, Carmen S. R. Conductive polysaccharides-based proton-exchange membranes for fuel cell applications: the case of bacterial cellulose and fucoidan. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 230, p. 115604, 2020. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115604.

VLASOV, Yu G.; ERMOLENKO, Yu E.; LEGIN, A. V.; RUDNITSKAYA, A. M.; KOLODNIKOV, V. V. Chemical sensors and their systems. **Journal of Analytical Chemistry**, Moscow, v. 65, n. 9, p. 880–898, 2010. DOI: 10.1134/S1061934810090029.

WAHID, Fazli; DUAN, Yun Xia; HU, Xiao Hui; CHU, Li Qiang; JIA, Shi Ru; CUI, Jian Dong; ZHONG, Cheng. A facile construction of bacterial cellulose/ZnO nanocomposite films and their photocatalytic and antibacterial properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 132, p. 692–700, 2019. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.240.

WAN, Zhengfen; STREED, Erik W.; LOBINO, Mirko; WANG, Shujun; SANG, Robert T.; COLE, Ivan S.; THIEL, David V.; LI, Qin. Laser-reduced graphene: synthesis, properties, and applications. **Advanced Materials Technologies**, Weinheim, v. 3, n. 4, p. 1–19, 2018. DOI: 10.1002/admt.201700315.

WAN, Zhengfen; UMER, Muhammad; LOBINO, Mirko; THIEL, David; NGUYEN, Nam Trung; TRINCHI, Adrian; SHIDDIKY, Muhammad J. A.; GAO, Yongsheng; LI, Qin. Laser induced self-N-doped porous graphene as an electrochemical biosensor for femtomolar miRNA detection. **Carbon**, Oxford, v. 163, p. 385–394, 2020. DOI: 10.1016/j.carbon.2020.03.043.

WANG, Joseph. **Analytical electrochemistry**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2006. p. 250. DOI: 10.1002/0471790303

WANG, Jun; SONG, Xue; LI, Rui; SHEN, Jinpeng; YANG, Guangcheng; HUANG, Hui. Fluorocarbon thin film with superhydrophobic property prepared by pyrolysis of hexafluoropropylene oxide. **Applied Surface Science**, Amsterdam, v. 258, n. 24, p. 9782–9785, 2012. DOI: 10.1016/j.apsusc.2012.06.029.

WANG, Shu Jun; GENG, Yan; ZHENG, Qingbin; KIM, Jang Kyo. Fabrication of highly conducting and transparent graphene films. **Carbon**, Oxford, v. 48, n. 6, p. 1815–1823, 2010. DOI: 10.1016/j.carbon.2010.01.027.

WANG, Shujun; CHEN, Fengping; LI, Zhi; TAO, Huan; QU, Liangzhuo; LI, Jinhua; ZHU, Mingshan; ZHA, Qingbing. A graphene oxide / Zn-metal organic framework electrochemical sensor for acetaminophen detection. **Surfaces and Interfaces**, Amsterdam, v. 39, p. 102910, 2023. DOI: 10.1016/j.surfin.2023.102910.

WANG, Ying; SUN, Yuanmiao; LIAO, Hanbin; SUN, Shengnan; LI, Shuzhou; AGER, Joel W.; XU, Zhichuan J. Activation effect of electrochemical cycling on gold nanoparticles towards the hydrogen evolution reaction in sulfuric acid. **Electrochimica Acta**, Oxford, v. 209, p. 440–447, 2016. DOI: 10.1016/j.electacta.2016.05.095.

WONG, Ademar; SANTOS, Anderson M.; CINCOTTO, Fernando H.; MORAES, Fernando C.; FATIBELLO-FILHO, Orlando; SOTOMAYOR, Maria D. P. T. A new electrochemical platform based on low cost nanomaterials for sensitive detection of the amoxicillin antibiotic in different matrices. **Talanta**, Amsterdam, v. 206, p. 120252, 2020. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120252.

WU, Yi; WU, Yuting; LV, Xuchu; LEI, Wu; DING, Yong; CHEN, Chenglong; LV, Jingjing; FENG, Shasha; CHEN, Shen-Ming; HAO, Qingli. A sensitive sensing platform for acetaminophen based on palladium and multi-walled carbon nanotube composites and electrochemical detection mechanism. **Materials Chemistry and Physics**, Amsterdam, v. 239, 2020. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2019.121977.

XUAN, Luong; PENG, Zhiwei; LI, Yilun; ZHANG, Jibo; JI, Yongsung. Laser-induced graphene fibers. **Carbon**, Oxford, v. 126, p. 472–479, 2018. a.

XUAN, Xing; KIM, Ji Y.; HUI, Xue; DAS, Partha S.; YOON, Hyo S.; PARK, Jae-Yeong. A highly stretchable and conductive 3D porous graphene metal nanocomposite based electrochemical-physiological hybrid biosensor. **Biosensors & Bioelectronics**, Amsterdam, v. 120, p. 160-a67, 2018. b. DOI: 10.1016/j.bios.2018.07.071.

YANG, Liuqing; HUANG, Na; LU, Qiuju; LIU, Meiling; LI, Haitao; ZHANG, Youyu; YAO, Shouzhuo. A quadruplet electrochemical platform for ultrasensitive and simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, uric acid and acetaminophen based on a ferrocene derivative functional Au NPs/carbon dots nanocomposite and graphene. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 903, p. 69–80, 2016. DOI: 10.1016/j.aca.2015.11.021.

YANO, Hiroyuki; SUGIYAMA, Junji; NAKAGAITO, Antonio Norio; NOGI, Masaya; MATSUURA, Tohru; HIKITA, Makoto; HANDA, Keishin. Optically transparent composites reinforced with networks of bacterial nanofibers. **Advanced Materials**, Weinheim, v. 17, n. 2, p. 153–155, 2005. DOI: 10.1002/adma.200400597.

YIN, Nan; DU, Renpeng; ZHAO, Fangkun; HAN, Ye; ZHOU, Zhijiang. Characterization of antibacterial bacterial cellulose composite membranes modified with chitosan or chitooligosaccharide. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 229, p. 115520, 2020. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115520.

YU, Xueling; FU, Lixing; WANG, T.; LIU, Tong; Wang; LIU, Zhixin; NIU, Na; CHEN, Ligang. Multivariate chemical analysis : from sensors to sensor arrays. **Chinese Chemical Letters**, London, 2023. DOI: 10.1016/j.ccllet.2023.109167.

ZAHED, Md Abu; BARMAN, Sharat Chandra; DAS, Partha Sarati; SHARIFUZZAMAN, Md; YOON, Hyo Sang; YOON, Sang Hyuk; PARK, Jae Yeong. Highly flexible and conductive poly (3, 4-ethylene dioxythiophene)-poly (styrene sulfonate) anchored 3-dimensional porous graphene network-based electrochemical biosensor for glucose and pH detection in human perspiration. **Biosensors and Bioelectronics**, Amsterdam, v. 160, n. April, p. 112220, 2020. DOI: 10.1016/j.bios.2020.112220.

ZHANG, Jibo; REN, Muqing; WANG, Luqing; LI, Yilun; YAKOBSON, Boris I.; TOUR, James M. Oxidized laser-induced graphene for efficient oxygen electrocatalysis. **Advanced Materials**, Weinheim, v. 30, n. 21, p. 1–7, 2018. DOI: 10.1002/adma.201707319.

ZHANG, Taiji; WANG, Wei; ZHANG, Dayong; ZHANG, Xinxiang; MA, Yurong; ZHOU, Yinglin; QI, Limin. Biotemplated synthesis of gold nanoparticle–bacteria cellulose nanofiber nanocomposites and their application in biosensing. **Advanced Functional Materials**, Weinheim, v. 20, n. 7, p. 1152–1160, 2010. DOI: doi:10.1002/adfm.200902104.

ZHANG, Zixu; CHEN, Rongrong; YU, Jing; SUN, Gaohui; LIU, Qi; LIU, Jingyuan; ZHU, Jiahui; LIU, Peili; WANG, Jun. Fluorocarbon-based self-layering interpenetrating polymer-network coatings with anti-fouling and anti-icing properties Zixu. **Chemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 474, n. 145540, 2023. DOI: 10.1016/j.cej.2023.145540.

ZUTTEL, A.; SUDAN, P.; MAURON, P.; WENGER, P. Model for the hydrogen adsorption on carbon nanostructures. **Applied Physics A**, Heidelberg, v. 78, p. 941–946, 2004. DOI: 10.1007/s00339-003-2412-1.

ANEXO A – RELATÓRIO DE VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA DETECÇÃO DE PARACETAMOL

ConfLab

Avenida Trabalhador Sarcantense, 400 Parque Arnold Schmidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

RELATÓRIO DE VALIDAÇÃO/VERIFICAÇÃO

1. IDENTIFICAÇÃO

Título: Detecção de Paracetamol em tampão fosfato pH 6 (10-85 umol/L) 03

Método: Detecção de paracetamol em tampão fosfato pH 6

Analito: Paracetamol

Matriz: Fosfato

2. RESUMO DE RESULTADOS

2.1. PARÂMETROS E CRITÉRIOS DA VALIDAÇÃO

LINEARIDADE

Coeficiente de determinação (r^2) ≥ 0.99
 Coeficiente de correlação (r) ≥ 0.99
 Anova
 Teste de Intercepto
 Desvio Max. 20 %
 Coeficiente de variação (CV) ≤ 15 %
 Critério diferenciado para o 1º ponto ≤ 20 %
 Resíduo Relativo ≤ 15 %
 Critério diferenciado para o 1º ponto ≤ 20 %
 Outliers
 Teste de Normalidade
 Teste de Independência
 d_L : 1.35 d_U : 1.49
 Teste de Homocedasticidade

LOD E LOQ

Coeficiente de variação ≤ 20 %
 Exatidão Min. 80 % - Max. 120 %

2.2. LINEARIDADE

Avaliação da Homocedasticidade (Teste Cochran)			
Calculado	0,32	Tabelado	0,52
		Homocedástico	

REGRESSÃO DOS MÍNIMOS QUADRADOS ORDINÁRIA (MMQO)

Parâmetros	Regressão dos Mínimos Quadrados Ordinária (MMQO)
Equação	$y=0,96x-8,98$
Coeficiente de correlação (r)	0,9937
Coeficiente de determinação (r^2)	0,9874
Anova	Y efetivamente varia em função de X.
Teste de Significância para Intercepto	Existe diferença entre o valor médio b experimental e o valor 0.
Maior Desvio (%)	27,26
Maior Coeficiente de Variação - Precisão (%)	18,39
Maior Resíduo (%)	81,08
Outlier para resíduos totais	Grubbs: Nenhum
Outlier para resíduos por níveis	Grubbs: Nenhum
Teste de Normalidade para Resíduos (Shapiro-wilk)	Os resíduos possuem distribuição normal.
Teste de Independência para Resíduos (Durbin-Watson)	Não Independente

ConfLab

Avenida Trabalhador Sancerlense, 400 Parque Arnold Schimidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

REGRESSÃO DOS MÍNIMOS QUADRADOS PONDERADA (MMQP)

Parâmetros	Regressão dos Mínimos Quadrados Ponderada (MMQP)
Equação	$y=0,92x-6,84$
Coefficiente de correlação (r)	0,9971
Coefficiente de determinação (r ²)	0,9942
Anova	Y efetivamente varia em função de X.
Teste de Significância para Intercepto	Existe diferença entre o valor médio b experimental e o valor 0.
Maior Desvio (%)	17,87
Maior Coeficiente de Variação - Precisão (%)	18,39
Maior Resíduo (%)	27,24
Outlier para resíduos totais	Grubbs: Nenhum
Outlier para resíduos por níveis	Grubbs: Nenhum
Teste de Normalidade para Resíduos (Shapiro-wilk)	Os resíduos possuem distribuição normal.
Teste de Independência para Resíduos (Durbin-Watson)	Não Independente

2.3. LOD E LOQ

FDA/ANVISA (INTERCEPTO)

	Ordinária	Ponderada
LOD	1,651 umol.L-1	0,000 umol.L-1
LOQ	5,002 umol.L-1	0,000 umol.L-1

Informações das Curvas

	Ordinária		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
Coeff. de determinação (r ²)	0,9882	0,9426	0,9813
Coeff. de correlação (r)	0,9941	0,9709	0,9906

	Ponderada		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
Coeff. de determinação (r ²)	0,0000	0,0000	0,0000
Coeff. de correlação (r)	0,0000	0,0000	0,0000

EXPERIMENTAL

LOQ	10 umol.L-1
CV	4,125 %
Exatidão	121,200 %
Desvio	± 21,200 %

ConfLab

Avenida Trabalhador Sarcarlense, 400 Parque Arnold Schimidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

4. DETALHAMENTO DA VALIDAÇÃO**4.1. LINEARIDADE***IDENTIFICAÇÃO*

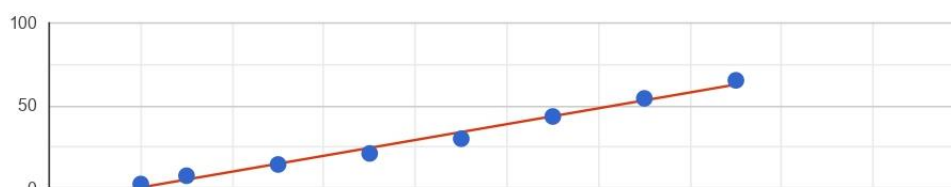
Analista: Desiree
Configuração de Equipamentos Utilizada: Configuração 1
Data de Realização do Teste: 22/06/2023

*ENTRADA DE DADOS**DADOS DA CURVA*

Níveis de Concentração (umol.L-1)	Sinais(Replicatas) (uA)		
10	3,1346	2,1747	2,655
15	9,2948	6,9643	6,7535
25	12,9463	14,9811	15,5312
35	23,3288	19,9979	20,1435
45	33,0318	29,9818	27,1511
55	45,0384	43,2343	42,2394
65	54,9849	55,727	52,5737
75	68,1301	64,4852	63,4603

*RESULTADOS**AVALIAÇÃO DA HOMOCEASTICIDADE*

Avaliação da Homocedasticidade (Teste Cochran)		
Calculado	0,32	Tabelado
		0,52
		Homocedastico

REGRESSÃO DOS MÍNIMOS QUADRADOS ORDINÁRIOS (MMQO)

ConfLab

Avenida Trabalhador Sancarlense, 400 Parque Arnold Schimidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

Parâmetros	Regressão dos Mínimos Quadrados Ordinária (MMQO)
Equação	$y=0,96x -8,98$
Coefficiente de correlação (r)	0,9937
Coefficiente de determinação (r ²)	0,9874
Anova	Y efetivamente varia em função de X.
Teste de Significância para Intercepto	Existe diferença entre o valor médio b experimental e o valor 0.
Maior Desvio (%)	27,26
Maior Coeficiente de Variação - Precisão (%)	18,39
Maior Resíduo (%)	81,08
Outlier para resíduos totais	Grubbs: Nenhum
Outlier para resíduos por níveis	Grubbs: Nenhum
Teste de Normalidade para Resíduos (Shapiro-wilk)	Os resíduos possuem distribuição normal.
Teste de Independência para Resíduos (Durbin-Watson)	Não Independente

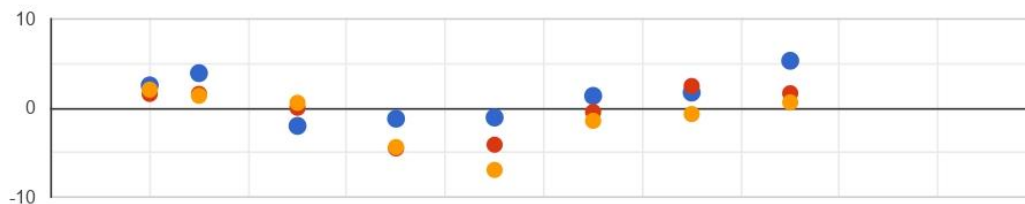
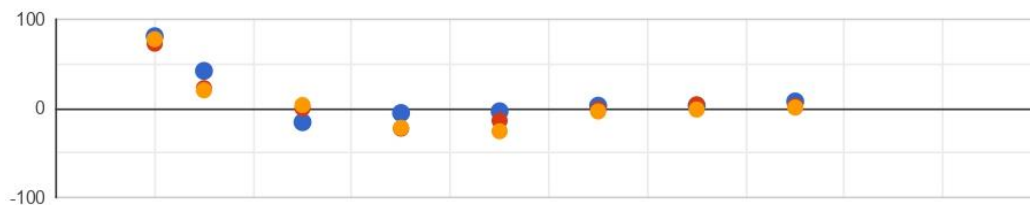
TESTES GERAIS

Teste de Normalidade para Resíduos (Shapiro-wilk)				
W Calculado	0,95	W Tabelado	0,92	Os resíduos possuem distribuição normal.

Teste de Independência para Resíduos (Durbin-Watson)				
D Calculado	1,12	D Tabelado	d _L : 1,35 d _U : 1,49	Não Independente

Teste Anova				
F Calculado	470,05	F Tabelado	8,81	Y efetivamente varia em função de X.

Teste de Significância para Intercepto (teste t)				
T Calculado	34,16	T Tabelado	4,30	Existe diferença entre o valor médio b experimental e o valor 0.

RESÍDUOS ABSOLUTOS**RESÍDUOS RELATIVOS**

ConfLab

Avenida Trabalhador Sancerlense, 400 Parque Arnold Schimidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

OUTLIERS(GRUBBS POR NÍVEL)

Conc. (umol.L-1)	Replicata 1	Replicata 2	Replicata 3
10	2,541	1,582	2,062
15	3,915	1,584	1,373
25	-2,008	0,027	0,577
35	-1,200	-4,531	-4,385
45	-1,071	-4,121	-6,952
55	1,361	-0,443	-1,438
65	1,733	2,475	-0,678
75	5,304	1,659	0,634

OUTLIERS(GRUBBS TOTAL)

Conc. (umol.L-1)	Replicata 1	Replicata 2	Replicata 3
10	2,541	1,582	2,062
15	3,915	1,584	1,373
25	-2,008	0,027	0,577
35	-1,200	-4,531	-4,385
45	-1,071	-4,121	-6,952
55	1,361	-0,443	-1,438
65	1,733	2,475	-0,678
75	5,304	1,659	0,634

DESVIO

Conc. ((umol.L-1))	Desvio (%)		
	Replicata 1	Replicata 2	Replicata 3
10	26,545	16,519	21,535
15	27,257	11,030	9,562
25	8,390	0,111	2,409
35	3,581	13,521	13,087
45	2,486	9,566	16,136
55	2,585	0,841	2,731
65	2,785	3,978	1,089
75	7,387	2,311	0,884

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO

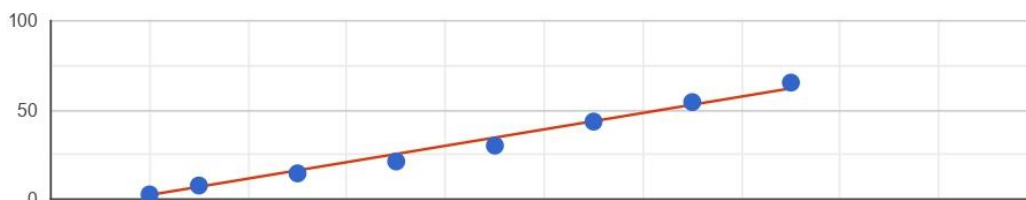
Conc. ((umol.L-1))	Coefficiente de Variação (%)
10	18,079
15	18,385
25	9,400
35	8,898
45	9,786
55	3,261
65	3,029
75	3,755

ConfLab

Avenida Trabalhador Sancarlense, 400 Parque Arnold Schmidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

REGRESSÃO DOS MÍNIMOS QUADRADOS PONDERADOS (MMQP)


Parâmetros	Regressão dos Mínimos Quadrados Ponderada(MMQP)
Equação	$y=0,92x-6,84$
Coefficiente de correlação (r)	0,9971
Coefficiente de determinação (r ²)	0,9942
Anova	Y efetivamente varia em função de X.
Teste de Significância para Intercepto	Existe diferença entre o valor médio b experimental e o valor 0.
Maior Desvio (%)	17,87
Maior Coeficiente de Variação-Precisão(%)	18,39
Maior Resíduo(%)	27,24
Outlier para resíduos totais	Grubbs: Nenhum
Outlier para resíduos por níveis	Grubbs: Nenhum
Teste de Normalidade para Resíduos (Shapiro-wilk)	Os resíduos possuem distribuição normal.
Teste de Independência para Resíduos (Durbin-Watson)	Não Independente

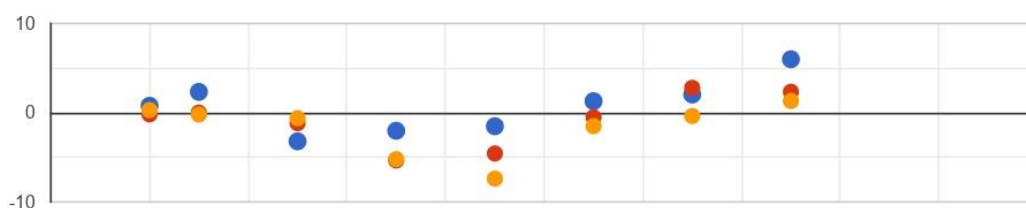
TESTES GERAIS

Teste de Normalidade para Resíduos(Shapiro-wilk)			
W Calculado	0,97	W Tabelado	0,92
Os resíduos possuem distribuição normal.			

Teste de Independência para Resíduos(Durbin-Watson)			
D Calculado	1,05	D Tabelado	d _L : 1,35 d _U : 1,49
Não Independente			

Teste Anova			
F Calculado	2067,31	F Tabelado	8,81
Y efetivamente varia em função de X.			

Teste de Significância para Intercepto(teste t)			
t Calculado	22,84	t Tabelado	4,30
Existe diferença entre o valor médio b experimental e o valor 0.			

RESÍDUOS ABSOLUTOS


ConfLab

Avenida Trabalhador Sancerlense, 400 Parque Arnold Schimidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

RESÍDUOS RELATIVOS**OUTLIERS(GRUBBS POR NÍVEL)**

Conc. (umol.L-1)	Replicata 1	Replicata 2	Replicata 3
10	0,775	-0,185	0,296
15	2,337	0,006	-0,204
25	-3,208	-1,173	-0,623
35	-2,022	-5,353	-5,208
45	-1,516	-4,566	-7,397
55	1,294	-0,510	-1,505
65	2,044	2,786	-0,367
75	5,992	2,347	1,322

OUTLIERS(GRUBBS TOTAL)

Conc. (umol.L-1)	Replicata 1	Replicata 2	Replicata 3
10	0,775	-0,185	0,296
15	2,337	0,006	-0,204
25	-3,208	-1,173	-0,623
35	-2,022	-5,353	-5,208
45	-1,516	-4,566	-7,397
55	1,294	-0,510	-1,505
65	2,044	2,786	-0,367
75	5,992	2,347	1,322

DESVIO

Conc. ((umol.L-1))	Desvio (%)		
	Replicata 1	Replicata 2	Replicata 3
10	8,428	2,009	3,213
15	16,941	0,047	1,481
25	13,954	5,104	2,711
35	6,283	16,631	16,179
45	3,663	11,033	17,873
55	2,558	1,009	2,976
65	3,419	4,660	0,615
75	8,688	3,403	1,917

ConfLab

Avenida Trabalhador Sancarlense, 400 Parque Arnold Schimidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO

Conc. (($\mu\text{mol.L}^{-1}$))	Coeficiente de Variação (%)
10	18,079
15	18,385
25	9,400
35	8,898
45	9,786
55	3,261
65	3,029
75	3,755

**REGRESSÃO DOS MÍNIMOS QUADRADOS ORDINÁRIOS(MMQO) VERSUS
REGRESSÃO DOS MÍNIMOS QUADRADOS PONDERADOS(MMQP)**

4.2. LOD E LOQ

IDENTIFICAÇÃO

Analista: Desiree
Configuração de Equipamentos Utilizada: Configuração 1
Data de Realização do Teste: 22/06/2023

ENTRADA DE DADOS

CALCULOS TEÓRICOS-DESVIO PADRÃO DE INTERCPTO DO SINAL - FDA/ANVISA

DADOS DA CURVA 1 DE CALIBRAÇÃO

Níveis de Concentração ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	Sinais(Replicatas) (μA)
10	3,1346
15	9,2948
25	12,9463
35	23,3288
45	33,0318
55	45,0384
65	54,9849
75	68,1301

ConfLab

Avenida Trabalhador Sancarlene, 400 Parque Arnold Schmidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

DADOS DA CURVA 2 DE CALIBRAÇÃO

Níveis de Concentração (umol.L-1)	Sinais(Replicatas) (uA)
10	2,1747
15	6,9643
25	6,9643
35	14,9811
45	19,9979
55	29,9818
65	43,2343
75	55,727

DADOS DA CURVA 3 DE CALIBRAÇÃO

Níveis de Concentração (umol.L-1)	Sinais(Replicatas) (uA)
10	2,655
15	6,7535
25	15,5312
35	20,1435
45	27,1511
55	42,2394
65	52,5737
75	63,4603

CALCULOS EXPERIMENTAIS

Níveis de Concentração (umol.L-1)	Replicatas (umol.L-1)		
10	12,62	11,62	12,12

RESULTADOS**CALCULOS TEÓRICOS - DESVIO PADRÃO DE INTERCPTO DO SINAL - FDA/ANVISA**

	Ordinária	Ponderada
LOD	1,651 umol.L-1	0,000 umol.L-1
LOQ	5,002 umol.L-1	0,000 umol.L-1

Informações das Curvas

	Ordinária		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
Coef.de determinação(r ²)	0,9882	0,9426	0,9813
Coef.de correlação(r)	0,9941	0,9709	0,9906

	Ponderada		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
Coef.de determinação(r ²)	0,0000	0,0000	0,0000
Coef.de correlação(r)	0,0000	0,0000	0,0000

CALCULOS EXPERIMENTAIS

LOQ	10 umol.L-1
CV	4,125 %
Exatidão	121,200 %
Desvio	± 21,200 %

ANEXO B – RELATÓRIO DA ANÁLISE DO EFEITO DA MATRIZ

ConfLab

Avenida Trabalhador Sancarlense, 400 Parque Arnold Schimidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

RELATÓRIO DE VALIDAÇÃO/VERIFICAÇÃO

1. IDENTIFICAÇÃO

Título: Curva Matriz Dia 03
Método: Detecção de paracetamol em tampão fosfato pH 6
Análito: Paracetamol
Matriz: Fosfato

2. RESUMO DE RESULTADOS

2.1. PARÂMETROS E CRITÉRIOS DA VALIDAÇÃO

EFEITO MATRIZ

2.2. EFEITO MATRIZ

DIFERENÇAS ENTRE AS CURVAS DE CALIBRAÇÃO

Avaliação do Efeito Matriz na Curva Ordinária

Resultados - Teste F

Teste F para coeficiente angular				
F crítico	39,000	F calculado	3,170	Teste T Mesma Variância
Teste F para coeficiente linear				
F crítico	39,000	F calculado	1,693	Teste T Mesma Variância

Resultados - Teste T

Teste T para coeficiente angular				
T crítico	2,780	T calculado	2,559	APROVADO
Teste T para coeficiente linear				
T crítico	2,780	T calculado	0,720	APROVADO

Avaliação do Efeito Matriz na Curva Ponderada

Resultados - Teste F

Teste F para coeficiente angular				
F crítico	39,000	F calculado	6,065	Teste T Mesma Variância
Teste F para coeficiente linear				
F crítico	39,000	F calculado	1,165	Teste T Mesma Variância

Resultados - Teste T

Teste T para coeficiente angular				
T crítico	2,780	T calculado	2,016	APROVADO
Teste T para coeficiente linear				
T crítico	2,780	T calculado	0,108	APROVADO

ConfLab

Avenida Trabalhador Sarcantense, 400 Parque Arnold Schmidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

4. DETALHAMENTO DA VALIDAÇÃO**4.1. EFEITO MATRIZ****IDENTIFICAÇÃO**

Analista: Desiree
Configuração de Equipamentos Utilizada: Configuração 1
Data de Realização do Teste: 01/09/2023

ENTRADA DE DADOS**DIFERENÇAS ENTRE AS CURVAS DE CALIBRAÇÃO****DADOS DA CURVA DE CALIBRAÇÃO (ANALITO NA MATRIZ)**

Níveis de Concentração (umol.L-1)	Sinais(Replicatas) (uA)			
10	8,87	8,56	5,72	
15	17,7	17,11	11,94	
35	44,79	42,18	35,72	
45	58,7	53,93	49,73	
65	85,13	75,46	75,67	
75	96,45	83,17	86,95	

DADOS DA CURVA DE CALIBRAÇÃO (ANALITO NO SOLVENTE)

Níveis de Concentração (umol.L-1)	Sinais(Replicatas) (uA)			
10	8,4035	11,3871	9,1532	
15	15,3174	21,3267	16,8327	
35	37,1214	42,3978	37,4201	
45	57,6743	62,7814	63,0334	
65	85,705	85,9419	79,8684	
75	104,35444	108,8718	99,0844	

RESULTADOS**DIFERENÇAS ENTRE AS CURVAS DE CALIBRAÇÃO****Avaliação do Efeito Matriz na Curva Ordinária****Resultados - Teste F**

Teste F para coeficiente angular			
F crítico	39,000	F calculado	3,170
Teste T Mesma Variância			

Teste F para coeficiente linear			
F crítico	39,000	F calculado	1,693
Teste T Mesma Variância			

Resultados - Teste T

Teste T para coeficiente angular			
T crítico	2,780	T calculado	2,559
APROVADO			

ConfLab

Avenida Trabalhador Sancarlense, 400 Parque Arnold Schmidt Universidade de São Paulo
13566-590 São Carlos SP BRASIL
(16) 3373-6670



Versão do Software 1.0.3.0

Teste T para coeficiente linear				
T crítico	2,780	T calculado	0,720	APROVADO

Avaliação do Efeito Matriz na Curva Ponderada

Resultados - Teste F

Teste F para coeficiente angular				
F crítico	39,000	F calculado	6,065	Teste T Mesma Variância

Teste F para coeficiente linear				
F crítico	39,000	F calculado	1,165	Teste T Mesma Variância

Resultados - Teste T

Teste T para coeficiente angular				
T crítico	2,780	T calculado	2,016	APROVADO

Teste T para coeficiente linear				
T crítico	2,780	T calculado	0,108	APROVADO