



SENSORES E BIOSSENSORES ELETROQUÍMICOS IMPRESSOS EM 3D:
PÓS-TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE E APLICAÇÕES AMBIENTAIS

Leonan dos Santos Rodrigues

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientadores: Profa. Helen Conceição Ferraz
Prof. João Victor Nicolini

Rio de Janeiro
Março de 2025

SENSORES E BIOSSENSORES ELETROQUÍMICOS IMPRESSOS EM 3D:
PÓS-TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE E APLICAÇÕES AMBIENTAIS

Leonan dos Santos Rodrigues

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE)
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA

Orientadores: Profa. Helen Conceição Ferraz
Prof. João Victor Nicolini

Aprovada por: Profa. Helen Conceição Ferraz
Prof. João Victor Nicolini
Profa. Cecilia de Carvalho Castro e Silva
Dra. Cristiane Kalinke
Prof. Lucas Franco Ferreira

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL
MARÇO DE 2025

Rodrigues, Leonan dos Santos

Sensores e biossensores eletroquímicos impressos em 3D: pós-tratamentos de superfície e aplicações ambientais / Leonan dos Santos Rodrigues. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2025.

XIX, 284 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Helen Conceição Ferraz

João Victor Nicolini

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2025.

Referências Bibliográficas: p. 132-156.

1. Eletrodos impressos em 3D. 2. Sensores eletroquímicos. 3. Biossensores eletroquímicos. I. Ferraz, Helen Conceição *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título

AGRADECIMENTOS

A meus pais, Maria Lúcia e Osvaldo, que trabalharam sob o sol para que eu pudesse tentar uma chance à sombra.

À minha irmã, Laísa, maior presente da minha vida.

Aos demais membros da minha família, por todo auxílio em momentos de dificuldade.

Ao PEQ/COPPE/UFRJ pela oportunidade tão relevante em meu desenvolvimento pessoal e acadêmico.

Aos meus orientadores, Profa. Helen e Prof. João Victor, por me acolherem em seus grupos de pesquisa, pelos valiosos conselhos, pelas sugestões, pelo apoio, auxílio e por todos os conhecimentos compartilhados. Agradeço também pela amizade e pelo cultivo de uma orientação humanizada, qualidades às vezes raras, mas essenciais em nossa trajetória acadêmica.

Às assistências recebidas por programas de políticas públicas, agências de fomento e demais auxílios ao longo de toda a minha trajetória pessoal e profissional, como SUS, Bolsa Família, Ciência Sem Fronteiras, CAPES, ANP, CNPq e FAPERJ. Sem dúvidas, foram fundamentais ao proporcionarem suporte em momentos cruciais e me permitirem dar continuidade aos projetos, alcançando importantes marcos em meu desenvolvimento através da ciência.

À minha psicóloga, Mikaelle, pelo acolhimento, pelos puxões de orelha e por me orientar em meu processo de auto(des)conhecimento.

Aos meus amigos do LABEFIT. Em especial, Vinícius, Igor, Guilherme, Francessca, Juliana, Raquel, Luiz, Raíssa, João e Ramon. Agradeço pela parceria, pelos momentos de descontração, pelo acolhimento nos momentos difíceis e pela partilha de conhecimento.

Aos amigos do PEQ 2021/1, especialmente Bia, Pedro e Ruan, pelas chamadas durante a pandemia, pela partilha de conhecimento e pelo apoio nos momentos alegres e desafiadores. Um agradecimento especial à Bia, pelas reflexões, gentilezas e ouvidos sempre abertos durante nossas partilhas.

Aos amigos do PEQ 2024/1, pela acolhida mesmo sem fazer disciplinas na mesma turma e pelos momentos difíceis e de celebração que compartilhamos juntos. Em especial, Liz, Felipe, Pedro, Ana, Jim e Hugo.

Aos demais amigos do PEQ e da UFRJ, a citar, Stephanie, Poli, Rodrigo, Mari e Diulie, pelo acolhimento e por toda partilha que tivemos.

À Andresa do PAM, pelo auxílio nas análises térmicas e microscopias, por ser gentil durante momentos conturbados e pelas ideias e sugestões tão valiosas.

Ao Marcel da Magtech, por todas as sugestões, dicas e auxílios em como executar e tratar os dados das análises estatísticas.

Ao Elton do IMA pelas análises de espectroscopia Raman. Ao Aquila do Núcleo de Microscopia da COPPE, ao Jean e ao Daniele, ambos do Cenabio, pelas análises utilizando MEV. Ao Edivaldo do CAM/UFRRJ e à Aline do Engepol pelas análises de FTIR-ATR. Ao Michael do EPQB, à Tatiane do MN/UFRRJ e ao Arthur do IMA por todas as dicas e instruções.

Às demais pessoas do PEQ, da UFRJ, da UFRRJ e da UFF, com quem tive o prazer de cruzar o caminho, que compartilharam sugestões, explicaram conceitos importantes e me ajudaram a sanar dúvidas.

Aos amigos que tive a alegria de conhecer por meio do Coral e do Madrigal da UFV, que me apoiaram em momentos difíceis e com os quais compartilhei inúmeras alegrias e minha paixão pela música. Em especial, Déa, Fred, Lets, Bê, Gabi, Danilo, Will, Igor e Rubens.

À Kah, à Carol e à Paola, por resgatarem sentimentos tão iluminados e me ensinarem que o amor é revolucionário.

Aos amigos e colegas de Visconde, Viçosa e das repúblicas nas quais morei. Em especial, Pedro Milagres, Fabiano, Carlinha, Estevão, Isabela, Vilaça, Peterson, Thaisa, Vinícius, Maria Emília, Pedro Macedo, Filipe e Marquinhos, por todos os momentos alegres e conturbados que compartilhamos e por continuarem em minha vida de alguma forma.

Aos amigos e colegas do intercâmbio pelos momentos importantes que compartilhamos. Em especial, Angel, Jójô, Thiago Braga, Saulo, Hugo, Helen, Shoguinho, Amandinha, Thiago e Lucas.

A todos os professores, educadores e demais pessoas que, do ensino fundamental ao superior, compartilharam seus conhecimentos de forma inspiradora e tanto me auxiliaram a trilhar caminhos na ciência e nas artes. Especialmente, Wendel, Sandro, Virgínia,

Penha, Alaíde, Marlos, Nelsinho (*in memoriam*), Evandro Albuquerque, Evandro Marques, Jesalva, Rita, Wagner, Monique, Deusanilde, Fábio, Ceres, Róbson, Elizabeth, Dôra, Enzo, Ciro, Andreia, Romero, Qian, Rodrigo, Fernando, Lorena, Nivea e Raquel.

Aos amigos e colegas da ENQ UFV, cujas lembranças permanecem vivas, mesmo com a distância, e que trazem tanta alegria quando me recordo dos momentos importantes, às vezes desafiadores, que compartilhamos. Em especial, Daniel, Laís, Núbia, Ana, Gustavo, Felipe, Stephanie, Flavinha, Bárbara, Otávio, Henrique, Giselle, Michelle, Guilherme e Campestre.

Aos amigos das bandas das quais participei, especialmente Mairon e Gustavo, por ainda reviverem de maneira tão nostálgica os momentos divertidos que compartilhamos.

À Profa. Cecilia Castro e Silva, à Dra. Cristiane Kalinke e ao Prof. Lucas Ferreira, por gentilmente aceitarem fazer parte da minha banca de defesa.

E, pela primeira vez na vida, a mim mesmo.

Resumo da dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

SENSORES E BIOSSENSORES ELETROQUÍMICOS IMPRESSOS EM 3D:
PÓS-TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE E APLICAÇÕES AMBIENTAIS

Leonan dos Santos Rodrigues

Março/2025

Orientadores: Profa. Helen Conceição Ferraz

Prof. João Victor Nicolini

Programa: Engenharia Química

Ativações químicas e eletroquímicas são promissoras para aprimorar o desempenho eletroquímico de eletrodos impressos em 3D. Diante disso, diferentes pós-tratamentos de superfície de eletrodos de ácido polilático e negro de fumo foram avaliados neste estudo. Dados da caracterização eletroquímica foram analisados por ANOVA e teste de Tukey. Os resultados indicaram que o tratamento químico com NaOH, seguido ou não de eletroquímico em NaOH ou PBS, fornece o melhor desempenho. Um planejamento fatorial 3^2 foi conduzido para otimizar a concentração de NaOH e o tempo do tratamento escolhido, confirmando o potencial da ativação com NaOH 3 mol L^{-1} por 30 minutos. Esse tratamento resultou em uma resistência à transferência de carga de $2,80 \pm 0,14 \text{ k}\Omega$, área eletroativa de $0,714 \pm 0,019 \text{ cm}^2$ e constante de transferência heterogênea de elétrons de $1,43 \cdot 10^{-3} \pm 0,03 \cdot 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$, em contraste com $180,30 \pm 26,23 \text{ k}\Omega$, $0,356 \pm 0,024 \text{ cm}^2$ e $9,06 \cdot 10^{-4} \pm 0,37 \cdot 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$ para os eletrodos sem tratamento. Nanopartículas magnéticas foram sintetizadas e testadas, mas não melhoraram a resposta eletroquímica nas condições avaliadas. O eletrodo otimizado foi avaliado na detecção de glifosato e fipronil. Enquanto o biossensor eletroquímico baseado na inibição da fosfatase ácida não detectou o glifosato, o sensor foi capaz de detectar o fipronil, com melhor resposta em pH 10. Os resultados contribuem para o avanço em pesquisas na área e ampliam a aplicação desses dispositivos na detecção de contaminantes ambientais de forma mais sustentável.

Abstract of dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

3D-PRINTED ELECTROCHEMICAL SENSORS AND BIOSENSORS:
SURFACE POST-TREATMENTS AND ENVIRONMENTAL APPLICATIONS

Leonan dos Santos Rodrigues

March/2025

Advisors: Prof. Helen Conceição Ferraz

Prof. João Victor Nicolini

Program: Chemical Engineering

Chemical and electrochemical activations are promising for enhancing the electrochemical performance of 3D-printed electrodes. Accordingly, different surface post-treatments of polylactic acid and carbon black electrodes were evaluated in this study. Electrochemical characterization data were analyzed using ANOVA and Tukey's test. The results indicated that the chemical treatment with NaOH, followed or not by electrochemical activation in NaOH or PBS, provided the best performance. A 3^2 factorial design was conducted to optimize NaOH concentration and treatment time, confirming the potential of activation with NaOH 3 mol L^{-1} for 30 minutes. This treatment resulted in a charge transfer resistance of $2.80 \pm 0.14 \text{ k}\Omega$, an electroactive area of $0.714 \pm 0.019 \text{ cm}^2$, and a heterogeneous electron transfer rate constant of $1.43 \times 10^{-3} \pm 0.03 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$, in contrast to $180.30 \pm 26.23 \text{ k}\Omega$, $0.356 \pm 0.024 \text{ cm}^2$, and $9.06 \times 10^{-4} \pm 0.37 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$ for untreated electrodes. Magnetic nanoparticles were synthesized and tested but did not improve the electrochemical response under the evaluated conditions. The optimized electrode was assessed for glyphosate and fipronil detection. While the electrochemical biosensor based on acid phosphatase inhibition did not detect glyphosate, the sensor was able to detect fipronil, with the best response at pH 10. The results contribute to advancing research in the field and expand the application of these devices in the detection of environmental contaminants in a more sustainable manner.

Sumário

CAPÍTULO 1 Introdução	1
1.1 Contextualização e motivação	1
1.2 Objetivos	4
1.2.1 Objetivo geral	4
1.2.2 Objetivos específicos	4
1.3 Estrutura da dissertação	5
CAPÍTULO 2 Fundamentação Teórica e Revisão de Literatura	7
2.1 Sensores químicos, físicos e biossensores	7
2.1.1 Classificação dos sensores químicos e biossensores	7
2.2 Sensores e biossensores eletroquímicos	9
2.3 Célula eletroquímica	14
2.4 Processos de obtenção de eletrodos impressos em 3D	17
2.4.1 Técnicas de impressão 3D	19
2.4.2 Filamentos utilizados na impressão 3D de eletrodos por FDM	22
2.4.3 Filamento <i>Protopasta</i> ®	23
2.5 Pós-tratamentos de superfície para ativação dos eletrodos impressos em 3D	24
2.5.1 Tratamentos químicos	26
2.5.2 Tratamentos eletroquímicos	28
2.5.3 Tratamentos químicos e eletroquímicos combinados	29
2.6 Aplicação ambiental de sensores e biossensores eletroquímicos	33
2.6.1 Glifosato	34
2.6.2 Fipronil	38
CAPÍTULO 3 Materiais e Métodos	42
3.1 Reagentes e materiais	42
3.2 Métodos	43

3.2.1 Obtenção dos eletrodos impressos em 3D.....	43
3.2.2 Ativação dos eletrodos	44
3.2.3 Caracterização eletroquímica	46
3.2.4 Análises estatísticas para a escolha do melhor tratamento.....	48
3.2.5 Ensaio de resistência elétrica	48
3.2.6 Ângulos de contato.....	49
3.2.7 Microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia por energia dispersiva (MEV-EDS)	49
3.2.8 Espectroscopia no infravermelho	50
3.2.8.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada (FTIR-ATR)	50
3.2.8.2 Espectroscopia Raman.....	50
3.2.9 Análises térmicas.....	52
3.2.9.1 Termogravimetria	52
3.2.9.2 Análise dinâmico-mecânica.....	52
3.2.10 Planejamento experimental para a otimização da concentração de NaOH e do tempo de imersão no tratamento escolhido	52
3.2.11 Síntese, caracterização e avaliação do uso de nanopartículas magnéticas ...	54
3.2.12 Avaliação da detecção de glifosato pelo biossensor eletroquímico enzimático	56
3.2.13 Avaliação da detecção de fipronil pelo sensor eletroquímico.....	58
CAPÍTULO 4 Resultados e Discussão.....	59
4.1 Escolha dos parâmetros de impressão	59
4.2 Ativação dos eletrodos, caracterização eletroquímica e escolha do melhor tratamento	65
4.3 Resistência elétrica	80
4.4 Ângulos de contato	82

4.5 MEV-EDS.....	84
4.6 FTIR-ATR	90
4.7 Espectroscopia Raman.....	93
4.8 TGA	96
4.9 DMA.....	99
4.10 Otimização da concentração de NaOH e do tempo de tratamento	101
4.11 Avaliação do uso de nanopartículas magnéticas.....	110
4.12 Detecção de glifosato.....	116
4.13 Detecção de fipronil.....	121
CAPÍTULO 5 Conclusões.....	127
5.1 Considerações finais	127
5.2 Sugestões para trabalhos futuros.....	130
CAPÍTULO 6 Referências Bibliográficas.....	132
ANEXOS.....	157
APÊNDICES	159

Lista de Figuras

Figura 1. Manufatura aditiva <i>versus</i> subtrativa.	2
Figura 2. Mercado global de sensores eletroquímicos por região (A) e mercado americano de sensores eletroquímicos por tipo de aplicação (B).	3
Figura 3. Ilustração esquemática dos componentes de sensores e biossensores eletroquímicos.	10
Figura 4. Principais métodos de imobilização de biorreceptores.	12
Figura 5. Célula eletroquímica com dois eletrodos (A) e três eletrodos (B).	15
Figura 6. Eletrodo <i>screen-printed</i>	17
Figura 7. Passos no processo de impressão 3D em eletroquímica: 1) O primeiro passo é marcado pela concepção das ideias; 2) O próximo passo está relacionado à criação do modelo virtual 3D da peça; 3) Este passo é caracterizado pela impressão 3D da peça projetada (neste exemplo, pela técnica de modelagem por deposição fundida); 4) O último passo diz respeito às inúmeras possibilidades que existem na utilização da impressão 3D em eletroquímica.	18
Figura 8. Esquema do processo de modelagem por deposição fundida (A) e impressora 3D Ender-3S1 Plus, utilizada neste trabalho de dissertação (B).	22
Figura 9. Fórmula estrutural do PLA.	24
Figura 10. Grupos funcionais na superfície do negro de fumo.	24
Figura 11. Eletrodo impresso em 3D antes e após os tratamentos de superfície. Os tratamentos removem parte do polímero isolante da superfície, expondo uma maior quantidade do material condutor.	25
Figura 12. Mecanismo de hidrólise do PLA em (a) ambiente ácido e (b) ambiente alcalino. A hidrólise alcalina também é chamada de saponificação.	28
Figura 13. Estrutura do glifosato.	34
Figura 14. Mecanismo da oxidação eletroquímica do fipronil.	39
Figura 15. Dimensões dos eletrodos utilizados neste trabalho.	43

Figura 16. Representação da ativação dos eletrodos impressos em 3D e caracterização eletroquímica em solução 1:1 mmol L ⁻¹ Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} em 0,1 mol L ⁻¹ KCl.....	46
Figura 17. Circuitos ajustados nos dados de EIS. (A) Circuito equivalente de Randles, utilizados no ajuste dos resultados de todos os eletrodos, com exceção do eletrodo tratado com DMF-EQ _{PBS} . (B) Circuito utilizado no ajuste dos dados obtidos com os eletrodos tratados com DMF-EQ _{PBS} . O capacitor foi trocado por um elemento de fase constante, permitindo um melhor ajuste.....	47
Figura 18. Exemplo de espectro Raman e o resultado do ajuste de curva de 3 bandas (A) e 5 bandas (B).....	51
Figura 19. Impressão dos eletrodos sobre a mesa de polieterimida texturizada e de vidro com diferentes velocidades de impressão e espessuras de camada, utilizando o fatiador <i>Creativity Slicer</i> ®. (1) Mesa de vidro (preenchimento em linha): (a) 30 mm s ⁻¹ e 0,05 mm, (b) 30 mm s ⁻¹ e 0,1 mm, (c) 30 mm s ⁻¹ e 0,2 mm, (d) 60 mm s ⁻¹ e 0,05 mm, (e) 60 mm s ⁻¹ e 0,1 mm e (f) 60 mm s ⁻¹ e 0,2 mm. (2) Mesa de vidro: (2.1) Preenchimento em linha: (a) 30 mm s ⁻¹ e 0,05 mm e (b) 30 mm s ⁻¹ e 0,2 mm; (2.2) Preenchimento em grade: (a) 30 mm s ⁻¹ e 0,2 mm e (b) 60 mm s ⁻¹ e 0,2 mm.....	59
Figura 20. Impressão dos eletrodos sobre a mesa de polieterimida texturizada com diferentes velocidades de impressão e espessuras de camada, utilizando o fatiador <i>Simplify 3D</i> ®. (a) 30 mm s ⁻¹ e 0,05 mm; (b) 30 mm s ⁻¹ e 0,1 mm, (c) 30 mm s ⁻¹ e 0,2 mm, (d) 60 mm s ⁻¹ e 0,05 mm, (e) 60 mm s ⁻¹ e 0,1 mm, (f) 60 mm s ⁻¹ e 0,2 mm.	61
Figura 21. Impressão dos eletrodos sobre a mesa de polieterimida texturizada com velocidade de impressão de 30 mm s ⁻¹ e espessura de camada de 0,1 mm, com diferentes valores de sobreposição de contorno e altura da primeira camada, utilizando o fatiador <i>Simplify 3D</i> ®. As porcentagens após as letras representam a altura da primeira camada utilizada. (1) Sobreposição de contorno de 15%: (a) 80%, (b) 100% e (c) 150%; (2) Sobreposição de contorno de 35%: (a) 40%, (b) 50%, (c) 60%, (d) 80%, (e) 100% e (f) 150%; (3) Sobreposição de contorno de 50%: (a) 40% e (b) 60%.....	62
Figura 22. Impressão dos eletrodos sobre a mesa de polieterimida texturizada com velocidade de impressão de 30 mm s ⁻¹ e espessura de camada de 0,2 mm, com diferentes valores de sobreposição de contorno e altura da primeira camada, utilizando o fatiador <i>Simplify 3D</i> ®. As porcentagens após as letras representam a altura da primeira camada	

utilizada. Sobreposição de contorno de 15%: (a) 80%, (b) 100% e (c) 150%. Sobreposição de contorno de 35%: (d) 80%, (e) 100% e (f) 150%..... 63

Figura 23. Impressão dos eletrodos sobre a mesa de vidro com velocidade de impressão de 30 mm s^{-1} e sobreposição de contorno de 15%, com diferentes valores de espessura de camada e altura da primeira camada, utilizando o fatiador *Simplify 3D*®. As porcentagens após as letras representam a altura da primeira camada utilizada. (1) Espessura de camada de 0,05 mm: (a) 60%, (b) 80%, (c) 100% e (d) 150%; (2) Espessura de camada de 0,1 mm: (a) 60%, (b) 80%, (c) 100% e (d) 150%; (3) Espessura de camada 0,2 mm: (a) 60%, (b) 80%, (c) 100% e (d) 150%..... 64

Figura 24. Voltamogramas cíclicos ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) vs. Ag|AgCl ($3 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$) (A), média das correntes de pico anódico (I_{pa}) e anódico (I_{pc}) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura v (B) e gráficos de Nyquist do filamento (1) e do eletrodo sem tratamento (2). Todos os experimentos foram realizados em $1:1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ 67

Figura 25. Voltamogramas cíclicos ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) vs. Ag|AgCl ($3 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$) (A), média das correntes de pico anódico (I_{pa}) e anódico (I_{pc}) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura v (B) e gráficos de Nyquist dos eletrodos ativados quimicamente em DMF (1), H_2SO_4 (2) e NaOH (E). Todos os experimentos foram realizados em $1:1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ 68

Figura 26. Voltamogramas cíclicos ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) vs. Ag|AgCl ($3 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$) (A), média das correntes de pico anódico (I_{pa}) e anódico (I_{pc}) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura v (B) e gráficos de Nyquist dos eletrodos ativados eletroquimicamente em EQ_{NaOH} (1) e EQ_{PBS} (2). Todos os experimentos foram realizados em $1:1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ 69

Figura 27. Voltamogramas cíclicos ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) vs. Ag|AgCl ($3 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$) (A), média das correntes de pico anódico (I_{pa}) e anódico (I_{pc}) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura v (B) e gráficos de Nyquist dos eletrodos submetidos aos tratamentos combinados DMF- EQ_{NaOH} (1) e DMF- EQ_{PBS} (2). Todos os experimentos foram realizados em $1:1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ 70

Figura 28. Voltamogramas cíclicos ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) vs. Ag|AgCl ($3 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$) (A), média das correntes de pico anódico (I_{pa}) e anódico (I_{pc}) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura v (B) e gráficos de Nyquist dos eletrodos submetidos aos tratamentos

combinados H ₂ SO ₄ -EQ _{NaOH} (1) e H ₂ SO ₄ -EQ _{PBS} (2). Todos os experimentos foram realizados em 1:1 mmol L ⁻¹ Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} em 0,1 mol L ⁻¹ KCl.	71
Figura 29. Voltamogramas cíclicos (5 – 200 mV s ⁻¹) vs. Ag AgCl (3 mol L ⁻¹ KCl) (A), média das correntes de pico anódico (<i>I_{pa}</i>) e anódico (<i>I_{pc}</i>) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura <i>v</i> (B) e gráficos de Nyquist dos eletrodos submetidos aos tratamentos combinados NaOH-EQ _{NaOH} (1) e NaOH-EQ _{PBS} (2). Todos os experimentos foram realizados em 1:1 mmol L ⁻¹ Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} em 0,1 mol L ⁻¹ KCl.	72
Figura 30. Voltamogramas cíclicos (<i>v</i> = 75 mV s ⁻¹) (A) e gráficos de Nyquist (B) para o eletrodo sem tratamento e eletrodos tratados. Todos os experimentos foram realizados em 1:1 mmol L ⁻¹ Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} em 0,1 mol L ⁻¹ KCl.	75
Figura 31. Teste de Tukey (nível de significância = 0,05) para <i>I_{pa}</i> , <i>I_{pa}</i> / <i>I_{pc}</i> , ΔE_p , <i>A_e</i> , <i>k⁰</i> e <i>R_{ct}</i>	77
Figura 32. Voltamogramas cíclicos (<i>v</i> = 75 mV s ⁻¹) (A) e gráficos de Nyquist (B) para os eletrodos tratados com NaOH (lilás), NaOH-EQ _{NaOH} (verde) e NaOH-EQ _{PBS} (cinza). Todos os experimentos foram realizados em 1:1 mmol L ⁻¹ Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} em 0,1 mol L ⁻¹ KCl.	79
Figura 33. Gráfico de potencial (<i>E</i>) versus corrente (<i>I</i>) obtido por voltametria de varredura linear (50 mV s ⁻¹) para o filamento, o eletrodo sem tratamento e os eletrodos tratados. Os dados plotados são as médias das triplicatas.	80
Figura 34. Teste de Tukey (nível de significância = 0,05) para a resistência elétrica (<i>R</i>).	81
Figura 35. Ângulo de contato: A. Filamento, B. Sem tratamento, C. DMF, D. H ₂ SO ₄ , E. NaOH, F. EQ _{NaOH} , G. EQ _{PBS} , H. DMF-EQ _{NaOH} , I. DMF-EQ _{PBS} , J. H ₂ SO ₄ -EQ _{NaOH} , K. H ₂ SO ₄ -EQ _{PBS} , L. NaOH-EQ _{NaOH} e M. NaOH-EQ _{PBS}	82
Figura 36. Teste de Tukey (nível de significância = 0,05) para os ângulos de contato.	83
Figura 37. Micrografias da superfície do filamento (A), da seção transversal do filamento (B) e do eletrodo sem tratamento (C). As ampliações utilizadas foram 100x (1), 2000x (2), 10000x (3) e 40000x (4).	85
Figura 38. Micrografias dos eletrodos tratados quimicamente com DMF (A), H ₂ SO ₄ (B) e NaOH (C). As ampliações utilizadas foram 100x (1), 2000x (2), 10000x (3) e 40000x (4).	86

Figura 39. Micrografias dos eletrodos tratados eletroquimicamente: EQ _{NaOH} (A) e EQ _{PBS} (B). As ampliações utilizadas foram 100x (1), 2000x (2), 10000x (3) e 40000x (4).....	86
Figura 40. Micrografias dos eletrodos submetidos aos tratamentos combinados: DMF-EQ _{NaOH} (A), DMF-EQ _{PBS} (B), H ₂ SO ₄ -EQ _{NaOH} (C), H ₂ SO ₄ -EQ _{PBS} (D), NaOH-EQ _{NaOH} (E), NaOH-EQ _{PBS} (F). As ampliações utilizadas foram 100x (1), 2000x (2), 10000x (3) e 40000x (4).	87
Figura 41. Espectros FTIR do filamento, do eletrodo sem tratamento e dos eletrodos submetidos aos diversos métodos de ativação.....	91
Figura 42. Espectros Raman das amostras analisadas.....	93
Figura 43. Curvas termogravimétricas de decomposição das seguintes amostras: PLA, filamento <i>Protopasta</i> ® (CB/PLA) e eletrodo sem tratamento (A); eletrodos submetidos aos tratamentos químicos (B); eletrodos submetidos aos tratamentos eletroquímicos (C); eletrodos tratados em DMF com ou sem tratamentos eletroquímicos (D); eletrodos tratados em H ₂ SO ₄ com ou sem tratamentos eletroquímicos (D) e eletrodos tratados em NaOH com ou sem tratamentos eletroquímicos (E).....	97
Figura 44. Gráfico de valores observados <i>versus</i> preditos pelo modelo obtido para a variável ΔEp	103
Figura 45. Curva de superfície para o modelo obtido para a variável ΔEp	104
Figura 46. Gráfico de contorno de ΔEp contra z_1 e z_2 . O retângulo destacado no interior da imagem representa a região onde há os menores valores de ΔEp , condições desejadas para essa variável.....	104
Figura 47. Gráfico de valores observados <i>versus</i> preditos pelo modelo obtido para a variável I_{pa}/I_{pc}	105
Figura 48. Curva de superfície para o modelo obtido para a variável I_{pa}/I_{pc}	105
Figura 49. Gráfico de contorno de I_{pa}/I_{pc} contra z_1 e z_2 . A área destacada no interior da imagem representa os valores de I_{pa}/I_{pc} mais próximos de 1, condições desejadas para essa variável.....	106
Figura 50. Gráfico de valores observados <i>versus</i> preditos pelo modelo obtido para a variável R_{ct}	106
Figura 51. Curva de superfície para o modelo obtido para a variável R_{ct}	107

Figura 52. Gráfico de contorno de R_{ct} contra z_1 e z_2 . A área destacada no interior da imagem representa a região onde se encontram os menores valores de R_{ct} , condições desejadas para essa variável.	107
Figura 53. Gráfico de valores observados <i>versus</i> preditos pelo modelo obtido para a variável I_{pa}	108
Figura 54. Curva de superfície para o modelo obtido para a variável I_{pa}	108
Figura 55. Gráfico de contorno de I_{pa} contra z_1 e z_2 . O retângulo destacado no interior da imagem representa a região onde se encontram as maiores correntes de pico anódico, condições desejadas para essa variável.	109
Figura 56. Interseção entre as melhores condições encontradas em cada gráfico de contorno, feita sobre o gráfico de R_{ct} . Rosa: região de menor ΔE_p , azul claro: região de $I_{pa}/I_{pc} \approx 1$; roxo: região de menor R_{ct} , azul escuro: região de maior I_{pa} . O trapézio em vermelho representa a região de interseção, e o ponto em vermelho, a concentração de NaOH de 3 mol L ⁻¹ e o tempo de tratamento de 30 minutos.	109
Figura 57. Espectro de FTIR das nanopartículas magnéticas sintetizadas.	110
Figura 58. Curvas de distribuição de tamanho da amostra.	111
Figura 59. Micrografias, em ordem crescente de ampliação, de 20 μ L de uma dispersão de 1 mg mL ⁻¹ de nanopartículas magnéticas depositadas sobre a fita de carbono.	113
Figura 60. Micrografias, em ordem crescente de ampliação, do eletrodo tratado com NaOH 3 mol L ⁻¹ por 30 minutos com a deposição de 20 μ L de uma dispersão de 1 mg mL ⁻¹ de nanopartículas magnéticas.	114
Figura 61. Teste de Tukey (nível de significância = 0,05) para I_{pa} , I_{pa}/I_{pc} , ΔE_p e R_{ct} para a avaliação do uso de nanopartículas magnéticas.	115
Figura 62. Espectro de FTIR do eletrodo tratado em NaOH 3 mol L ⁻¹ por 30 minutos e do mesmo eletrodo com a enzima fosfatase ácida imobilizada por adsorção física.	117
Figura 63. Micrografias, em ordem crescente de ampliação, do eletrodo tratado com NaOH 3 mol L ⁻¹ por 30 minutos após a deposição de 20 μ L de uma solução de 5 mg mL ⁻¹ de fosfatase ácida preparada em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,6).	117

Figura 64. Reação de oxidação do fenol e seus subprodutos. Caminho-1: polimerização radicalar do radical fenóxi, formando produtos alcatrão eletroinativos (estruturas possíveis). Caminho-2: subprodutos polifenólicos, como hidroquinona e catecol.	118
Figura 65. Voltamogramas cíclicos da solução de 3 mmol L ⁻¹ de fenol em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,6) para três varreduras consecutivas ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$).	119
Figura 66. Respostas por DPV do tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,6) e de 3 mmol L ⁻¹ de fenol no mesmo tampão, sem (A) e com (B) correção da linha de base, em três varreduras consecutivas.	120
Figura 67. Respostas por DPV do eletrodo modificado com fosfatase ácida em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,6) contendo 3 mmol L ⁻¹ de fenilfosfato, com e sem glifosato (1 $\mu\text{g mL}^{-1}$), após 16 minutos de incubação.	120
Figura 68. Voltamogramas cíclicos (50 mV s ⁻¹ , terceiro ciclo de varredura) (A) e respostas por voltametria de pulso diferencial ($E_{\text{passo}} = 0,005 \text{ V}$; $E_{\text{pulso}} = 0,05 \text{ V}$ e $t_{\text{pulso}} = 0,05 \text{ s}$) (B) dos tampões BR 0,1 mol L ⁻¹ em diferentes pHs (1) e dos mesmos tampões contendo etanol (2).	122
Figura 69. Voltamogramas cíclicos (50 mV s ⁻¹) dos tampões BR 0,1 mol L ⁻¹ contendo 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de fipronil em pH 7 (A), 8 (B), 9 (C), 10 (D) e 11 (E).	123
Figura 70. Voltamogramas cíclicos (50 mV s ⁻¹ , primeiro ciclo de varredura) do tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 10) contendo 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de fipronil de -1,2 a +1,5 V (preto) e de +1,5 a -1,2 V (vermelho).	124
Figura 71. Voltamogramas cíclicos (50 mV s ⁻¹) do primeiro (A) e do terceiro (B) ciclo de varredura em tampões BR 0,1 mol L ⁻¹ contendo 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de fipronil em diferentes pHs.	125
Figura 72. Gráfico de E_p versus pH obtido com os dados do primeiro ciclo de voltametria cíclica (50 mV s ⁻¹) para a detecção de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de fipronil em tampões BR 0,1 mol L ⁻¹	125
Figura 73. Respostas por DPV (1º ciclo de varredura) de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de fipronil em tampões BR 0,1 mol L ⁻¹ em diferentes pHs sem (A) e com (B) a correção da linha de base.	126

Lista de Tabelas

Tabela 1. Resumo das diferentes técnicas usadas em sensores e biossensores eletroquímicos.	11
Tabela 2. Vantagens e desvantagens das técnicas de impressão em 3D.	21
Tabela 3. Tratamentos químicos, eletroquímicos e combinados de eletrodos impressos em 3D a partir de filamentos de PLA contendo materiais carbonáceos presentes na literatura.	31
Tabela 4. Condições utilizadas na impressão dos eletrodos deste trabalho.....	43
Tabela 5. Tratamentos químicos, eletroquímicos e combinados utilizados neste trabalho.	45
Tabela 6. Intervalo de variação das variáveis de entrada do planejamento fatorial completo a três níveis.	53
Tabela 7. Planejamento experimental fatorial completo a três níveis.	53
Tabela 8. Volumes adicionados para os ensaios utilizando espectrofotometria UV-Vis sem glifosato.....	56
Tabela 9. Volumes adicionados para os ensaios utilizando espectrofotometria UV-Vis com glifosato.	57
Tabela 10. Quantidades adicionadas de cada reagente para o preparo de 250 mL de tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ em vários pHs, calculadas a partir da tabela fornecida por Mongay e Cerdà (1974).	58
Tabela 11. Melhores eletrodos para cada variável estudada a partir das análises estatísticas.....	78
Tabela 12. Porcentagem mássica de carbono e oxigênio, obtida por EDS, do filamento e dos eletrodos submetidos aos diversos tratamentos.	89
Tabela 13. Dados coletados a partir da deconvolução dos picos dos espectros Raman das amostras deste trabalho.....	94
Tabela 14. Dados obtidos pelos experimentos de TGA.	98
Tabela 15. Propriedades térmicas e mecânicas das amostras	100
Tabela 16. Matriz de correlação para as variáveis do planejamento experimental.	102

CAPÍTULO 1

Introdução

1.1 Contextualização e motivação

As técnicas de manufatura aditiva, comumente conhecidas como impressão tridimensional (3D), têm se mostrado ferramentas interessantes para a criação de dispositivos e protótipos, beneficiando cientistas, engenheiros e profissionais da saúde (CHENG *et al.*, 2017; SHARMA *et al.*, 2023). Essa tecnologia ganhou relevância ao viabilizar a produção de dispositivos analíticos e equipamentos de laboratório personalizados, com ampla aplicação nos setores aeroespacial, automotivo, médico, alimentício, eletrônico, energético, entre outros (KESTILÄ *et al.*, 2024; SIDDIQUI *et al.*, 2023).

A impressão 3D opera por meio da adição progressiva de material, em contraste com métodos tradicionais de manufatura subtrativa (Figura 1), que envolvem a remoção de material por perfuração e fresagem, por exemplo (MANZANARES PALENZUELA e PUMERA, 2018; PAUL *et al.*, 2024). Como resultado, essa abordagem reduz de forma significativa o desperdício de materiais e os custos relacionados ao tempo, transporte, armazenamento e consumo energético (MANZANARES PALENZUELA e PUMERA, 2018; MUBARAK *et al.*, 2023). Além disso, sua integração com processos de reciclagem de plásticos e a possibilidade de reaproveitamento dos materiais utilizados potencializam sua contribuição para a sustentabilidade ambiental e social (CRAPNELL *et al.*, 2023; KASSAB *et al.*, 2023; SOUZA *et al.*, 2025). Dessa forma, a manufatura aditiva está alinhada a conceitos como ESG (*Environmental, Social, and Governance*) e economia circular, profundamente ligados ao desenvolvimento sustentável (KALINKE *et al.*, 2024; SIDDIQUI *et al.*, 2023).

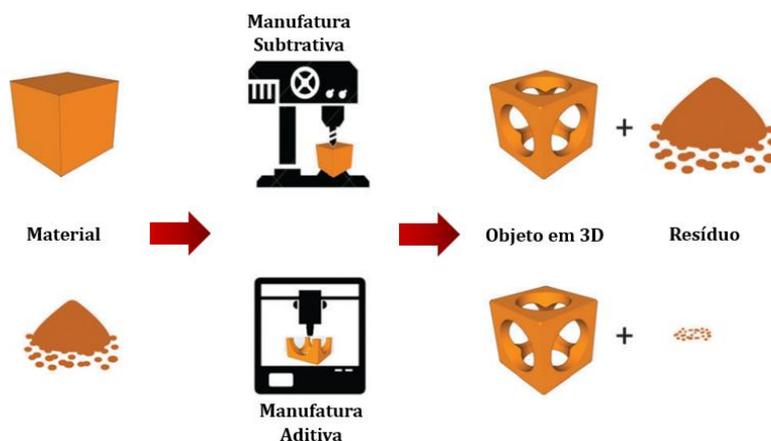


Figura 1. Manufatura aditiva *versus* subtrativa.

Fonte: Adaptado de Ambrosi e Pumera (2016).

No campo da eletroquímica, a impressão 3D tem demonstrado grande potencial devido à sua capacidade de fabricar sistemas complexos de maneira econômica e versátil (PEREIRA *et al.*, 2022). A criação de sensores e biossensores eletroquímicos tem experimentado avanços com o desenvolvimento dessa tecnologia, especialmente por meio da técnica de modelagem por deposição fundida (*fused deposition modeling* – FDM), que utiliza filamentos de polímeros termoplásticos, frequentemente incluindo materiais condutores carbonáceos, aquecidos e extrudados através de um bocal (MUÑOZ e PUMERA, 2020a; OSMAN, LU, 2023).

Sensores e biossensores eletroquímicos são amplamente reconhecidos por sua capacidade de oferecer alta seletividade e sensibilidade, combinadas com simplicidade e custo acessível, tornando-os os sensores e biossensores mais investigados, utilizados e adotados no mercado (BATRA *et al.*, 2020; SRIDHARAN *et al.*, 2023). De acordo com a empresa de pesquisa de mercado *Grand View Research* ([s.d.]a), o mercado global de sensores eletroquímicos enzimáticos e não enzimáticos foi avaliado em 10,4 bilhões de dólares em 2023 (Figura 2A), com previsão de crescimento a uma taxa de crescimento anual composta (*compound annual growth rate* – CAGR) de 8,5% de 2024 a 2030. O aumento na prevalência de doenças como diabetes, câncer, distúrbios neurológicos, ginecológicos, oftalmológicos e cardíacos estão impulsionando esse mercado, assim como a crescente demanda por monitoramento contínuo da saúde e diagnósticos rápidos (GRAND VIEW RESEARCH, [s.d.]a).

Além disso, o avanço da agricultura de precisão, que permite o monitoramento em tempo real das condições do solo e das culturas, também tem sido um fator importante

para o crescimento do mercado de sensores eletroquímicos, fornecendo dados cruciais, como níveis de nutrientes (por exemplo, nitratos e fosfatos), pH e umidade do solo. Esses sensores também são eficazes na medição de metais pesados, herbicidas e pesticidas presentes no solo, nos alimentos e na água (GRAND VIEW RESEARCH, [s.d.]b).

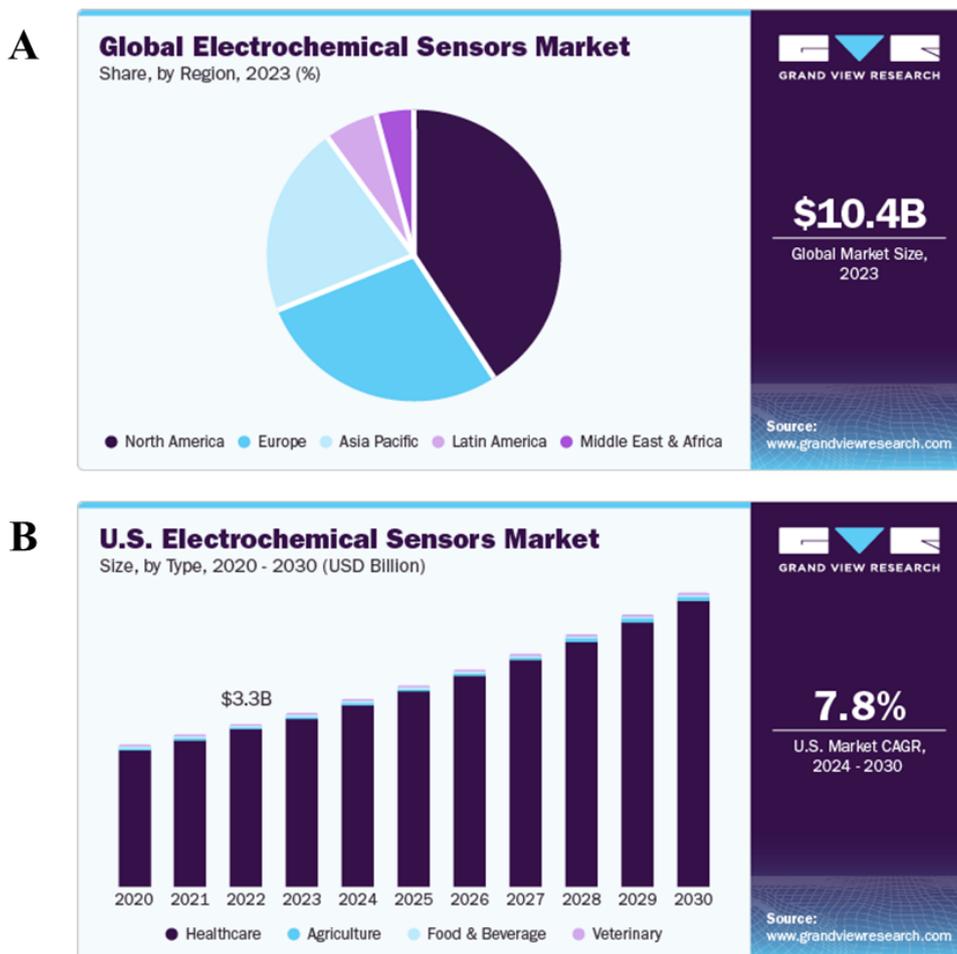


Figura 2. Mercado global de sensores eletroquímicos por região (A) e mercado americano de sensores eletroquímicos por tipo de aplicação (B).

Fonte: Grand View Research ([s.d.]a).

Nesse contexto, eletrodos impressos em 3D têm sido amplamente estudados na construção de sensores e biossensores eletroquímicos para a detecção de analitos em diversas áreas (Figura 2B), como saúde (HUSSAN KS *et al.*, 2024; KALINKE *et al.*, 2023; MUÑOZ e PUMERA, 2021), segurança alimentar (DOS SANTOS *et al.*, 2022; SANLI, 2024; SONG *et al.*, 2023) e monitoramento ambiental (MUÑOZ e PUMERA, 2020b; RODRIGUES *et al.*, 2022; RUAN *et al.*, 2021). Nesses dispositivos, é essencial aprimorar as propriedades eletroquímicas dos eletrodos antes da modificação bioquímica

ou da realização das análises, uma vez que o seu desempenho eletroanalítico é limitado devido à alta resistividade elétrica do componente não condutivo do filamento (STEFANO *et al.*, 2022). Assim, tratamentos de superfície pós-impressão, que incluem imersão dos eletrodos em diferentes soluções e solventes, aplicação de potenciais constantes ou variáveis empregando soluções eletrolíticas, procedimentos sem reagentes (polimento, ativação térmicas e uso de fontes de *laser* e plasma), utilização de enzimas e, até mesmo, combinações de dois ou mais tratamentos, têm sido empregados para melhorar o desempenho eletroquímico dos eletrodos (ROCHA *et al.*, 2022).

Diante disso, a relevância no estudo e desenvolvimento de eletrodos impressos em 3D reside tanto na importância dos sensores e biossensores eletroquímicos para a detecção de diversos analitos quanto na crescente necessidade de desenvolver métodos de fabricação mais eficientes e sustentáveis para esses dispositivos. Este trabalho, ao explorar as vantagens da impressão 3D na fabricação de sensores e biossensores eletroquímicos, espera contribuir para o avanço da tecnologia nesse campo e para a melhoria da detecção e monitoramento de analitos relevantes.

1.2 Objetivos

Os propósitos desta dissertação estão explicitados a seguir:

1.2.1 Objetivo geral

Comparar diferentes pós-tratamentos de superfície de eletrodos impressos em 3D por FDM, fabricados com o filamento comercial *Protopasta*®, composto por ácido polilático e negro de fumo, e buscar o desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos utilizando o eletrodo com o melhor desempenho após o tratamento escolhido, que foram avaliados para a detecção de glifosato e fipronil, analitos de relevância ambiental.

1.2.2 Objetivos específicos

Com o intuito de atingir o propósito do trabalho, foram estabelecidos objetivos específicos, que servem como guia para sua realização.

- 1) Definir os parâmetros de impressão dos eletrodos impressos em 3D por FDM com base em uma revisão da literatura científica e na viabilidade experimental;

- 2) Propor e avaliar tratamentos químicos, eletroquímicos e combinados para a melhoria do desempenho eletroquímico dos eletrodos;
- 3) Aplicar métodos estatísticos para selecionar o tratamento mais eficaz a partir da caracterização eletroquímica por voltametria cíclica (*cyclic voltammetry* – CV) e espectroscopia de impedância eletroquímica (*electrochemical impedance spectroscopy* – EIS), assim como realizar ensaios para determinação do ângulo de contato e da resistência elétrica;
- 4) Caracterizar o filamento e os eletrodos (tratados e não tratados) utilizando microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia por energia dispersiva (MEV-EDS), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (*Fourier transform infrared spectroscopy* – FTIR), espectroscopia Raman e análises térmicas, como termogravimetria (*thermogravimetric analysis* – TGA) e análise dinâmico-mecânica (*dynamic mechanical analysis* – DMA), a fim de compreender as modificações estruturais e químicas dos eletrodos produzidos;
- 5) Implementar um planejamento experimental para otimizar a concentração de reagente e o tempo de tratamento para o método de ativação escolhido (tratamento químico com hidróxido de sódio);
- 6) Avaliar o impacto da incorporação de nanopartículas magnéticas, já empregadas na construção de biossensores eletroquímicos em diferentes trabalhos da literatura, no aprimoramento das respostas eletroquímicas do eletrodo otimizado;
- 7) Desenvolver um biossensor eletroquímico enzimático para avaliar a detecção de glifosato e um sensor eletroquímico para estudar a detecção de fipronil, utilizando o eletrodo otimizado pelo planejamento experimental.

1.3 Estrutura da dissertação

Esta dissertação de mestrado está organizada em seis capítulos. O capítulo 1 apresenta a introdução e a motivação, contextualizando o estudo e destacando a importância da pesquisa, além de expor os objetivos gerais e específicos do trabalho.

No capítulo 2, é feita uma revisão teórica e bibliográfica, abordando os principais tópicos relacionados à pesquisa, como sensores e biossensores eletroquímicos, eletrodos impressos em 3D, pós-tratamentos de superfície, técnicas de imobilização de

biorreceptores, analitos utilizados neste trabalho e demais conceitos que facilitam a compreensão desta dissertação.

O capítulo 3 descreve detalhadamente os materiais e métodos empregados neste estudo, incluindo reagentes, técnicas, ensaios, *softwares* e equipamentos utilizados.

No capítulo 4, são apresentados os resultados dos experimentos, comparando-os com trabalhos existentes na literatura.

O capítulo 5 contém as conclusões do trabalho, juntamente com sugestões para futuras investigações.

Por fim, no capítulo 6, são listadas todas as referências bibliográficas utilizadas na elaboração desta dissertação.

Ao final dos capítulos desta dissertação, é possível encontrar um anexo contendo informações sobre o filamento *Protopasta*®, empregado neste trabalho, além de apêndices com materiais de apoio, como fundamentos e conceitos relacionados às técnicas eletroanalíticas utilizadas, tópicos sobre reversibilidade química e eletroquímica, bem como dados adicionais coletados que não foram inclusos no corpo do texto. As referências utilizadas nos apêndices também foram inseridas no capítulo 6.

CAPÍTULO 2

Fundamentação Teórica e Revisão de Literatura

2.1 Sensores químicos, físicos e biossensores

Um sensor químico é um dispositivo capaz de fornecer informações analíticas qualitativas ou quantitativas sobre a presença de substâncias em uma amostra, respondendo seletivamente ao analito por meio de reações químicas (BĂNICĂ, 2012; EGGINS, 2002). Ele desempenha duas funções principais: reconhecimento, no qual o analito interage com o elemento sensor, e transdução, que converte as alterações resultantes dessa interação em uma grandeza física mensurável (BĂNICĂ, 2012). Por outro lado, sensores físicos são dispositivos projetados para medir grandezas físicas, como temperatura, força, pressão, velocidade, eletricidade e comprimento, por exemplo (BĂNICĂ, 2012; EGGINS, 2002). Já biossensores são sensores químicos cujo reconhecimento baseia-se em mecanismos biológicos ou bioquímicos, podendo incluir, até mesmo, materiais sintéticos biomiméticos, desenvolvidos para imitar os materiais biológicos em suas funções (BĂNICĂ, 2012).

2.1.1 Classificação dos sensores químicos e biossensores

Os sensores químicos e biossensores podem ser categorizados com base no tipo de transdução de sinal físico-químico empregado, no mecanismo de interação entre a molécula imobilizada e o analito e no componente biológico utilizado como receptor (AMARAL *et al.*, 2023; CURULLI, 2021; MONOŠÍK *et al.*, 2012).

O transdutor é uma ferramenta analítica que gera um sinal de saída com uma relação definida em relação à entrada, desempenhando um papel fundamental no processo de detecção dos sensores químicos e biossensores (AMARAL *et al.*, 2023; MONOŠÍK *et al.*, 2012). De acordo com o método de transdução, os sensores químicos e biossensores podem ser classificados em eletroquímicos (movimento e difusão de íons, gerando diferenças de potencial e correntes elétricas, que são medidas), sendo subdivididos em amperométricos, voltamétricos, potenciométricos, condutimétricos e impedimétricos; ópticos (alterações na luz observada e/ou emitida por um sistema reacional); piezoelétricos (alteração de massa, ondas e acústica); calorimétrico ou termométrico

(exploração das características das reações exotérmicas ou endotérmicas, utilizando o transdutor para converter energia térmica em sinal elétrico); e elétrico (condutividade da superfície ou do eletrólito) (AMARAL *et al.*, 2023; CAMMANN *et al.*, 1991; VASAN *et al.*, 2013).

Nos biossensores, os biorreceptores geralmente são espécies ancoradas na superfície dos transdutores que se ligam especificamente a analitos-alvo. Incluem enzimas, antígenos e anticorpos, micro-organismos, células pequenas e ácidos nucleicos, por exemplo (CURULLI, 2021). Os biossensores podem ainda ser classificados de acordo com o mecanismo de interação entre a molécula imobilizada e o analito em biocatalíticos ou de bioafinidade (AMARAL *et al.*, 2023; VASAN *et al.*, 2013). Os dispositivos biocatalíticos incorporam enzimas, células inteiras (bactérias, fungos, células, leveduras) ou fatias de tecido vegetais ou animais que reconhecem o analito-alvo e produzem espécies eletroativas. Por outro lado, os biossensores de afinidade dependem de uma interação seletiva entre o analito e um componente biológico, como anticorpos, ácidos nucleicos ou quimiorreceptores (AMARAL *et al.*, 2023; CURULLI, 2021).

Em relação aos biorreceptores imobilizados na superfície do transdutor, os biossensores podem também ser classificados em:

- Biossensores enzimáticos: utilizam enzimas que são específicas para moléculas-alvo e catalisam a formação do produto, que é então medido por meio de um dos transdutores mencionados (MONOŠÍK *et al.*, 2012).
- Imunossensores: são biossensores baseados em anticorpos e antígenos. A interação entre o antígeno (A_g) e o anticorpo específico (A_c) ocorre de forma semelhante a uma chave que se encaixa em uma fechadura, onde o antígeno se liga ao anticorpo apenas se possuir a conformação correta (AMARAL *et al.*, 2023).
- Genossensores: são baseados em DNA, RNA e ácidos nucleicos peptídicos e reconhecidos por sua alta sensibilidade e seletividade, atribuídas à forte afinidade dos pares de bases complementares entre seções alinhadas de cadeias nucleotídicas (KAUR *et al.*, 2018; MONOŠÍK *et al.*, 2012). A detecção eletroquímica da formação do duplex entre as fitas utiliza sinais eletroquímicos provenientes da atividade dos ácidos nucleicos, marcadores eletroativos como nanopartículas, ou mudanças em propriedades do DNA relacionadas à estrutura que ocorrem durante a hibridação (KAUR *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2024).

- Biossensores celulares: utilizam células inteiras ou partes celulares específicas como biorreceptores, que se ligam a determinadas espécies. São usados em diversas aplicações, como detecção de patógenos e toxinas, mas apresentam desafios na seleção, cultivo e manutenção das células vivas (MONOŠÍK *et al.*, 2012).
- Biossensores baseados em bacteriófagos: bacteriófagos, ou fagos, são vírus parasitas que infectam bactérias, utilizando a maquinaria celular do hospedeiro para replicação (XU *et al.*, 2019). Biossensores desse tipo geralmente utilizam bacteriófagos como elementos de reconhecimento biológico, aproveitando sua alta especificidade e afinidade por suas bactérias hospedeiras para gerar sinais mensuráveis (SACHDEVA *et al.*, 2024; XU *et al.*, 2019).
- Biossensores biomiméticos: utilizam receptores criados e projetados para imitar um biorreceptor, como anticorpo, enzima, célula ou ácidos nucleicos (VELUSAMY *et al.*, 2010). Receptores biomiméticos incluem aptâmeros (KAUR *et al.*, 2018; MONOŠÍK *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2024), polímeros impressos molecularmente (*molecularly imprinted polymers* – MIP) (MORALES e HALPERN, 2018), nanozimas (*nanozymes*), sinzimas (*synzymes*), complexos metálicos e nanocanais (ROMANHOLO *et al.*, 2021).

2.2 Sensores e biossensores eletroquímicos

Sensores e biossensores eletroquímicos destacam-se por sua alta sensibilidade e seletividade, além de apresentarem simplicidade operacional e custo reduzido, sendo amplamente estudados e aplicados (BATRA *et al.*, 2020; SRIDHARAN *et al.*, 2023). Esses dispositivos consistem, em geral, de três componentes principais, representados na Figura 3: um elemento de reconhecimento (ou biorreconhecimento, no caso dos biossensores), responsável pela interação específica do analito (ou biomarcador); um transdutor, que converte a interação entre o analito e o elemento de reconhecimento em um sinal mensurável; e um sistema eletrônico, que realiza o processamento dos dados gerados (KHANMOHAMMADI *et al.*, 2020).

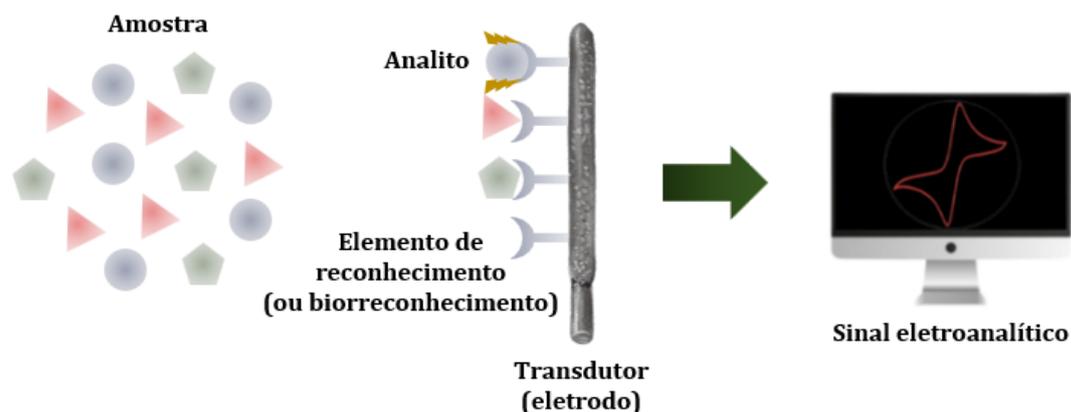


Figura 3. Ilustração esquemática dos componentes de sensores e biossensores eletroquímicos.

Fonte: Autoria própria.

Na interface do transdutor (eletrodo), ocorre uma interação eletroquímica entre o elemento de reconhecimento e o analito, que gera sinais cuja intensidade está diretamente relacionada à presença, concentração ou atividade do analito na amostra, permitindo, assim, a sua detecção e/ou quantificação (RYU *et al.*, 2020). Esses sinais podem ser medidos em termos de corrente, potencial, capacitância ou impedância (AMARAL *et al.*, 2023; BATRA *et al.*, 2020), mostrados na Tabela 1, empregando técnicas eletroanalíticas como voltametria de varredura linear (*linear sweep voltammetry* – LSV), voltametria cíclica (*cyclic voltammetry* – CV), voltametria de pulso diferencial (*differential pulse voltammetry* – DPV), voltametria de onda quadrada (*square wave voltammetry* – SWV), espectroscopia de impedância eletroquímica (*electrochemical impedance spectroscopy* – EIS) e cronoamperometria (*chronoamperometry* – CA) (MA *et al.*, 2023).

Tabela 1. Resumo das diferentes técnicas usadas em sensores e biossensores eletroquímicos.

Técnicas	Funcionamento	Referências
Potenciométricas	Medem a diferença de potencial gerada através de uma membrana permeável separando duas soluções, com corrente quase nula. Os eletrodos de pH e os eletrodos seletivos de íons e gás são os dispositivos mais comuns.	(AMARAL <i>et al.</i> , 2023; MONOŠÍK <i>et al.</i> , 2012)
Amperométricas	Medem a corrente elétrica resultante de processos redox de espécies eletroativas, durante a transferência de elétrons entre o analito e o transdutor. Esse processo geralmente é realizado mantendo um potencial constante em um eletrodo de trabalho em relação a um eletrodo de referência. A corrente gerada está diretamente relacionada à concentração da espécie eletroativa ou à sua taxa de produção/consumo.	(AMARAL <i>et al.</i> , 2023; JESSY MERCY <i>et al.</i> , 2024)
Voltamétricas	Medem a corrente gerada em função da aplicação de diferentes potenciais ao eletrodo, que pode ser usada para detectar/quantificar o analito-alvo. Destacam-se pela alta sensibilidade, resposta rápida e capacidade de detectar diversos analitos ao mesmo tempo.	(JESSY MERCY <i>et al.</i> , 2024; KIMMEL <i>et al.</i> , 2012)
Conduzimétricas	Medem a condutância elétrica, detectando alterações na concentração iônica de um analito, o que leva a mudanças na condutividade da solução ou no fluxo de corrente. Não requerem eletrodo de referência, operam com voltagem alternada de baixa amplitude e são insensíveis à luz, mas apresentam limitações como sensibilidade à temperatura, instabilidade e restrições em amostras não diluídas.	(AMARAL <i>et al.</i> , 2023; GRIESHABER <i>et al.</i> , 2008)
Impedimétricas	Medem a impedância, $Z(\omega)$, do sistema em estado de equilíbrio. A técnica envolve a aplicação de uma diferença de potencial alternada, $E(t)$, no eletrodo de trabalho, e a resposta é uma corrente elétrica alternada, $I(t)$. A relação entre $E(t)$ e $I(t)$ é o que define a impedância $Z(\omega)$ do sistema. As medições são realizadas com o uso de um potenciostato ou galvanostato, em uma célula eletroquímica de três eletrodos.	(AMARAL <i>et al.</i> , 2023; JESSY MERCY <i>et al.</i> , 2024)

Em biossensores, o elemento de biorreconhecimento é fixado ao transdutor por diversas técnicas de imobilização, que diferem em complexidade, estabilidade e custo na

construção de biossensores (MAGHRABY et al., 2023). A Figura 4 apresenta essas técnicas.

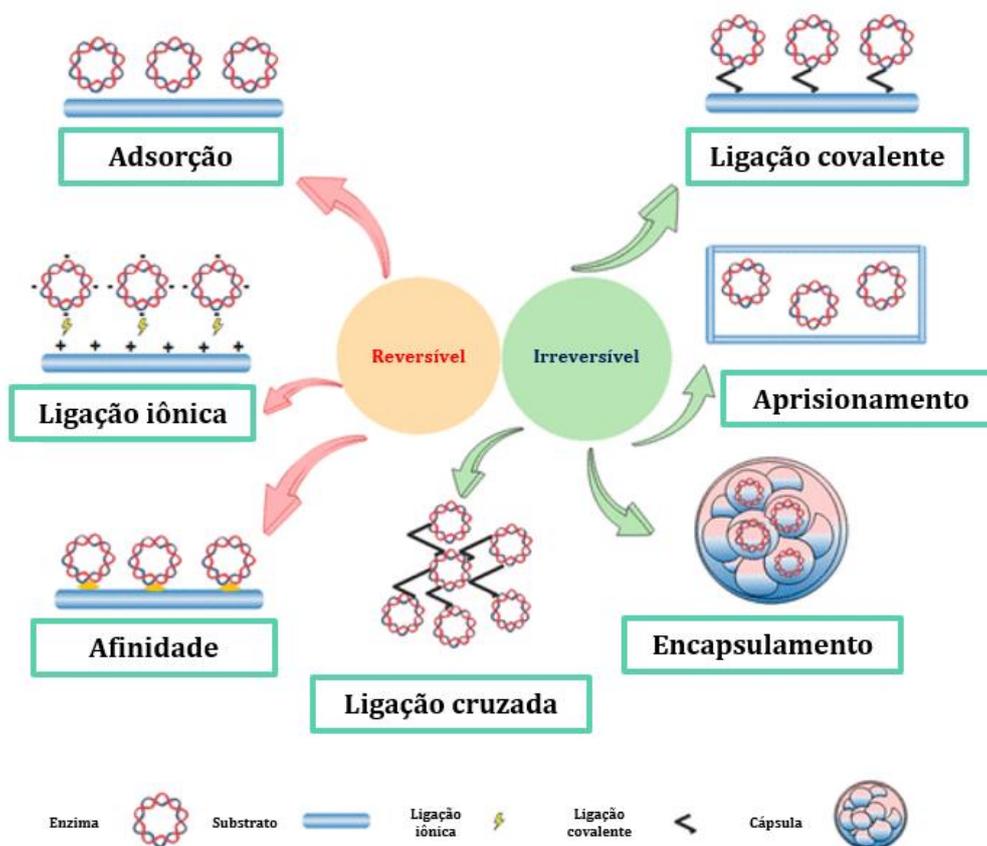


Figura 4. Principais métodos de imobilização de biorreceptores.

Fonte: Adaptado de Maghraby *et al.* (2023).

A adsorção física é um método simples e de baixo custo que utiliza forças de Van der Waals, interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio para fixar biomoléculas à superfície do sensor. No entanto, essas interações são fracas e podem ser afetadas por variações de pH e temperatura, resultando na perda da atividade biológica, e por processos de lixiviação (AMARAL *et al.*, 2023; MONOŠÍK *et al.*, 2012; VERMA e BHARDWAJ, 2015).

A ligação covalente envolve a modificação química da superfície do sensor para permitir a fixação de biomoléculas por meio de reagentes como glutaraldeído, carbodiimida, ésteres de succinimida, maleimidas e periodato, garantindo estabilidade e reprodutibilidade, mas com alto custo e impossibilidade de regeneração da matriz (AMARAL *et al.*, 2023; MONOŠÍK *et al.*, 2012; SASSOLAS *et al.*, 2012; VERMA e BHARDWAJ, 2015).

No aprisionamento em matriz, biomoléculas são oclusas em polímeros como poliacrilamida, amido, alginato, pectato, álcool polivinílico, cloreto de polivinila, policarbonato, celulose acetato e sílica gel, permitindo a passagem de substratos e produtos sem necessidade de modificação química, embora possam ocorrer perdas de atividade biológica devido à fragilidade das interações (AMARAL *et al.*, 2023; MONOŠÍK *et al.*, 2012; VERMA e BHARDWAJ, 2015).

As ligações cruzadas utilizam agentes bifuncionais, como glutaraldeído, glioxal ou hexametilenodiamina, para conectar enzimas entre si, formando agregados enzimáticos estáveis, com ou sem a presença de uma proteína inerte, como a albumina de soro bovino (*bovine serum albumin* – BSA). É um método com menor chance de redução da atividade biológica do componente biológico, porém com custo elevado e risco de toxicidade (AMARAL *et al.*, 2023; MONOŠÍK *et al.*, 2012; SASSOLAS *et al.*, 2012; VERMA e BHARDWAJ, 2015).

O encapsulamento emprega redes poliméricas porosas, como bicamadas lipídicas ou redes poliméricas de óxido de silício (SiO₂), conferindo boa estabilidade, mas com desafios na obtenção de poros reprodutíveis (AMARAL *et al.*, 2023; MONOŠÍK *et al.*, 2012).

A afinidade baseia-se em interações bioespecíficas, como biotina-avidina, entre suportes ativados e grupos da sequência proteica. Promove uma imobilização orientada, mas requer a presença de grupos específicos na enzima utilizada (SASSOLAS *et al.*, 2012).

Por fim, a ligação iônica utiliza interações eletrostáticas entre biomoléculas e suportes carregados, permitindo uma imobilização reversível por ajuste de força iônica ou temperatura, embora possa distorcer a estrutura enzimática e comprometer a eficiência catalítica (MAGHRABY *et al.*, 2023).

A utilização de nanomateriais, geralmente definidos como materiais com pelo menos uma de suas dimensões entre 1 e 100 nm, tem demonstrado grande potencial em sensores e biossensores eletroquímicos, promovendo avanços significativos em sensibilidade e desempenho. Isso se deve às propriedades aprimoradas desses materiais, incluindo características elétricas, eletroquímicas, ópticas e magnéticas (KATEY *et al.*, 2023, PUTZBACH e RONKAINEN, 2013). Esses materiais podem ser empregados tanto como elementos estruturais dos sensores quanto componentes funcionais, desempenhando papéis cruciais nos processos de reconhecimento e transdução do sinal (BĂNICĂ, 2012).

Entre os nanomateriais mais utilizados em sensores e biossensores eletroquímicos, estão nanopartículas metálicas, de sílica e magnéticas, nanotubos de carbono, nanofios, nanobastões, grafeno, pontos quânticos (*quantum dots*) e dendrímeros (BĂNICĂ, 2012; KATEY *et al.*, 2023; PUTZBACH e RONKAINEN, 2013). Esses materiais proporcionam diversas vantagens, como amplificação da carga elétrica local e intensificação dos sinais eletroquímicos, maior incorporação de componentes ativos e melhoria na difusão do analito até os sítios de interação. Esses benefícios contribuem diretamente para o aumento da sensibilidade e eficiência dos dispositivos (BĂNICĂ, 2012).

2.3 Célula eletroquímica

Em sistemas eletroquímicos, são estudados processos que afetam o transporte de carga na interface entre diferentes fases químicas, como a interface entre um condutor eletrônico (eletrodo) e um condutor iônico (eletrólito). Nesse contexto, eventos que ocorrem na interface eletrodo/eletrólito quando um potencial elétrico é aplicado e uma corrente elétrica é gerada são estudados. No eletrodo, a condução de carga ocorre pelo movimento de elétrons ou lacunas. Por outro lado, no eletrólito, o transporte de carga é realizado por íons (BARD e FAULKNER, 2001; DAMIATI e SCHUSTER, 2020).

Normalmente, os sistemas eletroquímicos utilizam dois ou três tipos de eletrodos. Em uma célula eletroquímica, a medição da diferença de potencial elétrico ocorre entre o eletrodo de trabalho, onde se dá a reação de interesse (*working electrode* – WE), e o eletrodo de referência (*reference electrode* – RE), que possui composição constante e fornece um potencial estável. Na configuração de dois eletrodos (Figura 5A), o eletrodo de trabalho é utilizado em conjunto com o eletrodo de referência, que deve manter seu potencial constante (E_r) durante o experimento. Quando nenhuma voltagem é aplicada, ambos os eletrodos atingem seus respectivos potenciais de equilíbrio. Porém, ao aplicar uma voltagem (V_a) com uma fonte externa, o potencial do eletrodo de trabalho (E_w) muda em relação ao valor de equilíbrio, enquanto o potencial do eletrodo de referência permanece inalterado. Durante o fluxo de corrente (I) pelo eletrólito, ocorre uma diferença de potencial devido à resistência ôhmica da solução ($R_s I$) onde (R_s) é a resistência e (I) a corrente, que obedece à lei de Ohm abaixo (BĂNICĂ, 2012; BARD e FAULKNER, 2001):

$$E = RI \text{ (Equação 1)}$$

A relação entre a voltagem aplicada e o potencial do eletrodo de trabalho é dada por:

$$V_a = E_w - E_r + R_s I \text{ (Equação 2)}$$

$$E_w = V_a + E_r - R_s I \text{ (Equação 3)}$$

Portanto, é possível ajustar o potencial do eletrodo de trabalho variando a voltagem aplicada, desde que a queda ôhmica ($R_s I$) seja insignificante. Essa condição é geralmente atendida quando as correntes são muito baixas e a resistência do eletrólito é pequena. Entretanto, quando se analisa uma curva corrente-potencial, a queda ôhmica se torna um problema, pois varia ao longo do experimento, impactando o potencial do eletrodo de trabalho de maneira imprevisível. Dessa forma, um contraeletrodo (*counterelectrode* – CE), também chamado de eletrodo auxiliar, é adicionado para completar o circuito e permitir o fluxo de carga, formando a célula eletroquímica de três eletrodos (Figura 5B). O potencial do eletrodo de trabalho é controlado por um potenciostato, um dispositivo permite que a corrente flua entre o eletrodo de trabalho e o auxiliar, enquanto o eletrodo de referência não é afetado pela passagem de corrente, preservando sua estabilidade. Assim, o potencial do eletrodo de trabalho pode ser ajustado com menor influência da queda ôhmica e quaisquer mudanças observadas na célula eletroquímica serão atribuídas a ele (BĂNICĂ, 2012; BARD e FAULKNER, 2001).

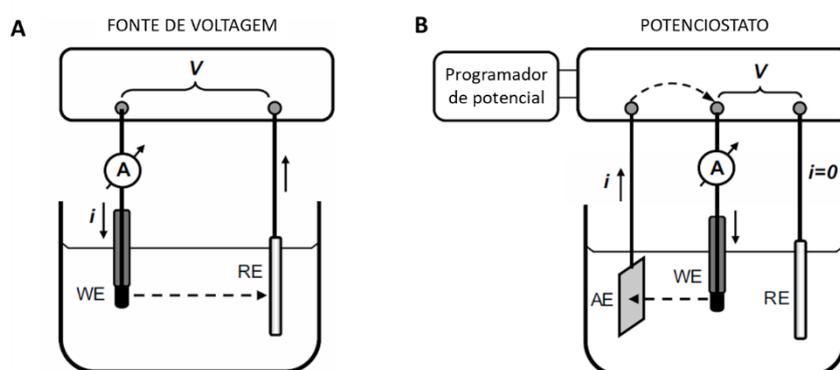


Figura 5. Célula eletroquímica com dois eletrodos (A) e três eletrodos (B).

RE: eletrodo de referência, WE: eletrodo de tratado e CE: contraeletrodo.

Fonte: Adaptado de Bănică (2012).

Para garantir o funcionamento correto da célula de três eletrodos, o eletrodo auxiliar deve ser projetado para evitar que reações que ocorram nele interfiram na medição. Isso é conseguido utilizando um eletrodo auxiliar com área muito maior do que

a do eletrodo de trabalho, reduzindo a densidade de corrente no auxiliar e minimizando as alterações em seu estado de equilíbrio. As reações mais comuns no eletrodo auxiliar envolvem a evolução de oxigênio ou hidrogênio, dependendo da polaridade aplicada (BĂNICĂ, 2012).

Além disso, o sistema solvente/eletrólito deve apresentar alta condutividade elétrica, ou seja, baixa resistência. Assim, adiciona-se à solução um eletrólito de suporte, composto por íons que não participam da reação eletroquímica em estudo. Sais simples, como KNO_3 , NaClO_4 ou KCl são frequentemente usados como eletrólitos de suporte em concentrações muito maiores que a do analito (pelo menos 100 vezes mais) (BĂNICĂ, 2012). Esse excesso de eletrólito reduz a migração dos íons do analito, causado pela presença de um campo elétrico, que pode interferir nos resultados. Dessa forma, o eletrólito de suporte auxilia na garantia de que o transporte de reagentes e produtos ocorra predominantemente por difusão e, em algumas condições, por convecção, e aumenta a condutividade da solução, minimizando a queda ôhmica. Quando o analito possui propriedades ácidas ou básicas, um sistema tampão pode ser usado para controlar seu estado de protonação, atuando também como eletrólito suporte (BARD e FAULKNER, 2001; MORRIS *et al.*, 2011).

O eletrodo padrão de hidrogênio, também conhecido como eletrodo normal de hidrogênio (*standard hydrogen electrode* – SHE – ou *normal hydrogen electrode* – NHE) é uma referência internacionalmente aceita em eletroquímica, principalmente devido ao seu valor de potencial (0,00 V). No entanto, sua aplicação prática é bastante difícil e limitada, sendo frequentemente substituído por outros eletrodos de referência, como o eletrodo de calomelano saturado (*saturated calomel electrode* – SCE) ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{KCl}$ saturado) com potencial de 0,242 V em relação ao NHE, ou o eletrodo de prata-cloreto de prata ($\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$ saturado), com potencial de 0,197 V em relação ao NHE (AMARAL *et al.*, 2023; BARD e FAULKNER, 2001). O eletrodo de trabalho e o contraeletrodo devem ser condutivos e quimicamente estáveis. Assim, dependendo do analito e da natureza da reação, os materiais de eletrodo mais comumente utilizados são ouro, prata, platina, silício, carbono e grafeno. Uma alternativa às células eletroquímicas tradicionais é a impressão dos três eletrodos em um substrato isolante (eletrodo *screen-printed* – SPE) (Figura 6).

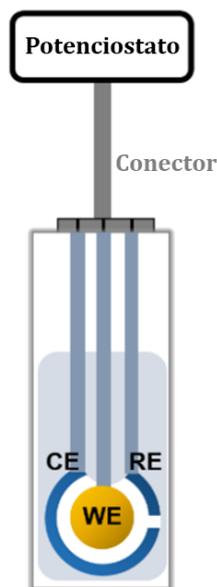


Figura 6. Eletrodo *screen-printed*.

RE: eletrodo de referência, WE: eletrodo de trabalho e CE: contraeletrodo.

Fonte: Damiani e Schuster (2020).

2.4 Processos de obtenção de eletrodos impressos em 3D

A manufatura aditiva de objetos 3D inicia-se com a criação de um modelo tridimensional por *software* de desenho assistido por computador (*Computer-Aided Design* – CAD) como *AutoCAD*®, *Fusion 360*®, *SolidWorks*®, *SketchUp*®, *TinkerCAD*® e *FreeCAD*®. O modelo é então salvo no formato STL, que armazena coordenadas das superfícies do modelo e pode ser interpretado por qualquer *software* de impressora 3D. Esse arquivo é, em seguida, convertido em formato G-code por um *software* de fatiamento (*Cura*®, *PrusaSlicer*®, *Simplify3D*®, *Slic3r*®, *MatterControl*®, *Creality Slicer*®, entre outros), contendo informações sobre as camadas horizontais em 2D de toda a estrutura para que a impressora deposite material camada por camada e forme o objeto 3D. O G-code inclui parâmetros operacionais como temperaturas de extrusão e da base, velocidade de impressão, multiplicadores de taxa de alimentação, camadas externas e outras configurações de impressão (CHAUDHARY *et al.*, 2023; PEREIRA *et al.*, 2022).

No campo da eletroquímica, a impressão 3D (Figura 7) tem se destacado como uma tecnologia promissora, oferecendo soluções econômicas e versáteis para a fabricação de estruturas complexas (PEREIRA *et al.*, 2022). Com o aumento do interesse na produção de eletrodos por meio da impressão 3D para sensores e biossensores eletroquímicos, torna-se fundamental avaliar as técnicas de impressão utilizadas,

selecionar filamentos adequados e implementar estratégias para otimizar suas propriedades eletroquímicas.

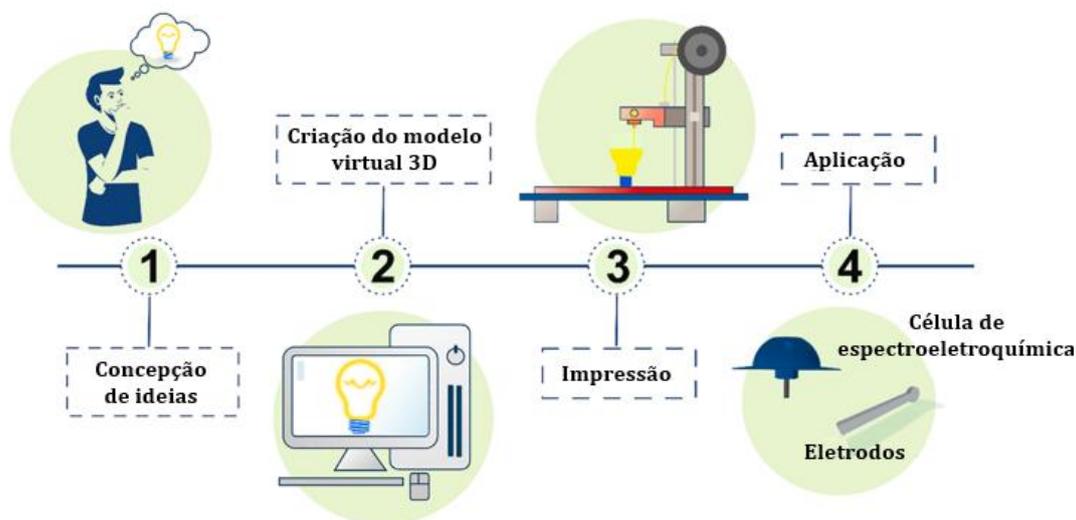


Figura 7. Passos no processo de impressão 3D em eletroquímica: 1) O primeiro passo é marcado pela concepção das ideias; 2) O próximo passo está relacionado à criação do modelo virtual 3D da peça; 3)

Este passo é caracterizado pela impressão 3D da peça projetada (neste exemplo, pela técnica de modelagem por deposição fundida); 4) O último passo diz respeito às inúmeras possibilidades que existem na utilização da impressão 3D em eletroquímica.

Fonte: Adaptado de Pereira *et al.* (2022).

É interessante destacar que os parâmetros de impressão, por si sós, exercem influência no desempenho eletroquímico de eletrodos impressos em 3D (ABDALLA *et al.*, 2020; ROCHA *et al.*, 2022; RODRIGUES *et al.*, 2025). Neste trabalho de dissertação, a escolha dos parâmetros dos eletrodos produzidos foi realizada por meio de uma triagem fortemente influenciada pelos trabalhos de Rocha *et al.* (2022) e Abdalla *et al.* (2020). Os autores avaliaram a influência de diferentes parâmetros de impressão no desempenho de eletrodos impressos em 3D não tratados, fabricados com o filamento comercial *Protopasta*®, também utilizado no presente estudo. Para a densidade de enchimento (quantidade de material que preenche o interior de uma peça impressa) de 100% e o multiplicador de extrusão (parâmetro que ajusta a taxa em que o filamento é alimentado) de 1,1, os autores verificaram que menores espessuras de camada, menores velocidades de impressão e dois percursos de perímetro externo (linhas individuais ao redor de uma impressão) fornecem os eletrodos com melhor desempenho eletroquímico.

2.4.1 Técnicas de impressão 3D

A seleção da técnica de fabricação envolve a consideração de diversos aspectos, como os materiais utilizados, a velocidade do processo, a resolução alcançada, os custos envolvidos e o desempenho esperado dos produtos finais (WANG *et al.*, 2017). Dependendo do mecanismo de ligação dos materiais durante a impressão e dos tipos de materiais compatíveis, as tecnologias de impressão 3D podem ser categorizadas em diferentes formas:

- Jato de Aglutinante (*Binder Jetting* – BJ): essa técnica consiste na aplicação controlada de um ligante/adesivo líquido sobre camadas de pó, geralmente compostas de materiais cerâmicos ou metálicos, promovendo sua união camada por camada (LEE *et al.*, 2017, SIDDIQUI *et al.*, 2023).
- Deposição de Energia Direcionada (*Direct Energy Deposition* – DED): esse grupo inclui métodos como Conformação Próxima ao Formato Final (*Laser Engineered Net Shaping* – LENS) e Deposição Direta de Metal (*Direct Metal Deposition* – DMD) (MAJUMDAR *et al.*, 2021). Trata-se de uma abordagem de manufatura aditiva que utiliza uma fonte de calor concentrada, geralmente um *laser*, para fundir e consolidar materiais metálicos ou compósitos, seja na forma de pó ou arame, à medida que são depositados (PUTRI *et al.*, 2024).
- Extrusão de Material (*Material Extrusion* – ME): envolve a extrusão de material por um bocal aquecido, depositando-o camada por camada em uma plataforma ou superfície (LEE *et al.*, 2017). Entre as técnicas desse tipo, destacam-se a Fabricação de Filamento Fundido (*Fused Filament Fabrication* – FFF), também conhecida como Modelagem por Deposição Fundida (*Fused Deposition Modeling* – FDM), e a Escrita com Tinta Direta (*Robocasting* ou *Direct Ink Writing* – DIW) (SIDDIQUI *et al.*, 2023). No caso da FDM, são utilizados filamentos de polímeros termoplásticos e compósitos enriquecidos com materiais condutores, como nanopartículas metálicas e materiais carbonáceos, incorporados à matriz termoplástica (MUÑOZ e PUMERA, 2020a; OSMAN e LU, 2023). Já a técnica DIW emprega uma ampla variedade de materiais, incluindo suspensões coloidais, géis, polímeros, cerâmicas, ligas metálicas e ceras, que podem conter nanopartículas, surfactantes, precursores orgânicos, entre outros componentes (PUTRI *et al.*, 2024, WEI *et al.*, 2017).
- Jateamento de Material (*Material Jetting* – MJ): técnicas como Modelagem por Jato de Polímero (*Polyjet Modeling* – PJM) e Modelagem por Múltiplos Jatos (*Multi-Jet*

Modeling – MJM) fazem parte dessa abordagem de impressão 3D (SIDDIQUI *et al.*, 2023). Nesse método, gotículas de materiais, como fotopolímeros e ceras, são depositadas e solidificadas por meio de exposição à luz ultravioleta (UV), utilizando o princípio da fotopolimerização (ELHADAD *et al.*, 2023).

- Fusão de Leito em Pó (*Power Bed Fusion* – PBF): esse método de manufatura aditiva emprega um feixe de *laser* para fundir partículas de pó e formar objetos tridimensionais (MANZANARES PALENZUELA e PUMERA, 2018). Entre as técnicas disponíveis, destacam-se a Sinterização Seletiva a Laser (*Selective Laser Sintering* – SLS), que utiliza materiais como polímeros, cerâmicas, metais e compósitos (CHAUDHARY *et al.*, 2023; PUTRI *et al.*, 2024); a Fusão Seletiva a Laser (*Selective Laser Melting* – SLM), amplamente aplicada com metais, cerâmicas e compósitos como matérias-primas principais (CHEN *et al.*, 2023; DOS SANTOS *et al.*, 2019); e a Fusão por Feixe de Elétrons (*Electron Beam Melting* – EBM), que emprega metais na criação das estruturas impressas (AWAD *et al.*, 2021; DONG *et al.*, 2024).
- Laminação de Folha (*Sheet Lamination* – SL): consiste na sobreposição de folhas de materiais, como metal, papel, cerâmicas, polímeros ou compósitos, que são unidas pelo uso de feixes de *laser*, com aplicação de adesivos para ligar duas camadas sucessivas, criando o objeto tridimensional final (ELHADAD *et al.*, 2023; PUTRI *et al.*, 2024). Técnicas como Manufatura Laminar de Objetos (*Laminated Object Manufacturing* – LOM) e Deposição Seletiva de Laminados (*Selective Deposition Lamination* – SDL) exemplificam essa abordagem (LIM *et al.*, 2023).
- Fotopolimerização em Cuba (*VAT Photopolymerization* – VPP): utiliza um fotopolímero líquido que é curado camada por camada através de polimerização induzida por luz UV em uma cuba (PUTRI *et al.*, 2024). Entre os processos associados a essa técnica estão a Estereolitografia (*Stereolithography* – SLA), que utiliza resinas fotocuráveis como epóxi e acrilato, além de fotopolímeros contendo cerâmicas e nanocompósitos (LUBE *et al.*, 2023; MANAPAT *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2017); o Processamento Digital de Luz (*Digital Light Processing* – DLP), que emprega resinas sensíveis à luz como acrilatos, fotopolímeros com cerâmicas, metais e outros compósitos (AL RASHID *et al.*, 2021; DOS SANTOS *et al.*, 2022); e a Polimerização Contínua Líquida (*Continuous Liquid Polymerization* – CLIP), que também utiliza resinas fotocuráveis para a formação de estruturas (AL RASHID *et al.*, 2021; PUTRI *et al.*, 2024).

A Tabela 2 apresenta algumas vantagens e desvantagens das técnicas de impressão em 3D classificadas acima.

Tabela 2. Vantagens e desvantagens das técnicas de impressão em 3D.

Classificação	Vantagens	Desvantagens	Referências
Jato de Aglutinante	Processamento em temperatura ambiente, sem a necessidade de estruturas de suporte e com alta taxa de produção. É ideal para grandes volumes de peças e permite a criação de geometrias complexas.	Produz peças com propriedades mecânicas limitadas, exige o uso de tinta de baixa viscosidade e demanda pós-processamento significativo para melhorar a qualidade das peças. O processo de cura em etapas pode resultar em alta rugosidade superficial e baixa resolução no produto final.	(PUTRI <i>et al.</i> , 2024; TULI <i>et al.</i> , 2024)
Deposição de Energia Direcionada	É um processo rápido e eficiente, capaz de construir peças com alta densidade e resistência. Permite a produção de geometrias complexas e detalhadas, facilita o monitoramento em tempo real durante a fabricação, permitindo ajustes contínuos que melhoram o controle de qualidade, e possibilita a fabricação de peças de grandes dimensões.	É limitado a materiais metálicos e híbridos metálicos, pode comprometer a qualidade superficial das peças devido a uma boa relação entre qualidade da superfície e velocidade de impressão, pode apresentar baixa resolução, alta rugosidade superficial, deformações e retrações causadas por variações de temperatura durante a fabricação. A fabricação de grandes objetos e a integração de múltiplos materiais também podem ser desafiadoras.	(PUTRI <i>et al.</i> , 2024; TULI <i>et al.</i> , 2024)
Extrusão de Material	Permite a fabricação de peças com múltiplos materiais e diferentes cores, é econômico, escalável e capaz de produzir peças totalmente funcionais, o que aumenta sua versatilidade em diversas aplicações	A adesão entre as camadas precisa ser forte para garantir a integridade da peça, a qualidade superficial pode ser ruim, e a precisão e a resistência podem ser limitadas. Além disso, dependendo do objeto gerado, requer o uso de estruturas de suporte para evitar tombamentos ou deformações durante a impressão, o que pode ser trabalhoso e difícil de remover.	(HUSSAN K S <i>et al.</i> , 2024; TULI <i>et al.</i> , 2024)
Jateamento de Material	Oferece alta precisão na deposição de gotas, gera pouco desperdício, permite a fabricação de peças com múltiplos materiais e cores e apresenta boa qualidade superficial das peças.	Apresenta limitação no volume de construção, possui custo elevado e não é adequado para a fabricação de objetos grandes, sendo necessário tratamento pós-impressão	(ELHADAD <i>et al.</i> , 2023; PUTRI <i>et al.</i> , 2024)
Fusão de Leito em Pó	É precisa, reduz desperdícios ao usar apenas o material necessário e permite flexibilidade no <i>design</i> , sendo ideal para geometrias complexas, produções únicas ou tiragens limitadas.	Alto custo dos equipamentos, tamanho limitado, necessidade de pós-processamento e riscos à segurança devido ao uso de <i>lasers</i> ou feixes de elétrons.	(AWAD <i>et al.</i> , 2021; TULI <i>et al.</i> , 2024)
Laminação de Folha	Versatilidade, baixo custo, rapidez, economia na fabricação de grandes objetos e menor desperdício, uma vez que a laminação de folhas utiliza apenas o necessário para a criação da peça.	Gera objetos com resistência e tamanho limitados, exige etapas de pós-processamento, como lixamento ou polimento, e pode apresentar limitações na espessura da camada, afetando a resolução final e o acabamento superficial da peça. Além disso, pode dificultar a separação das peças.	(ELHADAD <i>et al.</i> , 2023; PUTRI <i>et al.</i> , 2024)
Fotopolimerização em Cuba	Alta resolução e produção mais rápida, sendo ideal para projetos que exigem prazos curtos.	Possui limitações de tamanho, requer suporte de impressão que pode ser difícil de remover e deixar marcas, utiliza resinas perigosas e produz peças com durabilidade inferior em relação a outras tecnologias de impressão 3D.	(AL RASHID <i>et al.</i> , 2021; TULI <i>et al.</i> , 2024)

2.4.2 Filamentos utilizados na impressão 3D de eletrodos por FDM

A técnica de FDM, mostrada na Figura 8, baseia-se no processo de extrusão de material e é uma das mais amplamente utilizadas na produção de eletrodos impressos em 3D para sensores e biossensores eletroquímicos (MUBARAK *et al.*, 2023; OMAR *et al.*, 2021; SHARMA *et al.*, 2023). Embora possa enfrentar desafios como resolução limitada e possível necessidade de pós-processamento, a FDM destaca-se por suas diversas vantagens, incluindo baixo custo, operação simples, flexibilidade no *design* e baixa geração de resíduos, tornando-a uma alternativa bastante atrativa para essa finalidade (OSMAN e LU, 2023; PUTRI *et al.*, 2024; SHARMA *et al.*, 2023).

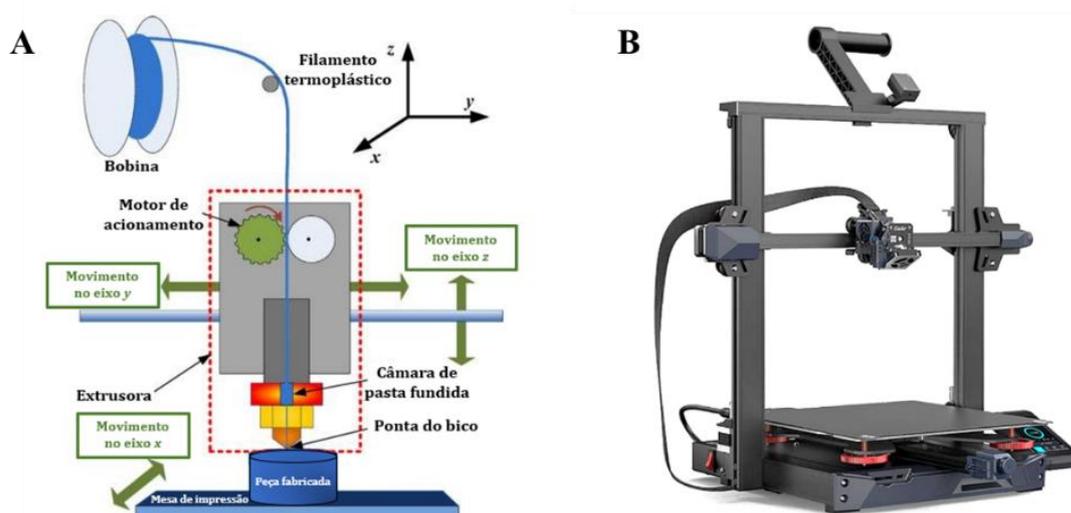


Figura 8. Esquema do processo de modelagem por deposição fundida (A) e impressora 3D Ender-3S1 Plus, utilizada neste trabalho de dissertação (B).

Fonte: Adaptado de Jin *et al.* (2015) (A) e Mercado Livre (2024) (B)

Filamentos de ácido polilático (*polylactic acid* – PLA) e acrilonitrila butadieno estireno (*acrylonitrile butadiene styrene* – ABS) são os termoplásticos mais amplamente utilizados (DUARTE *et al.*, 2024; ZHAO *et al.*, 2024). Entretanto, outros tipos de filamentos também são explorados, como policarbonato (*polycarbonate* – PC), poliestireno (*polystyrene* – PS), polietileno tereftalato (*polyethylene terephthalate* – PET), álcool polivinílico (*polyvinyl alcohol* – PVA), polibutileno tereftalato (*polybutylene terephthalate* – PBT), polietileno tereftalato glicol (*polyethylene terephthalate glycol* – PETG), poliamida (*polyamide* – PA), poliuretano termoplástico (*thermoplastic polyurethane* – TPU), poli(éter-éter-cetona) (*poly(ether ether ketone)* – PEEK), policaprolactona (*polycaprolacton* – PCL) e copolímeros termoplásticos

(*thermoplastic copolymers* – TPC) (DUARTE *et al.*, 2024; OSMAN e LU, 2023; SHARMA *et al.*, 2023).

Em aplicações eletroquímicas, polímeros condutores contendo materiais carbonáceos, como grafeno (*graphene* – G), grafite (*grafite* – Gr), negro de fumo (*carbon black* – CB), nanotubos de carbono (*carbon nanotubes* – CNT) e nanofibras de carbono (*carbon nanofibers* – CNF), são amplamente utilizados na fabricação de eletrodos impressos em 3D (MUÑOZ e PUMERA, 2020b; OMAR *et al.*, 2021; SHARMA *et al.*, 2023). Na literatura científica, o uso de filamentos comerciais como *Black Magic*®, composto por PLA e grafeno (G/PLA), e *Protopasta*®, filamento de PLA contendo negro de fumo (CB/PLA), é relatado em diversos trabalhos (ALVES *et al.*, 2024; KALINKE *et al.*, 2021; MUÑOZ *et al.*, 2023; RICHTER *et al.*, 2019; WIRTH *et al.*, 2019).

Vários estudos também têm explorado a criação de filamentos condutores acessíveis, combinando polímeros termoplásticos com materiais condutores, como os carbonáceos mencionados e metais, que são misturados e fabricados utilizando máquinas extrusoras (CRUZ *et al.*, 2018; DE FARIA *et al.*, 2023; LISBOA *et al.*, 2024; LOPES *et al.*, 2023). A produção desses novos filamentos traz benefícios, como a possibilidade de ajustar a condutividade elétrica e a inclusão de eletrocatalisadores para aprimorar o desempenho eletroquímico (STEFANO *et al.*, 2022).

2.4.3 Filamento *Protopasta*®

O filamento *Protopasta*® (CB/PLA), utilizado neste trabalho, é composto por ácido polilático (PLA, >67%), negro de fumo (CB, <20%) e outros polímeros que, provavelmente, atuam como plastificantes (<13%) (PROTOPASTA, 2025), conforme pode ser visto no Anexo A. O PLA é um polímero termoplástico formado por moléculas de ácido lático. É obtido a partir de fontes renováveis, como cana-de-açúcar e amido de milho, sendo reconhecido por sua capacidade de biodegradar e de ser compostável (MCKEEN, 2012). Sua fórmula estrutural está apresentada na Figura 9.

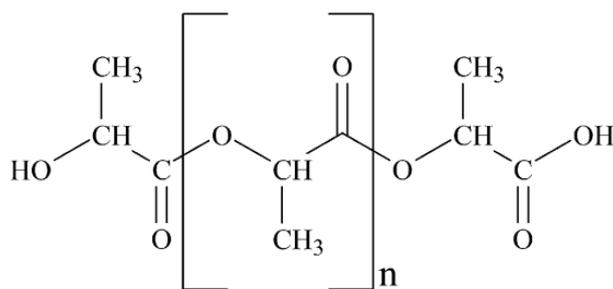


Figura 9. Fórmula estrutural do PLA.

Fonte: McKeen (2012).

O CB é um material gerado pela queima incompleta de carvão, alcatrão de carvão, matéria vegetal ou derivados do petróleo, constituído por mais de 90% de carbono elementar em sua forma pura, composto por pequenos átomos de carbono, predominantemente esféricos, que se agrupam formando agregados. O diâmetro das partículas de CB geralmente varia entre 10 nm e 500 nm, e estudos indicam que partículas maiores tendem a apresentar uma estrutura mais grafítica (FAN *et al.*, 2020).

O CB pode apresentar diversos grupos funcionais, incluindo grupos químicos oxigenados, como lactonas, grupos fenólicos, carboxílicos e cetônicos, conforme mostra a Figura 10 (FAN *et al.*, 2020).

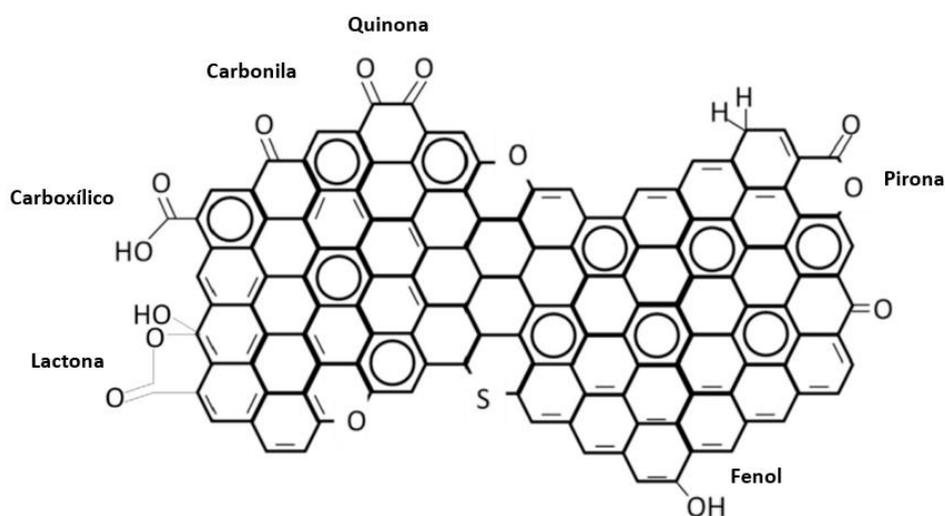


Figura 10. Grupos funcionais na superfície do negro de fumo.

Fonte: Adaptado de Fan *et al.* (2020).

2.5 Pós-tratamentos de superfície para ativação dos eletrodos impressos em 3D

A preparação da superfície de eletrodos impressos em 3D é fundamental para aprimorar sua aplicação na eletroanálise, considerando que a elevada resistividade

elétrica do componente isolante do filamento compromete seu desempenho eletroanalítico (SHARMA *et al.*, 2023; STEFANO *et al.*, 2022).

Diferentes estratégias têm sido desenvolvidas para aumentar a exposição do material eletroativo presente em filamentos com matriz polimérica isolante, melhorando assim a condutividade dos eletrodos. Entre essas abordagens estão ativações químicas (MANZANARES PALENZUELA *et al.*; 2018; SILVA *et al.*, 2020), biológicas (MANZANARES-PALENZUELA *et al.*, 2019) e eletroquímicas (DOS SANTOS *et al.*, 2019; KATIC *et al.*, 2019). Métodos sem o uso de reagentes, como polimento mecânico (CARVALHO *et al.*, 2021), ativação térmica (NOVOTNÝ *et al.*, 2019) e tecnologias baseadas em fontes de *laser* (GLOWACKI *et al.*, 2021) ou plasma (PEREIRA *et al.*, 2021) também têm sido relatados na literatura.

Entre essas alternativas, tratamentos químicos e sua combinação com processos eletroquímicos mostram-se como opções acessíveis e promissoras para alcançar melhorias significativas nos resultados (DOS SANTOS *et al.*, 2019; GUSMÃO *et al.*, 2019; KALINKE *et al.*, 2020; STEFANO *et al.*, 2022). Além disso, métodos sem reagentes acabam sendo suscetíveis a variações no tratamento dependendo do operador e das condições empregadas, como, por exemplo, a força aplicada sobre a superfície do eletrodo durante o polimento mecânico. Dessa forma, procedimentos químicos, eletroquímicos e suas combinações foram escolhidos como métodos de ativação dos eletrodos impressos em 3D deste trabalho. A Figura 11 ilustra a superfície de um eletrodo impresso em 3D antes e após a aplicação do tratamento.



Figura 11. Eletrodo impresso em 3D antes e após os tratamentos de superfície. Os tratamentos removem parte do polímero isolante da superfície, expondo uma maior quantidade do material condutor.

Fonte: Autoria própria

Para exemplificar a importância dos pós-tratamentos de superfície no aprimoramento do desempenho eletroquímico dos eletrodos impressos em 3D, o trabalho de Kalinke e colaboradores (2020) apresentou a resposta eletroquímica de eletrodos de G/PLA antes e após ativações químicas e eletroquímicas, na presença de 1,0 mmol L⁻¹ de dopamina, além de gráficos de Nyquist obtidos para os eletrodos em 5,0 mmol L⁻¹ de [Ru(NH₃)₆]Cl₃ como sonda eletroquímica. Os tratamentos revelaram um papel crucial no aprimoramento dos eletrodos impressos fabricados em 3D ao aumentarem as correntes de pico, verificadas nos dados de voltametria cíclica, e reduzirem a resistência à transferência de carga, obtida por meio da análise do semicírculo nos dados de espectroscopia de impedância eletroquímica, sugerindo que as ativações facilitam a cinética de reação eletroquímica. Essas melhorias levam a um aumento significativo na constante de transferência heterogênea de elétrons e na área eletroativa, fatores essenciais para melhorar a sensibilidade e a resposta analítica dos sensores e biossensores eletroquímicos (KALINKE *et al.*, 2020).

Fundamentos e conceitos relacionados às técnicas eletroanalíticas utilizadas nesta dissertação, bem como o processo de obtenção e de análise das variáveis mencionadas, podem ser conferidos no Apêndice A.

2.5.1 Tratamentos químicos

A imersão em dimetilformamida (DMF) tem sido amplamente adotada como um método para ativar eletrodos impressos em 3D fabricados com filamentos de PLA. Essa abordagem tem sido analisada em diferentes períodos de tempo por diversos estudos (KUMAR *et al.*, 2020; MANZANARES PALENZUELA *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2021). No entanto, o DMF é um solvente orgânico que pode ser absorvido pela pele, resultando em efeitos adversos à saúde, incluindo toxicidade hepática (WIRTH *et al.*, 2019). Por isso, pesquisadores têm buscado alternativas mais seguras, investigando novos solventes e combinando tratamentos para ativação desses eletrodos (GUSMÃO *et al.*, 2019; KALINKE *et al.*, 2020; KWACZYŃSKI *et al.*, 2023).

Gusmão e colaboradores (2019), por exemplo, avaliaram o efeito da imersão de eletrodos de G/PLA impressos em 3D em água deionizada (DI), metanol, etanol, acetona e DMF por 7 minutos. Os resultados mostraram que solventes polares apróticos, como DMF e acetona, são mais eficazes na ativação em comparação com solventes polares próticos, como água DI, metanol e etanol. Embora os eletrodos ativados com DMF e caracterizados eletroquimicamente em Fe(CN)₆^{3-/4-} tenham apresentado os picos de

corrente mais intensos, aqueles ativados com acetona revelaram as menores separações de pico. Os pesquisadores recomendaram o uso de acetona quando possível devido à sua menor toxicidade e desempenho satisfatório.

Além da imersão em solventes (KUMAR *et al.*, 2020; KWACZYŃSKI *et al.*, 2023, MANZANARES PALENZUELA *et al.*, 2018; REDONDO *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2021), tratamentos com soluções ácidas (KALINKE *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020) e básicas (KALINKE *et al.*, 2022; RODRIGUES *et al.*, 2025, SHERGILL e PATEL, 2023; WIRTH *et al.*, 2019) têm sido investigadas. Enquanto os tratamentos químicos com solvente dissolvem parte do polímero da superfície dos eletrodos (KALINKE *et al.*, 2020, MANZANARES PALENZUELA *et al.*, 2018), soluções ácidas e básicas causam a hidrólise desse polímero pelos mecanismos expostos na Figura 12 (KOTERWA *et al.*, 2022).

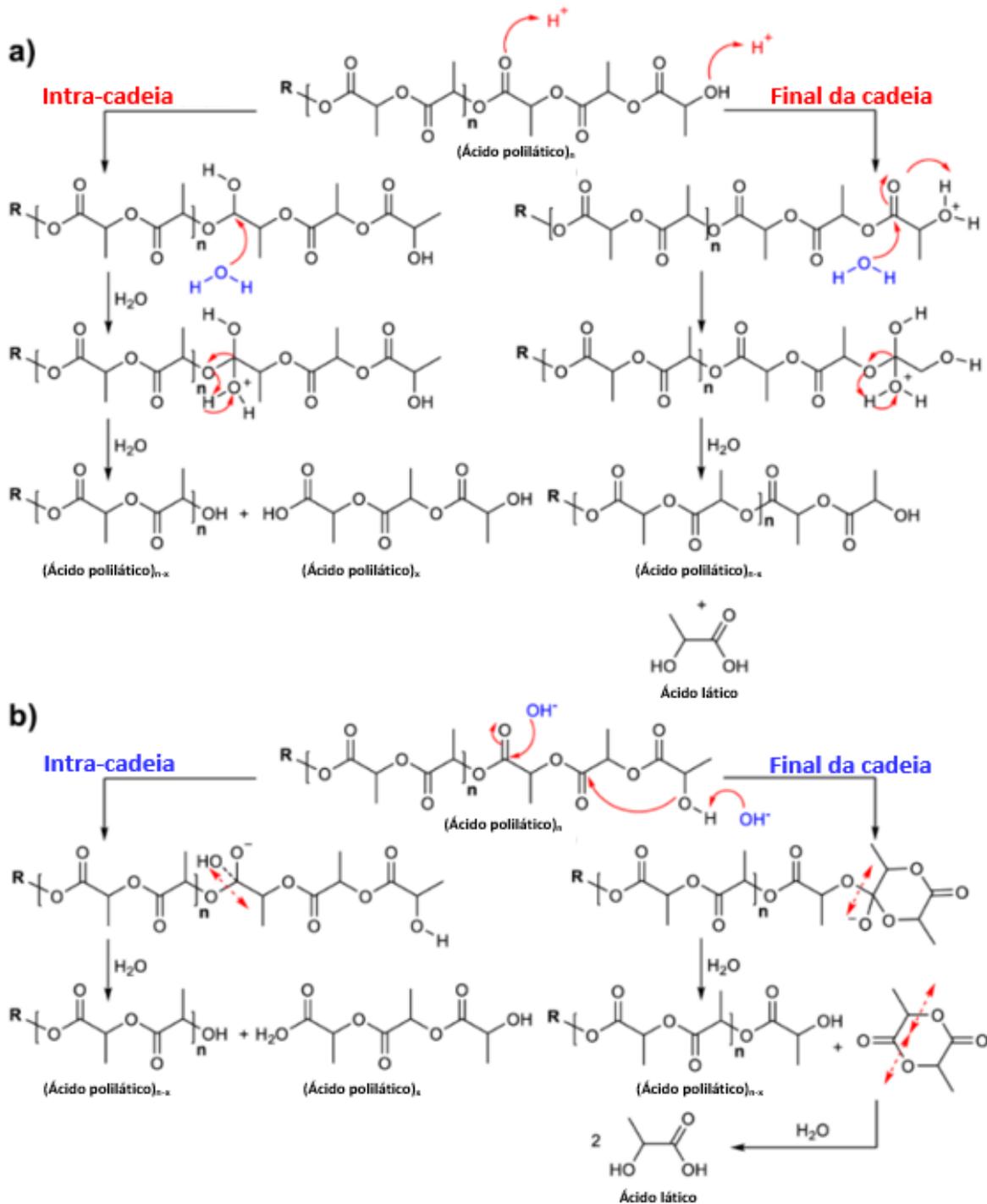


Figura 12. Mecanismo de hidrólise do PLA em (a) ambiente ácido e (b) ambiente alcalino.

A hidrólise alcalina também é chamada de saponificação.

Fonte: Adaptado de Koterwa *et al.* (2022).

2.5.2 Tratamentos eletroquímicos

Os tratamentos eletroquímicos esfoliam a superfície e promovem o surgimento de novos grupos funcionais, aumentando, assim, a atividade eletroquímica dos eletrodos impressos em 3D (KALINKE *et al.*, 2020, MARRA *et al.*, 2024). Na literatura, diversos

tratamentos eletroquímicos para eletrodos impressos em 3D são empregados, incluindo a aplicação de potenciais constantes (BROWNE *et al.*, 2018; DOS SANTOS *et al.*, 2019; KATIC *et al.*, 2019; MUÑOZ e PUMERA, 2021) ou varreduras dentro de uma faixa de potencial pré-definida (ATEŞ e BARAN AYDIN, 2023; CONTRERAS-NARANJO *et al.*, 2021; KOTERWA *et al.*, 2022). Também é possível encontrar estudos que combinam essas duas abordagens (KALINKE *et al.*, 2021; WROBEL VON ZUBEN *et al.*, 2023).

Tampão fosfato, incluindo tampão fosfato-salino (*phosphate buffered saline* – PBS) (BROWNE *et al.*, 2018; KALINKE *et al.*, 2021; MUÑOZ *et al.*, 2023), e soluções alcalinas (ATEŞ e BARAN AYDIN, 2023; MCDONAGH *et al.*, 2023; RICHTER *et al.*, 2019) estão entre os eletrólitos geralmente utilizados nesses tratamentos.

Richter *et al.* (2019) mostraram como o tratamento eletroquímico envolvendo a aplicação de um potencial constante de +1,4 V seguido de -1,0 V, ambos por 200 segundos, em solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹, contribuiu para o aumento das correntes de pico dos eletrodos de CB/PLA fabricados em 3D para a detecção de 1 mmol L⁻¹ de ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina e do par redox Fe(CN)₆^{3-/4-}, verificado por meio dos voltamogramas cíclicos obtidos. Novamente, os resultados evidenciaram a relevância dos métodos de ativação para o aprimoramento de eletrodos impressos em 3D.

2.5.3 Tratamentos químicos e eletroquímicos combinados

Na tentativa de aprimorar o desempenho dos eletrodos impressos em 3D, a combinação de tratamentos químicos e eletroquímicos também é investigada (KALINKE *et al.*, 2020; MUÑOZ *et al.*, 2023; REDONDO *et al.*, 2021; WROBEL VON ZUBEN *et al.*, 2023; RODRIGUES *et al.*, 2025).

Kalinke *et al.* (2020) realizaram uma comparação entre diferentes métodos de ativação de eletrodos de G/PLA impressos em 3D, incluindo os seguintes tratamentos: mecânico (polimento), químicos (DMF, NaOH 1,0 mol L⁻¹, HNO₃ 7,9 mmol L⁻¹ e H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹, por períodos variados), eletroquímico (potencial constante de +1,8 V por 15 minutos em PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,4), seguido de um ciclo de voltametria cíclica de 0,0 a -1,8 V a 50 mV s⁻¹), e suas combinações. O melhor desempenho na detecção de dopamina foi obtido com eletrodos tratados com NaOH por 30 minutos, seguido de ativação eletroquímica. O sensor desenvolvido apresentou baixos limites de detecção para dopamina, elevada sensibilidade, ampla faixa linear e interessantes resultados de repetibilidade e reprodutibilidade, além de eficácia na análise de dopamina em amostras biológicas (KALINKE *et al.*, 2020).

Rodrigues *et al.* (2025), além de avaliarem a altura do eletrodo, o diâmetro e a velocidade de impressão (eletrodo escolhido: altura de 20 mm, diâmetro de 6 mm e velocidade de impressão de 800 mm min⁻¹, com custo de US\$0,04 para cada eletrodo), também avaliaram o efeito de diferentes tratamentos de superfície pós-impressão no desempenho eletroquímico de eletrodos de CB/PLA. Foram testados cinco protocolos: polimento mecânico; polimento seguido de tratamento eletroquímico aplicando +1,4 V e -1,0 V, ambos por 200 segundos, em NaOH 0,5 mol L⁻¹; polimento seguido de tratamento químico com NaOH 0,5 mol L⁻¹; combinação entre polimento, tratamento químico e eletroquímico, nessa ordem; e, por fim, a combinação de polimento, tratamento eletroquímico e químico, respectivamente. O eletrodo tratado por polimento seguido de tratamento químico e eletroquímico, nessa ordem, foi escolhido. A metodologia permitiu a determinação simultânea de paracetamol e cafeína, apresentando boa linearidade em uma ampla faixa de concentrações, sendo o eletrodo, então, aplicado na análise de um medicamento comercial contendo os dois compostos.

Muñoz e Pumera (2021) também avaliaram um biossensor eletroquímico impresso em 3D para a detecção do antígeno do SARS-CoV-2, com custo aproximado de €0,25 por eletrodo e €9,00 para um biossensor completo. Os eletrodos de G/PLA foram ativados em DMF por 3 horas e submetidos a tratamento eletroquímico em PBS (pH 7,2) com a aplicação de um potencial de +2,5 V por 5 minutos. Após funcionalização com nanopartículas de ouro, a proteína recombinante da COVID-19 foi ancorada covalentemente na superfície, e o biossensor demonstrou alta sensibilidade, possibilitando a detecção de níveis traços em amostras de soro humano e tampão.

Esses trabalhos demonstram novamente a importância de pós-tratamentos de superfície na obtenção de sensores e biossensores eletroquímicos impressos em 3D, bem como o potencial desses dispositivos ao analisarem analitos relevantes, com desempenhos comparáveis a métodos analíticos já estabelecidos.

A Tabela 3 apresenta um resumo de diferentes métodos químicos, eletroquímicos e combinados utilizados para ativação de eletrodos impressos em 3D, fabricados a partir de filamentos de PLA contendo materiais carbonáceos, relatados na literatura. Optou-se, para reduzir informações redundantes, pela construção da tabela apenas com tratamentos distintos encontrados na literatura, referenciando apenas o primeiro trabalho encontrado a utilizá-los. Devido ao foco desta dissertação, a tabela expõe somente os tratamentos químicos e eletroquímicos empregados em cada artigo. Em alguns deles, há, por exemplo, a utilização de tratamentos mecânicos, como mencionado.

Tabela 3. Tratamentos químicos, eletroquímicos e combinados de eletrodos impressos em 3D a partir de filamentos de PLA contendo materiais carbonáceos presentes na literatura.

Filamento	Método de Ativação	Referências	
G/PLA	DMF por 10 min	(MANZANARES PALENZUELA <i>et al.</i> , 2018)	
G/PLA	Água DI, metanol, etanol, acetona ou DMF por 7 min	(GUSMÃO <i>et al.</i> , 2019)	
G/PLA CB/PLA	NaOH 4 mol L ⁻¹ por 24 h, DMF por 10 min ou ativação por eletrólise da água, usando uma bateria de 9 V	(WIRTH <i>et al.</i> , 2019)	
G/PLA	DMF por 4 h	(KUMAR <i>et al.</i> , 2020)	
G/PLA	DMF seguido por HNO ₃ 1,0 mol L ⁻¹ e NaBH ₄ 0,15 mol L ⁻¹ , respectivamente, por 15 min em cada solução	(SILVA <i>et al.</i> , 2020)	
G/PLA	DMF por 3 h	(WANG <i>et al.</i> , 2021)	
CB/PLA G/PLA CNT/PLA	Acetona, diclorometano, dicloroetano, acetonitrila ou tetraidrofurano por 20 s, 40 s, 60 s, 120 s, 300 s, 600 s, 1200 s, 1800 s e 3600 s	(KWACZYŃSKI <i>et al.</i> , 2023)	
G/PLA	+1,8 V por 15 min seguido de -1,8 V por 50 s em PBS 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,4)	(KATIC <i>et al.</i> , 2019)	
G/PLA	+1,8 V por 15 min ou CV (50 mV s ⁻¹) nos intervalos de 0,0 a -1,0 V, 0,0 a -1,2 V, 0,0 a -1,4 V, 0,0 a -1,6 V e 0,0 a -1,8 V (1 ciclo), ambos em PBS 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,4)	(DOS SANTOS <i>et al.</i> , 2019)	
CB/PLA	+1,4 V seguido de -1,0 V, ambos por 200 s, em NaOH 0,5 mol L ⁻¹	(RICHTER <i>et al.</i> , 2019)	
CB/PLA	Polarização potenciodinâmica (50 mV s ⁻¹) no intervalo de -1,4 a +1,2 V em HCl 1,0 mol L ⁻¹ ou NaOH 1,0 mol L ⁻¹ (10 ciclos de polarização)	(KOTERWA <i>et al.</i> , 2022)	
G/PLA CNF/PLA	CV (100 mV s ⁻¹) no intervalo de 0,0 a -3,0 V em KOH 1,0 mol L ⁻¹ (50 ciclos)	(ATEŞ e BARAN AYDIN, 2023)	
G/PLA	DMF por 10 min	+1,5 V, +2,0 V ou +2,5 V em PBS (pH 7,2) por 50 s, 100 s, 150 s, 200 s e 250 s	(BROWNE <i>et al.</i> , 2018)
G/PLA	DMF por 5, 10 e 20 min; NaOH 1,0 mol L ⁻¹ por 30, 60 e 180 min; HNO ₃ 7,9 mmol L ⁻¹ por 30, 60 e 180 min ou H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ por 30, 60 e 180 min	+1,8 V por 15 min seguido de CV (50 mV s ⁻¹) no intervalo de 0,0 a -1,8 V (1 ciclo), ambos em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,4)	(KALINKE <i>et al.</i> , 2020)
G/PLA	NaOH 3,0 mol L ⁻¹ por 30 min	+1,8 V por 15 min seguido de CV (50 mV s ⁻¹) no intervalo de 0,0 a -1,8 V (1 ciclo), ambos em PBS 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,4)	(KALINKE <i>et al.</i> , 2021)

CNT/CB/PLA	DMF por 10 min	CV (500 mV s ⁻¹) no intervalo de -0,1 V a +3,1 V (10 ciclos) em PBS 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,4)	(CONTRERAS-NARANJO <i>et al.</i> , 2021)
G/PLA CB/PLA	NaBH ₄ 0,1 mol L ⁻¹ e 1,0 mol L ⁻¹ por 30 min e 24 h, C ₆ H ₈ O ₆ 0,1 mol L ⁻¹ por 24 h, N ₂ H ₄ 0,1 mol L ⁻¹ por 24 h (todos em água DI), LiAlH ₄ 0,1 mol L ⁻¹ em tetraidrofurano como solvente ou DMF por 3 h	Após DMF: +2,5 V por 250 s em PBS (pH 7,2) Após outros tratamentos químicos: +2,5 V por 1000 s em PBS (pH 7,2)	(REDONDO <i>et al.</i> , 2021)
G/PLA	DMF por 3 h	+2,5 V por 5 min em PBS (pH 7,2)	(MUÑOZ e PUMERA, 2021)
CB/PLA	DMF por 15 min	+1,4 V seguido de -1,0 V em NaOH 0,5 mol L ⁻¹ , ambos por 200 s	(MCDONAGH <i>et al.</i> , 2023)
CB/PLA MWCNT/PLA	Tratamento dos filamentos: NaOH 5 mol L ⁻¹ a 75 °C por 3 min (CB/PLA) e 55 min (MWCNT/PLA)	Tratamento dos eletrodos impressos em 3D: +1,4 V seguido de -1,0 V em NaOH 0,5 mol L ⁻¹ , ambos por 200 s	(SHERGILL e PATEL, 2023)
G/PLA	DMF por 10 min ou NaOH 1,0 mol L ⁻¹ por 10 e 25 min	+1,8 V por 15 min seguido de CV (50 mV s ⁻¹) no intervalo de 0,0 a -1,8 V, ambos em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,4)	(WROBEL VON ZUBEN <i>et al.</i> , 2023)
G/PLA	DMF por 1,5 h	+2,5 V por 2 min em PBS 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,4)	(MUÑOZ <i>et al.</i> , 2023)
CB/PLA	NaOH 0,5 mol L ⁻¹ por 30 min em banho ultrassônico	+1,4 V seguido de -1,0 V em NaOH 0,5 mol L ⁻¹ , ambos por 200 s	(RODRIGUES <i>et al.</i> , 2025)

CB – negro de fumo; **CV** – voltametria cíclica; **DMF** – dimetilformamida; **CNF** – nanofibras de carbono;

CNT – nanotubos de carbono; **G** – grafeno; **MWCNT** – nanotubos de carbono de paredes múltiplas;

PLA – ácido polilático e **PBS** – tampão fosfato-salino.

Diante da Tabela 3 e das informações apresentadas e discutidas sobre pós-tratamentos de superfície químicos, eletroquímicos e combinados até o momento, percebe-se que novos tratamentos têm sido continuamente propostos, visando à melhoria do desempenho eletroquímico de eletrodos impressos em 3D. Até a presente data, parece não haver um consenso sobre qual concentração de reagentes, tempo de tratamento e tratamento eletroquímico pudessem ser vistos como modelo a ser utilizado e/ou aprimorado, embora certos tratamentos sejam empregados em trabalhos distintos, como apresentado. Além disso, estudos que avaliam diferentes tratamentos no mesmo trabalho, apresentados na Tabela 3, parecem escolher a melhor condição com base exclusivamente nos valores numéricos obtidos pelas caracterizações eletroquímicas, sem a aplicação de testes estatísticos para análise de variância e comparação de médias. Dessa forma, tratamentos que demandam maior quantidade de reagentes e tempo podem ser selecionados, mesmo que não apresentem diferenças estatisticamente significativas em relação a alternativas mais simples, sendo uma lacuna a ser preenchida no estudo de

eletrodos impressos em 3D para o desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos. Nesse contexto, este trabalho propõe e compara, de maneira estatisticamente fundamentada, diferentes tratamentos para a escolha do eletrodo a ser empregado na detecção dos analitos, contribuindo para o avanço da tecnologia no campo de sensores e biossensores eletroquímicos impressos em 3D, auxiliando no desenvolvimento de formas eficientes e ecológicas para fabricação desses dispositivos e tentando preencher essa lacuna na pesquisa.

2.6 Aplicação ambiental de sensores e biossensores eletroquímicos

A detecção e o monitoramento de poluentes ambientais são essenciais para avaliar os impactos de substâncias potencialmente tóxicas sobre a saúde humana, a fauna e a flora. Métodos tradicionais, como cromatografia líquida de alta eficiência (*high performance liquid chromatography* – HPLC), cromatografia gasosa (*gas chromatography* – GC) e espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (*inductively coupled plasma mass spectrometry* – ICP-MS), são amplamente utilizados devido à sua elevada sensibilidade e precisão. No entanto, esses métodos apresentam desafios, incluindo altos custos operacionais, necessidade de equipamentos sofisticados e pessoal especializado, além de tempo significativo para análise (HUANG *et al.*, 2023; KHIZAR *et al.*, 2022).

Nesse cenário, sensores e biossensores eletroquímicos emergem como alternativas promissoras para a detecção de poluentes ambientais, como o glifosato e o fipronil (CONGUR, 2023; EL-AKAAD *et al.*; 2022, OKUMURA *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2020; SUWANNACHAT *et al.*, 2024). Esses dispositivos oferecem vantagens como baixo custo, consumo reduzido de energia, portabilidade e viabilidade para monitoramento *in situ* em tempo real (HUANG *et al.*, 2023; KHIZAR *et al.*, 2022). Além disso, a crescente necessidade de tecnologias sustentáveis impulsiona o desenvolvimento de sensores e biossensores baseados em materiais biodegradáveis (KALINKE *et al.*, 2024; SIDDIQUI *et al.*, 2023), como os eletrodos impressos em 3D feitos de ácido polilático contendo materiais carbonáceos.

Portanto, a integração de sensores e biossensores eletroquímicos na análise ambiental representa um avanço significativo na detecção e monitoramento de poluentes, contribuindo para a preservação ambiental e a mitigação de impactos adversos à saúde pública. Diante disso, os eletrodos de CB/PLA impressos em 3D neste trabalho, após submetidos ao pós-tratamento de superfície escolhido e otimizado com base na análise

estatística de variáveis relacionadas ao desempenho eletroquímico, foram testados para o desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos voltados à detecção dos analitos citados, que serão abordados a seguir. A ausência de trabalhos na literatura científica detectando essas espécies por eletrodos impressos em 3D também consiste em uma lacuna a ser minimizada.

2.6.1 Glifosato

O glifosato (Figura 13), ou (N-(fosfonometil)glicina), é um herbicida não seletivo de amplo espectro amplamente utilizado em todo o mundo. Seu mecanismo de ação baseia-se na inibição da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase, essencial para a conversão de chiquimato-3-fosfato em 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato. Essa inibição interrompe a síntese de aminoácidos aromáticos, fundamentais para a produção de proteínas nas plantas, levando à sua morte (CONGUR, 2023; SANTOS *et al.*, 2020; SUWANNACHAT *et al.*, 2024).

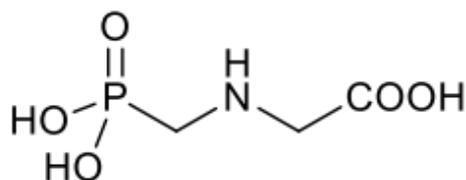


Figura 13. Estrutura do glifosato.

Fonte: Sok e Fragoso (2019).

Pesquisas sugerem que o glifosato pode ser persistente no ambiente, e seus efeitos na saúde humana têm gerado preocupações globais, especialmente devido ao seu potencial carcinogênico, além de ser reportado como disruptor endócrino, teratogênico, genotóxico, imunotóxico, neurotóxico, mutagênico e tóxico para órgãos como fígado e rins. Esses efeitos podem estar relacionados à capacidade do glifosato de formar complexos com metais e de inibir enzimas da família do citocromo P450, fundamentais para diversos processos metabólicos (CONGUR, 2023; VALLE *et al.*, 2019).

Diante desses riscos, as legislações internacionais estabeleceram limites para a presença de glifosato em água potável. A União Europeia define um limite máximo de $0,59 \text{ nmol L}^{-1}$ ($0,1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), enquanto legislação do Brasil permite o valor de $2,30 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ($500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*United States Environmental Protection Agency* – USEPA), $4,15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ($700 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$)

(GONÇALVES *et al.*, 2023). Esses valores refletem a necessidade urgente de métodos analíticos avançados, seletivos e sensíveis para a detecção confiável de glifosato em concentrações reduzidas, assegurando a segurança ambiental e a saúde pública

A determinação do glifosato pode ser realizada utilizando biossensores enzimáticos que se baseiam na inibição da atividade de enzimas como peroxidase (KERGARAVAT *et al.*, 2021), acetilcolinesterase (LIU *et al.*, 2020), fosfatase (BUTMEE *et al.*, 2021) e tirosinase (SOK e FRAGOSO, 2019). Esses pesticidas podem formar complexos estáveis com determinadas enzimas devido à semelhança estrutural com o substrato, o que permite o bloqueio do centro ativo da enzima e a consequente inibição de sua atividade, independentemente da presença do substrato (MOSTAFA, 2010).

A presença do glifosato reduz a atividade enzimática, e essa diminuição pode ser correlacionada com a quantidade de herbicida presente na amostra. Para determinar essa inibição, a atividade enzimática ao quebrar o substrato é inicialmente medida, registrando o valor de sua atividade sem a presença de glifosato (TEHRI e KUMAR, 2020; ZAMBRANO-INTRIAGO *et al.*, 2023). Em seguida, a enzima é exposta a diferentes concentrações da solução de pesticida. Após essa exposição, a resposta é registrada para cada concentração do pesticida. Para um ensaio em meio líquido, essa resposta pode ser registrada em termos de absorvância (Equação 4) utilizando espectroscopia UV-Vis, em que A_0 é a absorvância do controle negativo (sem glifosato) e A_1 é a absorvância da amostra com o herbicida (WULANDARI *et al.*, 2021). Para a enzima imobilizada em um eletrodo, a inibição enzimática no biossensor construído pode ser expressa em termos da corrente obtida ao se utilizar uma técnica eletroanalítica, sendo I_0 a corrente obtida sem o herbicida e I_1 a corrente detectada após a adição de glifosato (Equação 5) (ZAMBRANO-INTRIAGO *et al.*, 2023). A porcentagem de inibição ($I\%$) pode, assim, ser calculada, permitindo a quantificação da diminuição da atividade da enzima devido à presença do herbicida.

$$I\% = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \cdot 100 \text{ (Equação 4)}$$

$$I\% = \frac{(I_0 - I_1)}{I_0} \cdot 100 \text{ (Equação 5)}$$

Sok e Fragoso (2019) desenvolveram um biossensor amperométrico para a detecção de glifosato, baseado na inibição da atividade da tirosinase. Para isso, um eletrodo SPE foi modificado com uma matriz de quitosana (Chi), nanocélulas de carbono

(CNOs) e tirosinase (TYR), imobilizadas covalentemente por EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) e NHS (N-hidroxissuccinimida). Os experimentos foram conduzidos em tampão PBS a pH 7,0.

A concentração ótima de L-DOPA (3-(3,4-diidroxifenil)-L-alanina), substrato da tirosinase, foi determinada como 1,4 mM. Diferentes tempos de incubação (até 9 minutos) foram analisados em um gráfico de corrente *versus* tempo de incubação. O tempo de incubação necessário para alcançar a máxima resposta ao glifosato foi 5 minutos.

A relação linear para a detecção de glifosato foi observada até 0,12 μM para ambos os biossensores (SPE/Chi/TYR e SPE/Chi/CNO/TYR). Os limites de detecção foram 6,5 nM (1,1 $\mu\text{g L}^{-1}$) para o eletrodo modificado com CNOs e 12 nM (1,9 $\mu\text{g L}^{-1}$) para o eletrodo sem CNOs. A aplicabilidade do biossensor foi avaliada em amostras reais de água e solo provenientes de campos de arroz irrigados antes e após a aplicação aérea de glifosato. Os níveis de glifosato detectados pelo biossensor baseado em CNOs foram comparados aos obtidos por um *kit* comercial de ELISA, mostrando boa correlação e eficácia na detecção do herbicida em matrizes complexas.

Zambrano-Intriago e seus colaboradores (2023) descreveram o desenvolvimento de um biossensor eletroquímico enzimático para a detecção de glifosato utilizando um eletrodo de lápis de grafite (PGE) modificado com polissulfona (PSF), nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) e enzima peroxidase de raiz-forte (HRP). A metodologia baseia-se na inibição competitiva da atividade da HRP pelo glifosato, diminuindo a resposta catalítica frente ao peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Hidroquinona (HQ) foi utilizada como mediador redox.

Diferentes concentrações de HRP durante o preparo foram avaliadas. O biossensor preparado com 100 U/mL apresentou a melhor sensibilidade, enquanto concentrações mais altas resultaram em superpopulação enzimática, reduzindo a eficiência de transferência eletrônica. O efeito do pH foi estudado utilizando tampão PBS com pHs variando entre 5,8 e 7,4. O melhor desempenho foi observado em pH 6, ótimo para a atividade da peroxidase. A concentração de HQ na solução foi ajustada, e os autores observaram um aumento logarítmico da sensibilidade até cerca de 0,25 mmol L^{-1} de HQ, após o qual a sensibilidade se manteve constante. Assim, para alcançar a máxima sensibilidade do biossensor, optou-se por utilizar a concentração de 0,5 mmol L^{-1} de HQ nos testes finais de detecção.

Nesse estudo, a concentração de 0,075 mmol L^{-1} de H_2O_2 , próxima ao valor da constante de Michaelis-Menten (K_M , concentração de substrato em que a velocidade da

reação enzimática é a metade da sua velocidade máxima), foi escolhida para otimizar a sensibilidade do biossensor. Os autores verificaram que o mecanismo de inibição é competitivo e discutiram que concentrações elevadas do substrato permitem que o substrato se ligue ao centro ativo da enzima, deslocando o inibidor, fazendo com que seu efeito fosse reduzido ou até mascarado. Antes das medidas amperométricas, o biossensor foi incubado com diferentes concentrações de glifosato por 5 minutos.

O biossensor demonstrou uma faixa linear de detecção para glifosato entre 0,1 e 10 mg L⁻¹, com um limite de detecção de 0,025 mg L⁻¹ (25 ppb) e limite de quantificação de 0,084 mg L⁻¹. O biossensor apresentou seletividade adequada contra outros pesticidas e interferentes, como ácidos orgânicos e sais inorgânicos, e a estabilidade foi mantida por até 10 dias de uso contínuo.

Butmee *et al.* (2021) desenvolveram um eletrodo *screen-printed* modificado com nanopartículas de prata (AgNPs) e óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente (ErGO) para a detecção de glifosato através da inibição da fosfatase ácida (*acid phosphatase* – ACP), que foi imobilizada por meio de ligações cruzadas com glutaraldeído. Essa enzima realiza a hidrólise do substrato fenilfosfato dissódico, gerando fenol e ácido fosfórico. O fenol formado é posteriormente oxidado, o que torna possível a sua detecção por meio de transdutores eletroquímicos. A inibição da ACP é avaliada pela redução na corrente de oxidação do fenol, causada pelo grupo fosfórico presente na estrutura do glifosato, que age como um inibidor competitivo, reduzindo a atividade da enzima (BUTMEE *et al.*, 2021).

Para otimizar as condições experimentais do biossensor enzimático, vários parâmetros foram avaliados utilizando 0,2 µg mL⁻¹ de glifosato. O potencial aplicado pela técnica de cronoamperometria demonstrou ser um fator crucial para a sensibilidade do biossensor. Um potencial de +0,4 V foi selecionado como ideal, evitando reações de co-oxidação de outras espécies químicas presentes na amostra.

A quantidade de ErGO e AgNPs depositada no eletrodo, bem como a concentração da enzima ACP no biossensor, foram avaliadas. Para a enzima, observou-se um aumento acentuado na resposta até 0,09 U cm⁻². Após essa concentração, a resposta permaneceu estável devido à saturação da superfície modificada. Assim, 0,15 U cm⁻² foi determinado como a concentração ótima de enzima.

Após, a concentração de substrato e a influência do pH na atividade enzimática também foram investigadas. A resposta de inibição aumentou com concentrações crescentes de substrato, atingindo um máximo em 20 g L⁻¹ (~78,7 mmol L⁻¹), sendo a

concentração escolhida como ideal para o substrato. Tampão acetato foi avaliado em uma faixa de pH de 3,0 a 8,0. O maior nível de atividade foi registrado em pH 7,0, sendo o escolhido para realizar as medições enzimáticas indiretas para determinação de glifosato.

A inibição competitiva foi confirmada por meio do aumento do valor de K_M (3,79 mM para 4,72 mM na presença de glifosato), enquanto V_{max} permaneceu praticamente constante. O biossensor apresentou duas faixas lineares de detecção para glifosato: de 0,05 a 0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e de 0,5 a 22,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com limite de detecção de 0,015 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e limite de quantificação de 0,045 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

O biossensor demonstrou boa seletividade, estabilidade de até 5 dias, e reprodutibilidade, com desvio padrão relativo inferior a 5,5%. A análise de amostras reais de água e solo contaminados com glifosato revelou taxas de recuperação entre 95,6% e 104,7%, corroborando a confiabilidade do método. Por outro lado, observou-se que o trabalho utilizou tampão acetato fora de sua faixa tamponante e que, ao contrário de Zambrano-Intriago *et al.* (2023), Butmee e colaboradores (2021) empregaram uma concentração de substrato significativamente superior ao K_M determinado.

Os trabalhos de Sok e Fragoso (2019), Zambrano-Intriago *et al.* (2023) e Butmee *et al.* (2021) representam avanços na detecção de glifosato por biossensores eletroquímicos baseados na inibição de enzimas. Contudo, como explicitado, a falta de pesquisas empregando eletrodos impressos em 3D para a detecção desse herbicida constitui uma lacuna científica relevante.

2.6.2 Fipronil

O fipronil (FIP) é um inseticida pertencente ao grupo dos N-fenilpirazóis, amplamente utilizado devido à sua ação como ectoparasiticida e sua alta eficácia no controle de uma variedade de insetos com alta eficiência mesmo em doses baixas (EL-AKAAD *et al.*; 2022, OKUMURA *et al.*, 2016). Ele atua inibindo de forma não competitiva os canais de cloreto regulados pelo ácido gama-aminobutírico (GABA) no sistema nervoso central (SNC) dos insetos. Essa inibição impede a ação do GABA, causando inicialmente hiperexcitação neural em baixas doses e, em concentrações mais altas, paralisia seguida de morte dos insetos (LI *et al.*, 2024; WANG *et al.*, 2019).

Dada a sua alta eficiência, o fipronil é amplamente empregado em produtos para controle de pulgas e carrapatos em animais domésticos, armadilhas contra baratas e como inseticida em plantações de arroz, milho, campos de golfe e gramados comerciais. No entanto, seu uso indiscriminado tem gerado preocupações crescentes devido aos

potenciais danos aos ecossistemas e à saúde humana, incluindo neurotoxicidade, toxicidade reprodutiva e efeitos carcinogênicos (WANG *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2024). No fígado, por exemplo, o fipronil é metabolizado pelo citocromo P450, formando o metabólito fipronil sulfona (FIP-S), que possui alta lipofilicidade e pode permanecer nos tecidos por períodos prolongados (KUMAR *et al.*, 2020).

O fipronil é uma espécie eletroativa que pode ser oxidada formando, principalmente, fipronil sulfona, o que permite a sua detecção por sensores eletroquímicos. Com base nessa informação e na quantidade de elétrons e prótons envolvidos no processo de oxidação eletroquímica do fipronil, a Figura 14 apresenta uma reação proposta para a formação do fipronil sulfona como produto de oxidação (MONTES *et al.*, 2016).

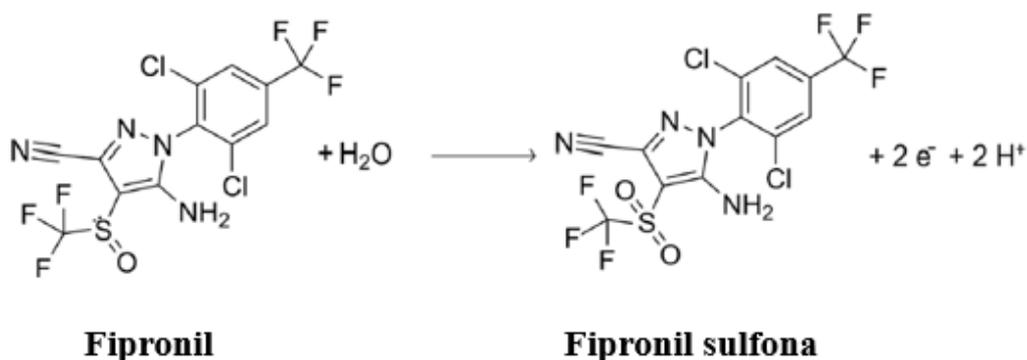


Figura 14. Mecanismo da oxidação eletroquímica do fipronil.

Fonte: Adaptado de Montes *et al.* (2016).

Okumura *et al.* (2016) desenvolveram um sensor eletroquímico para a detecção de fipronil utilizando um eletrodo compósito de grafite-poliuretano (GPU) como eletrodo de trabalho, $Ag|AgCl$ ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$ KCl) como eletrodo de referência e um fio de platina como contraeletrodo. Uma solução estoque de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada em etanol. O voltamograma cíclico do fipronil em tampão Britton-Robinson (BR) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) apresentou um pico bem definido de oxidação do fipronil em um potencial próximo de $0,95 \text{ V}$ ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$). O gráfico da corrente de pico em função da velocidade de varredura, obtido a partir dos dados de CV em pH 8,0, apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,999, indicando uma contribuição significativa da adsorção da espécie na superfície do eletrodo no controle da reação. A voltametria de varredura linear foi realizada em tampões BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de

fipronil em diferentes pHs e revelou que o pH 8 garantia menor potencial de pico, ainda preservando uma alta intensidade de corrente e sensibilidade.

Diferentes parâmetros para a SWV foram testados em tampão Britton-Robinson (BR) 0,1 mol L⁻¹ contendo 1,0 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ de fipronil, visando à otimização da técnica eletroanalítica. A faixa de trabalho para a calibração foi de 0,50 a 2,50 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ de fipronil, apresentando alta linearidade. Os limites de detecção e quantificação foram 0,80 e 2,67 µg L⁻¹, respectivamente. Os valores de recuperação em três amostras de água natural foram próximos de 100%.

O trabalho de El-Akaad *et al.* (2022) utilizou um eletrodo *screen-printed* (SPE) modificado com dióxido de titânio (TiO₂) e poli(triazina imida) (PTI) para a detecção de fipronil (FIP) e seu metabólito tóxico fipronil sulfona (FIP-S). A influência do pH no potencial de pico e na resposta de corrente foi avaliada em tampões BR com pHs variando de 5 a 10. A melhor resposta para o FIP foi obtida em pH 10, enquanto para o FIP-S o melhor pH foi 8. As curvas de calibração, apresentaram dois intervalos lineares para o FIP e para o FIP-S: de 0,01 a 10 µM e de 10 a 50 µM. Os limites de detecção foram estimados em 8,42 nM (3,68 µg/kg) para o FIP e 9,72 nM (4,04 µg/kg) para o FIP-S.

Montes *et al.* (2016) também investigaram a oxidação eletroquímica do inseticida fipronil utilizando eletrodos de carbono vítreo (GCE), tanto na forma não modificada quanto na forma modificada com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs), e sua determinação amperométrica empregando a técnica de análise por injeção em batelada (BIA). A metodologia incluiu a preparação dos eletrodos, otimização das condições experimentais e comparação dos desempenhos analíticos dos dois tipos de eletrodo.

Verificou-se que o eletrólito HClO₄ 0,1 mol L⁻¹/acetona (50:50, v/v) mostrou-se adequado para minimizar processos de adsorção e maximizar a intensidade da corrente. Os resultados mostraram que, apesar de o eletrodo modificado com MWCNTs apresentar maior sensibilidade (0,04068 µA L µmol⁻¹ contra 0,02145 µA L µmol⁻¹ para o GCE), ele também demonstrou maior suscetibilidade à adsorção do fipronil e de seus produtos, comprometendo a linearidade da resposta. O GCE sem modificações mostrou-se interessante para a detecção de fipronil, com uma faixa linear mais ampla (25–300 µmol L⁻¹ contra 25–125 µmol L⁻¹ para o eletrodo modificado), menor desvio padrão relativo (RSD = 5,1% contra 8,0%) e melhor repetibilidade.

Os estudos de Montes *et al.* (2016), Okumura *et al.* (2016) e El-Akaad *et al.* (2022) demonstram avanços na detecção eletroquímica do fipronil utilizando eletrodos com ou

sem modificações para melhorar a sensibilidade e a seletividade. No entanto, esses trabalhos apresentam limitações quanto ao estudo da estabilidade dos eletrodos a longo prazo e à aplicabilidade em diferentes matrizes. Além disso, a ausência de pesquisas empregando eletrodos impressos em 3D para a detecção do fipronil novamente representa outra lacuna científica relevante.

CAPÍTULO 3

Materiais e Métodos

Neste capítulo, são apresentados os reagentes, materiais, *softwares*, equipamentos e técnicas utilizados nos experimentos desta dissertação.

3.1 Reagentes e materiais

Os reagentes utilizados neste trabalho estão descritos a seguir:

- Acetato de sódio tri-hidratado PA ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Vetec)
- Ácido acético PA (CH_3COOH , Vetec)
- Ácido bórico (H_3BO_3 , Pro Analyti)
- Ácido fosfórico PA (H_3PO_4 , Vetec)
- Ácido polilático (PLA – $(\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2)_n$, NatureWorks)
- Ácido sulfúrico 95-99% PA (H_2SO_4 , Vetec)
- Álcool etílico absoluto PA ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, Proquímios)
- Cloreto de cálcio di-hidratado PA ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Proquímios)
- Cloreto de ferro (III) hexa-hidratado PA ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Proquímios)
- Cloreto de potássio PA (KCl, Vetec)
- Cloreto de sódio PA (NaCl, Isifar)
- Fenilfosfato de sódio bibásico di-hidratado PA ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_2\text{O}_4\text{P} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Êxodo Científica)
- Fenol ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$, Sigma-Aldrich)
- Ferricianeto de potássio PA ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, Vetec)
- Ferrocianeto de potássio tri-hidratado PA ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich)
- Filamento de PLA contendo negro de fumo (*Protopasta*®, Protoplant)
- Fipronil PESTANAL® PA ($\text{C}_{12}\text{H}_4\text{Cl}_2\text{F}_6\text{N}_4\text{OS}$, Sigma-Aldrich)
- Fosfato de potássio monobásico PA (KH_2PO_4 , Vetec)
- Fosfato de sódio dibásico PA (Na_2HPO_4 , Vetec)
- Fosfolidase monoéster ortofosfórica ácida (fosfatase ácida de germe de trigo $\geq 0,4 \text{ U mg}^{-1}$, Sigma-Aldrich)
- Glifosato PESTANAL® PA ($(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CO}_2\text{H}$, Sigma-Aldrich)
- Hidróxido de amônio PA 28-30% (NH_4OH , Vetec)

- Hidróxido de sódio PA (NaOH, Neon)
- N-N-dimetilformamida PA (DMF – (CH₃)₂NC(O)H, Sigma-Aldrich)
- Sulfato ferroso hepta-hidratado PA (FeSO₄·7H₂O, Controltec – Química Fina)

3.2 Métodos

3.2.1 Obtenção dos eletrodos impressos em 3D

Após uma triagem para a escolha dos parâmetros de impressão, detalhada na Seção 4.1, os eletrodos em formato de pêndulo (Figura 15) foram impressos em triplicata utilizando uma impressora 3D (Ender-3S1 Plus, Creality), com as condições e parâmetros de impressão mostrados na Tabela 4. Após a impressão, os eletrodos foram estocados à temperatura ambiente (~25 °C) até uso posterior.

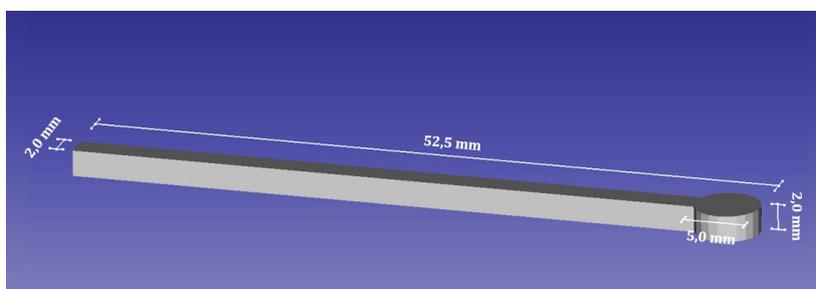


Figura 15. Dimensões dos eletrodos utilizados neste trabalho.

Tabela 4. Condições utilizadas na impressão dos eletrodos deste trabalho.

Configurações para a impressão dos eletrodos	Condições escolhidas
<i>Software CAD</i>	<i>FreeCAD®</i>
Dimensões dos eletrodos	52,5 x 5 x 2mm
Fatiador	<i>Simplify3D®</i>
Temperatura de extrusão	210 °C
Temperatura da mesa	60 °C
Densidade de enchimento	100%
Multiplicador de extrusão	1,1
Percursos de perímetro	2
Tipo de preenchimento	Grade
Espessura de camada	0,2 mm
Velocidade de impressão	30 mm s ⁻¹
Altura da primeira camada	100%
Sobreposição de contorno	15%
Tipo de mesa	Vidro

A triagem foi fortemente influenciada pelos trabalhos de Rocha *et al.* (2022) e Abdalla *et al.* (2020). É sabido que diferentes impressoras, modelos e marcas fornecem resultados distintos. Assim, partindo desses trabalhos da literatura, objetivou-se conseguir o eletrodo com melhor acabamento superficial, fabricado com a menor espessura de camada e menor velocidade de impressão possíveis, utilizando, assim como os autores citados, densidade de enchimento de 100%, multiplicador de extrusão de 1,1 e dois percursos de perímetro. Para isso, os eletrodos com as dimensões da Figura 15 foram desenhados no *software FreeCAD®*. Dois fatiadores (*Creativity Slicer®* e *Simplify 3D®*) e duas mesas (vidro e polieterimida texturizada) foram testados. A temperatura de extrusão e da mesa foram 210 e 60 °C, respectivamente.

3.2.2 Ativação dos eletrodos

As condições para os tratamentos empregados neste trabalho foram definidas, conforme apresentado na Tabela 5. Essas condições foram definidas após a realização de uma triagem (Apêndice C) para avaliar a influência do banho ultrassônico (SSBU, 7Lab) no tratamento químico dos eletrodos, definir a metodologia para a condução de tratamentos eletroquímicos, baseados tanto em protocolos presentes na literatura (KALINKE *et al.*, 2020; RICHTER *et al.*, 2019) quanto em outras abordagens propostas neste estudo, e escolher a solução contendo o par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ a ser utilizada.

Os tratamentos químicos foram desenvolvidos com base na análise da Tabela 3. Três eletrodos foram tratados por vez. Já os tratamentos eletroquímicos realizados foram baseados no procedimento proposto neste trabalho (descrito no Apêndice C), que demonstrou maior eficácia em termos de reversibilidade eletroquímica. Além disso, esses tratamentos utilizaram os eletrólitos mais frequentemente empregados nos métodos eletroquímicos apresentados na Tabela 3.

Tabela 5. Tratamentos químicos, eletroquímicos e combinados utilizados neste trabalho.

Tipos de tratamento	Descrição
Químicos	1. Imersão em 30 mL de DMF por 30 min 2. Imersão em 30 mL de H ₂ SO ₄ 1 mol L ⁻¹ por 30 min 3. Imersão em 30 mL de NaOH 3 mol L ⁻¹ por 30 min
Eletroquímicos	1. CV de +2,5 a -2,5 V (5 ciclos, 100 mV s ⁻¹) em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ (célula eletroquímica cheia) 2. CV de +2,5 a -2,5 V (5 ciclos, 100 mV s ⁻¹) em PBS 10x (pH 7,0) (célula eletroquímica cheia)
Combinados	Execução de um tratamento químico seguido de um eletroquímico

Após cada tratamento químico ou eletroquímico isolado, os eletrodos foram lavados com água ultrapura por 30 segundos para remover o excesso de reagentes. Em seguida, os eletrodos tratados foram secos em estufa a 60 °C por 1 hora. No caso de tratamentos combinados, a lavagem foi realizada tanto após o tratamento químico quanto após o eletroquímico, e a secagem em estufa foi realizada apenas ao final de todos os procedimentos, sendo secos sob as mesmas condições. Após a secagem, os eletrodos foram armazenados à temperatura ambiente (~25 °C) até uso posterior.

Os eletrodos submetidos aos tratamentos químicos foram nomeados de acordo com o reagente utilizado (DMF, NaOH e H₂SO₄). Já os eletrodos tratados eletroquimicamente em NaOH e PBS receberam as denominações EQ_{NaOH} e EQ_{PBS}, respectivamente. Para os tratamentos combinados, os eletrodos foram nomeados conforme a sequência dos tratamentos aplicados, com o tratamento químico seguido pelo eletroquímico, separados por hífen. Assim, DMF-EQ_{NaOH}, por exemplo, significa que o tratamento com 30 mL de DMF por 30 minutos foi sucedido pelo tratamento eletroquímico em NaOH. O volume de 30 mL nos tratamentos químicos foi escolhido por permitir que os eletrodos ficassem completamente submersos durante o tratamento. Da mesma forma, a célula eletroquímica completamente cheia durante os tratamentos eletroquímicos garantiu que a maior parte dos eletrodos estivesse submersa na solução para que seus desempenhos fossem aprimorados, com apenas a parte final da haste exposta, permitindo que o eletrodo fosse preso pela garra jacaré, sempre na mesma posição.

3.2.3 Caracterização eletroquímica

Inicialmente, foram realizados testes para determinar a melhor concentração de ferricianeto/ferrocianeto de potássio para a caracterização eletroquímica (Apêndice C). O filamento (comprimento de 52,5 mm, mesmo que os eletrodos, e diâmetro de 1,75 mm) e os eletrodos tratados e não tratados, utilizados como eletrodos de trabalho (WE), foram caracterizados eletroquimicamente por CV e EIS em uma célula de 50 mL contendo 40 mL de uma solução equimolar 1:1 mmol L^{-1} $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl à temperatura ambiente ($\sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$). O potenciostato empregado neste trabalho foi o modelo EmStat4S da PalmSens, juntamente com o *software* PSTrace 5.10. Foram utilizados um eletrodo de referência (RE) de Ag|AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$) e um contraeletrodo (CE) de platina. O volume de 40 mL mantido constante em todos os ensaios e os eletrodos fixados pelas garras jacaré sempre na mesma posição foram precauções tomadas para garantir que somente a região circular do eletrodo de trabalho (parte cilíndrica sem isolamento) permanecesse em contato com a solução durante todos os experimentos, evitando variações na área submersa dos eletrodos em diferentes ensaios.

A Figura 16 é uma representação de como os eletrodos foram tratados e caracterizados eletroquimicamente neste trabalho.

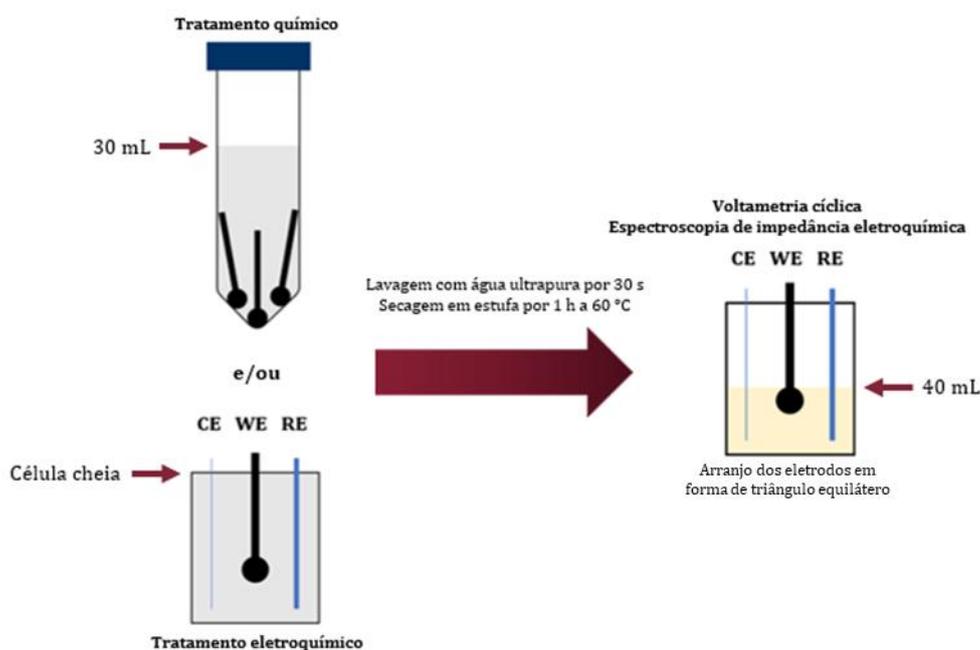


Figura 16. Representação da ativação dos eletrodos impressos em 3D e caracterização eletroquímica em solução 1:1 mmol L^{-1} $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl.

CV, técnica explicada no Apêndice A.2.2, foi realizada em 10 velocidades de varredura (5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 e 200 mV s^{-1}) de $-1,2$ a $+1,5$ V (faixa de potencial capaz de detectar os picos catódicos e anódicos do par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4}$ no filamento em todas as velocidades de varredura, e, portanto, em todos os eletrodos). Os dados coletados foram aqueles obtidos no terceiro ciclo de varredura. A área eletroativa do eletrodo foi obtida através do coeficiente angular do gráfico de I_p versus \sqrt{v} (Equação A6). O coeficiente de difusão para o par redox utilizado foi $6,70 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, o mesmo utilizado no trabalho de Laranjo *et al.* (2019), que empregou a mesma solução. A constante de transferência heterogênea de elétrons foi calculada pelo método de Klinger-Kochi, utilizando o valor médio de k^0 obtido nas 10 velocidades de varredura de cada eletrodo (Equações A14 e A18). Já os experimentos de EIS, técnica discutida no Apêndice A.3, foram realizados com os seguintes parâmetros experimentais: frequência de 100 kHz a 0,1 Hz, amplitude de sinal (E_{ac}) de 10 mV e medidas contra o potencial de circuito aberto (*open circuit potential* – OCP). Os dados de EIS foram ajustados aos circuitos da Figura 17.

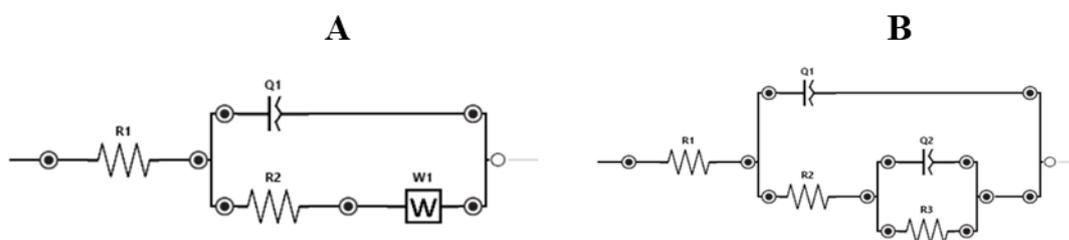


Figura 17. Circuitos ajustados nos dados de EIS. (A) Circuito equivalente de Randles, utilizados no ajuste dos resultados de todos os eletrodos, com exceção do eletrodo tratado com DMF-EQ_{PBS}. (B) Circuito utilizado no ajuste dos dados obtidos com os eletrodos tratados com DMF-EQ_{PBS}. O capacitor foi trocado por um elemento de fase constante, permitindo um melhor ajuste.

A: R1 – resistência da solução (R_s), R2 – resistência à transferência de carga (R_{ct}), Q1 – elemento de fase constante (capacitância da dupla camada elétrica – C_{dl}) e W1 – elemento de Warburg (W).

B: R1 – resistência da solução (R_s), R2 – resistência adicional, provavelmente devido aos poros criados pelas deformidades causadas pelo tratamento (R_{po}), Q1 – elemento de fase constante adicional, provavelmente devido à carga resultante da ocupação desses poros por espécies carregadas (C_c), R3 – resistência à transferência de carga (R_{ct}) e Q2 – elemento de fase constante (capacitância da dupla camada elétrica – C_{dl}).

Todas as soluções foram purgadas com gás nitrogênio por 10 minutos antes da realização das medidas. Os ensaios com os filamentos de mesmo comprimento dos

eletrodos foram realizados somente a título de comparação, mas seus dados não foram incluídos nas análises estatísticas das Seções 3.2.4, 3.2.5 e 3.2.6, visto que, embora tenham sido presos na mesma posição, a área submersa nas soluções é distinta daquela dos eletrodos.

3.2.4 Análises estatísticas para a escolha do melhor tratamento

Com o propósito de identificar se há diferenças entre os resultados obtidos com a caracterização eletroquímica dos eletrodos submetidos aos diversos tratamentos com o par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (triplicata), ANOVA e teste de Tukey foram realizados no *software Statistica* (Stat Soft Inc, versão 12) e *Origin* (OriginLab Corporation, versão 2021), respectivamente, para I_{pa} , (relacionada à área eletroativa do eletrodo, de acordo com a Equação A6), I_{pa}/I_{pc} , ΔE_p (relacionado à constante de transferência heterogênea de elétrons, conforme a Equação A18), A_e , k^0 e R_{ct} . Para a análise do I_{pa} , I_{pa}/I_{pc} e ΔE_p , foi escolhida uma velocidade de varredura de 75 mV s^{-1} , que é um valor intermediário entre as velocidades analisadas (Seção 3.2.3). Embora não seja tão interessante o tratamento estatístico de resultados submetidos a muitas manipulações matemáticas para não levar ao prolongamento de erros, as médias de A_e e k^0 também foram submetidas a essas análises estatísticas a título de comparação.

ANOVA e teste de Tukey também foram utilizados para analisar os dados das Seções 3.2.5, 3.2.6 e 3.2.11.

3.2.5 Ensaio de resistência elétrica

As medições de resistência elétrica (triplicata) foram realizadas utilizando a técnica de LSV (técnica apresentada no Apêndice A.2.1) no intervalo de $-1,0$ a $+1,0 \text{ V}$, com uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . O cabo do eletrodo de referência foi conectado ao contraeletrodo, fixado em uma das extremidades do filamento ou dos eletrodos, enquanto o eletrodo de trabalho foi conectado à outra extremidade, sempre nas mesmas posições, a fim de se controlar a distância para a execução dos ensaios. A resistência elétrica foi, por sua vez, obtida pelo valor do coeficiente angular do gráfico de E versus I (Equação 1). ANOVA e teste de Tukey foram realizados para identificar os eletrodos que apresentaram as menores resistências elétricas e que, possivelmente, seriam os mais promissores.

Essas medidas servem como uma abordagem indireta para analisar o impacto dos tratamentos na condutividade dos eletrodos. Como a resistência elétrica está diretamente relacionada à resistividade e inversamente à condutividade, como verificado nas Equações 6 e 7 (YOUNG e FREEDMAN, 2019), uma redução na resistência para eletrodos com comprimento e área de seção transversal semelhantes indica uma maior condutividade.

$$R = \frac{\rho \cdot L}{A} \text{ (Equação 6)}$$

$$\sigma = \frac{1}{\rho} \text{ (Equação 7)}$$

onde R é a resistência elétrica (Ω), L é o comprimento (m), A é a área da seção transversal (m^2), ρ é a resistividade ($\Omega \cdot m$), e σ é a condutividade ($S \cdot m^{-1}$, sendo $S = \Omega^{-1}$)

3.2.6 Ângulos de contato

Para verificar qualitativamente a remoção de parte do PLA superficial (mais hidrofílico), expondo uma maior quantidade do material condutor (negro de fumo, mais hidrofóbico) (KOZŁOWSKA *et al.*, 2024), o filamento e os eletrodos tratados e não tratados tiveram os seus ângulos de contato determinados pelo método da gota sésil em triplicata, utilizando um goniômetro (Dataphysics OCA 15, *software* SCA20). O ângulo de contato obtido pela deposição de 3 μL de água ultrapura sobre as amostras foi calculado pela média aritmética entre os ângulos direito e esquerdo da gota. ANOVA e teste de Tukey foram realizados para identificar quais eletrodos submetidos aos diversos tratamentos possuem diferenças estatísticas entre eles.

3.2.7 Microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia por energia dispersiva (MEV-EDS)

Para verificar o efeito dos tratamentos na superfície dos eletrodos e buscar compreender como os tratamentos os afetam, foram realizadas análises por MEV-EDS (VEGA3, TESCAN) no filamento e nos eletrodos tratados e não tratado. As amostras foram presas aos suportes com o auxílio de uma fita de carbono e recobertas com platina. Para a obtenção das imagens com diversas ampliações por MEV, foi utilizada a tensão de aceleração do feixe de elétrons de 10,0 keV. Para a obtenção dos espectros EDS, foi empregada a tensão de 20,0 keV e a ampliação de 80x.

A técnica de MEV também foi utilizada para analisar as nanopartículas magnéticas sintetizadas (Seção 3.2.11), o eletrodo com nanopartículas (Seção 3.2.11) e o eletrodo com a enzima imobilizada por adsorção física (Seção 3.2.12). Nessas análises, foi utilizado o modelo FEI da Thermo Fisher, com tensão de aceleração do feixe de elétrons de 5,0 e 10,0 keV. As amostras novamente foram presas aos suportes por uma fita de carbono e recobertas com platina.

3.2.8 Espectroscopia no infravermelho

3.2.8.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada (FTIR-ATR)

Buscando verificar uma maior exposição do negro de fumo presente no filamento, tanto o filamento quanto os eletrodos (tratados e não tratado) foram caracterizados por FTIR-ATR (VERTEX 70, BRUKER), e os dados manipulados no *software OPUS 8.1 e Origin*. Com as deformidades causadas pelos tratamentos ao removerem parte do polímero superficial, espera-se o surgimento de bandas características do negro de fumo com maiores intensidades. A vantagem da utilização da técnica com cristal ATR é a possibilidade de realizar as análises diretamente no filamento e nos eletrodos, não sendo necessário a transformação das amostras em pó e o preparo de pastilhas de KBr (SANTOS, 2007). A faixa analisada foi de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} .

3.2.8.2 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é uma técnica não destrutiva que tem sido amplamente utilizada para a caracterização de diversos materiais de carbono, como diamante, grafite, carbono amorfo, carvões, nanotubos, fulerenos e negro de fumo (JAWHARI *et al.*, 1995; TOMASINI *et al.*, 2012). Nos espectros Raman de materiais carbonáceos, há a presença de dois picos característicos, mostrados na Figura 18: banda G ("grafite") localizada em torno de 1580 cm^{-1} e a banda D (ou D1, "defeito" ou "desordem") em aproximadamente 1350 cm^{-1} . A banda G está relacionada ao modo de vibração ideal de uma rede gráfrica com simetria E_{2g} , enquanto a banda D surge devido a desordens na estrutura gráfrica, sendo atribuída ao espalhamento Raman por ressonância dupla (KAMEYA e HANAMURA, 2011)

A relação de intensidade I_D/I_G e a largura total à meia altura (*full width at half maximum* – FWHM) dessas bandas estão fortemente associadas à microestrutura dos materiais carbonáceos. A redução de I_D/I_G e FWHM geralmente aponta para uma

diminuição na desordem estrutural de carbonos altamente desordenados (KAMEYA e HANAMURA, 2011; SARAVANAN *et al.*, 2014). Para uma determinação precisa desses parâmetros, aplica-se um método de ajuste de curva nos espectros Raman (Figura 18) (KAMEYA e HANAMURA, 2011).

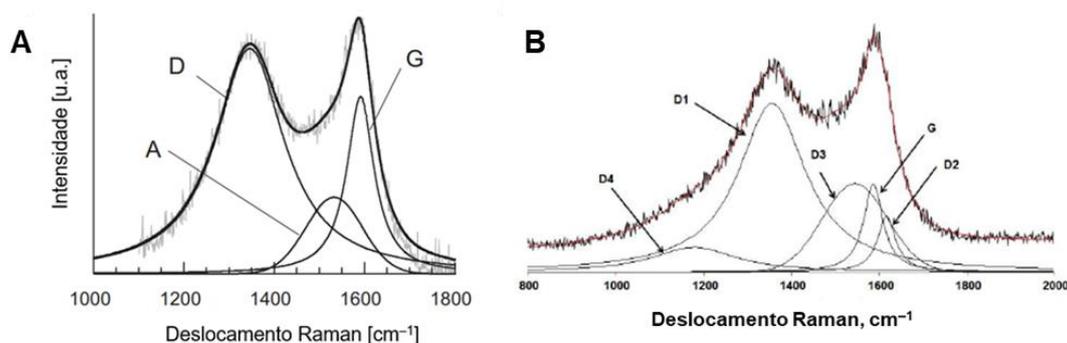


Figura 18. Exemplo de espectro Raman e o resultado do ajuste de curva de 3 bandas (A) e 5 bandas (B).

Fonte: Adaptado de Kameya e Hanamura (2011) e Pawlyta *et al.* (2015)

Ao analisar os espectros Raman de carbonos altamente desordenados, como fuligem e negros de fumo, é possível obter melhores resultados de ajuste de curva ao introduzir uma banda ampla em torno de 1500 cm^{-1} . Essa banda é chamada de banda A (ou D3) e está relacionada ao conteúdo de carbono amorfo. O ajuste de curva permite obter parâmetros espectroscópicos Raman que caracterizam com precisão diferentes propriedades de alguns negros de carbono. Além das bandas mencionadas, outras bandas também foram observadas nos espectros Raman de carbonos desordenados: a banda D2 em cerca de 1620 cm^{-1} e a banda D4 em aproximadamente 1180 cm^{-1} . Embora um método de ajuste de curva com cinco bandas (G e D1–D4) tenha sido proposto, a deconvolução dos picos largos de sinal através do ajuste de curva com esse número de bandas pode apresentar alta incerteza estatística, dificultando sua aplicação (KAMEYA e HANAMURA, 2011).

Diante da importância dessa técnica na caracterização de materiais carbonáceos, o filamento e os eletrodos tratados e não tratado foram caracterizados utilizando um microscópio Raman (DRX, Thermo Scientific), usando um *laser* de 532 nm , com deslocamento Raman de $200\text{ a }3500\text{ cm}^{-1}$ e resolução espectral de 2 cm^{-1} .

3.2.9 Análises térmicas

3.2.9.1 Termogravimetria

A fim de verificar o conteúdo de negro de fumo do filamento comercial empregado e compreender o efeito dos tratamentos utilizados na estabilidade térmica dos eletrodos, foi realizada a análise termogravimétrica (TGA) (Pyris 1, PerkinElmer) no filamento e na parte circular dos eletrodos tratados e não tratado, aquecendo as amostras de 50 a 600 °C a uma taxa de aquecimento de 2 °C por minuto, sob atmosfera inerte. Foram avaliadas temperatura de início de degradação (T_{onset}) e as temperaturas de pico de degradação (T_{peak}). T_{peak} corresponde ao ponto mínimo da primeira derivada da variação da massa de material com relação à temperatura de degradação e indica a temperatura na qual a taxa de degradação é máxima. Para comparação, um filamento de PLA puro, obtido em extrusora (Filmaq3D CV), também foi utilizado.

3.2.9.2 Análise dinâmico-mecânica

Para compreender o efeito dos tratamentos nas propriedades mecânicas e viscoelásticas dos eletrodos, as amostras já citadas foram submetidas à análise dinâmico-mecânica (DMA) (DMA 8000, PerkinElmer). Os experimentos foram realizados com um aumento gradual de temperatura de 2 °C por minuto, variando da temperatura ambiente até 100 °C. Da mesma forma que na TGA, um filamento de PLA puro, obtido em extrusora (Filmaq3D CV), também foi avaliado.

3.2.10 Planejamento experimental para a otimização da concentração de NaOH e do tempo de imersão no tratamento escolhido

Neste trabalho, após a escolha do melhor tratamento com base nos dados da caracterização eletroquímica dos eletrodos submetidos aos tratamentos da Tabela 5 (imersão em 30 mL de NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 minutos), um planejamento fatorial completo de 3 níveis, denotados como baixo (-1), médio (0) e alto (1), e dois fatores foi realizado para verificar a possibilidade de redução da concentração de reagente e o melhor tempo de tratamento para esse método de ativação. As faixas de variação das variáveis utilizadas são encontradas na Tabela 6, e o planejamento fatorial 3² proposto é apresentado na Tabela 7. Os experimentos foram realizados de forma aleatória.

Tabela 6. Intervalo de variação das variáveis de entrada do planejamento fatorial completo a três níveis.

Variável	-1	0	+1
Concentração de NaOH (mol L ⁻¹)	1	2	3
Tempo de tratamento (min)	15	30	45

Tabela 7. Planejamento experimental fatorial completo a três níveis.

Experimento	z_1	z_2
1	+1	-1
2	-1	0
3	-1	+1
4	0	-1
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	+1
9	+1	-1
10	+1	0
11	+1	+1

z_1 e z_2 são as variáveis normalizadas, correspondendo, respectivamente, às variáveis experimentais concentração de NaOH e tempo de tratamento.

As análises estatísticas e o desenvolvimento dos modelos empíricos para as variáveis I_{pa} , I_{pa}/I_{pc} , ΔE_p (todos a 75 mV s⁻¹) e R_{ct} foram realizados utilizando o *software Statistica* (Stat Soft Inc, versão 12). Para os cálculos estatísticos, assumiu-se uma distribuição normal de probabilidade dos erros de medição, adotando um nível de confiança de 95%. A variância das flutuações experimentais foi estimada a partir das triplicatas realizadas no ponto central, sendo considerada constante em toda a região experimental.

A função objetivo (F_{obj}), usada para estimar os parâmetros do modelo (Equação 8), baseou-se no método dos mínimos quadrados, sob a premissa de que o modelo é perfeito e os experimentos foram realizados de forma independente, estando sujeitos apenas a erros de medição aleatórios (SCHWAAB e PINTO, 2007; SCHWAAB e PINTO, 2011). A equação é descrita como:

$$F_{obj} = \sum_{i=1}^{NE} (y_i^e - y_i^c) \quad (\text{Equação 8})$$

onde NE representa o número total de experimentos, y^e é o valor experimental medido, e y^c corresponde aos valores calculados com base no modelo proposto.

Os modelos empíricos inicialmente adotados são descritos pela Equação 9. Nessa equação, α_i são os parâmetros do modelo, z_1 e z_2 representam as variáveis de entrada

normalizadas (concentração de NaOH e tempo de tratamento, respectivamente), e y é a variável de resposta analisada (I_{pa} , I_{pa}/I_{pc} , ΔE_p e R_{ct}) (SCHWAAB e PINTO, 2007; SCHWAAB e PINTO, 2011):

$$y = \alpha_0 + \alpha_1 z_1 + \alpha_2 z_2 + \alpha_3 z_1 z_2 + \alpha_4 z_1^2 + \alpha_5 z_2^2 + \alpha_6 z_1^2 z_2 + \alpha_7 z_1 z_2^2 + \alpha_8 z_1^2 z_2^2 \text{ (Equação 9)}$$

Os modelos finais foram ajustados considerando os parâmetros estatisticamente significativos, com nível mínimo de significância de 95%. Dessa forma, buscou-se descrever o sistema de maneira satisfatória utilizando o menor número possível de parâmetros significativos.

3.2.11 Síntese, caracterização e avaliação do uso de nanopartículas magnéticas

Nanopartículas magnéticas (Fe_3O_4) têm sido empregadas no desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos em diversos trabalhos da literatura (AYDIN *et al.*, 2024; BOHLOOLI *et al.*, 2022; CAO *et al.*, 2014; GAYA *et al.*, 2023; KHOSRAVI *et al.*, 2023; LI *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2024). Essas nanopartículas podem servir como uma plataforma de suporte, proporcionando uma maior razão superfície-volume, permitindo um aumento da área efetiva de detecção e oferecendo mais sítios de adsorção para a ligação entre biorreceptores e biomoléculas (LI *et al.*, 2021). A fim de avaliar o efeito da presença de nanopartículas magnéticas sobre o desempenho dos eletrodos selecionados, nanopartículas de magnetita foram utilizadas, tendo sido sintetizadas utilizando o método de coprecipitação, adaptado de Bedê *et al.* (2017).

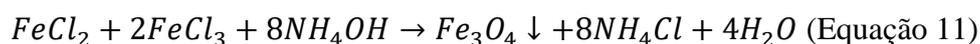
A metodologia iniciou-se com o preparo das soluções de Fe^{2+} e Fe^{3+} . A solução de cloreto de ferro (II) ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) foi obtida a partir da reação entre cloreto de cálcio e sulfato ferroso, como ilustrado na Equação 10:



Inicialmente, dissolveram-se 7,35 g de cloreto de cálcio em 40 mL de água deionizada. Separadamente, 13,90 g de sulfato ferroso foram dissolvidos em outros 40 mL de água deionizada. As soluções foram misturadas em um béquer sob agitação manual, resultando na formação de um precipitado branco (CaSO_4). Após filtração a vácuo e lavagem do precipitado com 20 mL de água deionizada, o sobrenadante contendo FeCl_2 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) foi coletado para as etapas subsequentes.

A solução de cloreto de ferro (III) ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) foi preparada dissolvendo-se 13,52 g de cloreto de ferro (III) hexa-hidratado em 100 mL de água deionizada.

A magnetita foi sintetizada por precipitação em meio básico. Para isso, as soluções equimolares de FeCl_2 e FeCl_3 foram misturadas em um reator de vidro borossilicato encamisado, mantido sob agitação mecânica vigorosa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$. Após o equilíbrio térmico, 25 mL de solução de NH_4OH (28-30% m/v) foram adicionados, promovendo a formação imediata de um precipitado preto e um pH final de 11. A reação de formação da magnetita é descrita pela Equação 11:



A proporção equimolar de Fe^{2+} e Fe^{3+} foi utilizada para evitar a oxidação de Fe^{2+} e garantir a presença de íons Fe^{2+} na magnetita. O sistema permaneceu sob agitação a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 15 minutos, permitindo o crescimento uniforme das nanopartículas.

Após o resfriamento à temperatura ambiente, as nanopartículas de magnetita foram separadas com o auxílio de um ímã, e o sobrenadante foi descartado. As partículas foram lavadas repetidamente com água ultrapura até que o pH atingisse a neutralidade. As nanopartículas foram guardadas em geladeira em dispersões coloidais para uso futuro na tentativa de prevenir agregações.

Para determinar a concentração das dispersões, uma placa de Petri foi previamente seca em estufa a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ até atingir massa constante. Em seguida, 5 mL das dispersões foram depositados sobre as placas e submetidos à evaporação da água até estabilização da massa. Dispersões coloidais de nanopartículas com diferentes concentrações (0,05, 1, 2 e 10 mg mL^{-1}) foram preparadas e aplicadas sobre eletrodos previamente tratados com $\text{NaOH } 3 \text{ mol L}^{-1}$ por 30 minutos, utilizando a técnica de *drop-casting*. Para isso, 20 μL das dispersões foram depositadas sobre os eletrodos, formando um filme fino. Os eletrodos recobertos com as nanopartículas, denominados NaOH-magnetita, foram secos a vácuo por 2 horas e, posteriormente, analisados por CV e EIS (triplicata) em uma solução 1:1 mmol L^{-1} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os dados obtidos (I_{pa} , I_{pa}/I_{pc} , ΔE_p , todos a 75 mV s^{-1} , e R_{ct}) foram analisados por ANOVA e teste de Tukey

Com o propósito de verificar a distribuição de tamanho e a carga superficial das nanopartículas sintetizadas neste trabalho, foi utilizado um analisador do tamanho de partículas (Litesizer 500, Anton Paar). Além disso, as nanopartículas foram caracterizadas por FTIR-ATR (VERTEX 70, BRUKER), conforme descrito na Seção 3.2.8.1, e MEV (FEI, Thermo Fisher), explicado na Seção 3.2.7. Antes das análises por

DLS, potencial zeta e da deposição, a dispersão aquosa contendo as nanopartículas foram sonicadas por 10 minutos na potência de 70% em sonificador de ponteira ultrassônico (Ecosonics Ultronique).

3.2.12 Avaliação da detecção de glifosato pelo biossensor eletroquímico enzimático

Inicialmente, foi realizado um estudo da cinética da reação empregando a enzima fosfatase ácida para a fabricação do biossensor, baseando-se na inibição da enzima pelo glifosato, ao quebrar o substrato fenilfosfato (Apêndice K). Essa etapa do trabalho foi fortemente influenciada pelo trabalho de Butmee *et al.* (2021), que parece ser o único da literatura a empregar a inibição da fosfatase ácida pelo glifosato como estratégia para desenvolver um biossensor eletroquímico para detecção desse herbicida.

A inibição da enzima pelo glifosato foi investigada utilizando um espectrofotômetro de microplaca (BioTek Epoch, Agilent). Os ensaios foram realizados em temperatura ambiente (~25 °C) em uma placa de 96 poços, utilizando o volume de 200 µL, e as reações paradas com a adição de 100 µL de uma solução de NaOH 2 mol L⁻¹. As varreduras foram feitas de 200 a 999 nm, com leituras de 5 em 5 nm. O volume das soluções empregadas pode ser conferido nas Tabelas 8 e 9. Para cada tampão utilizado, a solução de substrato foi preparada com o respectivo tampão.

Tabela 8. Volumes adicionados para os ensaios utilizando espectrofotometria UV-Vis sem glifosato.

Concentração de substrato (mmol L ⁻¹)	Volume de tampão (µL)	Volume da solução de substrato (µL)	Volume da solução de enzima (5 mg mL ⁻¹) (µL)
		Solução estoque: 10 mmol L⁻¹	
0	180	0	20
0,1	178	2	20
0,25	175	5	20
0,5	170	10	20
1	160	20	20
2	140	40	20
3	120	60	20
4	100	80	20
5	80	100	20
6	60	120	20
8	20	160	20
		Solução estoque: 100 mmol L⁻¹	
12	156	24	20
16	148	32	20
80	20	160	20

Tabela 9. Volumes adicionados para os ensaios utilizando espectrofotometria UV-Vis com glifosato.

Concentração de substrato (mmol L ⁻¹)	Volume de tampão (μL)	Volume da solução de substrato (μL)	Volume da solução de glifosato (μL)	Volume da solução de enzima (5 mg mL ⁻¹) (μL)
		Solução estoque: 10 mmol L⁻¹		
			Solução estoque: 10 μg L⁻¹	
0	160	0	20	20
0,1	158	2	20	20
0,25	155	5	20	20
0,5	150	10	20	20
1	140	20	20	20
2	120	40	20	20
3	100	60	20	20
4	80	80	20	20
5	60	100	20	20
6	40	120	20	20
8	0	160	20	20
		Solução estoque: 100 mmol L⁻¹		
12	136	24	20	20
16	128	32	20	20
80	0	160	20	20

Os brancos para o ensaio de cinética enzimática foram obtidos com as soluções sem substrato na presença ou ausência de glifosato (1 μg mL⁻¹). As reações foram paradas após 2 minutos, e os experimentos realizados em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ no pH 5,6, próximo ao pH 5,7, valor ideal para a fosfatase ácida segundo o fabricante (SIGMA-ALDRICH, [s.d.]). Para os ensaios de acompanhamento da reação ao longo do tempo, a solução contendo 3 mmol L⁻¹ de substrato (próximo ao valor de K_M da enzima), com ou sem glifosato (1 μg mL⁻¹), no tempo zero de reação foi empregada como branco. Novamente, tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) foi utilizado. Nos ensaios de comparação com o trabalho de Butmee *et al.* (2021), as soluções contendo 3 mmol L⁻¹ ou 80 mmol L⁻¹ (próximo à concentração utilizada por Butmee *et al.* (2021)) de fenilfosfato em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6), tampão acetato (pH 7,0, tampão e pH utilizados por Butmee *et al.* (2021)) ou tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0), com ou sem glifosato (1 μg mL⁻¹), no tempo zero de reação foram usados como brancos. Nesses ensaios, a reação foi parada após 16 minutos (Apêndice K).

Sobre o eletrodo tratado com NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 minutos, 20 μL de uma solução de fosfatase ácida 5 mg mL⁻¹ foram depositados pela técnica de *drop-casting*. Os eletrodos foram secos a vácuo por 2 horas e guardados em geladeira até o dia seguinte. O eletrodo com as enzimas imobilizadas por adsorção física foi caracterizado por FTIR-ATR (VERTEX 70, BRUKER) e MEV (FEI, Thermo Fisher) (Seções 3.2.8.1 e 3.2.7). A detecção indireta de glifosato foi investigada por CV (50 mV s⁻¹) e DPV (Apêndice A.2.3) ($E_{passo} = 0,005$ V; $E_{pulso} = 0,05$ V e $t_{pulso} = 0,05$ s) em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) contendo 3 mmol L⁻¹ de fenilfosfato, com tempo de inibição de 16 minutos (escolha

discutida no Apêndice K). Nesses ensaios, foi utilizada uma célula eletroquímica de 25 mL preenchida com 20 mL da solução contendo substrato, com ou sem glifosato $1 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os eletrodos sempre foram presos na mesma posição e apenas a parte circular era submersa, a fim de se evitar variações na área dos eletrodos em contato com a solução. Para compreender e estudar a oxidação do fenol, produto do substrato ao ser quebrado pela enzima, testes preliminares sob as mesmas condições foram realizados em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,6) contendo 3 mmol L^{-1} de fenol, utilizando o eletrodo otimizado sem a enzima imobilizada.

3.2.13 Avaliação da detecção de fipronil pelo sensor eletroquímico

A detecção de fipronil foi investigada por CV (50 mV s^{-1}) e DPV (Apêndice A.2.3) ($E_{\text{passo}} = 0,005 \text{ V}$; $E_{\text{pulso}} = 0,05 \text{ V}$ e $t_{\text{pulso}} = 0,05 \text{ s}$) em tampão Britton-Robinson (BR) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pHs 7, 8, 9, 10 e 11, preparados de acordo com a Tabela 10 (MONGAY e CERDÀ, 1974), utilizando os eletrodos impressos em 3D tratados em NaOH 3 mol L^{-1} por 30 minutos. Para isso, uma solução estoque de fipronil (5 mmol L^{-1}) foi preparada em álcool etílico absoluto e, em seguida, diluída nos tampões para uma concentração final de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$, baseando-se em trabalhos como os de Okumura *et al.* (2016) e El-Akaad *et al.* (2022). Nesses ensaios, uma célula eletroquímica de 25 mL preenchida com 20 mL da solução contendo o analito também foi empregada, garantindo que somente a parte circular dos eletrodos, presos sempre na mesma posição, estivesse em contato com o tampão.

Tabela 10. Quantidades adicionadas de cada reagente para o preparo de 250 mL de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em vários pHs, calculadas a partir da tabela fornecida por Mongay e Cerdà (1974).

pH	NaOH (mg)	CH ₃ COOH (μL)	H ₃ PO ₄ (μL)	H ₃ BO ₃ (mg)	KCl adicionado (mg)
4	400	457,6	545,7	494,8	1140,5
5	518,5	423,6	505,4	458,0	920,8
6	596,5	404,4	478,8	434,0	739,8
7	688,5	375,0	447,3	405,5	451,0
8	750,0	357,4	426,4	386,5	89,3
9	806,0	341,4	407,2	369,3	-
10	873,3	322,1	384,3	348,3	-
11	904,0	313,3	373,8	338,8	-

CAPÍTULO 4

Resultados e Discussão

4.1 Escolha dos parâmetros de impressão

Primeiramente, o fatiador *Creativity Slicer*® foi usado para fatiar o modelo da Figura 14, que foi impresso com preenchimento em linha sobre a mesa de polieterimida texturizada. Para velocidades de impressão e espessuras de camada mais baixas, nenhum eletrodo foi impresso corretamente (Figura 19.1). A impressão sobre a mesa de vidro foi, então, testada usando tanto o preenchimento em linha quanto em grade. Novamente, a impressora não foi capaz de produzir os eletrodos em velocidades e espessuras de camada mais baixas (Figura 19.2).

Em todas as figuras apresentadas nesta seção, haverá uma imagem da mesa utilizada para facilitar a visualização e a compreensão da sequência das impressões. Quando necessário, a mesa de polieterimida texturizada receberá o número 1, enquanto a mesa de vidro receberá o número 2, ambos em vermelho.

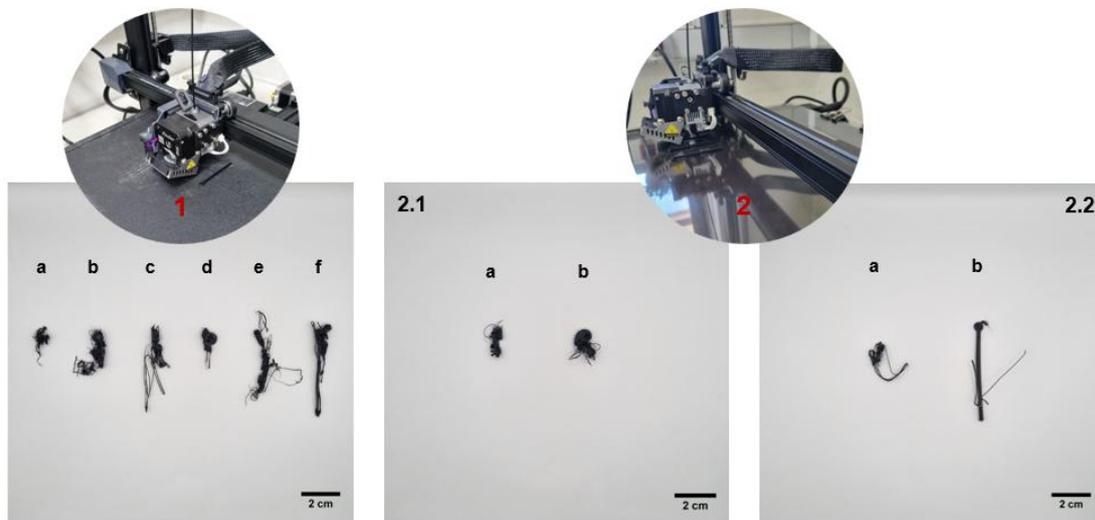


Figura 19. Impressão dos eletrodos sobre a mesa de polieterimida texturizada e de vidro com diferentes velocidades de impressão e espessuras de camada, utilizando o fatiador *Creativity Slicer*®. (1) Mesa de vidro (preenchimento em linha): (a) 30 mm s^{-1} e $0,05 \text{ mm}$, (b) 30 mm s^{-1} e $0,1 \text{ mm}$, (c) 30 mm s^{-1} e $0,2 \text{ mm}$, (d) 60 mm s^{-1} e $0,05 \text{ mm}$, (e) 60 mm s^{-1} e $0,1 \text{ mm}$ e (f) 60 mm s^{-1} e $0,2 \text{ mm}$. (2) Mesa de vidro: (2.1) Preenchimento em linha: (a) 30 mm s^{-1} e $0,05 \text{ mm}$ e (b) 30 mm s^{-1} e $0,2 \text{ mm}$; (2.2) Preenchimento em grade: (a) 30 mm s^{-1} e $0,2 \text{ mm}$ e (b) 60 mm s^{-1} e $0,2 \text{ mm}$.

Temperatura de extrusão: $210 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura da mesa: $60 \text{ }^\circ\text{C}$, densidade de enchimento: 100%, multiplicador de extrusão: 1,1, dois percursos de perímetro.

Embora não tenha sido possível fabricar os eletrodos utilizando o fatiador *Creality Slicer*®, o preenchimento em grade pareceu possibilitar um melhor acabamento superficial dos eletrodos e, portanto, foi utilizado para testar a impressão usando o segundo fatiador.

O fatiador *Simplify 3D*® apresenta recursos mais avançados de personalização e controle sobre parâmetros de impressão do que o primeiro. Visando à obtenção de um eletrodo com bom acabamento superficial, outros parâmetros como a altura da primeira camada e a sobreposição de contorno também foram avaliados.

A altura da primeira camada é um parâmetro expresso em porcentagem que define a altura da primeira camada de impressão em relação à altura das camadas (3D LAB, 2018). É uma configuração importante, porque a primeira camada é essencial para a adesão da peça à mesa de impressão, reduzindo problemas como falhas de adesão ou irregularidades presenciadas ao utilizar o fatiador *Creality Slicer*®. Já a sobreposição de contorno pode ser entendida como uma porcentagem da largura da extrusão (INSTA3D, 2020). É uma configuração que define a quantidade de sobreposição entre as paredes da peça e o preenchimento interno, garantindo que se unam adequadamente, outro problema enfrentado com o primeiro fatiador.

Os primeiros testes com o fatiador *Simplify 3D*® foram feitos utilizando a mesa de polieterimida texturizada. A altura da primeira camada foi 100% e a sobreposição de contorno 15% (Figura 20). A impressora foi capaz de produzir eletrodos, não havendo diferenças visuais significativas entre aqueles impressos com espessura de camada de 0,2 mm nas velocidades de 30 e 60 mm s⁻¹ (Figura 20c e Figura 20f).

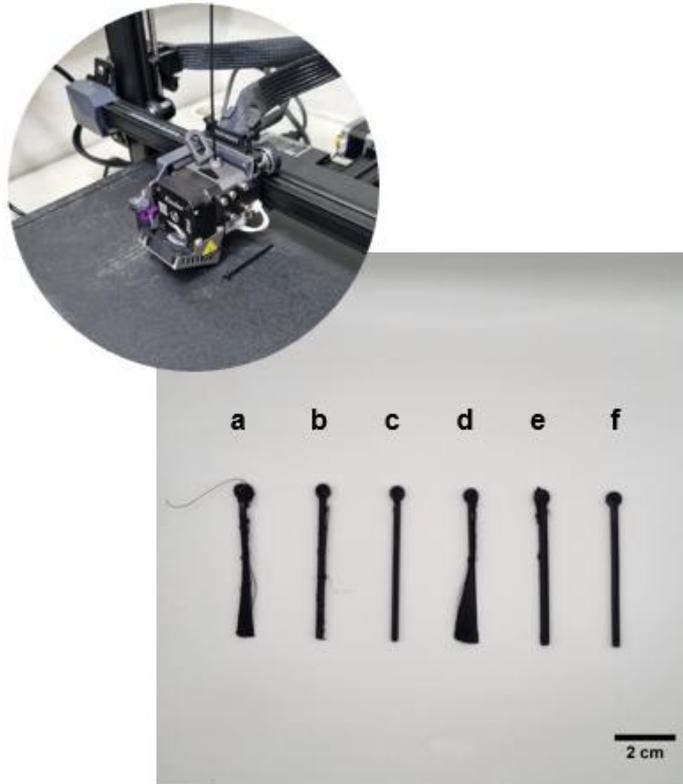


Figura 20. Impressão dos eletrodos sobre a mesa de polieterimida texturizada com diferentes velocidades de impressão e espessuras de camada, utilizando o fatiador *Simplify 3D*®. (a) 30 mm s^{-1} e $0,05 \text{ mm}$; (b) 30 mm s^{-1} e $0,1 \text{ mm}$, (c) 30 mm s^{-1} e $0,2 \text{ mm}$, (d) 60 mm s^{-1} e $0,05 \text{ mm}$, (e) 60 mm s^{-1} e $0,1 \text{ mm}$, (f) 60 mm s^{-1} e $0,2 \text{ mm}$.

Temperatura de extrusão: $210 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura da mesa: $60 \text{ }^\circ\text{C}$, densidade de enchimento: 100%, multiplicador de extrusão: 1,1, dois percursos de perímetro, preenchimento em grade, altura da primeira camada: 100%, sobreposição de contorno: 15%.

Objetivando conseguir um eletrodo com boa qualidade superficial, mas com menores espessuras de camada, diferentes alturas da primeira camada e sobreposições de contorno foram avaliadas (Figura 21). É válido ressaltar que essa triagem inicial de eletrodos impressos em 3D com diferentes parâmetros de impressão foi baseada nos trabalhos de Abdalla *et al.* (2020) e Rocha *et al.* (2022), mas que a variação desses parâmetros pode alterar o desempenho do eletrodo sem tratamento. Para isso, um estudo com a impressora utilizada neste trabalho poderia ser realizado verificando a influência de todos esses parâmetros de impressão no desempenho dos eletrodos sem tratamento, o que foge do escopo desta dissertação.

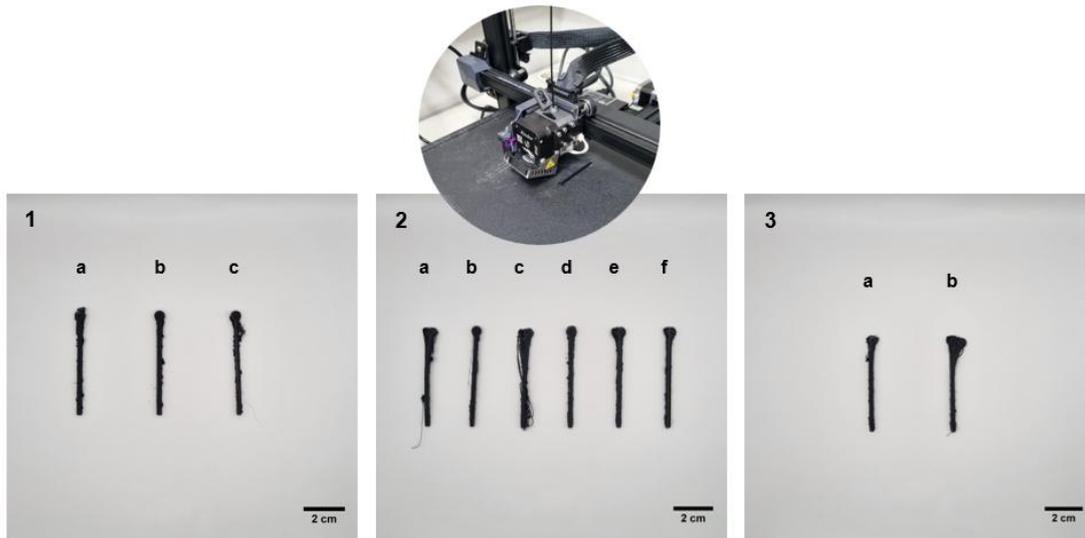


Figura 21. Impressão dos eletrodos sobre a mesa de polieterimida texturizada com velocidade de impressão de 30 mm s^{-1} e espessura de camada de $0,1 \text{ mm}$, com diferentes valores de sobreposição de contorno e altura da primeira camada, utilizando o fatiador *Simplify 3D*®. As porcentagens após as letras representam a altura da primeira camada utilizada. (1) Sobreposição de contorno de 15%: (a) 80%, (b) 100% e (c) 150%; (2) Sobreposição de contorno de 35%: (a) 40%, (b) 50%, (c) 60%, (d) 80%, (e) 100% e (f) 150%; (3) Sobreposição de contorno de 50%: (a) 40% e (b) 60%.

Temperatura de extrusão: $210 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura da mesa: $60 \text{ }^\circ\text{C}$, densidade de enchimento: 100%, multiplicador de extrusão: 1,1, dois percursos de perímetro, preenchimento em grade.

Como observado na Figura 21, a impressora não foi capaz de fabricar os eletrodos, cujo modelo havia sido previamente fatiado no *Simplify 3D*®, utilizando espessuras de camada menores do que $0,2 \text{ mm}$, mesmo variando a altura da primeira camada e a sobreposição de contorno. Assim, um novo teste foi proposto (Figura 22) para verificar o acabamento superficial de eletrodos impressos com velocidade de impressão de 30 mm s^{-1} e espessura de camada de $0,2 \text{ mm}$, que já haviam apresentado um bom acabamento na Figura 20c.

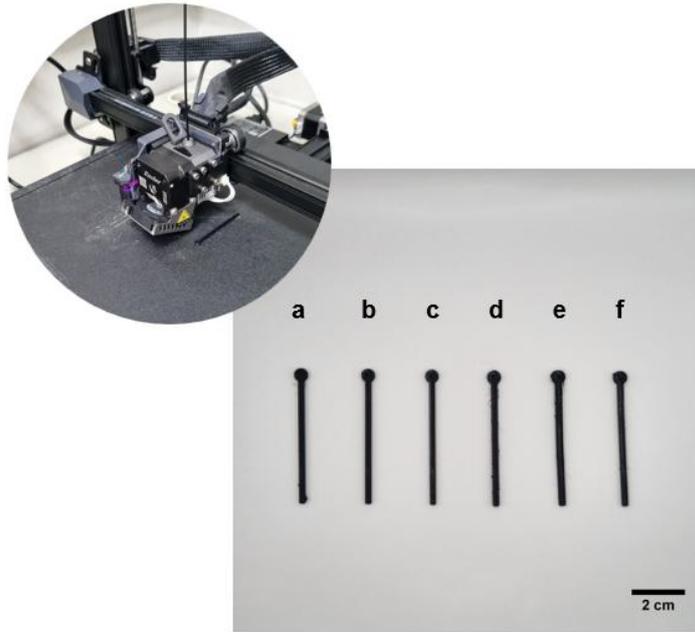


Figura 22. Impressão dos eletrodos sobre a mesa de polieterimida texturizada com velocidade de impressão de 30 mm s^{-1} e espessura de camada de 0,2 mm, com diferentes valores de sobreposição de contorno e altura da primeira camada, utilizando o fatiador *Simplify 3D*®. As porcentagens após as letras representam a altura da primeira camada utilizada. Sobreposição de contorno de 15%: (a) 80%, (b) 100% e (c) 150%. Sobreposição de contorno de 35%: (d) 80%, (e) 100% e (f) 150%.

Temperatura de extrusão: $210 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura da mesa: $60 \text{ }^\circ\text{C}$, densidade de enchimento: 100%, multiplicador de extrusão: 1,1, dois percursos de perímetro, preenchimento em grade.

O aumento da sobreposição de contorno pode ocasionar o surgimento de protuberâncias ao longo do eletrodo, uma vez que uma maior quantidade de sobreposição entre as paredes da peça e o preenchimento interno é depositada. Ao mesmo tempo, a redução dos valores desse parâmetro poderia dificultar a adesão entre as camadas depositadas, como foi observado ao utilizar o *Creativity Slicer*®. Assim, a sobreposição de contorno de 15% se mostrou adequada para a obtenção de eletrodos depositados na mesa de polieterimida texturizada pela impressora utilizada neste trabalho.

Durante as impressões, verificou-se também que alturas da primeira camada abaixo de 100% nem sempre permitiam uma boa aderência dos eletrodos, o que é imprescindível para a sua impressão adequada. Assim, para essa mesa, os eletrodos com altura de camada de 100 e 150% e sobreposição de contorno de 15% (Figura 22b e Figura 22c), revelaram-se aqueles com melhor acabamento superficial, não havendo grandes diferenças visuais entre si.

A maior dificuldade verificada ao se utilizar a mesa de polieterimida texturizada é que a primeira camada dos eletrodos depositadas sobre a plataforma geralmente se adere

fortemente à mesa áspera, dificultado a remoção do objeto após a impressão. O auxílio de espátulas, por exemplo, acaba sendo necessário e, muitas vezes, entortam os eletrodos produzidos.

Dessa forma, testes semelhantes foram repetidos utilizando a mesa de vidro e o fatiador *Simplify 3D*®, mas usando a velocidade de 30 mm s^{-1} e a sobreposição de contorno de 15% (Figura 23).

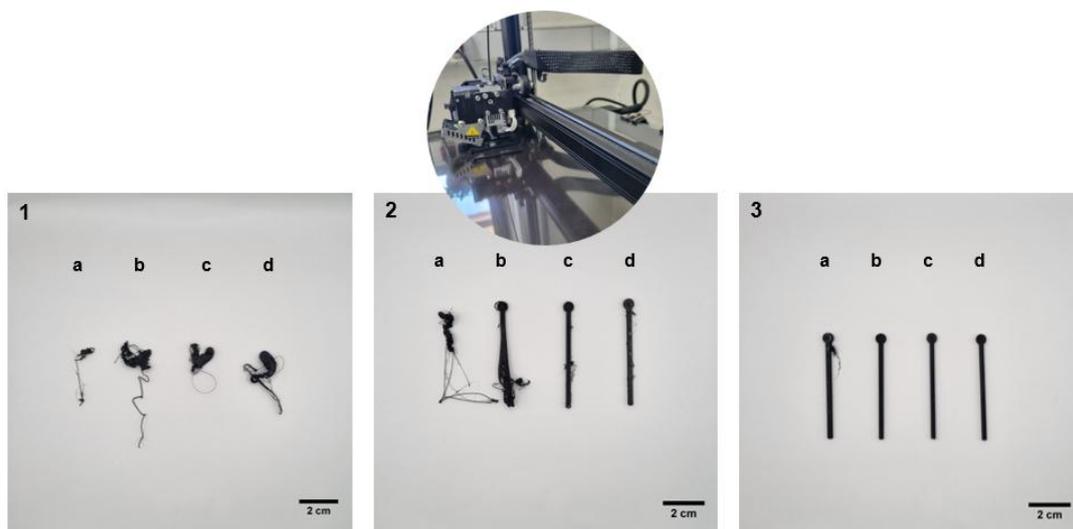


Figura 23. Impressão dos eletrodos sobre a mesa de vidro com velocidade de impressão de 30 mm s^{-1} e sobreposição de contorno de 15%, com diferentes valores de espessura de camada e altura da primeira camada, utilizando o fatiador *Simplify 3D*®. As porcentagens após as letras representam a altura da primeira camada utilizada. (1) Espessura de camada de 0,05 mm: (a) 60%, (b) 80%, (c) 100% e (d) 150%; (2) Espessura de camada de 0,1 mm: (a) 60%, (b) 80%, (c) 100% e (d) 150%; (3) Espessura de camada 0,2 mm: (a) 60%, (b) 80%, (c) 100% e (d) 150%.

Temperatura de extrusão: $210 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura da mesa: $60 \text{ }^\circ\text{C}$, densidade de enchimento: 100%, multiplicador de extrusão: 1,1, dois percursos de perímetro, preenchimento em grade.

Assim como na mesa de polieterimida texturizada, a impressora não conseguiu, para o fatiador e mesa de vidro testados, gerar eletrodos com bom acabamento superficial utilizando espessuras de camada menores do que 0,2 mm. Visualmente, os eletrodos da Figura 23.3c e 23.3d não possuíam diferenças significativas, coincidindo com os eletrodos de melhor acabamento produzidos sobre a outra mesa. No entanto, a mesa de vidro foi escolhida por permitir a remoção do objeto gerado com maior facilidade, minimizando danos aos eletrodos. O eletrodo da Figura 23.3c foi escolhido e produzido com os parâmetros já mencionados na Tabela 4 da Seção 3.2.1.

O valor de uma bobina de 1 kg (335 m) do filamento *Protopasta*® (fevereiro de 2025) é US\$ 89,99 (PROTOPASTA, 2025). Assim, o custo de filamento para a produção de um eletrodo sem tratamento com os parâmetros de impressão da Tabela 4 é de US\$ 0,03.

4.2 Ativação dos eletrodos, caracterização eletroquímica e escolha do melhor tratamento

A ativação dos eletrodos neste trabalho foi realizada por meio de pós-tratamentos de superfície, envolvendo métodos químicos, eletroquímicos e suas combinações, conforme detalhado na Seção 3.2.2. Como dito, o tratamento químico consiste em submergir os eletrodos fabricados em uma solução específica, enquanto o tratamento eletroquímico envolve a aplicação de um potencial constante ou variável aos eletrodos durante um intervalo de tempo definido.

Inicialmente, buscou-se verificar se a utilização do banho ultrassônico contribuiria para a eficácia do tratamento químico, utilizando, nessa etapa de triagem, NaOH 3 mol L⁻¹. Conclui-se que o banho ultrassônico contribui menos para o aumento do desempenho eletroquímico do eletrodo do que o tratamento sem banho (ensaios de CV em triplicata a 50 mV s⁻¹), conforme discutido no Apêndice C.1.

Em relação aos tratamentos eletroquímicos, a triagem inicial revelou que os tratamentos por voltametria cíclica de -2,5 V a +2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹) em NaOH 0,1 mol L⁻¹ e de +2,5 V a -2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹) em NaOH 0,1 mol L⁻¹, propostos neste trabalho, apresentaram os melhores resultados em termos de reversibilidade eletroquímica utilizando Fe(CN)₆^{3-/4-} como par redox (cálculos realizados pelos parâmetros obtidos pela execução de ensaios de VC em triplicata em 50 mV s⁻¹ apenas), sem grandes diferenças entre os eletrodos submetidos a eles. O tratamento por CV de +2,5 V a -2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹) em NaOH 0,1 mol L⁻¹ foi, então, escolhido, como discutido no Apêndice C.2.

Após a realização dos tratamentos da Tabela 5, os eletrodos foram caracterizados eletroquimicamente em solução de 1:1 mmol L⁻¹ Fe(CN)₆^{3-/4-} em 0,1 mol L⁻¹ KCl (concentrações escolhidas no Apêndice C.3) por CV em 10 velocidades de varredura (dados coletados referentes ao terceiro ciclo de varredura) e EIS. As Figuras 24-29 apresentam um voltamograma cíclico (*I versus E*) representativo (uma das triplicatas) para cada velocidade de varredura do filamento e dos eletrodos tratados e não tratados

(seta preta indica o sentido da varredura), bem como o gráfico de I_{pa} versus \sqrt{v} com os desvios padrão e um gráfico de Nyquist (uma das triplicatas) para as mesmas amostras. Neste trabalho, optou-se pelo uso de dados de corrente, não pela densidade de corrente em $A\ cm^{-2}$. Ao comparar os voltamogramas cíclicos dos eletrodos não tratados com aqueles submetidos aos diversos tratamentos, assume-se que suas áreas submersas são similares. No entanto, é possível notar que a superfície dos eletrodos impressos em 3D não é totalmente plana, podendo haver diferenças na área superficial de eletrodos distintos. Além disso, os tratamentos realizados, ao removerem parte do PLA superficial, causam diversas deformidades na superfície, sendo que esses defeitos são distintos de acordo com o tratamento empregado.

A plotagem de I_{pa} versus \sqrt{v} , obtidos dos dados de CV, foi realizada para investigar o mecanismo de transporte de massa. O R^2 próximo de 1 revela que o processo eletroquímico é principalmente controlado pela difusão, como apresentado no Apêndice A.2.2 (BARD e FAULKNER, 2001). Portanto, optou-se pelo cálculo da área eletroativa do filamento, do eletrodo não tratado e dos eletrodos submetidos a cada tratamento através da manipulação do coeficiente angular da reta de I_{pa} versus \sqrt{v} (Equação A6). Esse procedimento é comumente utilizado em diversos trabalhos envolvendo eletrodos impressos em 3D (DOS SANTOS *et al.*, 2019; KALINKE *et al.*, 2020; KALINKE *et al.*, 2021; RICHTER *et al.*, 2019; ROCHA *et al.*, 2022), embora haja um aumento de ΔE_p com o aumento da velocidade de varredura, tendendo a uma quase-reversibilidade para esses eletrodos.

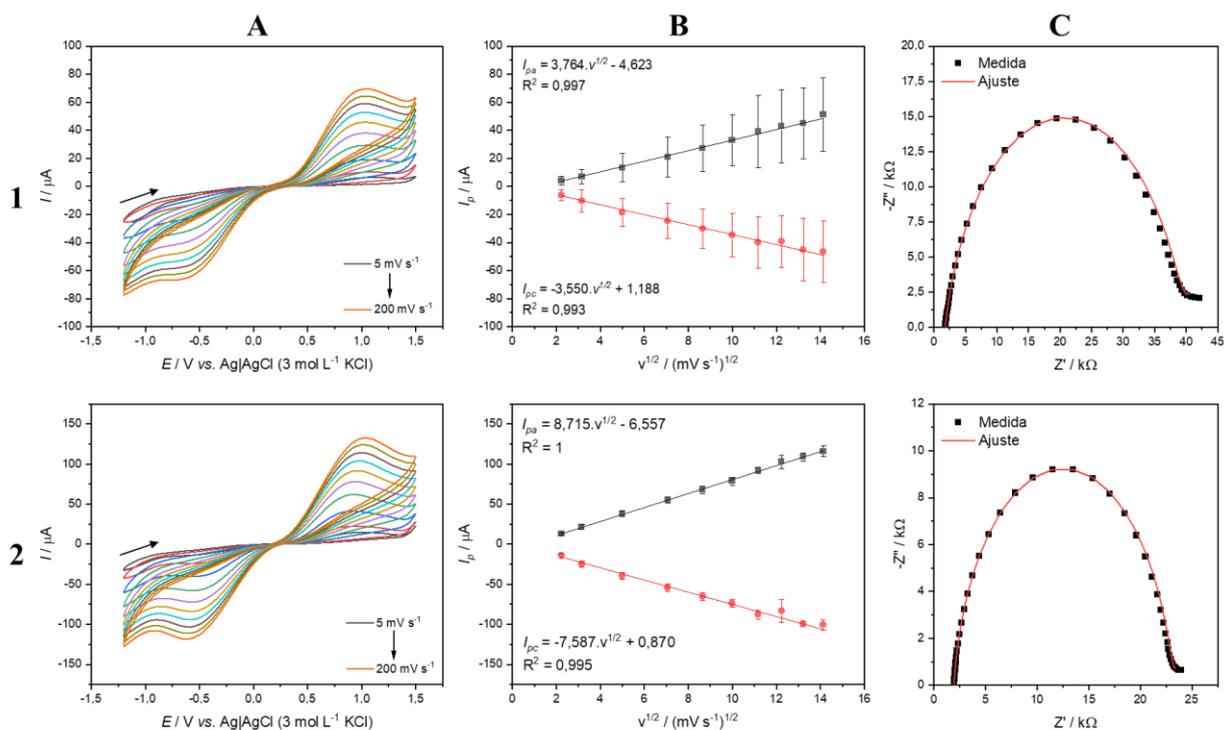


Figura 24. Voltamogramas cíclicos (5 – 200 mV s^{-1}) vs. Ag|AgCl (3 mol L^{-1} KCl) (A), média das correntes de pico anódico (I_{pa}) e anódico (I_{pc}) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura \sqrt{v} (B) e gráficos de Nyquist do filamento (1) e do eletrodo sem tratamento (2). Todos os experimentos foram realizados em 1:1 mmol L^{-1} $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em 0,1 mol L^{-1} KCl.

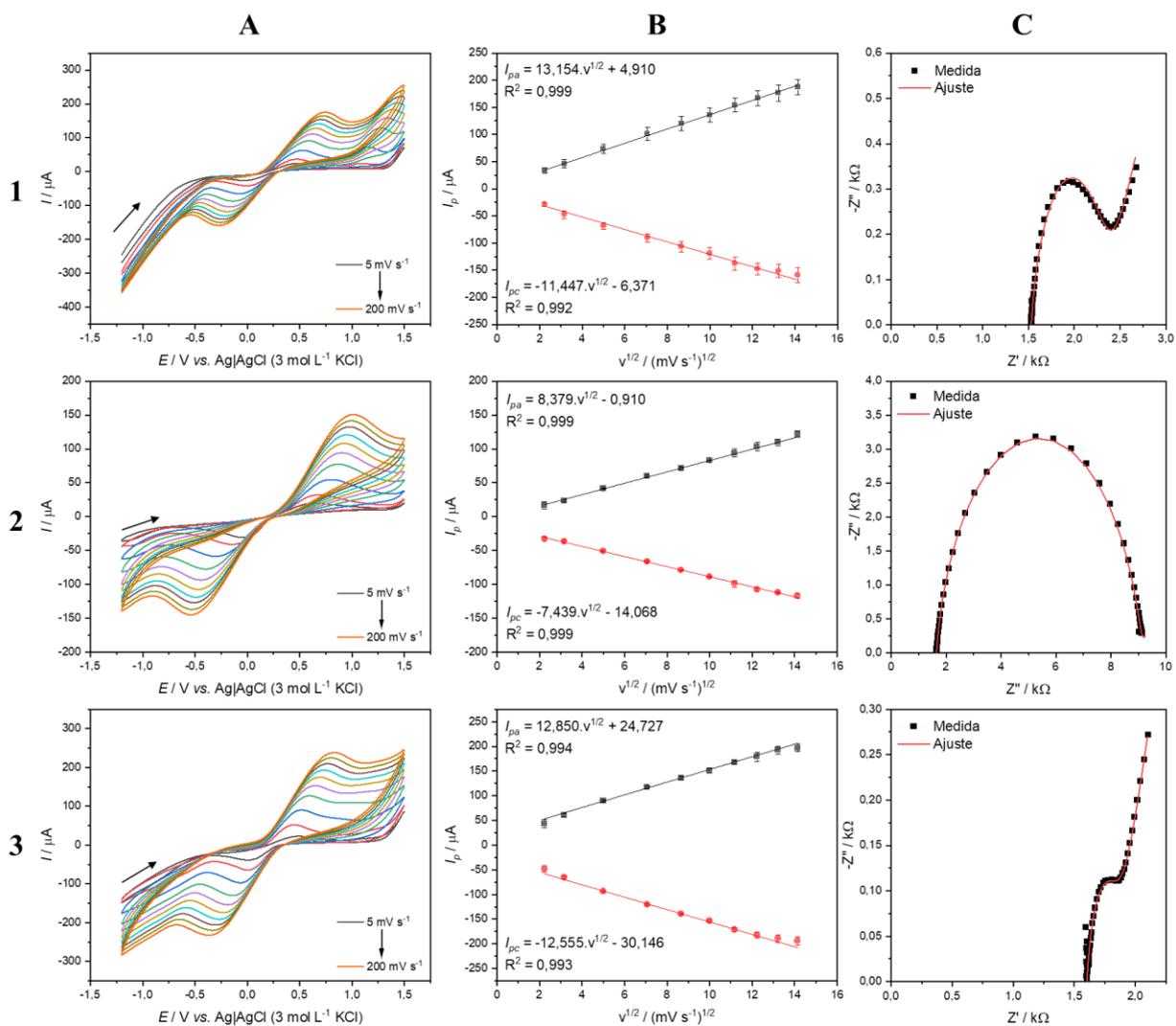


Figura 25. Voltamogramas cíclicos ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) vs. Ag|AgCl ($3 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$) (A), média das correntes de pico anódico (I_{pa}) e anódico (I_{pc}) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura \sqrt{v} (B) e gráficos de Nyquist dos eletrodos ativados quimicamente em DMF (1), H_2SO_4 (2) e NaOH (E). Todos os experimentos foram realizados em $1:1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$.

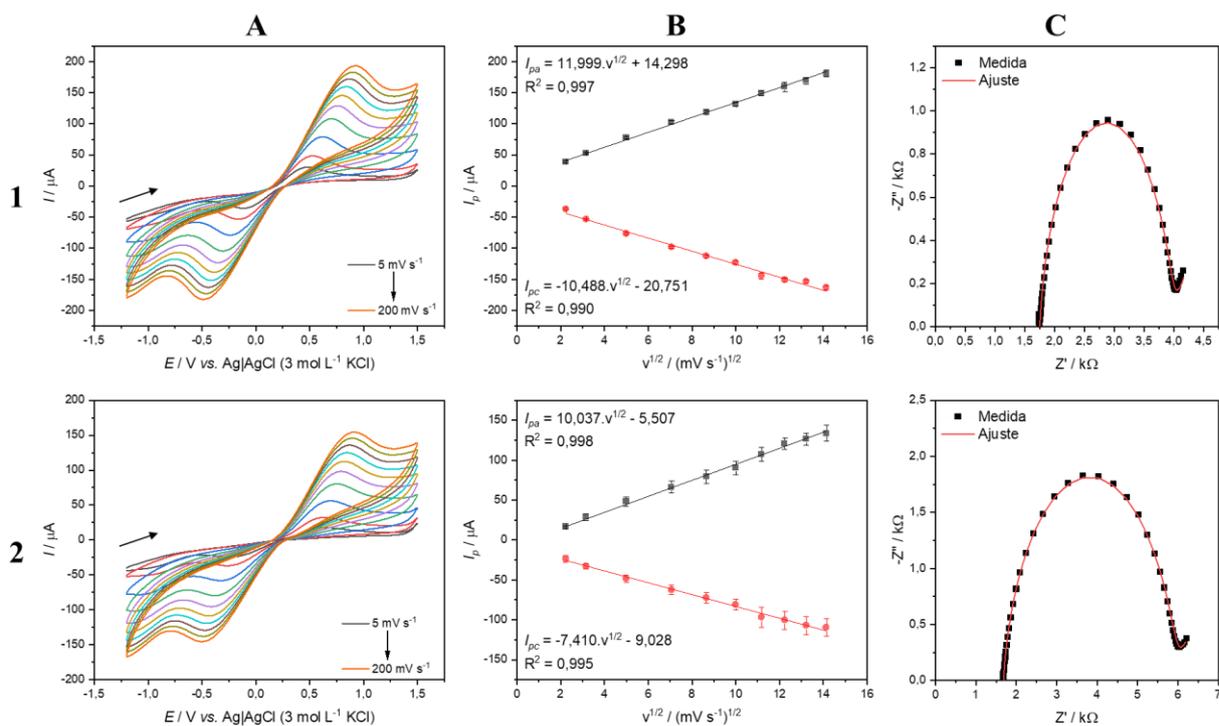


Figura 26. Voltamogramas cíclicos ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) vs. $\text{Ag|AgCl (3 mol L}^{-1} \text{ KCl)}$ (A), média das correntes de pico anódico (I_{pa}) e anódico (I_{pc}) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura \sqrt{v} (B) e gráficos de Nyquist dos eletrodos ativados eletroquimicamente em EQ_{NaOH} (1) e EQ_{PBS} (2). Todos os experimentos foram realizados em $1:1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$.

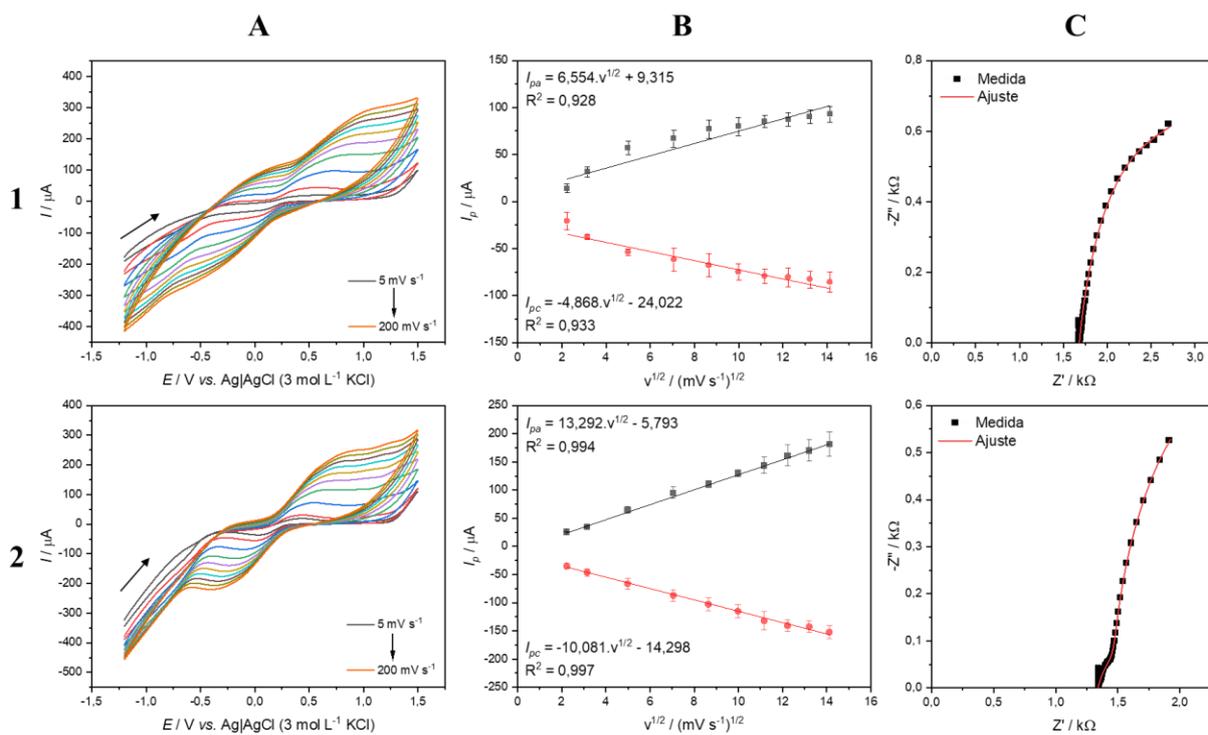


Figura 27. Voltamogramas cíclicos (5 – 200 mV s^{-1}) vs. Ag|AgCl (3 mol L^{-1} KCl) (A), média das correntes de pico anódico (I_{pa}) e anódico (I_{pc}) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura \sqrt{v} (B) e gráficos de Nyquist dos eletrodos submetidos aos tratamentos combinados DMF-EQ_{NaOH} (1) e DMF-EQ_{PBS} (2). Todos os experimentos foram realizados em 1:1 mmol L^{-1} $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em 0,1 mol L^{-1} KCl.

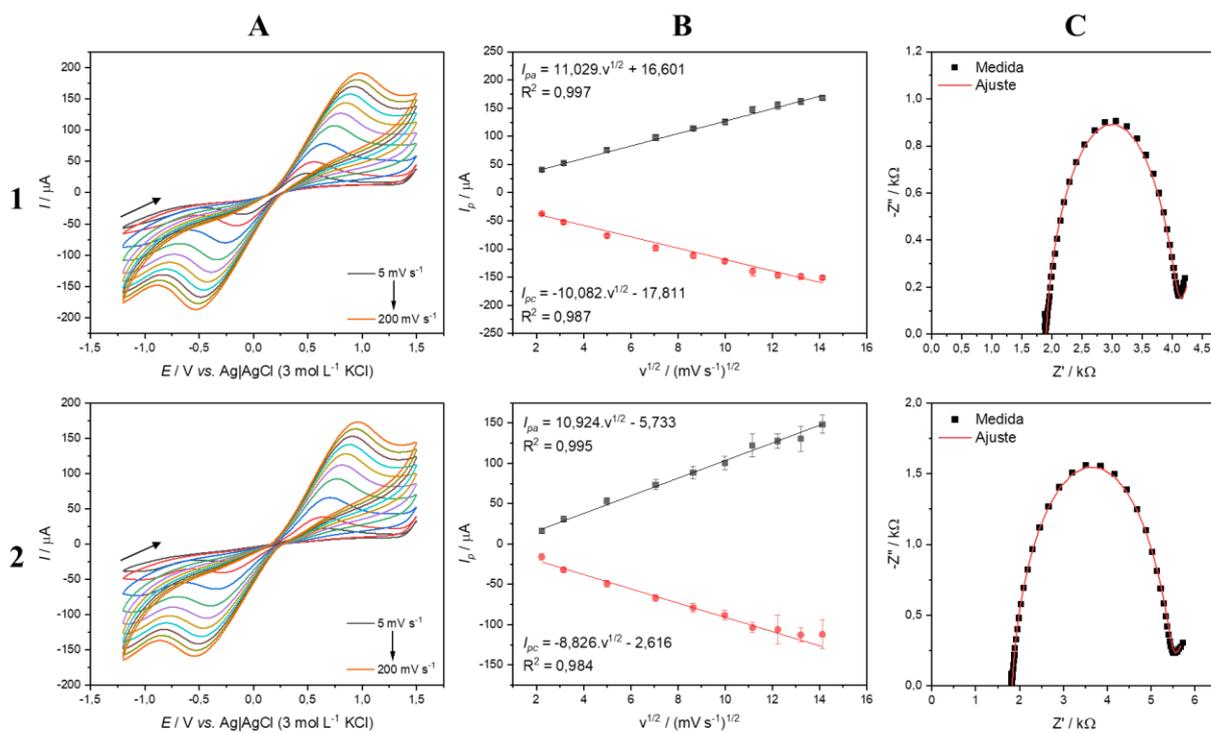


Figura 28. Voltamogramas cíclicos (5 – 200 $mV s^{-1}$) vs. $Ag|AgCl$ (3 mol L^{-1} KCl) (A), média das correntes de pico anódico (I_{pa}) e anódico (I_{pc}) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura \sqrt{v} (B) e gráficos de Nyquist dos eletrodos submetidos aos tratamentos combinados $H_2SO_4-EQ_{NaOH}$ (1) e $H_2SO_4-EQ_{PBS}$ (2). Todos os experimentos foram realizados em 1:1 mmol L^{-1} $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ em 0,1 mol L^{-1} KCl.

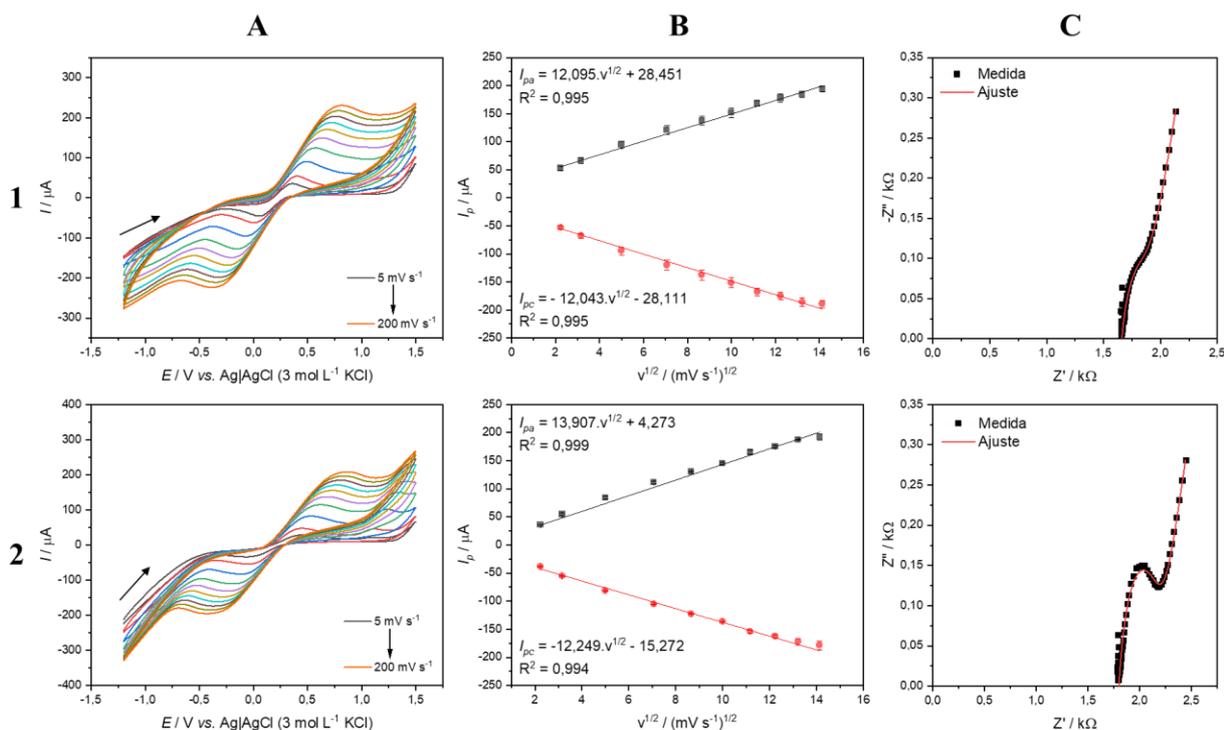


Figura 29. Voltamogramas cíclicos ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) vs. Ag|AgCl ($3 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$) (A), média das correntes de pico anódico (I_{pa}) e anódico (I_{pc}) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura \sqrt{v} (B) e gráficos de Nyquist dos eletrodos submetidos aos tratamentos combinados NaOH-EQ_{NaOH} (1) e NaOH-EQ_{PBS} (2). Todos os experimentos foram realizados em $1:1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$.

A partir das figuras apresentadas no Apêndice C, onde a triagem foi realizada exclusivamente na velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} , e das imagens das Figuras 24-29, que mostram a caracterização por CV em 10 diferentes velocidades de varredura no mesmo eletrodo (dados do terceiro ciclo de varredura), pode-se observar que as varreduras consecutivas parecem atuar como um tratamento eletroquímico. Esse comportamento contribui para que a razão entre as correntes I_{pa} e I_{pc} se aproxime ainda mais de 1.

Os valores reduzidos de I_{pa} e I_{pc} no filamento, que possui o mesmo comprimento dos eletrodos e diâmetro de $1,75 \text{ mm}$ (Figura 24), em comparação ao eletrodo sem tratamento, podem ser atribuídos à maior quantidade de material condutor presente no eletrodo após o processo de impressão (dados não normalizados pela divisão pela área submersa do filamento e do eletrodo). De forma semelhante, os gráficos de Nyquist da Figura 24 evidenciam que os valores de R_{ct} para os eletrodos tratados são significativamente menores em relação ao eletrodo sem tratamento, que, por sua vez, apresenta R_{ct} inferior ao do filamento, o que poderia ser explicado pelo mesmo motivo.

Os eletrodos submetidos ao tratamento DMF-EQ_{NaOH} (Figura 27.1) apresentaram os menores coeficientes de determinação (R^2) nos gráficos de I_{pa} ($R^2 = 0,928$) e I_{pc} ($R^2 = 0,933$) versus \sqrt{v} . Isso revela que o processo eletroquímico não é puramente controlado pela difusão, mas também pela adsorção de espécies na superfície do eletrodo (BARD e FAULKNER, 2001; ELGRISHI *et al.*, 2018). Embora as correntes detectadas sejam relativamente altas em comparação com outros tratamentos, houve alargamento e perda significativa na definição dos picos I_{pa} e I_{pc} em todas as velocidades de varredura. Os valores utilizados para os cálculos e para a confecção dos gráficos foram, então, aqueles sugeridos pelo *software* PSTrace 5.10. Esse tratamento revelou uma natureza altamente agressiva, que resultou na remoção de uma quantidade considerável de material da superfície do eletrodo, a ponto de a água de lavagem tornar-se visivelmente turva. O aumento do ΔE_p com o incremento da velocidade de varredura na caracterização eletroquímica dos eletrodos impressos em 3D é evidenciado em todos os experimentos de todos os tratamentos e em diversos trabalhos da literatura, como já discutido. Isso poderia ser atribuído a uma combinação de fatores relacionados à dinâmica da transferência de carga e à estrutura do eletrodo. Com o aumento da velocidade de varredura, o tempo disponível para as espécies redox se difundirem até a superfície do eletrodo parece se reduzir, e a difusão das espécies redox torna-se um fator limitante. Isso resulta em uma resposta eletroquímica mais lenta, provocando uma maior separação entre os picos anódico e catódico, e, conseqüentemente, um aumento de ΔE_p . No caso dos eletrodos impressos em 3D, a morfologia heterogênea da superfície poderia agravar esse efeito. A estrutura tridimensional do eletrodo pode criar regiões com diferentes acessibilidades para as espécies redox, dificultando o transporte de massa e afetando a eficiência da transferência de carga (HUANG *et al.*, 2025; YANG e LIN, 2021).

Para ajustar os dados de EIS ao circuito equivalente, foi utilizado o circuito de Randles para os eletrodos submetidos a todos os tratamentos, com qui-quadrado menor ou igual a 0,0001 em todos os casos, conforme apresentado no Apêndice D. No entanto, os resultados obtidos para os eletrodos tratados com DMF-EQ_{PBS} (Figura 27) mostraram um comportamento distinto, com dois semicírculos no gráfico de Nyquist, indicando a presença de uma resistência adicional. Para esses dados, foi necessário adotar o circuito equivalente ilustrado na Figura 17B. Os tratamentos com DMF-EQ_{NaOH} e DMF-EQ_{PBS} levaram à criação de rachaduras na superfície dos eletrodos (Seção 4.5). Para o segundo tratamento, a resistência adicional verificada poderia estar associada aos poros criados

pelas deformidades causadas pelo tratamento que, provavelmente, contribuíram para a criação de outro processo difusional, levando à origem de um novo semicírculo nos gráficos de Nyquist (RANDVIIR e BANKS, 2022).

Nos eletrodos tratados com DMF-EQ_{PBS}, observou-se também uma certa perda na definição dos picos nos dados de CV, principalmente do I_{pa} , como nos eletrodos tratados com DMF-EQ_{NaOH} (Figura 27), o que pode estar relacionado às alterações introduzidas pelo tratamento. No entanto, o coeficiente de determinação (R^2) nos gráficos de I_{pa} e I_{pc} versus \sqrt{v} foi próximo de 1, indicando que o processo permanece predominantemente controlado por difusão. É válido ressaltar que, pela perda da definição dos picos, os valores anotados para os cálculos e gráficos foram também aqueles sugeridos pelo programa.

A Figura 30A compara um voltamograma cíclico representativo (uma das triplicatas), do eletrodo não tratado e dos eletrodos tratados na velocidade de varredura de 75 mV s^{-1} , uma velocidade intermediária entre as que foram utilizadas nos experimentos de CV. Já a Figura 30B mostra um gráfico de Nyquist representativo de todas essas amostras.

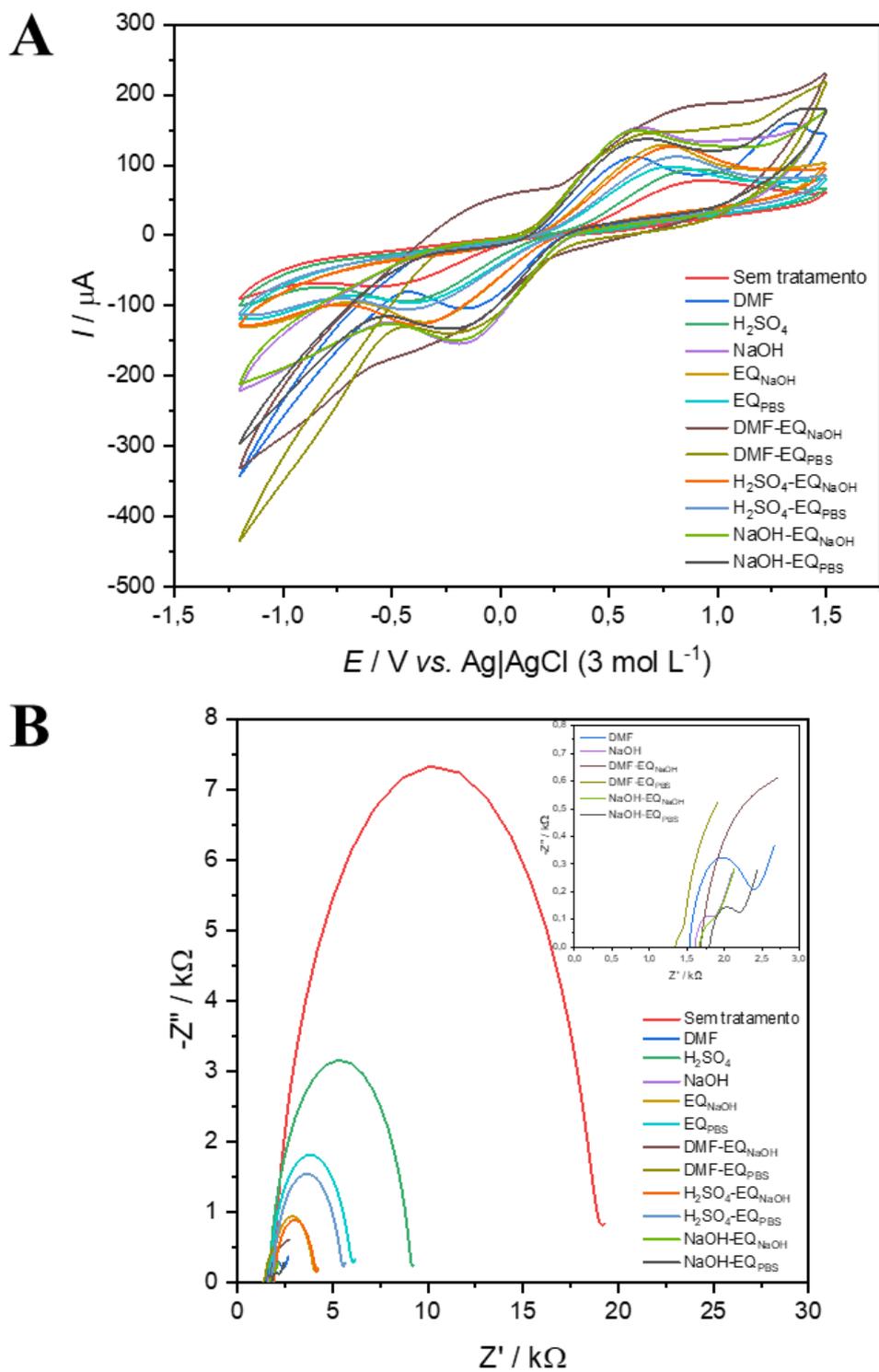


Figura 30. Voltamogramas cíclicos ($\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$) (A) e gráficos de Nyquist (B) para o eletrodo sem tratamento e eletrodos tratados. Todos os experimentos foram realizados em $1:1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$.

A partir da Figura 30, é possível observar a relevância dos pós-tratamentos de superfície como métodos de ativação de eletrodos impressos em 3D, melhorando a

reversibilidade e o desempenho eletroquímicos. Na Figura 30A, nota-se que o eletrodo sem tratamento apresenta os menores valores de I_{pa} e I_{pc} , além dos maiores valores de ΔE_p . A resistência da solução ($R_s - R_l$ no Apêndice D), ponto onde o gráfico intercepta o eixo real (Z') na frequência mais alta, possui valores muito próximos para todas as amostras testadas ($\sim 1,7 \text{ k}\Omega$), o que é esperado, visto que 40 mL de uma solução 1:1 mmol $\text{L}^{-1} \text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{KCl}$ foram empregados em todos os experimentos.

Para a escolha do melhor pós-tratamento de superfície, foram realizadas análises de variância (ANOVA) e teste de Tukey (nível de significância = 0,05), comparando os dados de I_{pa} , I_{pa}/I_{pc} , ΔE_p (todos a 75 mV s^{-1}), R_{ct} , A_e obtido a partir da manipulação do coeficiente angular do gráfico I_{pa} versus \sqrt{v} (Equação A6), e k^0 , calculado a partir da média dos valores de k^0 encontrados nas 10 diferentes velocidades de varredura (Equação A18). A escolha do cálculo de A_e somente a partir de I_{pa} , não também de I_{pc} , foi motivada pelo fato de que a razão I_{pa}/I_{pc} se manteve próxima de 1 na maioria dos resultados obtidos, evitando o uso de dados negativos. Como ΔE_p foi maior do que 150 mV em todos dados obtidos neste trabalho, o coeficiente de transferência da varredura direta (α) para a utilização da Equação A18 foi calculado pela Equação A14.

Todos os dados foram obtidos em triplicatas a partir dos eletrodos submetidos aos diferentes tratamentos. Nessa etapa, optou-se por não incluir a comparação com os dados do filamento, uma vez que o objetivo era identificar o melhor método de ativação para os eletrodos tratados. A escolha da velocidade de varredura de 75 mV s^{-1} se deu pelo fato de ser uma velocidade intermediária entre aquelas utilizadas.

As tabelas do Apêndice E apresentam a análise de variância para as variáveis I_{pa} , I_{pa}/I_{pc} , ΔE_p , A_e , k^0 e R_{ct} , obtidas no *software Statistica 12*. Vale ressaltar que, embora não seja ideal realizar análises estatísticas em variáveis derivadas de manipulações matemáticas, como aquelas obtidas por meio de equações, essas variáveis foram utilizadas à título de comparação. Conforme a Equação A6, quanto maior o valor de I_{pa} , maior será o valor de A_e , e, de acordo com a Equação A18, quanto maior ΔE_p , menor será k^0 . Além disso, o valor de α para a obtenção de k^0 varia conforme os cálculos realizados a partir da Equação A14. A razão I_{pa}/I_{pc} e a subtração para o cálculo de ΔE_p , manipulações matemáticas simples obtidas por dados de CV, foram utilizadas por serem variáveis importantes na verificação da reversibilidade eletroquímica de eletrodos (Apêndice B).

Percebe-se, pela análise das tabelas de variância (Apêndice E), que *p-valor* é menor que 0,05 em todos os casos, indicando que pelo menos um grupo é diferente estatisticamente (MONTGOMERY e RUNGER, 2013; SILVA *et al.*, 2022). O teste de

Tukey foi, então, realizado com nível de significância de 0,05. Os resultados para o teste de Tukey, realizado no *software Origin 2021*, estão apresentados na Figura 31.

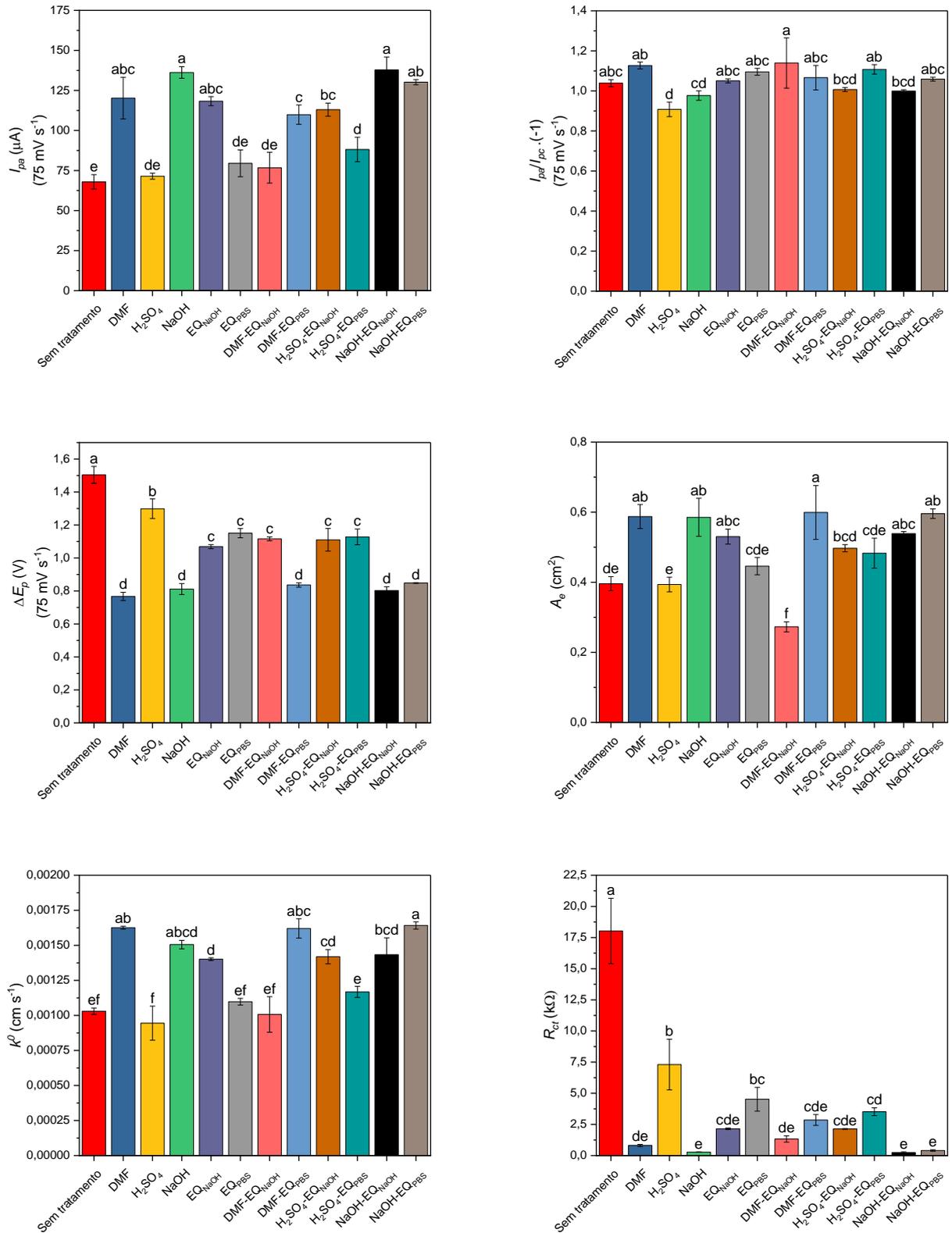


Figura 31. Teste de Tukey (nível de significância = 0,05) para I_{pa} , I_{pa}/I_{pc} , ΔE_p , A_e , k^0 e R_{ct} .

Com base nos dados da Figura 31, a Tabela 11 foi criada para mostrar os melhores eletrodos para cada variável analisada.

Tabela 11. Melhores eletrodos para cada variável estudada a partir das análises estatísticas.

Variável avaliada	Letra designada pelo teste de Tukey	Melhores eletrodos
Maior I_{pa}	a	DMF
		NaOH
		EQ _{NaOH}
		NaOH-EQ _{NaOH}
		NaOH-EQ _{PBS}
I_{pa}/I_{pc} mais próximo de 1	c	Sem tratamento
		NaOH
		EQ _{NaOH}
		EQ _{PBS}
		DMF-EQ _{PBS}
		H ₂ SO ₄ -EQ _{NaOH}
		NaOH-EQ _{NaOH}
		NaOH-EQ _{PBS}
Menor ΔE_p	d	DMF
		NaOH
		DMF-EQ _{PBS}
		NaOH-EQ _{NaOH}
		NaOH-EQ _{PBS}
Maior A_c	a	DMF
		NaOH
		EQ _{NaOH}
		DMF-EQ _{PBS}
		NaOH-EQ _{NaOH}
Maior k^0	a	DMF
		NaOH
		DMF-EQ _{PBS}
		NaOH-EQ _{PBS}
Menor R_{ct}	e	DMF
		NaOH
		EQ _{NaOH}
		DMF-EQ _{NaOH}
		DMF-EQ _{PBS}
		H ₂ SO ₄ -EQ _{NaOH}
NaOH-EQ _{NaOH}		
		NaOH-EQ _{PBS}

A análise da Tabela 11 permite identificar os tratamentos que mais se destacam em cada variável analisada. Para minimizar o prolongamento de erros, considera-se mais apropriado avaliar apenas as variáveis I_{pa} , I_{pa}/I_{pc} , ΔE_p , e R_{ct} , uma vez que A_e e k^0 são derivadas de manipulações matemáticas baseadas em I_{pa} e ΔE_p , respectivamente. Nesse contexto, os tratamentos NaOH, NaOH-EQ_{NaOH} e NaOH-EQ_{PBS} não apresentam diferenças estatísticas significativas entre si e emergem como os melhores candidatos, mostrando desempenho promissor em todas as variáveis analisadas.

No entanto, ao incluir A_e e k^0 na avaliação, o tratamento NaOH-EQ_{NaOH} deixa de ser um dos melhores candidatos devido ao resultado do teste de Tukey aplicado à variável k^0 . Nesse caso, os tratamentos NaOH e NaOH-EQ_{PBS} seriam os mais promissores, destacando-se como os melhores em todas as variáveis simultaneamente.

A Figura 32 apresenta os dados de CV (75 mV s^{-1}) e EIS (uma das triplicatas) dos eletrodos submetidos aos tratamentos com NaOH, NaOH-EQ_{NaOH} e NaOH-EQ_{PBS}.

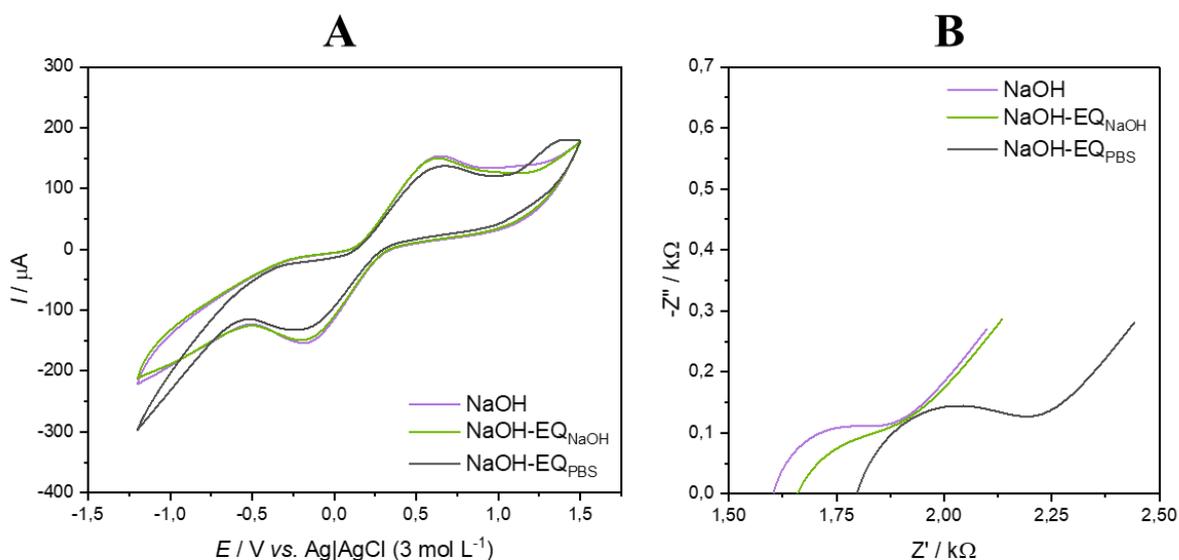


Figura 32. Voltamogramas cíclicos ($v = 75 \text{ mV s}^{-1}$) (A) e gráficos de Nyquist (B) para os eletrodos tratados com NaOH (lilás), NaOH-EQ_{NaOH} (verde) e NaOH-EQ_{PBS} (cinza). Todos os experimentos foram realizados em $1:1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$.

Com o objetivo de reduzir o consumo de reagentes e, conseqüentemente, diminuir os custos associados ao método de ativação, o tratamento com 30 mL de NaOH 3 mol L^{-1} por 30 minutos foi escolhido.

4.3 Resistência elétrica

Os métodos de ativação, ao removerem parcialmente o polímero isolante da superfície dos eletrodos e exporem uma maior quantidade do material condutor, aumentam a condutividade dos eletrodos e melhoram seu desempenho eletroquímico, como já abordado. As medidas de resistência elétrica utilizadas neste trabalho são uma abordagem indireta para avaliar o impacto desses tratamentos na condutividade dos eletrodos, conforme descrito na Seção 3.2.5. Como a resistência elétrica está diretamente relacionada à resistividade, que, em contrapartida, é inversamente proporcional à condutividade, uma redução na resistência para eletrodos com comprimento e área de seção transversal semelhantes indica um aumento na condutividade (YOUNG e FREEDMAN, 2019).

A Figura 33 apresenta a média das triplicatas do gráfico de E versus I para o filamento, o eletrodo sem tratamento e os eletrodos submetidos aos diferentes tratamentos.

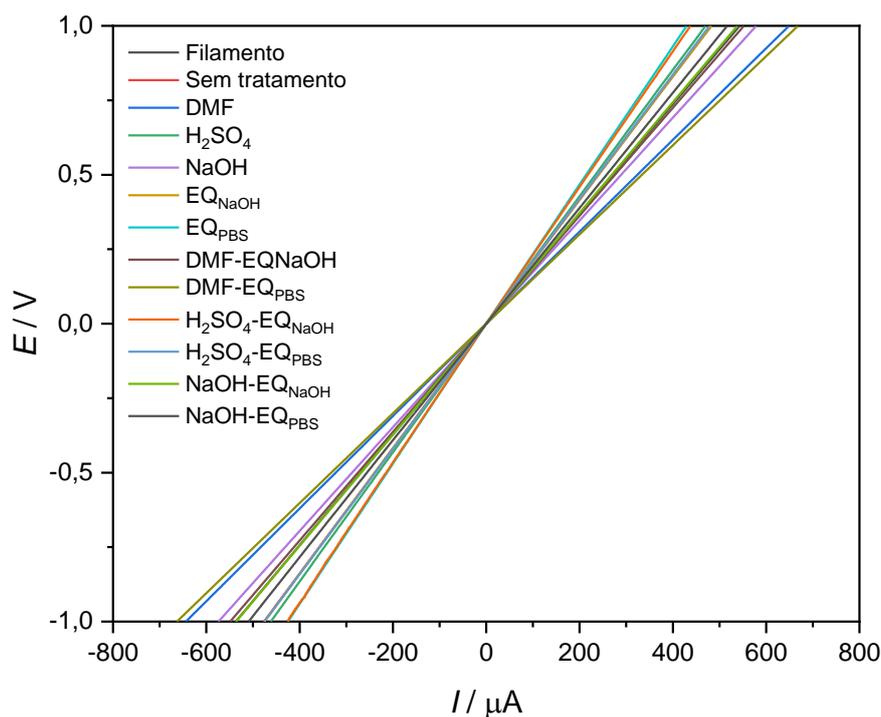


Figura 33. Gráfico de potencial (E) versus corrente (I) obtido por voltametria de varredura linear (50 mV s^{-1}) para o filamento, o eletrodo sem tratamento e os eletrodos tratados. Os dados plotados são as médias das triplicatas.

O coeficiente angular de cada ensaio, que corresponde à resistência elétrica pela lei de Ohm (Equação 1), foi obtido. A partir dos dados coletados, ANOVA e teste de Tukey foram realizados para descobrir quais eletrodos possuíam diferenças significativas

entre si. A relação entre resistividade e resistência é descrita pela Equação 6, que leva em consideração o comprimento e a área de seção transversal do material. Embora a resistência elétrica do filamento tenha sido obtida ($R_{filamento} = 1,88 \pm 0,12 \text{ k}\Omega$), optou-se por não incluir esses dados na análise de variância e no teste de Tukey junto aos dados dos eletrodos. Isso se deve ao fato de que, embora o filamento e os eletrodos apresentem o mesmo comprimento, suas áreas de seção transversal são distintas.

A tabela de análise de variância para a resistência elétrica (R) encontra-se no Apêndice E. O p -valor menor do que 0,05 indica que pelo menos um grupo é diferente estatisticamente e, portanto, o teste de Tukey, cujo resultado é mostrado na Figura 34, foi realizado.

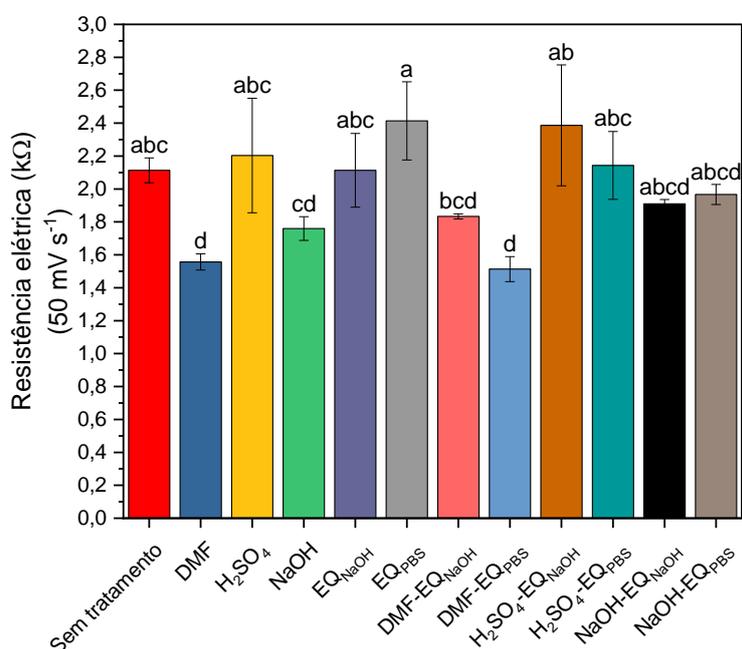


Figura 34. Teste de Tukey (nível de significância = 0,05) para a resistência elétrica (R).

A análise da Figura 34 demonstra que os eletrodos tratados quimicamente com DMF e NaOH, sozinhos ou combinados com as ativações eletroquímicas em NaOH e PBS, indicados pela letra "d", apresentam as menores resistências elétricas e, de forma indireta, as maiores condutividades. Esses tratamentos coincidem com os que se destacam como mais promissores na análise estatística dos dados de caracterização eletroquímica por CV e EIS da Tabela 11. Novamente, os tratamentos em NaOH, NaOH-EQ_{NaOH} e NaOH-EQ_{PBS}, aqueles escolhidos como melhores pelos dados da caracterização eletroquímica, aparecem entre os grupos com os melhores resultados.

É relevante notar que tratamentos distintos podem apresentar diferentes níveis de agressividade na remoção do PLA superficial dos eletrodos, o que pode resultar em

variações sutis nas áreas de seção transversal dos eletrodos tratados. Entretanto, como os tratamentos e tempos aplicados não geraram uma redução significativa na espessura dos eletrodos, as medidas de resistência elétrica foram consideradas nesta discussão.

4.4 Ângulos de contato

A Figura 35 mostra uma das fotos obtidas das triplicatas para determinação do ângulo de contato, juntamente com a média seguida do desvio padrão dos ângulos.

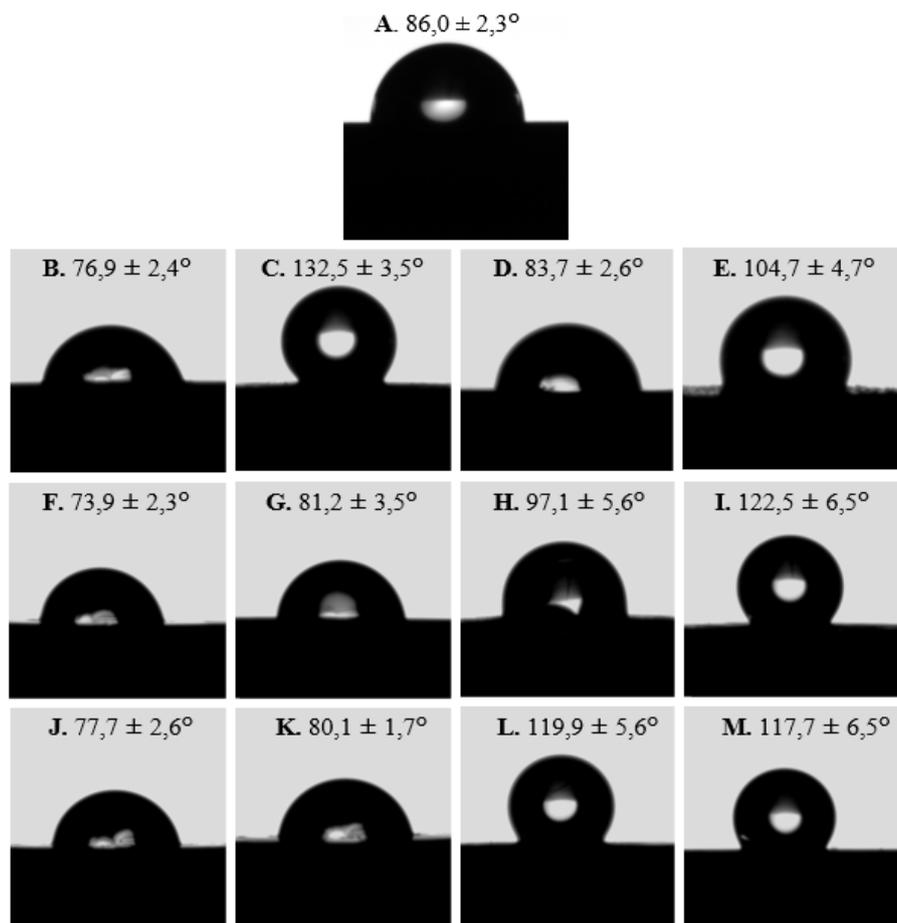


Figura 35. Ângulo de contato: A. Filamento, B. Sem tratamento, C. DMF, D. H₂SO₄, E. NaOH, F. EQ_{NaOH}, G. EQ_{PBS}, H. DMF-EQ_{NaOH}, I. DMF-EQ_{PBS}, J. H₂SO₄-EQ_{NaOH}, K. H₂SO₄-EQ_{PBS}, L. NaOH-EQ_{NaOH} e M. NaOH-EQ_{PBS}.

ANOVA e teste de Tukey (nível de significância = 0,05) foram realizados para as médias dos ângulos de contato de diferentes grupos (eletrodo não tratado e eletrodos submetidos a cada tratamento). Os resultados da tabela de análise de variância encontram-se no Apêndice C, e o teste de Tukey é apresentado na Figura 36. Da mesma forma já apresentada em outras seções, cada barra representa a média de um grupo, com o

respectivo desvio padrão, e as letras acima das barras indicam as diferenças significativas identificadas pelo teste de Tukey.

Novamente, optou-se por não incluir os dados do filamento nas análises estatísticas, pois o propósito principal dessa análise era avaliar a variação dos ângulos de contato em função dos diferentes tratamentos aplicados aos eletrodos. O filamento apresentou um ângulo de contato médio de $86,0^\circ \pm 2,3^\circ$, enquanto o eletrodo sem tratamento registrou um ângulo de $76,9^\circ \pm 2,4^\circ$. Essa leve redução no ângulo de contato do eletrodo sem tratamento em comparação com o filamento pode ser atribuída a uma maior deposição de PLA na superfície do eletrodo durante o processo de extrusão pela impressora 3D, considerando que o PLA possui características mais hidrofílicas em relação ao negro de fumo (KOZŁOWSKA *et al.*, 2024).

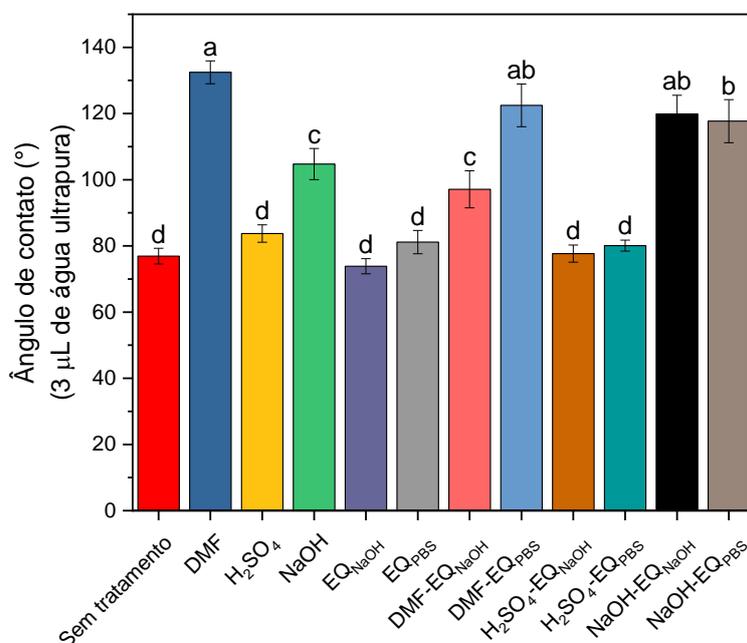


Figura 36. Teste de Tukey (nível de significância = 0,05) para os ângulos de contato.

Enquanto o solvente DMF dissolve parte do PLA da superfície dos eletrodos (KALINKE *et al.*, 2020, MANZANARES PALENZUELA *et al.*, 2018), o H₂SO₄ e o NaOH causam a hidrólise desse polímero pelos mecanismos expostos na Figura 12 (KOTERWA *et al.*, 2022). Os tratamentos eletroquímicos causam a esfoliação da superfície e possível surgimento de novos grupos funcionais, aumentando, assim, a atividade eletroquímica dos eletrodos (KALINKE *et al.*, 2020, MARRA *et al.*, 2024), conforme explicitado na Seção 2.5.2.

Pela análise da Figura 36, percebe-se que os tratamentos com DMF e NaOH, sozinhos ou combinados, foram mais efetivos em aumentar os ângulos de contato, sugerindo uma melhor remoção do PLA superficial e exposição do negro de fumo, mais hidrofóbico, sendo representados pelas letras “a”, “b” e “c”. O tratamento em H₂SO₄ 1 mol L⁻¹ por 30 minutos, sozinho ou combinado, e os eletroquímicos sozinhos, não foram tão eficazes em causar o aumento do ângulo de contato, estando nos mesmos grupos que o eletrodo sem tratamento (letra “d” da Figura 36).

Esses resultados novamente foram compatíveis com as análises dos dados da caracterização eletroquímica e de resistência elétrica das Seções 4.2 e 4.3, respectivamente.

4.5 MEV-EDS

Para avaliar os efeitos dos tratamentos na superfície dos eletrodos e entender o seu impacto, foram realizadas análises utilizando MEV-EDS. As imagens obtidas são mostradas nas Figuras 37-40. A identificação dos elementos presentes nas amostras, os mapas de distribuição elementar e a composição química relativa são apresentadas no Apêndice F.

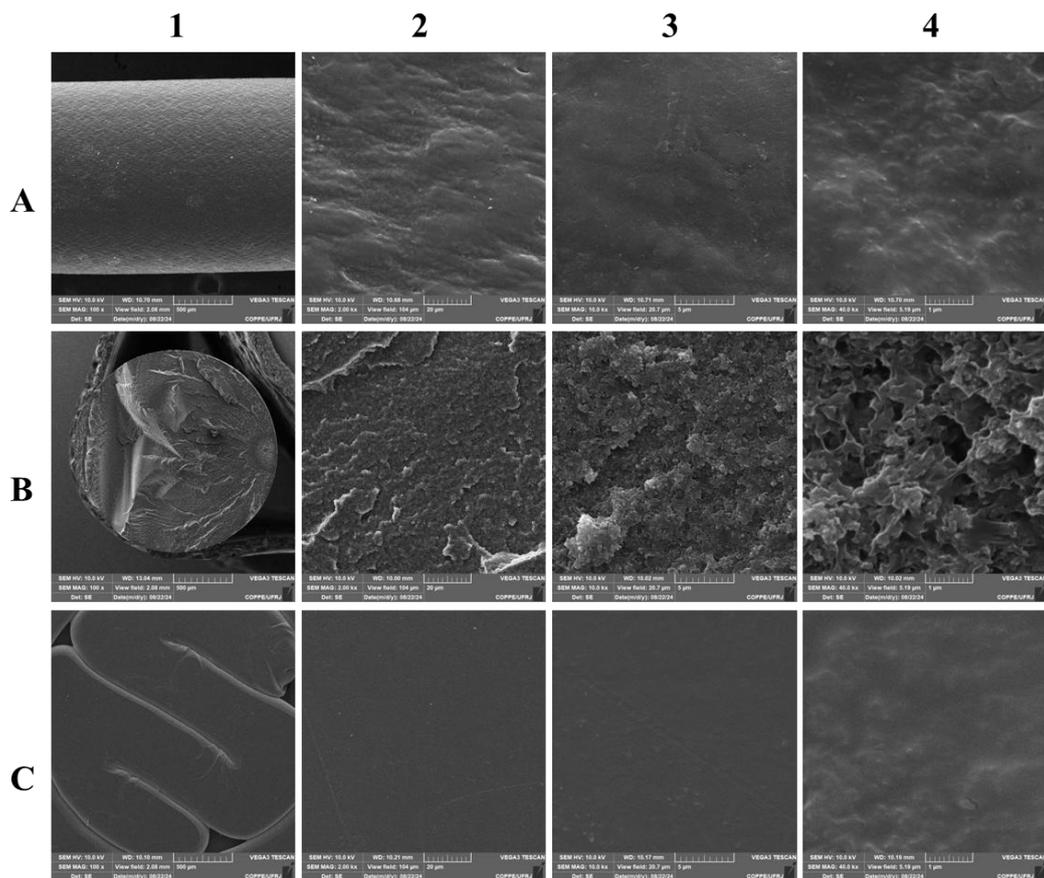


Figura 37. Micrografias da superfície do filamento (A), da seção transversal do filamento (B) e do eletrodo sem tratamento (C). As ampliações utilizadas foram 100x (1), 2000x (2), 10000x (3) e 40000x (4).

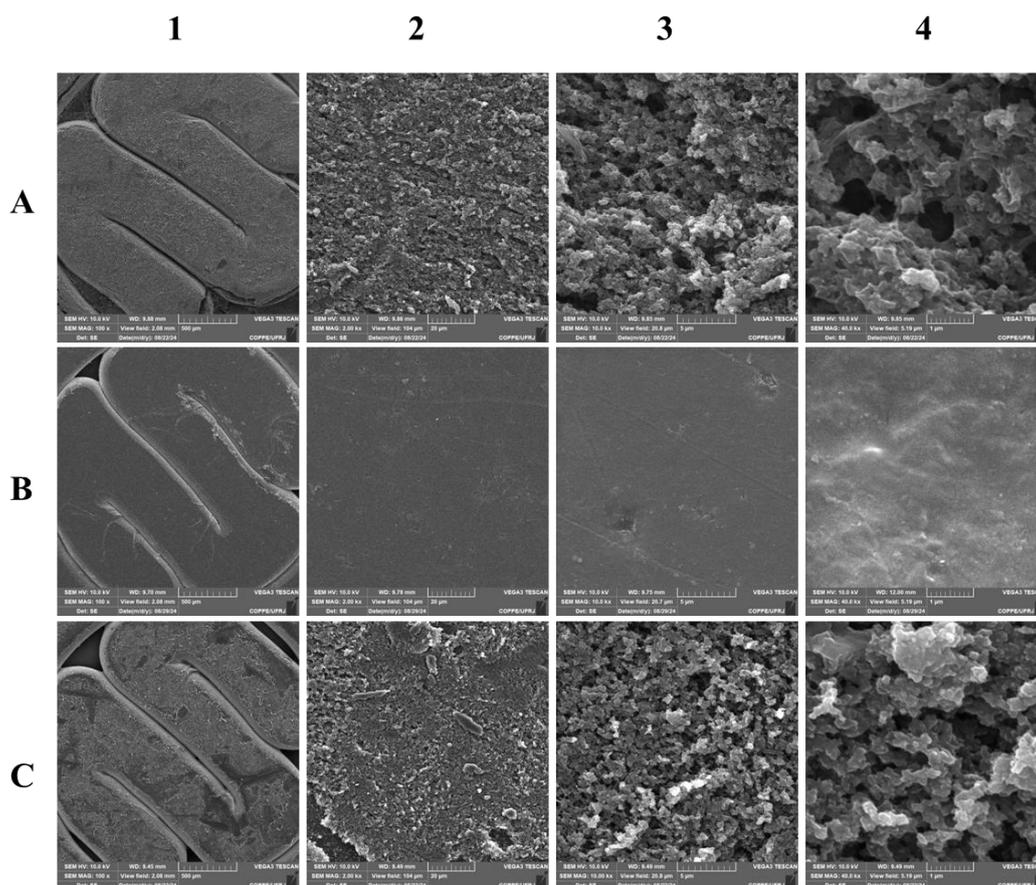


Figura 38. Micrografias dos eletrodos tratados quimicamente com DMF (A), H₂SO₄ (B) e NaOH (C). As ampliações utilizadas foram 100x (1), 2000x (2), 10000x (3) e 40000x (4).

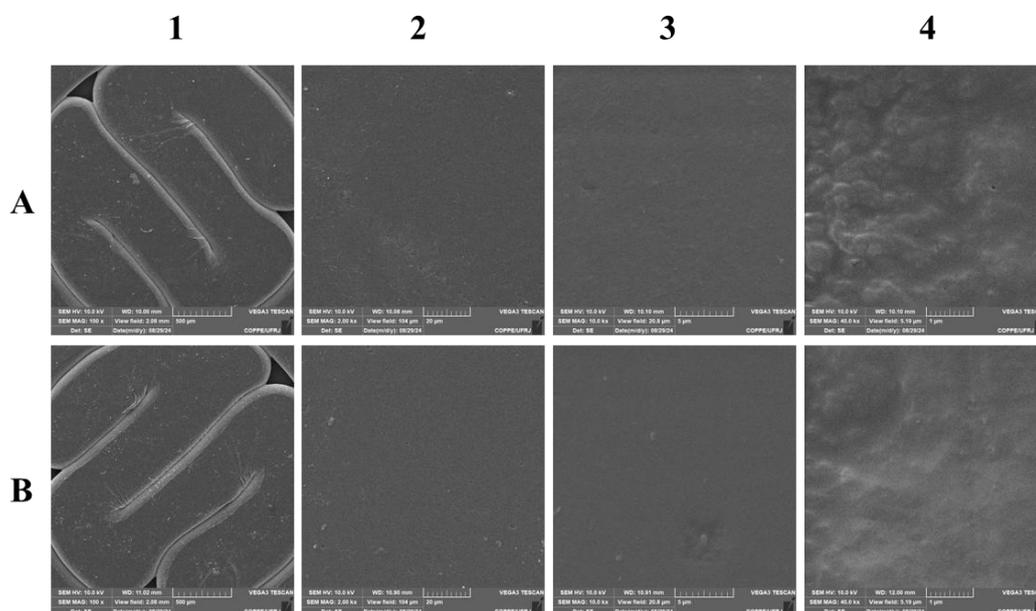


Figura 39. Micrografias dos eletrodos tratados eletroquimicamente: EQ_{NaOH} (A) e EQ_{PBS} (B). As ampliações utilizadas foram 100x (1), 2000x (2), 10000x (3) e 40000x (4).

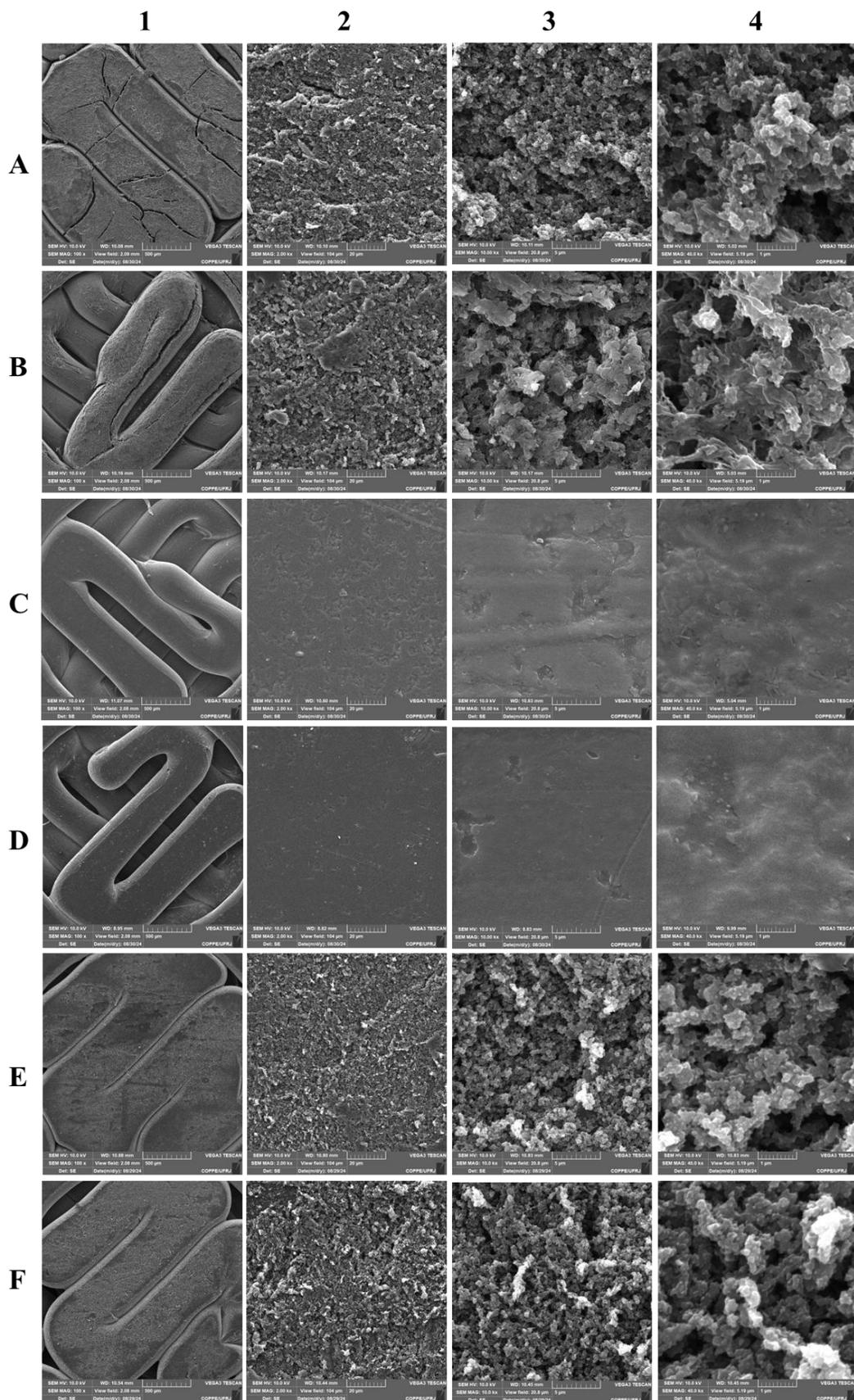


Figura 40. Micrografias dos eletrodos submetidos aos tratamentos combinados: DMF-EQ_{NaOH} (A), DMF-EQ_{PBS} (B), H₂SO₄-EQ_{NaOH} (C), H₂SO₄-EQ_{PBS} (D), NaOH-EQ_{NaOH} (E), NaOH-EQ_{PBS} (F). As ampliações utilizadas foram 100x (1), 2000x (2), 10000x (3) e 40000x (4).

Ao analisar a Figura 37, observa-se que tanto o filamento quanto o eletrodo sem tratamento apresentam superfícies bastante uniformes, sem grandes deformidades. Com a aplicação dos tratamentos químicos, surgiram irregularidades na superfície dos eletrodos, resultando em diferentes níveis de rugosidade, conforme mostrado na Figura 38. Dentre esses tratamentos, o realizado com H_2SO_4 foi o que menos gerou deformidades (Figura 38B).

Por outro lado, os tratamentos eletroquímicos, ilustrados na Figura 39, provocaram menor rugosidade, promovendo uma leve exfoliação da superfície. Os tratamentos combinados também introduziram diversas imperfeições (Figura 40), como esperado, sendo que os eletrodos tratados com H_2SO_4 novamente apresentaram menos defeitos superficiais (Figura 40C e 40D).

Os resultados dos tratamentos com H_2SO_4 , tanto isolado quanto combinado, estão alinhados com os dados discutidos até então, como aqueles obtidos com a caracterização eletroquímica, com os ensaios de resistência elétrica e com a análise dos ângulos de contato. Isso se deve ao fato de que superfícies de eletrodos tratados que apresentam menos deformidades indicam menor remoção do PLA superficial e menor exposição do negro de fumo, o que pode prejudicar o desempenho eletroquímico dos eletrodos e reduzir o ângulo de contato devido à maior presença de PLA remanescente.

Os tratamentos com DMF-EQ_{NaOH} e DMF-EQ_{PBS} causaram rachaduras na superfície dos eletrodos, sendo o primeiro o mais agressivo (Figura 40A). Reiterando, esse efeito agressivo pôde ser observado durante a etapa de lavagem pós-tratamento, quando a água de enxágue se tornava turva.

As análises de EDS (Apêndice F) da seção transversal do filamento revelaram a presença de carbono (47,29%), nitrogênio (20,67%), oxigênio (31,98%) e traços de enxofre (0,06%). Esses elementos foram, então, investigados em todos os eletrodos analisados, juntamente com elementos provenientes dos tratamentos utilizados. Com exceção do tratamento eletroquímico único em NaOH ou PBS, todos os demais tratamentos que incluíam sódio apresentaram níveis traços desse elemento, provavelmente devido a resíduos remanescentes na superfície após a lavagem.

Todos os eletrodos submetidos a tratamentos eletroquímicos em PBS, seja isoladamente ou em combinação com outros tratamentos, apresentaram traços de fósforo. Os tratamentos EQ_{PBS} e H_2SO_4 -EQ_{PBS} revelaram ainda a presença de potássio, enquanto os tratamentos DMF-EQ_{PBS} e H_2SO_4 -EQ_{PBS} apresentaram resíduos de cloro.

Considerando que a técnica utilizada fornece dados qualitativos e semiquantitativos sobre a composição elementar dos materiais (MOHAMMED e ABDULLAH, 2018), e que os valores de porcentagem encontrados desses elementos são realmente pequenas, é importante ressaltar que possam existir erros em suas identificações.

Os tratamentos aplicados visam expor uma maior quantidade de negro de fumo, o que significa um aumento na porcentagem de carbono (C) e uma redução na porcentagem de oxigênio (O), já que o negro de fumo é predominantemente constituído de carbono e o PLA contém oxigênio na sua estrutura. A Tabela 12, retirada dos dados obtidos por EDS (Apêndice F), mostra a porcentagem mássica de carbono e oxigênio presente nas amostras.

Tabela 12. Porcentagem mássica de carbono e oxigênio, obtida por EDS, do filamento e dos eletrodos submetidos aos diversos tratamentos.

Amostra	C (%)	O (%)
CB/PLA	47,29	31,98
Sem tratamento	47,39	31,75
DMF	55,98	12,54
H ₂ SO ₄	46,97	32,09
NaOH	54,01	16,51
EQ _{NaOH}	47,70	31,34
EQ _{PBS}	47,56	31,41
DMF- EQ _{NaOH}	55,08	14,49
DMF- EQ _{PBS}	54,74	15,54
H ₂ SO ₄ - EQ _{NaOH}	46,89	32,24
H ₂ SO ₄ - EQ _{PBS}	56,16	34,79
NaOH- EQ _{NaOH}	53,65	19,61
NaOH- EQ _{PBS}	46,75	32,52

As amostras de referência, que incluem o filamento *Protopasta*® (CB/PLA) e o eletrodo sem tratamento, apresentam valores semelhantes de carbono e oxigênio, com aproximadamente 47,3% de C e 31,8% de O. Isso reflete a composição inicial do material, onde ainda há uma quantidade substancial de PLA.

Ao analisar os tratamentos químicos isoladamente, o uso de DMF e NaOH mostram um efeito positivo na exposição do material condutivo, aumentando a quantidade de carbono e reduzindo a porcentagem de oxigênio. Já o tratamento com H₂SO₄, por outro lado, não promoveu uma alteração relevante na proporção C/O, sugerindo uma menor remoção de PLA.

Os tratamentos eletroquímicos isolados (EQ_{NaOH} e EQ_{PBS}) não demonstraram ser tão eficazes na remoção da matriz polimérica, pois a relação entre carbono e oxigênio permaneceu praticamente inalterada em comparação ao eletrodo sem tratamento. Isso sugere que a ativação eletroquímica, sem um pré-tratamento químico, não é suficiente e bastante para expor significativamente o negro de fumo.

Quanto aos tratamentos químicos e eletroquímicos combinados, os melhores resultados observados foram para as amostras tratadas com DMF-EQ_{NaOH}, DMF-EQ_{PBS} e NaOH-EQ_{NaOH}, que aumentaram a porcentagem de carbono e reduziram o oxigênio. O tratamento com NaOH-EQ_{PBS}, por mais que tenha removido o PLA superficial, como visto na Figura 40F, não alterou consideravelmente a proporção C/O em comparação ao eletrodo sem tratamento, sugerindo que o tratamento pode ter contribuído para a adição de grupos funcionais oxigenados. Enquanto os eletrodos submetidos ao tratamento H₂SO₄-EQ_{NaOH} também não tenham demonstrado significativas diferenças entre a porcentagem de carbono e oxigênio em relação ao eletrodo sem tratamento, o tratamento H₂SO₄-EQ_{PBS} levou a um aumento tanto na porcentagem de carbono quanto na de oxigênio, indicando que esse tratamento promove uma oxidação da superfície, adicionando grupos funcionais oxigenados ao material.

Dessa forma, os dados de EDS sugerem que os tratamentos mais eficazes para a exposição de negro de fumo seriam DMF, seja isoladamente ou combinado com um tratamento eletroquímico, NaOH e NaOH-EQ_{NaOH}. Esses resultados são compatíveis com os dados discutidos de resistência elétrica (Seção 4.3) e ângulo de contato (Seção 4.4). Os tratamentos com NaOH e NaOH-EQ_{NaOH}, escolhidos como promissores pela caracterização eletroquímica (Seção 4.2), novamente foram sugeridos pelos dados de EDS como tratamentos interessantes para o aprimoramento do desempenho eletroquímico dos eletrodos impressos em 3D.

4.6 FTIR-ATR

A técnica de FTIR-ATR possibilita a análise de amostras sólidas diretamente, sem a necessidade, por exemplo, da confecção de pastilhas de KBr, como quando não há um cristal de ATR. Essa técnica é considerada uma técnica de *bulk*, uma vez que a profundidade de penetração da radiação infravermelha, geralmente na faixa de micrômetros, acaba comprometendo a sua capacidade de caracterizar camadas superficiais com alta resolução (GOMBAR, 2013; SKOOG *et al.*, 2014). Contudo, devido à maior exposição do negro de fumo pela utilização dos pós-tratamentos de superfície, a

técnica de FTIR-ATR foi escolhida como uma das técnicas de caracterização para verificar se os tratamentos expuseram ou não uma maior quantidade de material condutor.

Os espectros obtidos para os materiais com e sem tratamento foram submetidos à suavização, correção da linha de base e normalização no *software OPUS 8.1*, sendo apresentados na Figura 41.

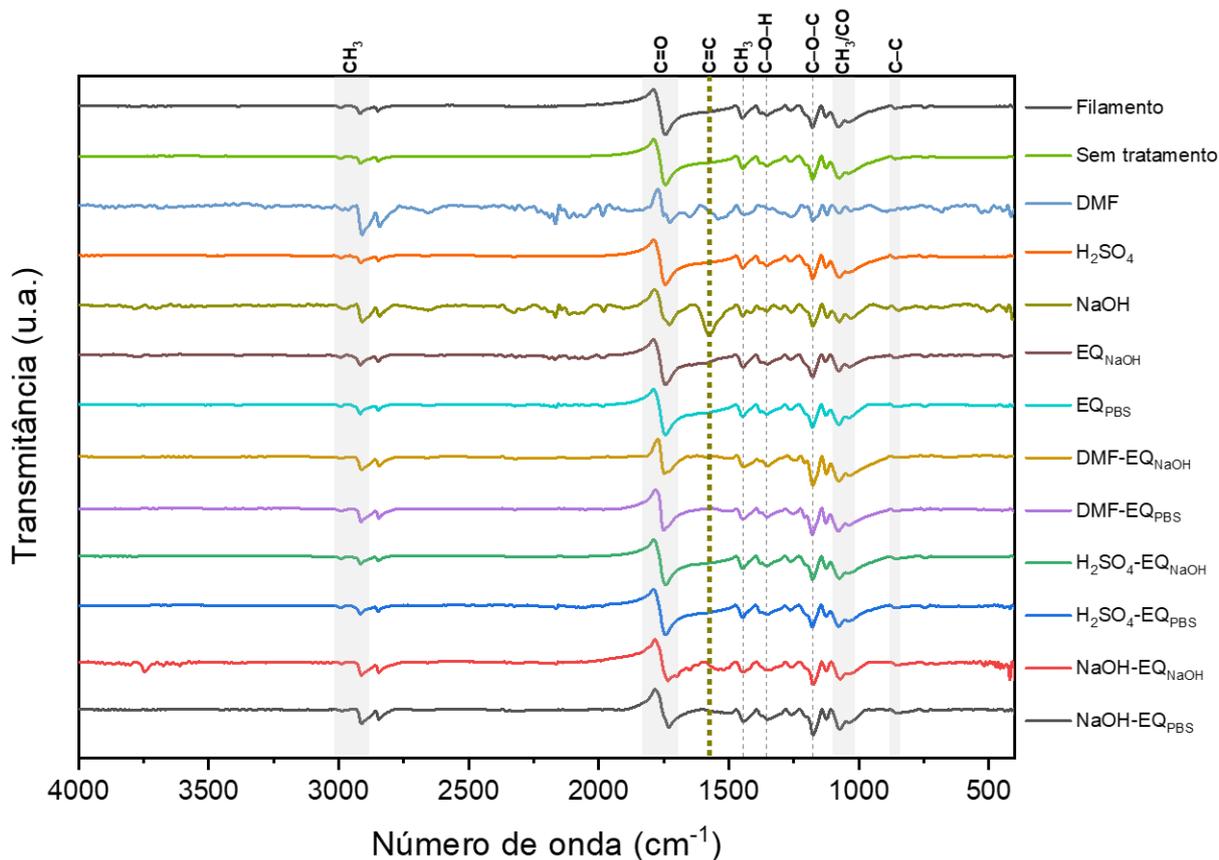


Figura 41. Espectros FTIR do filamento, do eletrodo sem tratamento e dos eletrodos submetidos aos diversos métodos de ativação.

Sabendo a fórmula estrutural do PLA e os possíveis grupos funcionais do CB (Figuras 9 e 10), os espectros de FTIR da Figura 41 foram analisados. Foram observadas vibrações de estiramento assimétrico ($2910-2916\text{ cm}^{-1}$) e simétrico ($2987-2991\text{ cm}^{-1}$) de CH_3 relacionadas ao PLA. Também foi observada a presença de grupos oxigenados do PLA, correspondentes ao estiramento de $\text{C}=\text{O}$ ($1730-1743\text{ cm}^{-1}$), $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ ($1351-1353\text{ cm}^{-1}$), estiramento de $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ($1174-1178\text{ cm}^{-1}$) e vibrações de balanço CH_3/CO com sobreposição do estiramento de $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ($1031-1078\text{ cm}^{-1}$). Outras bandas também foram notadas em $1444-1446\text{ cm}^{-1}$ e $847-860\text{ cm}^{-1}$, que são atribuídas ao dobramento de CH_3 e ao estiramento de $\text{C}-\text{C}$, respectivamente (ALVES *et al.*, 2024; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2024; MARTINS *et al.*, 2021).

Os grupos funcionais oxigenados e não oxigenados do PLA podem interagir diretamente com as estruturas do CB, resultando em sobreposição, deslocamento e alargamento das bandas vibracionais características do material carbonáceo. Essa interação torna mais complexa a diferenciação estrutural entre CB e PLA quando analisadas pela técnica de FTIR (ALVES *et al.*, 2024).

Para o eletrodo tratado quimicamente com NaOH, houve o surgimento de uma banda de média intensidade entre 1566 e 1650 cm^{-1} (1576 cm^{-1}). Essa banda ocorre provavelmente devido ao estiramento de C=C de alcenos cíclicos (LIBRETEXTS, [s.d.]a), que só poderia ser atribuído ao CB, nesse caso. Portanto, o tratamento em NaOH poderia ter levado a uma maior exposição de CB nos eletrodos, o que estaria de acordo com os resultados discutidos até aqui, visto que o tratamento em NaOH foi um dos mais promissores, sendo, inclusive, o escolhido.

É importante ressaltar que os vários métodos de ativação empregados neste trabalho criam diversas deformidades e rugosidades na superfície dos eletrodos, conforme pode ser visto nas micrografias da Seção 4.5. A análise de amostras com muitas rugosidades pela técnica de FTIR-ATR apresenta complicações significativas, principalmente devido à interação limitada e inconsistente entre a superfície da amostra e o cristal de ATR. Essa limitação ocorre pelo fato de que superfícies rugosas dificultam o contato uniforme com o cristal, o que pode levar à presença de espaços de ar entre eles. Essas áreas com menor contato geram sinais de absorvância mais fracos, prejudicando a precisão dos dados, especialmente para análises mais quantitativas (SMITH, 2011).

Outro fator que complica a análise é a variação na profundidade de penetração da radiação infravermelha. Essa profundidade depende de características como o índice de refração da amostra, o índice de refração do cristal e o comprimento de onda da radiação. Em amostras rugosas, o contato irregular provoca diferenças na penetração da radiação IR em diferentes regiões da superfície, o que pode distorcer os espectros resultantes, impactando negativamente a coleta de dados e fazendo com que bandas de absorção possam se tornar extremamente fracas ou mesmo desaparecer completamente devido à dependência da intensidade com a profundidade de penetração (SMITH, 2011).

Uma possibilidade para contornar essas limitações seria polir as amostras para reduzir a rugosidade, mas isso prejudicaria o objetivo da análise neste trabalho, que é justamente compreender o efeito dos tratamentos nos eletrodos. Diante das dificuldades apresentadas, optou-se por apresentar uma discussão baseada somente na presença ou ausência de bandas associadas ao PLA e ao CB nas diferentes amostras.

4.7 Espectroscopia Raman

A caracterização por espectroscopia Raman foi empregada para investigar os efeitos dos pós-tratamentos de superfície na estrutura dos eletrodos de CB/PLA. Todos os espectros apresentam as bandas D ($\sim 1347\text{ cm}^{-1}$) e G ($\sim 1590\text{ cm}^{-1}$). A banda D está associada à presença de defeitos estruturais, como vacâncias, bordas de grãos e heteroátomos, além de hibridização do tipo sp^3 , enquanto a banda G, atribuída ao carbono sp^2 , corresponde ao modo E_{2g} do grafite, devido à vibração no plano das ligações carbono-carbono das camadas grafíticas (CARDOSO *et al.*, 2020; KALINKE *et al.*, 2020; MAZZARACCHIO *et al.*, 2019). Também se observa um modo vibracional de segunda ordem, a banda 2D, na faixa de $\sim 2700\text{ cm}^{-1}$, relacionada à dispersão eletrônica no carbono grafítico (DOS SANTOS *et al.*, 2019; MAZZARACCHIO *et al.*, 2019), como apresentado na Figura 42.

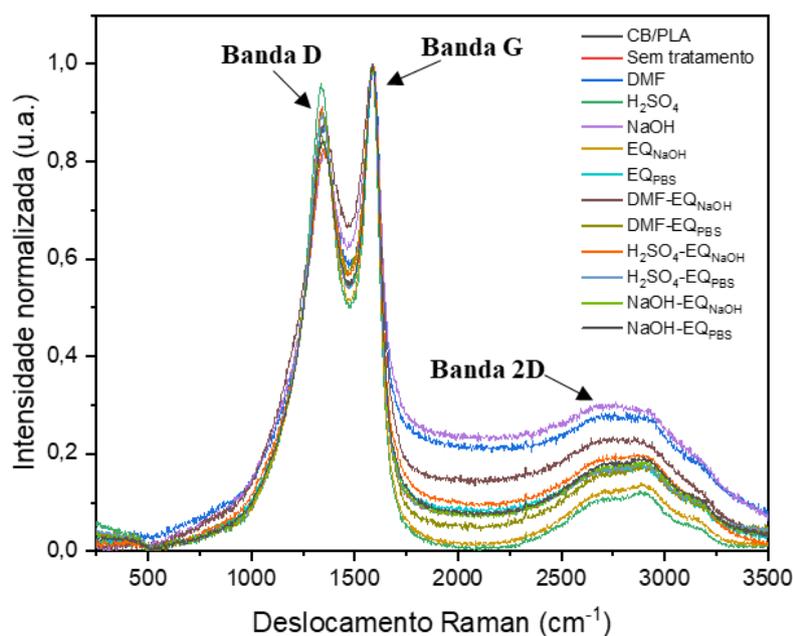


Figura 42. Espectros Raman das amostras analisadas.

Neste estudo, os espectros Raman das amostras foram deconvoluídos e ajustados para proporcionar uma melhor análise das propriedades das amostras. Após a subtração da linha de base e normalização dos dados, funções Lorentzianas foram utilizadas para o ajuste dos picos dos espectros obtidos. O ajuste das bandas D e G foi realizado testando ajustes de 2 a 5 picos, como descrito na Seção 3.2.8.2, enquanto a banda 2D foi ajustada com 3 picos, como realizado por Alkhouzaam *et al.* (2022). O melhor ajuste (maior R^2) foi obtido com 4 picos nas bandas D e G, denominadas D1 ($\sim 1346\text{ cm}^{-1}$), G (~ 1589

cm⁻¹), D3 ou A (~1520 cm⁻¹) e D4 (~1180 cm⁻¹), nas mesmas posições utilizadas para o negro de fumo do trabalho de Sharma *et al.* (2016) e Patel *et al.* (2012). A inserção de um pico adicional entre as bandas D e G e a banda 2D foi realizada em todos os espectros deste trabalho para um melhor ajuste global, sem afetar as posições dos picos principais. Os ajustes completos estão apresentados no Apêndice G. Todos os ajustes tiveram um R² maior que 0,997, com exceção do eletrodo tratado quimicamente com H₂SO₄, que obteve um R² de 0,9894.

Enquanto D1 representa a rede grafítica desordenada e G corresponde à fase mais cristalina do carbono, a banda D3 é originada da fração de carbono amorfo e D4 é originada da camada grafítica desordenada devido a impurezas iônicas e políenos (PATEL *et al.*, 2012).

Apesar da semelhança no padrão vibracional entre as amostras, foram observadas variações nos valores de intensidade e largura das bandas, como visto na Figura 42. A relação I_D/I_G é um indicador importante da densidade de defeitos no carbono. A Tabela 13 apresenta os dados ajustados para as amostras avaliadas (filamento, eletrodo sem tratamento e eletrodos tratados). O aumento dessa razão, bem como da largura à meia altura (*full width at half maximum* – FWHM) das bandas D e G, normalmente indica maior quantidade de defeitos e desordem (FERRARI e BASKO, 2013; KAMEYA e HANAMURA, 2011).

Tabela 13. Dados coletados a partir da deconvolução dos picos dos espectros Raman das amostras deste trabalho.

Amostras	Posição da banda D1 (cm ⁻¹)	Posição da banda G (cm ⁻¹)	I _D /I _G	Largura à meia altura da banda D1 (cm ⁻¹)	Largura à meia altura da banda G (cm ⁻¹)
CB/PLA	1348,1	1596,2	0,979	166,83	70,67
Sem tratamento	1341,8	1586,4	1,010	182,44	78,32
DMF	1349,7	1592,5	0,923	172,47	81,33
H ₂ SO ₄	1340,1	1585,5	1,028	164,70	69,05
NaOH	1352,8	1592,4	1,089	203,13	84,32
EQ _{NaOH}	1343,4	1586,8	0,977	180,10	72,03
EQ _{PBS}	1345,5	1588,7	0,994	190,66	77,72
DMF-EQ _{NaOH}	1354,3	1590,2	1,127	219,18	86,02
DMF-EQ _{PBS}	1344,8	1588,1	1,044	193,92	77,98
H ₂ SO ₄ -EQ _{NaOH}	1350,6	1591,8	1,043	222,54	76,32
H ₂ SO ₄ -EQ _{PBS}	1341,4	1586,2	1,004	184,32	78,21
NaOH-EQ _{NaOH}	1346,9	1589,2	1,002	204,95	77,05
NaOH-EQ _{PBS}	1346,3	1589,7	0,985	203,27	78,50

Verificou-se que a largura à meia altura da banda D1 aumentou após alguns tratamentos, sugerindo um aumento nos defeitos estruturais do material. O eletrodo sem tratamento apresentou um valor de FWHM para a banda D1 de $182,44 \text{ cm}^{-1}$. Os maiores valores registrados ocorrem nos eletrodos submetidos aos tratamentos combinados $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-EQ}_{\text{NaOH}}$ e $\text{DMF-EQ}_{\text{NaOH}}$, atingindo $222,54 \text{ cm}^{-1}$ e $219,18 \text{ cm}^{-1}$, evidenciando uma estrutura mais desordenada. Na caracterização eletroquímica por CV e EIS, o tratamento $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-EQ}_{\text{NaOH}}$ não revelou resultados tão interessantes. Por outro lado, o tratamento $\text{DMF-EQ}_{\text{NaOH}}$ – como já relatado, tratamento bastante agressivo, evidenciado pela turvação da água após a lavagem – levou a sinais de corrente mais intensos, porém causou a perda de definição dos picos I_{pa} e I_{pc} para o par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (Seção 4.2). Os tratamentos mais promissores (NaOH , $\text{NaOH-EQ}_{\text{NaOH}}$ e $\text{NaOH-EQ}_{\text{PBS}}$) apresentaram larguras à meia altura de $203,13 \text{ cm}^{-1}$, $204,95 \text{ cm}^{-1}$ e $203,27 \text{ cm}^{-1}$, respectivamente, superiores ao valor do eletrodo sem tratamento, mas intermediários.

A largura à meia altura da banda G também se expandiu em alguns eletrodos tratados, sugerindo maior desordem, sendo mais pronunciada no tratamento $\text{DMF-EQ}_{\text{NaOH}}$ ($86,017 \text{ cm}^{-1}$). Os valores para NaOH , $\text{NaOH-EQ}_{\text{NaOH}}$ e $\text{NaOH-EQ}_{\text{PBS}}$ foram $84,32 \text{ cm}^{-1}$, $77,05 \text{ cm}^{-1}$ e $78,50 \text{ cm}^{-1}$, respectivamente, sendo novamente valores intermediários entre os resultados da Tabela 12. O valor para o eletrodo não tratado foi $78,32 \text{ cm}^{-1}$.

A razão I_D/I_G entre os eletrodos não seguiu um padrão tão claro em relação ao desempenho eletroquímico, mas forneceu informações interessantes. O eletrodo sem tratamento apresentou uma razão de 1,010, indicando um nível moderado de desordem. Entre os tratamentos, o $\text{DMF-EQ}_{\text{NaOH}}$ teve o maior valor de I_D/I_G (1,127), sugerindo um maior nível de desordem. Após os tratamentos com NaOH , $\text{NaOH-EQ}_{\text{NaOH}}$ e $\text{NaOH-EQ}_{\text{PBS}}$, as razões foram 1,089, 1,002 e 0,985, respectivamente. O primeiro valor é maior que o observado para o eletrodo sem tratamento, enquanto os dois últimos, com tratamentos combinados, apresentaram valores menores.

O tratamento com DMF isoladamente reduziu a razão I_D/I_G (0,923) em comparação ao eletrodo sem tratamento, sugerindo um efeito de leve reordenamento estrutural, comportamento também observado no trabalho de Kalinke *et al.* (2020) para o tratamento químico de eletrodos de PLA contendo grafeno com DMF por 10 minutos.

Em síntese, os tratamentos químicos e eletroquímicos induzem modificações na estrutura do negro de fumo dos eletrodos impressos em 3D. No entanto, nem toda forma de desordem estrutural parece ser vantajosa para o desempenho eletroquímico.

Possivelmente, algumas formas de desordem poderiam gerar defeitos que não contribuem substancialmente para a condutividade elétrica ou para a criação de sítios eletroativos e, assim, não contribuem de maneira considerável para o aprimoramento do desempenho eletroquímico do eletrodo. Talvez isso ocorra devido a defeitos que não promovem uma remoção significativa do PLA e exposição do negro de fumo, ou por estarem associados a perturbações na rede de carbono que não introduzem grupos funcionais úteis, ou ainda por causarem uma desordem excessiva (HUANG *et al.*, 2025; YANG e LIN, 2021).

4.8 TGA

Para confirmar o teor de negro de fumo no filamento utilizado e avaliar o impacto dos tratamentos na estabilidade térmica dos eletrodos, foram realizadas investigações através da TGA, conforme apresentado na Figura 43. Para confirmar o perfil de degradação do PLA, um filamento de PLA puro também foi submetido à análise.

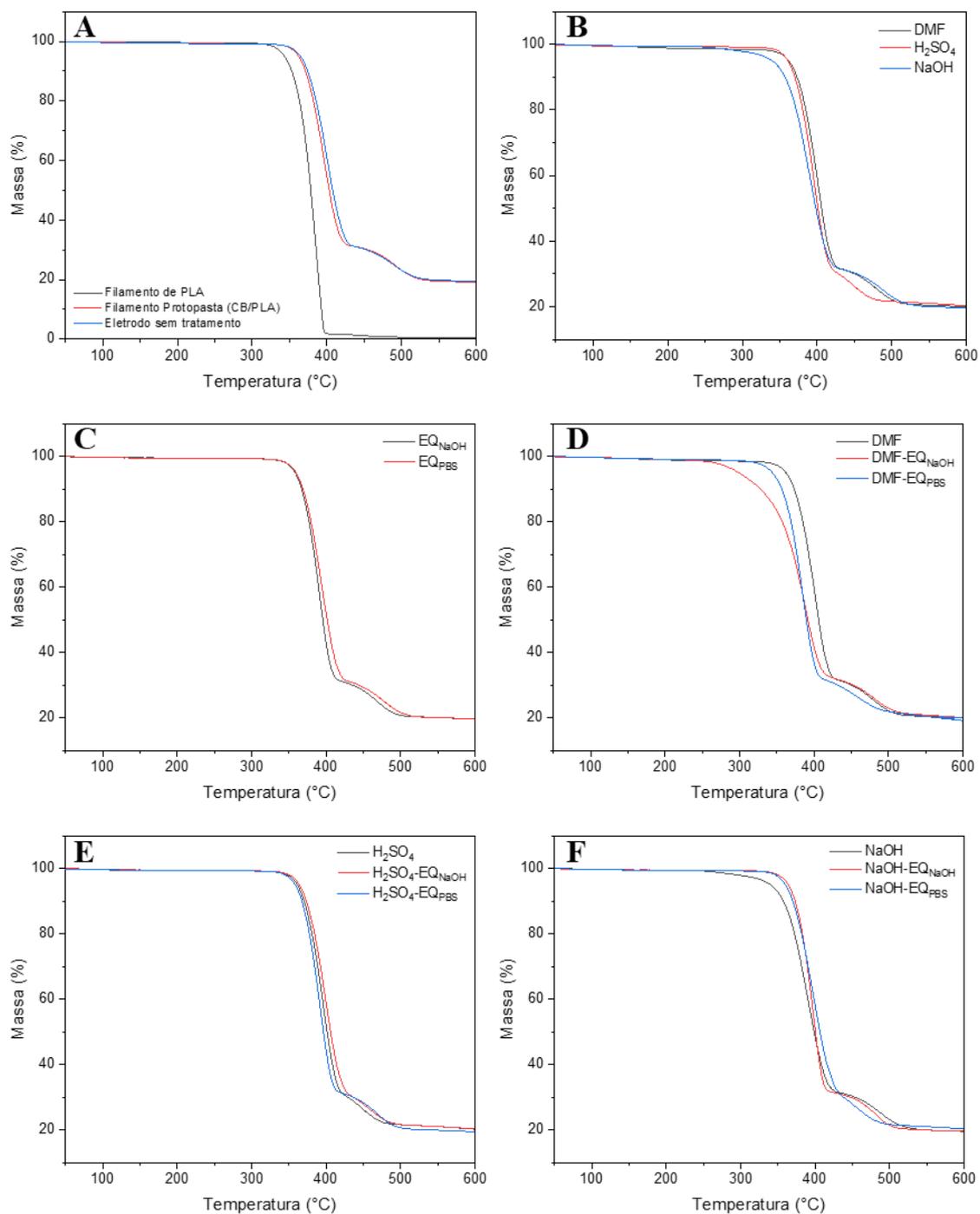


Figura 43. Curvas termogravimétricas de decomposição das seguintes amostras: PLA, filamento *Protopasta*® (CB/PLA) e eletrodo sem tratamento (A); eletrodos submetidos aos tratamentos químicos (B); eletrodos submetidos aos tratamentos eletroquímicos (C); eletrodos tratados em DMF com ou sem tratamentos eletroquímicos (D); eletrodos tratados em H₂SO₄ com ou sem tratamentos eletroquímicos (D) e eletrodos tratados em NaOH com ou sem tratamentos eletroquímicos (E).

Os dados coletados a partir da análise dos gráficos da Figura 43 são encontrados na Tabela 14.

Tabela 14. Dados obtidos pelos experimentos de TGA.

Amostra	T_{onset}	T_{peak1}	T_{peak2}	$\%m_{final}$
Filamento de PLA puro	349,74	385,85	-	0,48
Filamento <i>Protopasta</i> ® (CB/PLA)	366,88	396,99	491,67	19,22
Eletrodo sem tratamento	370,88	399,81	491,35	19,53
DMF	369,71	402,67	478,62	19,99
H ₂ SO ₄	364,22	396,98	452,88	20,19
NaOH	351,91	390,28	490,48	19,74
EQ _{NaOH}	356,43	391,49	470,17	19,60
EQ _{PBS}	360,54	393,3	476,53	19,66
DMF-EQ _{NaOH}	340,03	388,89	479,91	20,04
DMF-EQ _{PBS}	347,76	387,06	470,72	19,14
H ₂ SO ₄ -EQ _{NaOH}	370,26	399,49	452,39	20,25
H ₂ SO ₄ -EQ _{PBS}	360,04	392,39	459,18	19,41
NaOH-EQ _{NaOH}	369,6	398,85	483,99	19,52
NaOH-EQ _{PBS}	357,49	397,28	457,49	20,23

O filamento de PLA puro apresentou temperatura de início de degradação (T_{onset}) de 349,74°C e uma temperatura de pico de degradação (T_{peak1}) de 385,85°C, que equivale à temperatura na qual a degradação é máxima. O filamento de PLA foi praticamente todo degradado, restando apenas uma massa residual de menos de 0,50%.

O filamento comercial *Protopasta*® (CB/PLA) iniciou sua degradação a 366,88 °C. A maior resistência térmica do filamento comercial provavelmente é devido à presença de negro de fumo. O filamento CB/PLA exibiu dois picos de degradação, um a 396,99 °C e outro a 491,67 °C, o que condiz com a informação oferecida pelo fabricante, que reporta a presença de outros polímeros, provavelmente utilizados como plastificantes, na composição do filamento (Anexo A). De igual modo, a massa residual de 19,22% ao final da degradação do CB/PLA também corresponde com a informação do fabricante de que o filamento contém menos de 20% de negro de fumo. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Pereira *et al.* (2024).

A impressão do eletrodo causou aumento da temperatura de início de degradação e na primeira temperatura de pico de degradação (T_{peak1}), enquanto a segunda temperatura de pico (T_{peak2}) não foi afetada, o que sugere que a impressão afeta sutilmente o PLA presente no filamento.

Entre os tratamentos químicos avaliados, NaOH teve o maior impacto na T_{onset} e na T_{peak1} , seguido por H₂SO₄ e DMF, respectivamente, sugerindo que o NaOH possui o maior impacto na degradação do PLA. Já o efeito no segundo pico, que se refere

principalmente à degradação dos aditivos poliméricos, foi mais influenciado pela ação do H_2SO_4 , seguido pelo DMF, e só então pelo NaOH.

Os tratamentos eletroquímicos, por sua vez, parecem alterar mais a degradação do PLA do que os tratamentos químicos, com exceção do tratamento químico com NaOH. Como consequência, a combinação de um tratamento químico com hidróxido de sódio e um eletroquímico resultou numa leve preservação do PLA, quando comparado ao tratamento único (químico) com NaOH. Curiosamente, uma maior preservação do PLA foi observada quando o tratamento químico com NaOH foi combinado ao tratamento eletroquímico com NaOH, superando inclusive os resultados obtidos somente com o tratamento eletroquímico com NaOH. Já o segundo pico de degradação foi muito mais afetado pela combinação NaOH-EQ_{PBS}, indicando que tal combinação facilita a degradação do aditivo polimérico.

Quando o tratamento químico com ácido sulfúrico foi combinado com tratamento eletroquímico com hidróxido de sódio, foi observado um sutil aumento da temperatura de decomposição do PLA, sem mudança significativa da temperatura do segundo pico de degradação. Já a combinação com tratamento eletroquímico com PBS resultou em uma leve diminuição nas temperaturas de degradação do PLA, enquanto a degradação do aditivo polimérico tem seu pico a uma temperatura um pouco mais elevada.

Os tratamentos químicos com DMF combinados com um tratamento eletroquímico resultaram em menor resistência térmica dos eletrodos, com início de degradação e primeiro pico de degradação bastante abaixo dos observados apenas com tratamento químico com DMF. A segunda temperatura de degradação foi mais afetada pela combinação com tratamento eletroquímico com PBS.

Após atingir 600 °C, foram observados, após todos os tratamentos, um percentual de $19,8 \pm 0,4$ de resíduos, correspondente ao negro de fumo, indicando que a degradação superficial promovida por todos os tratamentos testados não alterou significativamente a porcentagem de PLA e negro de fumo dos eletrodos.

4.9 DMA

Os dados obtidos com a DMA podem ser encontrados no Apêndice H. A partir dos dados coletados, a Tabela 15 foi construída.

Tabela 15. Propriedades térmicas e mecânicas das amostras

Amostra	T_g (°C)	Altura do pico de $\tan \delta$	Área do pico de $\tan \delta$	E' a 30 °C (GPa)	$T_{E''}$ (°C)
Filamento de PLA	65,33	2,880	16,39	11,35	58,91
Filamento <i>Protopasta</i> ® (CB/PLA)	62,73	1,100	5,98	9,27	56,39
Eletrodo sem tratamento	63,45	0,890	5,71	4,91	57,75
DMF	57,89	0,160	1,73	13,92	44,08
H ₂ SO ₄	63,71	1,117	6,40	15,98	56,40
NaOH	64,34	1,065	6,23	21,61	57,41
EQ _{NaOH}	64,50	1,126	6,48	23,68	50,61
EQ _{PBS}	64,28	1,212	5,90	19,24	57,69
DMF-EQ _{NaOH}	56,99	0,196	0,80	16,79	45,48
DMF-EQ _{PBS}	57,34	0,177	0,60	19,10	54,03
H ₂ SO ₄ -EQ _{NaOH}	64,29	1,166	6,33	20,02	56,58
H ₂ SO ₄ -EQ _{PBS}	62,98	1,143	6,36	19,52	55,96
NaOH-EQ _{NaOH}	62,63	1,153	7,01	19,87	55,00
NaOH-EQ _{PBS}	63,66	1,114	6,02	15,49	56,46

Todas as propriedades termomecânicas do filamento e dos eletrodos avaliados neste trabalho apresentaram valores menores do que aquelas do filamento de PLA puro, o que provavelmente deve-se à presença do negro de fumo, uma vez que a presença de grandes concentrações de nanopartícula (> 10 % em massa) tende a gerar uma diminuição da mobilidade molecular das cadeias poliméricas (TSAGAROPOULOS e EISENBERG, 1995). Como dito na seção 2.4.3, o diâmetro das partículas de CB geralmente varia entre 10 nm e 500 nm (FAN *et al.*, 2020).

A área do pico da curva de tangente delta ($\tan \delta$) reflete a participação das cadeias poliméricas na transição vítrea (BASHIR, 2021). A impressão dos eletrodos resultou em uma leve diminuição da área sob o pico de $\tan \delta$, enquanto todos os tratamentos, com exceção daqueles envolvendo DMF, promoveram um aumento da área sob o pico. O mesmo efeito foi observado na altura do pico da tangente delta.

Segundo Bashir (2021), o valor do pico de $\tan \delta$, ou seja, sua altura, reflete a força das interações interfaciais, sugerindo que o tratamento químico com DMF, associado ou não a um tratamento eletroquímico, favoreceu interações interfaciais entre as cadeias poliméricas e o negro de fumo, o que também explica a diminuição da T_g nesses casos.

Analisar o módulo de armazenamento antes da transição vítrea permite observar a rigidez dos materiais na temperatura de uso, uma vez que a transição vítrea do PLA

ocorre por volta de 60 °C. Sendo assim, E'_{30} refere-se ao módulo elástico registrado a 30 °C, conforme sugerido por Schwartz *et al.* (2020).

Com exceção do tratamento químico com DMF, todos os eletrodos tratados apresentaram valores de E'_{30} entre 3 e 5 vezes maiores do que o eletrodo não tratado, indicando terem se tornado mais rígidos devido aos tratamentos. Os maiores valores de E'_{30} foram observados em filamentos tratados com NaOH e EQ_{NaOH}. Já os menores efeitos na rigidez do material foram observados nos tratamentos NaOH-EQ_{PBS} e H₂SO₄.

Com base nos dados obtidos por DMA, percebe-se que parece não haver uma correlação direta entre desempenho eletroquímico do eletrodo e E'_{30} , uma vez que eletrodos pertencentes tanto aos grupos de melhor quanto aos de pior desempenho eletroquímico apresentaram maior ou menor rigidez. Estudos a fim de compreender a relação entre rigidez, flexibilidade e estabilidade mecânica no desempenho dos eletrodos impressos em 3D poderiam ser investigados (PRAVEEN *et al.*, 2022).

4.10 Otimização da concentração de NaOH e do tempo de tratamento

Após escolher o tratamento com NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 minutos, uma concentração já elevada, foi elaborado um planejamento experimental para avaliar se a redução da concentração do reagente (z_1) ou a variação do tempo de tratamento (z_2) poderiam aprimorar o desempenho eletroquímico dos eletrodos de CB/PLA impressos em 3D, conforme as Tabelas 6 e 7.

A matriz de correlação obtida no planejamento experimental a partir dos dados de CV e EIS é apresentada na Tabela 16, na qual as correlações marcadas em vermelho são significativas para $p\text{-valor} < 0,05$. A matriz fornece informações importantes sobre a influência da concentração de NaOH e do tempo de tratamento nas respostas eletroquímicas dos eletrodos de CB/PLA impressos em 3D. A análise desses coeficientes permite identificar quais fatores têm maior impacto no desempenho eletroquímico e como eles interagem entre si.

Tabela 16. Matriz de correlação para as variáveis do planejamento experimental.

Variáveis	Concentração NaOH (mol L ⁻¹): z_1	Tempo de tratamento (min): z_2	I_{pa} (μA)	I_{pa}/I_{pc} .(-1)	ΔE_p (V)	R_{ct} (Ω)
Concentração NaOH (mol L ⁻¹): z_1	1,000000	0,000000	-0,080710	-0,464518	-0,345299	-0,619072
Tempo de tratamento (min): z_2	0,000000	1,000000	-0,680321	0,239831	-0,787634	-0,267233
I_{pa} (μA)	-0,080710	-0,680321	1,000000	-0,516748	0,811028	-0,182702
I_{pa}/I_{pc} .(-1)	-0,464518	0,239831	-0,516748	1,000000	-0,065922	0,659257
ΔE_p (V)	-0,345299	-0,787634	0,811028	-0,065922	1,000000	0,348705
R_{ct} (Ω)	-0,619072	-0,267233	-0,182702	0,659257	0,348705	1,000000

A correlação entre concentração de NaOH e tempo de tratamento é zero, indicando que as duas variáveis foram planejadas de forma independente. Observa-se que a concentração de NaOH apresenta uma correlação negativa significativa com R_{ct} , sugerindo que o aumento da concentração do tratamento alcalino reduz R_{ct} , o que é desejado. Esse efeito é relacionado à maior remoção de PLA da superfície dos eletrodos expondo uma maior quantidade de negro de fumo, tornando-os mais condutivos. Além disso, a concentração de NaOH também exibe uma correlação negativa com ΔE_p , embora não estatisticamente significativa. Esse comportamento pode indicar uma tendência à melhoria da cinética eletroquímica com concentrações mais elevadas do tratamento alcalino.

Por outro lado, o tempo de tratamento tem um impacto significativo sobre I_{pa} e ΔE_p , apresentando correlações negativas fortes com ambas as variáveis. Isso sugere que tratamentos mais longos reduzem a corrente anódica, indicando uma diminuição na atividade eletroquímica da superfície, o que não é desejado. Em contrapartida, a forte correlação negativa entre o tempo de tratamento e ΔE_p indica que períodos mais longos de exposição ao NaOH tendem a reduzir a separação entre os picos de oxidação e redução, o que pode estar associado a uma melhora na transferência de carga, sendo um comportamento desejado.

Outro ponto interessante é a relação positiva e significativa entre I_{pa} e ΔE_p , sugerindo que um aumento na corrente anódica está associado a uma maior separação dos picos redox. Isso pode indicar que, apesar de uma corrente anódica mais alta ser desejável para um melhor sinal eletroquímico, ela pode vir acompanhada de um aumento na resistência do eletrodo, o que pode afetar a eficiência geral da reação. Além disso, a razão entre I_{pa} e I_{pc} apresentou uma correlação positiva significativa com R_{ct} , comportamento coerente, uma vez que altos valores de I_{pa}/I_{pc} , excedendo a razão 1, indica menor reversibilidade eletroquímica, o que geralmente está associado a uma maior resistência à transferência de carga.

Com base nesses resultados, é possível concluir que o aumento da concentração de NaOH no tratamento pode ser uma estratégia eficaz para reduzir R_{ct} e melhorar a condutividade do eletrodo. No entanto, o tempo de tratamento precisa ser cuidadosamente otimizado, pois tempos muito longos podem reduzir a corrente anódica, impactando negativamente a sensibilidade do sistema. Além disso, a relação entre I_{pa} e ΔE_p sugere que há um equilíbrio entre a intensidade da corrente e a separação dos picos redox, o que deve ser levado em conta ao definir as condições ideais do tratamento químico.

Após a obtenção da matriz de correlação, um modelo empírico (Equação 9) foi construído para as variáveis I_{pa} , I_{pa}/I_{pc} , ΔE_p e R_{ct} , a fim de encontrar uma superfície de resposta que descrevesse o sistema de maneira satisfatória utilizando o menor número possível de parâmetros. Optou-se por não se utilizar I_{pc} , A_e e k^0 , já que se deseja encontrar uma razão I_{pa}/I_{pc} mais próxima de 1, sendo I_{pa} igual a $|I_{pc}|$, e A_e e k^0 são provenientes de equações matemáticas mais complexas, o que pode levar ao prolongamento de erros. Os resultados por CV e EIS do planejamento experimental, bem como a sequência de ajustes para a obtenção do modelo, podem ser encontrados no Apêndice I. A equação obtida para cada variável, a relação entre os valores observados e preditos, a curva de superfície encontrada, assim como a curva de contorno (Figuras 44-55), todas obtidas com o auxílio do *software Statistica 12*, são apresentadas nos tópicos a seguir.

- $\Delta E_p = 0,713 - 0,104167z_2 - 0,1225z_2^2 - 0,0630001z_1z_2^2 + 0,103z_1^2z_2^2$ (Equação 12)
 $R^2 = 0,99083$

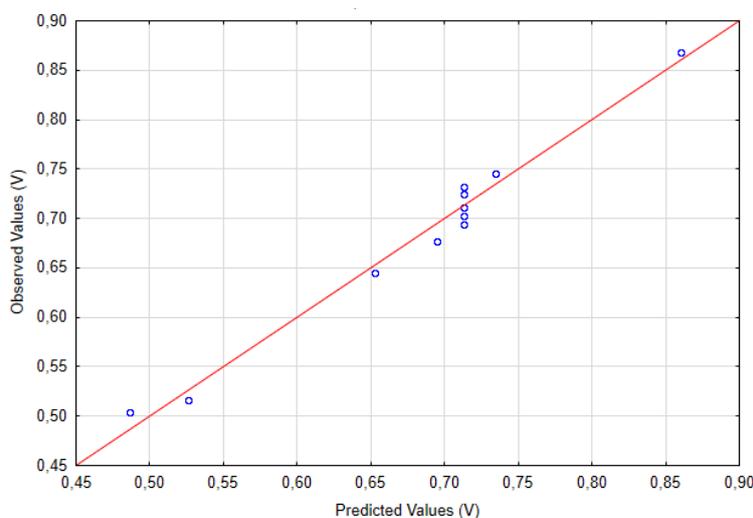


Figura 44. Gráfico de valores observados *versus* preditos pelo modelo obtido para a variável ΔE_p .

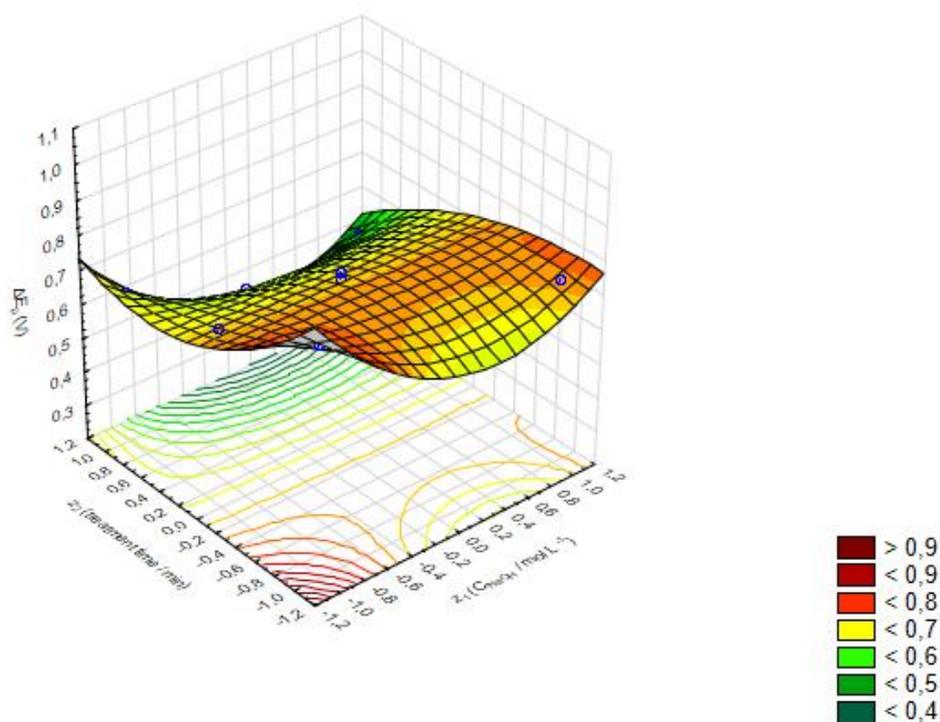


Figura 45. Curva de superfície para o modelo obtido para a variável ΔE_p .

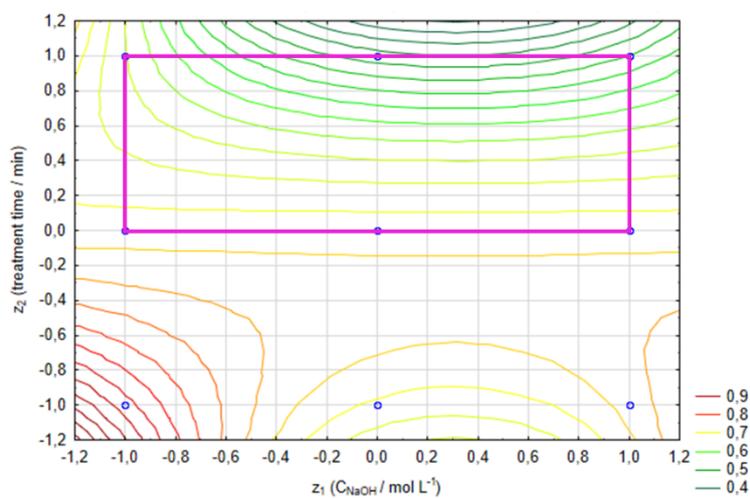


Figura 46. Gráfico de contorno de ΔE_p contra z_1 e z_2 . O retângulo destacado no interior da imagem representa a região onde há os menores valores de ΔE_p , condições desejadas para essa variável.

- $I_{pa}/I_{pc} = 1,09028 - 0,05738z_1 + 0,053965z_2 + 0,020895z_1z_2 - 0,02139z_1^2 - 0,061705z_1^2z_2 + 0,0488z_1z_2^2$ (Equação 13)
 $R^2 = 0,96354$

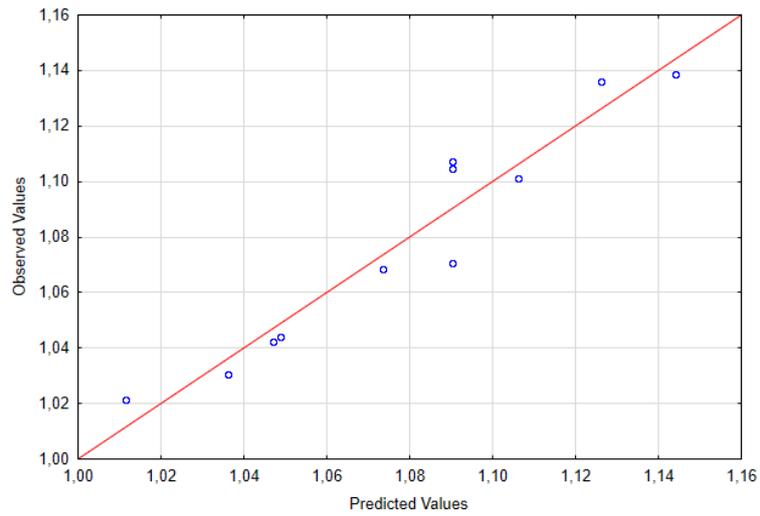


Figura 47. Gráfico de valores observados *versus* preditos pelo modelo obtido para a variável I_{pa}/I_{pc} .

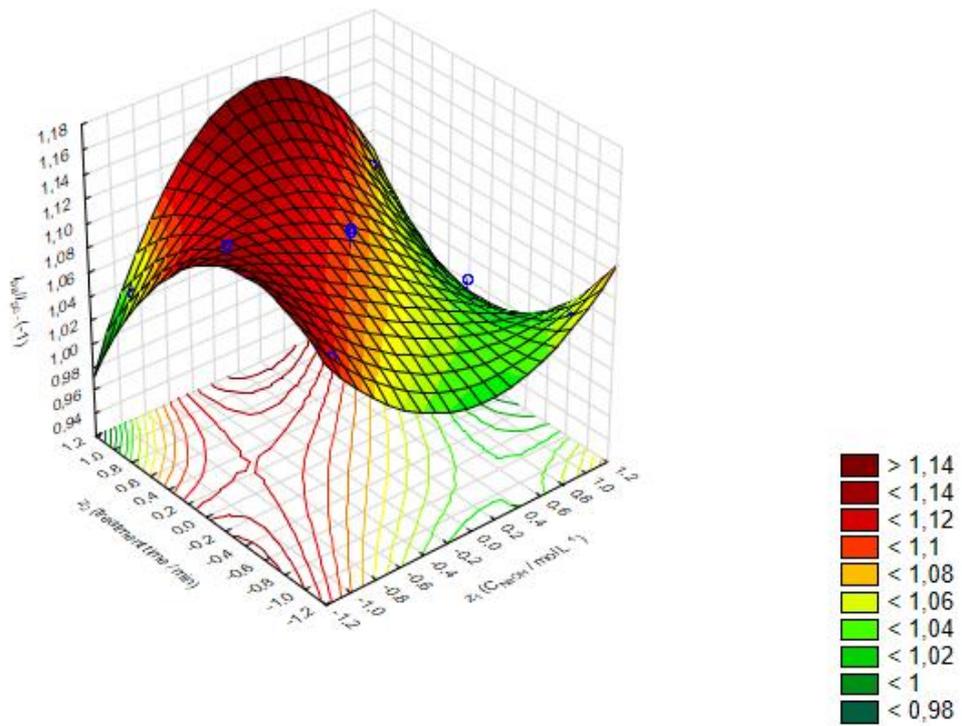


Figura 48. Curva de superfície para o modelo obtido para a variável I_{pa}/I_{pc} .

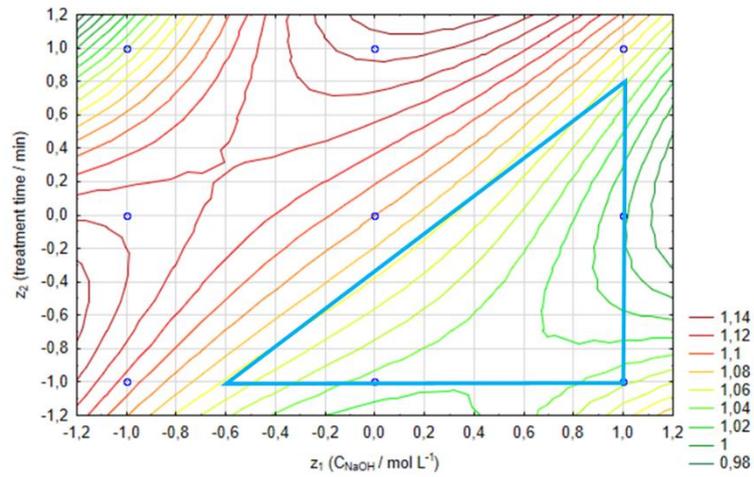


Figura 49. Gráfico de contorno de I_{pa}/I_{pc} contra z_1 e z_2 . A área destacada no interior da imagem representa os valores de I_{pa}/I_{pc} mais próximos de 1, condições desejadas para essa variável.

- $R_{ct} = 330,855 - 85,3667z_1 + 63,725z_1z_2 - 81,525z_1^2z_2$ (Equação 14)
 $R^2 = 0,87100$

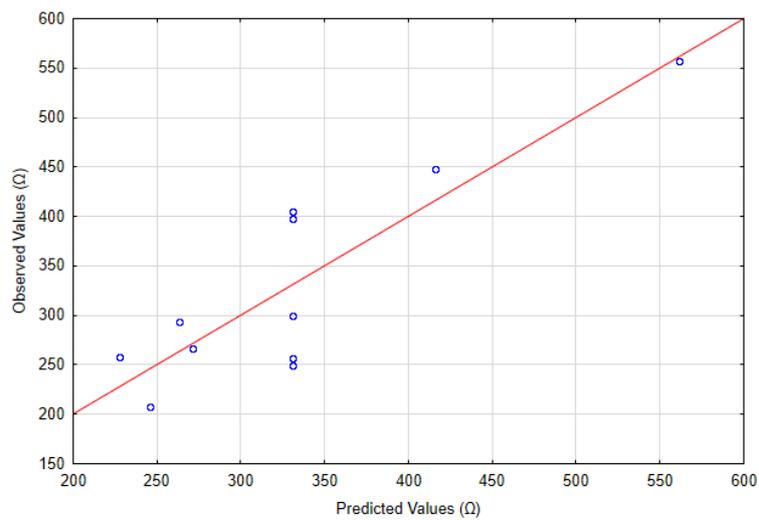


Figura 50. Gráfico de valores observados *versus* preditos pelo modelo obtido para a variável R_{ct} .

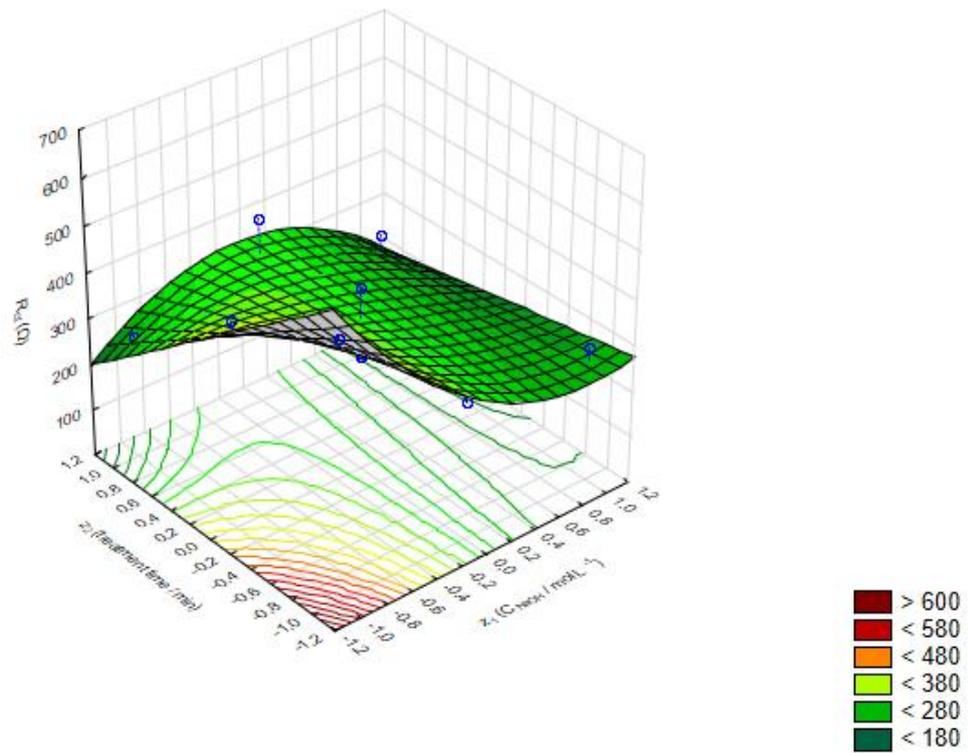


Figura 51. Curva de superfície para o modelo obtido para a variável R_{ct} .

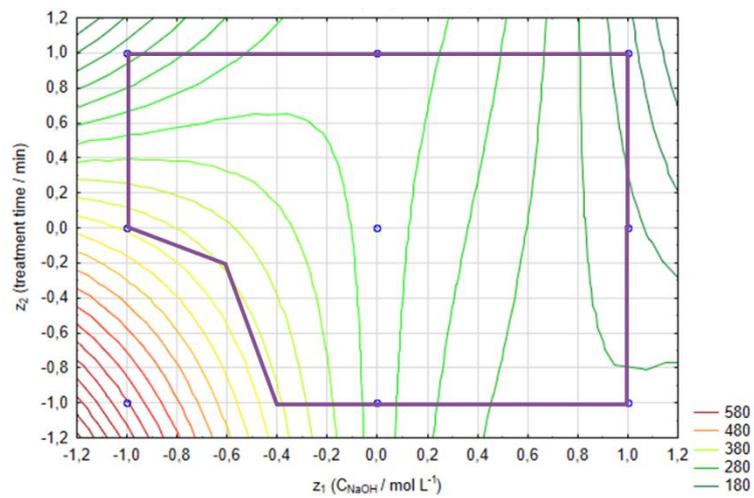


Figura 52. Gráfico de contorno de R_{ct} contra z_1 e z_2 . A área destacada no interior da imagem representa a região onde se encontram os menores valores de R_{ct} , condições desejadas para essa variável.

- $I_{pa} = 115,1829 - 18,8813z_2 - 12,9350z_1z_2$ (Equação 15)
 $R^2 = 0,77952$

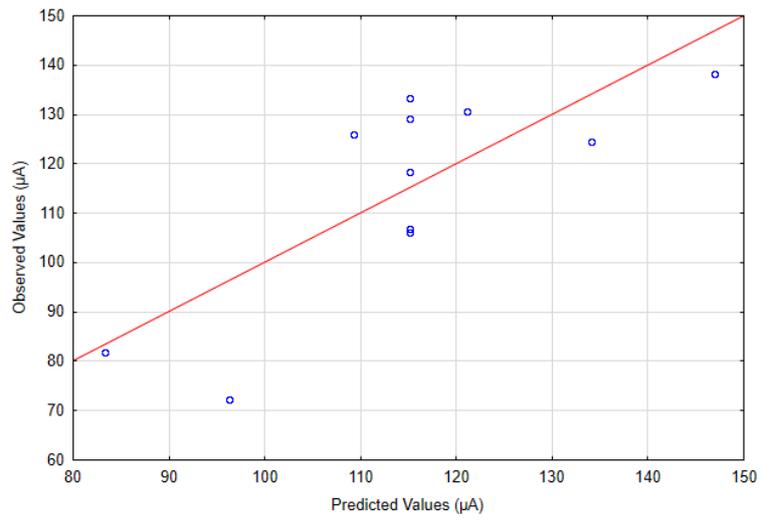


Figura 53. Gráfico de valores observados *versus* preditos pelo modelo obtido para a variável I_{pa} .

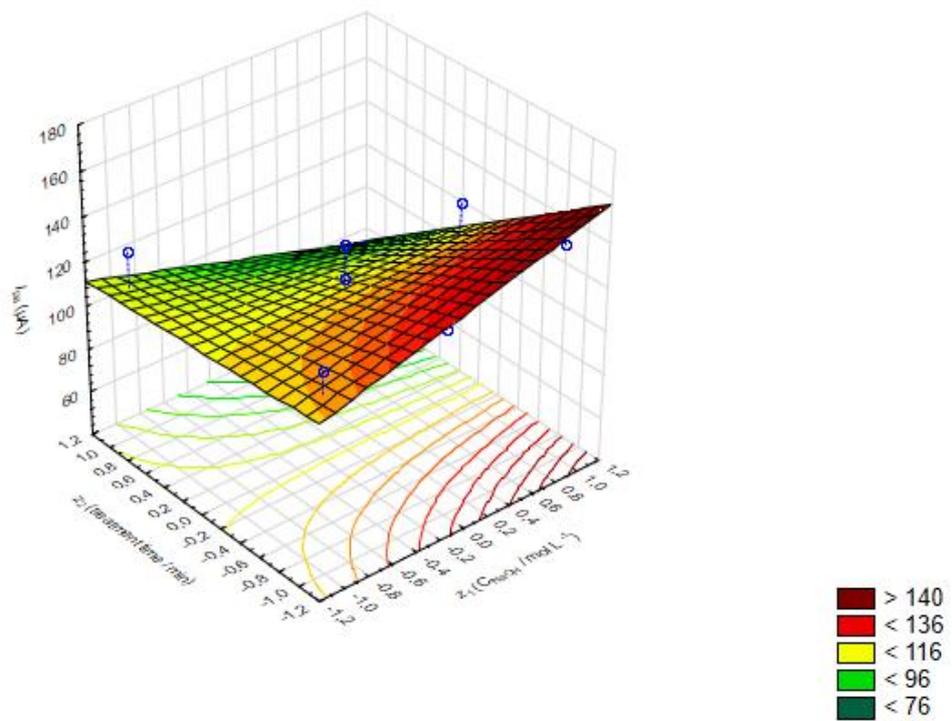


Figura 54. Curva de superfície para o modelo obtido para a variável I_{pa} .

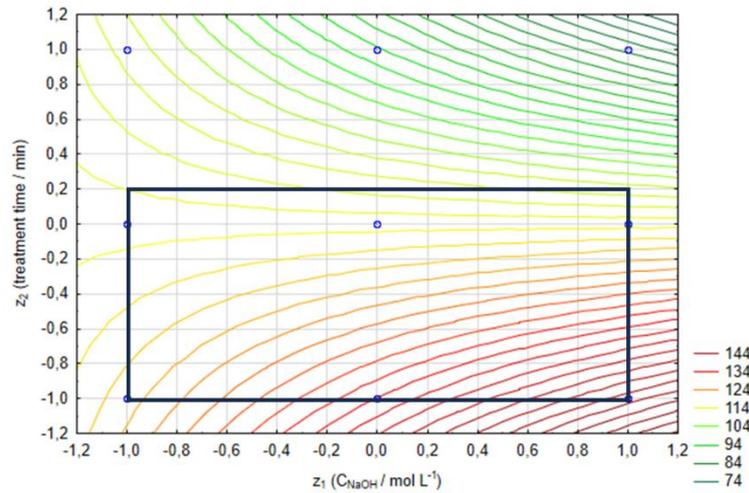


Figura 55. Gráfico de contorno de I_{pa} contra z_1 e z_2 . O retângulo destacado no interior da imagem representa a região onde se encontram as maiores correntes de pico anódico, condições desejadas para essa variável.

A partir da interseção dos melhores resultados de cada gráfico de contorno, conforme apresentado na Figura 56 sobre o gráfico de R_{ct} , é possível localizar a região que fornece os melhores resultados, destacada em vermelho. Embora o modelo não tenha se ajustado bem aos dados de algumas variáveis, como I_{pa} , sua inclusão não alterou a região escolhida, já que a região de interseção permaneceu a mesma. Assim, optou-se por continuar com a concentração de NaOH e o tempo de tratamento de 3 mol L^{-1} e 30 minutos, respectivamente (ponto vermelho da Figura 56).

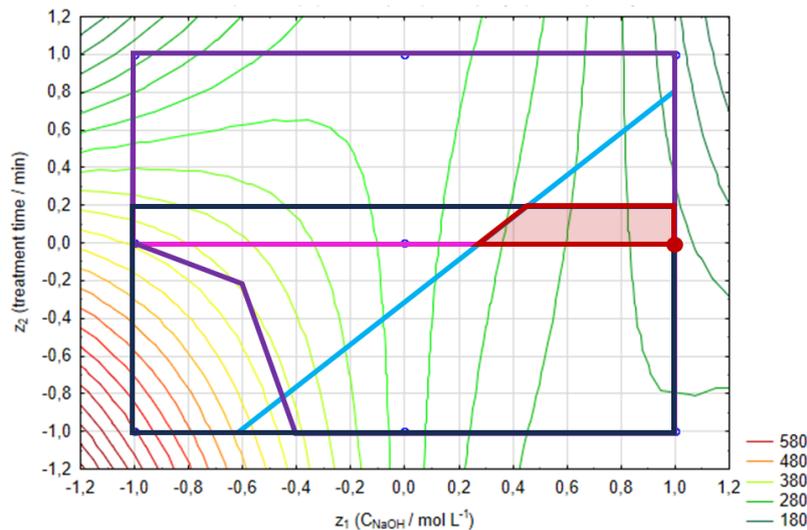


Figura 56. Interseção entre as melhores condições encontradas em cada gráfico de contorno, feita sobre o gráfico de R_{ct} . Rosa: região de menor ΔE_p , azul claro: região de $I_{pa}/I_{pc} \approx 1$; roxo: região de menor R_{ct} , azul escuro: região de maior I_{pa} . O trapézio em vermelho representa a região de interseção, e o ponto em vermelho, a concentração de NaOH de 3 mol L^{-1} e o tempo de tratamento de 30 minutos.

4.11 Avaliação do uso de nanopartículas magnéticas

Com o objetivo de aumentar as correntes de pico anódico e catódico, reduzir a resistência à transferência de carga e, potencialmente, ampliar oferecendo mais sítios de adsorção para a ligação entre biorreceptores e biomoléculas (LI *et al.*, 2021), investigou-se o uso de nanopartículas magnéticas (Fe_3O_4), já empregadas no desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos em trabalhos da literatura (AYDIN *et al.*, 2024; BOHLOOLI *et al.*, 2022; CAO *et al.*, 2014; GAYA *et al.*, 2023; KHOSRAVI *et al.*, 2023; LI *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2024), que foram depositadas sobre os eletrodos tratados com o método de ativação escolhido (NaOH 3 mol L^{-1} por 30 minutos).

A técnica de FTIR-ATR foi utilizada para analisar a composição química das nanopartículas de óxido de ferro sintetizadas. O espectro obtido (Figura 57) confirma a presença de magnetita (Fe_3O_4) por meio de bandas características associadas às ligações ferro-oxigênio (Fe-O). Isso foi evidenciado pela presença de bandas associadas às vibrações $\text{Fe}_t\text{-O-Fe}_o$ ($\nu_1 \approx 600\text{--}550\text{ cm}^{-1}$) e $\text{Fe}_o\text{-O}$ ($\nu_2 \approx 440\text{--}470\text{ cm}^{-1}$), onde Fe_t e Fe_o correspondem ao ferro ocupando posições tetraédricas e octaédricas, nessa ordem (ASAB *et al.*, 2020; NALBANDIAN *et al.*, 2015).

Na Figura 57, o pico em 3385 cm^{-1} indica a presença de grupos -OH , devido à água adsorvida e ao estiramento da ligação Fe-OH dos grupos superficiais -OH das nanopartículas (GEMEAY *et al.*, 2020; NALBANDIAN *et al.*, 2015). O espectro de FTIR também apresenta uma vibração de dobramento do H-O-H na região de 1633 cm^{-1} , típica da molécula de H_2O (ASAB, ZEREFFA, *et al.*, 2020).

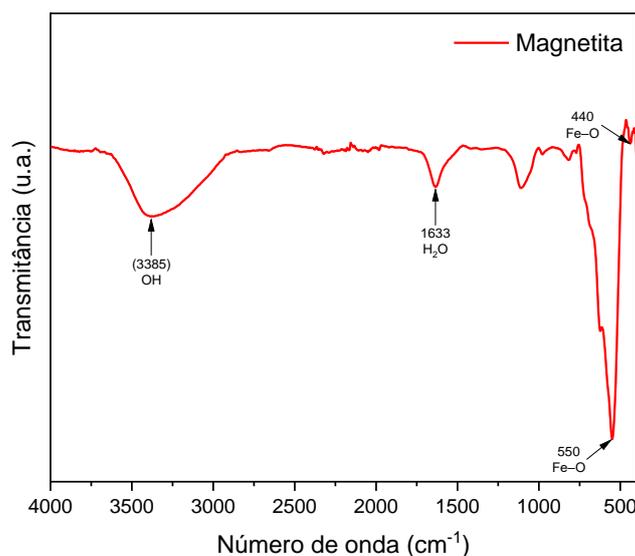


Figura 57. Espectro de FTIR das nanopartículas magnéticas sintetizadas.

A técnica de DLS foi utilizada para a obtenção do diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas. Quanto menor o tamanho das partículas, maior a sua relação área/volume, resultando em uma maior área superficial específica. Dessa forma, um maior número de sítios estão disponíveis para funcionalização ou para interação com outras moléculas (LIM *et al.*, 2013), como biorreceptores no caso de biossensores eletroquímicos. As curvas de distribuição de tamanho das amostras de Fe₃O₄ estão apresentadas na Figura 58.

O diâmetro hidrodinâmico médio das nanopartículas magnéticas dispersas em água ultrapura (absorbância ~70%) obtido foi $196,3 \pm 21,141$ nm. A amostra foi sonicada por 10 minutos na potência de 70% antes das análises. Os dois picos na distribuição de intensidade encontrados representam diferentes populações de partículas ou agregados presentes na amostra, e apresentam valores de $186,9 \pm 50,263$ e $1847,8 \pm 1575,657$ nm.

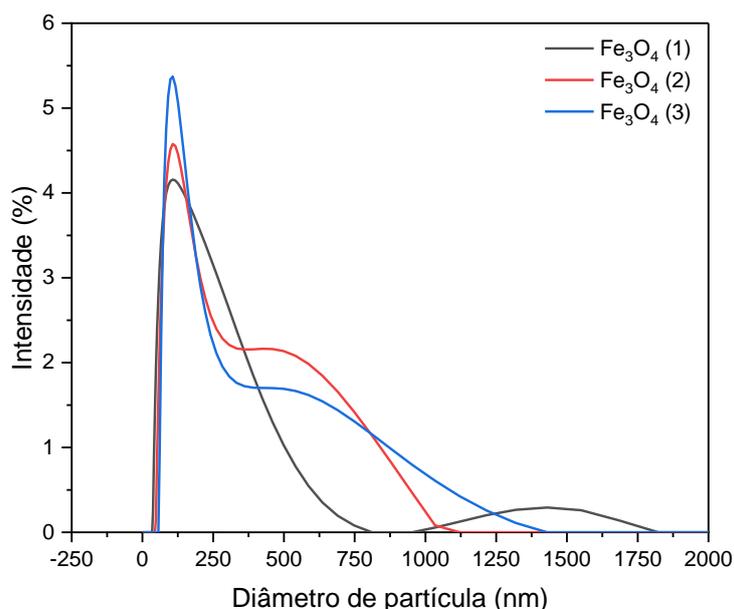


Figura 58. Curvas de distribuição de tamanho da amostra

Quando uma partícula carregada entra em contato com um líquido, ocorre a formação de uma dupla camada elétrica ao seu redor, composta por íons e contraíons do meio. Durante o movimento da partícula no fluido, parte do líquido ao seu redor é arrastada, incluindo os contraíons mais fortemente ligados à sua superfície. O potencial elétrico no ponto onde esse fluido começa a se deslocar é chamado de potencial zeta (ζ), sendo um indicador da carga superficial das partículas dispersas (BELLMANN *et al.*, 2022; BUTT *et al.*, 2003).

A medida do potencial zeta é útil para analisar a estabilidade de suspensões coloidais e compreender a afinidade entre superfícies carregadas. Em geral, valores elevados de ζ (acima de 30 mV, positivos ou negativos) indicam que as partículas tendem a se repelir, favorecendo a estabilidade da suspensão. Quando esse valor se aproxima de zero, a repulsão diminui e a agregação das partículas se torna mais provável, podendo levar à separação de fases (BUTT *et al.*, 2003). No entanto, a estabilidade coloidal não depende apenas das interações eletrostáticas. Outros fatores, como forças de hidratação, solvatação e interações hidrofóbicas, também podem influenciar a dispersão das partículas (BELLMANN *et al.*, 2022).

A fim de verificar a carga das nanopartículas obtidas para avaliar a utilização a longo prazo da mesma dispersão coloidal produzida, o potencial zeta foi determinado em uma dispersão aquosa contendo cerca de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. O valor encontrado foi de $-26,95 \pm 0,47 \text{ mV}$, próximo de -30 mV .

A química de superfície das nanopartículas de magnetita em suspensão varia conforme o pH do meio. Quando dispersas em solução aquosa, essas partículas apresentam uma camada de hidratação composta por grupos Fe–OH, os quais possuem caráter anfotérico. Dessa forma, dependendo do pH da solução, esses grupos podem se protonar, formando Fe–OH₂⁺, ou desprotonar, resultando em Fe–O⁻, conferindo cargas positivas ou negativas à superfície das nanopartículas. Abaixo do ponto isoelétrico (pI) (pH < pI), as nanopartículas tendem a apresentar carga superficial positiva, enquanto acima desse ponto (pH > pI), a carga passa a ser negativa (SINGH *et al.*, 2012). Como o valor obtido foi negativo, conclui-se que o pH do meio estava acima do ponto isoelétrico das nanopartículas sintetizadas, que não foi determinado por fugir do propósito deste trabalho.

20 μL de uma dispersão de 1 mg mL^{-1} das nanopartículas sintetizadas depositadas sobre uma fita de carbono e metalizadas com platina foram analisadas por MEV objetivando verificar a morfologia e confirmar o tamanho de partícula, conforme mostrado na Figura 59. As imagens revelaram a presença de diversos agregados de nanopartículas, e as medidas realizadas nas ampliações de 40000 e 50000x (cinco medidas) evidenciaram a existência de aglomerados de nanopartículas, que, individualmente, apresentaram tamanho de $40,01 \pm 8,70 \text{ nm}$.

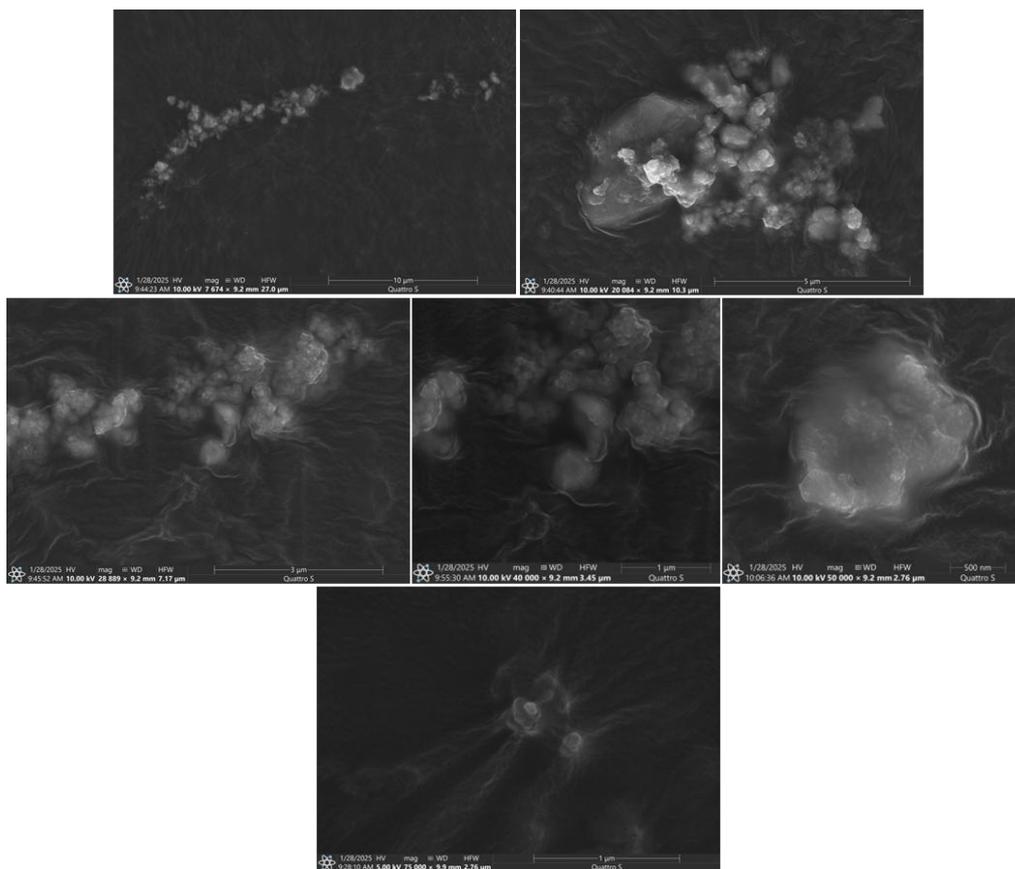


Figura 59. Micrografias, em ordem crescente de ampliação, de 20 μL de uma dispersão de 1 mg mL^{-1} de nanopartículas magnéticas depositadas sobre a fita de carbono.

Como base para os ensaios iniciais com os eletrodos impressos em 3D, utilizou-se o trabalho de Li *et al.* (2021), no qual 20 μL de uma dispersão de nanoflores de magnetita (Fe_3O_4) de 1 mg mL^{-1} foi depositada sobre a superfície do eletrodo de óxido de índio e estanho. Assim, neste trabalho, foram depositados 20 μL de dispersões contendo as nanopartículas nas concentrações de 0,05, 1, 2 e 10 mg mL^{-1} .

Imagens por MEV do eletrodo tratado com as nanopartículas depositadas também foram obtidas (Figura 60). No entanto, é difícil distinguir o que são deformidades causadas pelo tratamento e o que são aglomerados de nanopartículas.

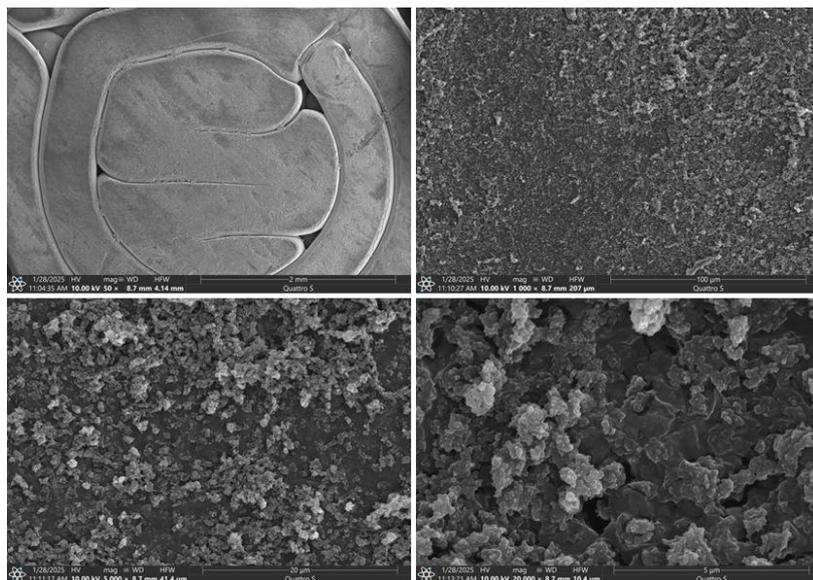


Figura 60. Micrografias, em ordem crescente de ampliação, do eletrodo tratado com NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 minutos com a deposição de 20 µL de uma dispersão de 1 mg mL⁻¹ de nanopartículas magnéticas.

Os resultados obtidos por CV e EIS (triplicata) em solução contendo 1:1 mmol L⁻¹ de Fe(CN)₆^{3-/4-} em 0,1 mol L⁻¹ de KCl, bem como a tabela de análise de variância, podem ser encontrados no Apêndice J. Como *p-valor* foi menor do que 0,05 para todas as variáveis analisadas, o teste de Tukey foi realizado (Figura 61).

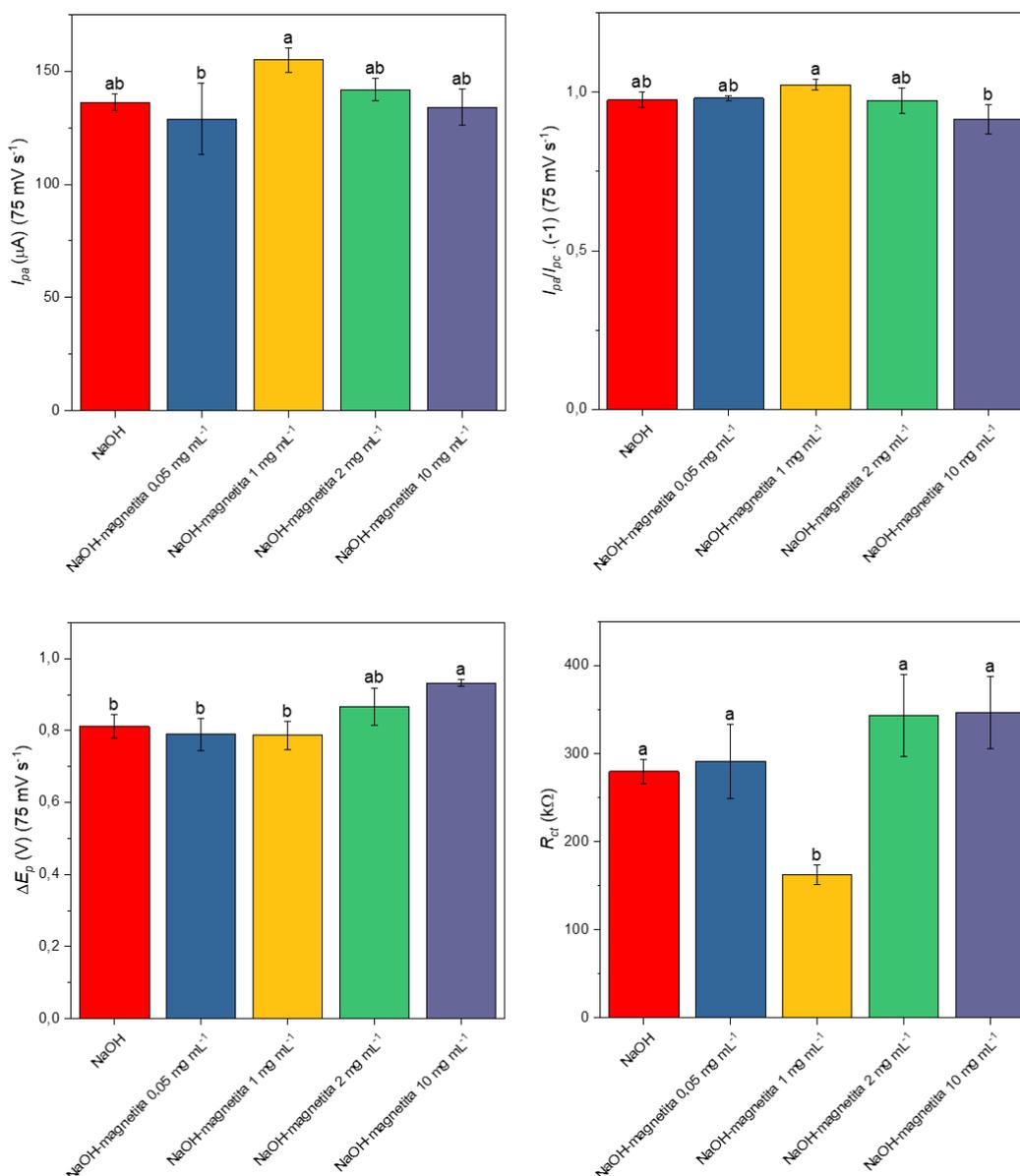


Figura 61. Teste de Tukey (nível de significância = 0,05) para I_{pa} , I_{pa}/I_{pc} , ΔE_p e R_{ct} para a avaliação do uso de nanopartículas magnéticas.

Com base nos resultados apresentados na Figura 61, observa-se que, nas concentrações testadas e volumes depositados, as nanopartículas magnéticas não melhoraram consideravelmente o desempenho eletroquímico dos eletrodos tratados com NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 minutos. Isso se confirma pelo fato de a maioria dos grupos analisados apresentarem a mesma letra que o eletrodo sem magnetita (NaOH) no teste de Tukey. A única exceção foi a variável R_{ct} , para a qual o eletrodo modificado com a deposição de 20 μL de uma dispersão de 1 mg mL⁻¹ se destacou. Diante desses resultados, optou-se por prosseguir os experimentos sem a deposição de nanopartículas magnéticas,

embora futuras investigações possam explorar outras concentrações e/ou diferentes nanomateriais.

4.12 Detecção de glifosato

A espectrofotometria UV-VIS foi utilizada para avaliar a atividade catalítica da fosfatase ácida ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$), na presença e ausência de glifosato ($1 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$), por meio de um ensaio cinético com diferentes concentrações de fenilfosfato em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 5,6, parando a reação após 2 minutos. Após a escolha da concentração de 3 mmol L^{-1} de substrato, a reação foi monitorada por 1 hora. Além disso, a inibição da fosfatase ácida pelo glifosato foi comparada em diferentes tampões, pHs e concentração de fenilfosfato: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,6), tampão acetato (pH 7,0) e tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), empregando concentrações de 3 e 80 mmol L^{-1} de substrato e tempo de inibição de 16 minutos, conforme apresentado e discutido no Apêndice K.

Os resultados indicaram que o glifosato não inibiu significativamente a enzima utilizada, contrastando com o estudo de Butmee *et al.* (2021), que desenvolveu o único biossensor eletroquímico para detecção indireta de glifosato baseado na inibição da fosfatase ácida, utilizando fenilfosfato como substrato, descrito na literatura.

As condições experimentais de 3 mmol L^{-1} de substrato em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5,6, próximo ao pH 5,7, que é o valor ideal para a fosfatase ácida segundo o fabricante (SIGMA-ALDRICH, 2024), com e sem glifosato ($1 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$), foram reproduzidas em potenciostato para testes com os biossensores eletroquímicos.

Eletrodos tratados com $\text{NaOH } 3 \text{ mol L}^{-1}$ por 30 minutos foram modificados pela imobilização por adsorção física da enzima através da deposição de $20 \text{ } \mu\text{L}$ de uma solução de fosfatase ácida a 5 mg L^{-1} feita em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,6).

Para confirmar a imobilização da enzima, a técnica de FTIR-ATR foi empregada (Figura 62). Observou-se a presença da banda amida I, localizada na faixa de $1600\text{--}1690 \text{ cm}^{-1}$, que é associada às vibrações de estiramento do grupo C=O de ligações peptídicas. Além disso, a também encontrada banda amida II, localizada entre 1480 e 1575 cm^{-1} , resulta principalmente de movimentos de dobramento do grupo NH no plano e da vibração de estiramento do grupo CN . Essas bandas são comumente utilizadas para analisar e identificar a estrutura secundária de proteínas (BUNACIU *et al.*, 2014; TABE *et al.*, 2021).

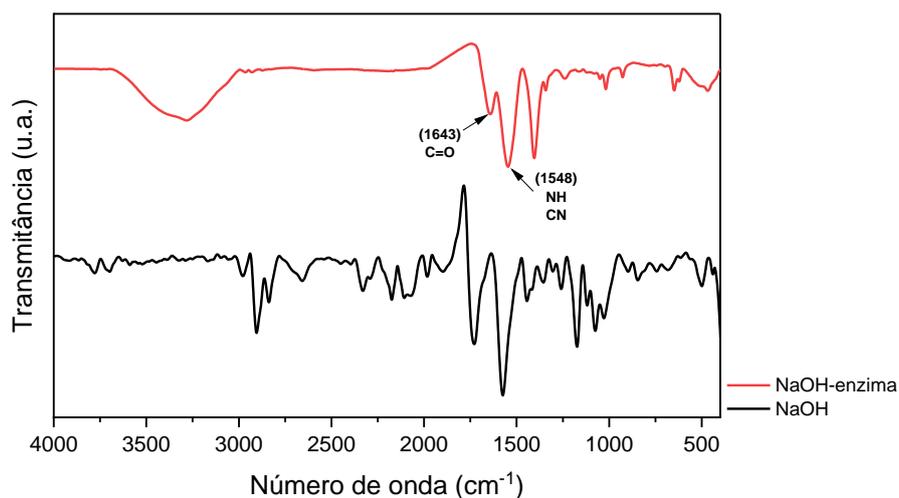


Figura 62. Espectro de FTIR do eletrodo tratado em NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 minutos e do mesmo eletrodo com a enzima fosfatase ácida imobilizada por adsorção física.

Imagens por MEV do eletrodo tratado contendo enzimas imobilizadas na superfície também foram obtidas, como visto na Figura 63. Cristais podem ser vistos por toda a superfície do eletrodo, devido, provavelmente, aos sais do tampão utilizado (tampão acetato 0,1 mol L⁻¹).

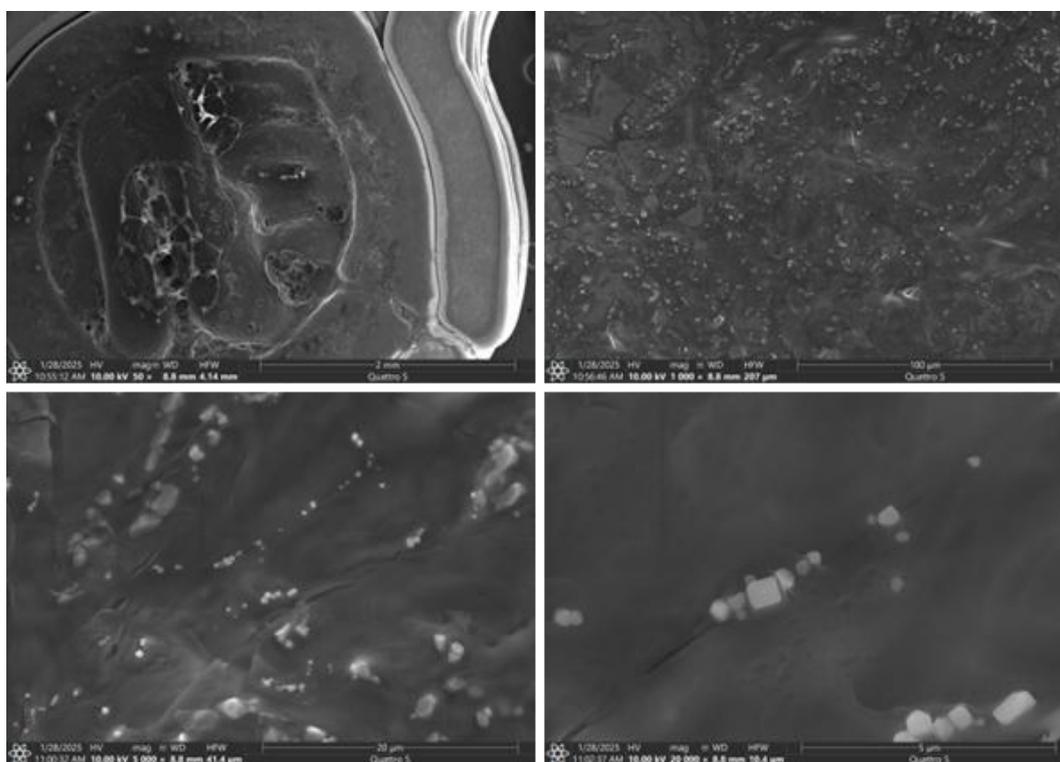


Figura 63. Micrografias, em ordem crescente de ampliação, do eletrodo tratado com NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 minutos após a deposição de 20 μL de uma solução de 5 mg mL⁻¹ de fosfatase ácida preparada em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6).

Testes prévios foram realizados com os eletrodos sem enzimas imobilizadas utilizando uma solução 3 mmol L⁻¹ de fenol, produto da reação enzimática, em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6), com o intuito de verificar os potenciais dos picos dessa espécie pelas técnicas de CV e DPV. A Figura 64 representa o possível mecanismo e os produtos formados durante a oxidação eletroquímica do fenol. Esse processo frequentemente leva à geração de um depósito polimérico passivante e alcatrão na superfície do eletrodo, resultante da polimerização por adição de radicais do radical fenóxi (Caminho-1 – *Pathway-1* – da Figura 64), o que pode causar problemas de incrustação (SUNDARAM e ANNAMALAI, 2012).

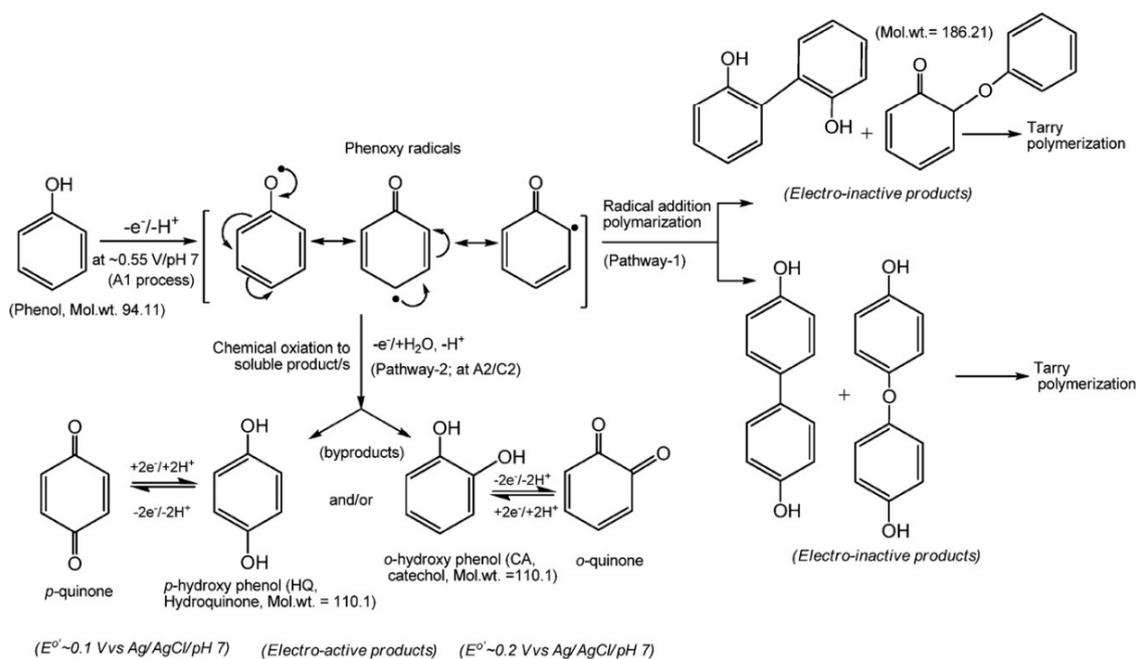


Figura 64. Reação de oxidação do fenol e seus subprodutos. Caminho-1: polimerização radicalar do radical fenóxi, formando produtos alcatrão eletroinativos (estruturas possíveis). Caminho-2: subprodutos polifenólicos, como hidroquinona e catecol.

Fonte: Sundaram e Annamalai (2012).

Ao analisar os resultados para a solução de fenol com concentração de 3 mmol L⁻¹ (Figura 65), os voltamogramas cíclicos a 50 mV s⁻¹ do fenol revelaram a oxidação dessa espécie, resultando em um pico no potencial (E_{pa}) de 1,104 V, e a redução dos produtos gerados por essa oxidação, originando um pico (E_{pc}) em 0,176 V. A eletrodeposição dos produtos de oxidação não condutores do fenol, como os polímeros da Figura 64, causaram uma redução significativa nos picos ao longo de varreduras consecutivas. Após três ciclos de varredura, a resposta parece desaparecer completamente devido à adsorção desses produtos, que diminuem a área eletroativa do eletrodo. Esse

comportamento também foi verificado por Negash *et al.* (2014) ao detectarem fenol ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$) utilizando um eletrodo de carbono vítreo não modificado. Reiterando, o pH utilizado foi aquele em que há a maior atividade enzimática da fosfatase. Para a detecção do fenol, é interessante a realização de estudos visando à diminuição do potencial de pico de sua detecção, possibilitando, assim, a utilização de potenciais mais baixos.

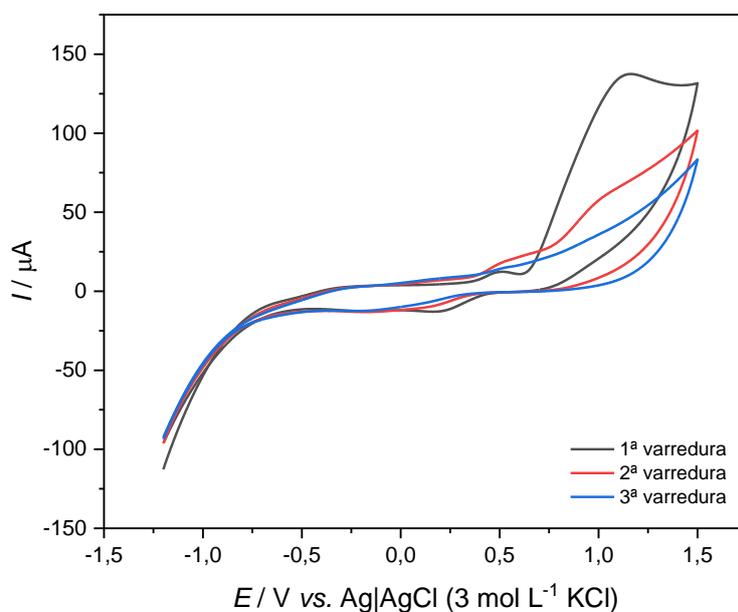


Figura 65. Voltamogramas cíclicos da solução de 3 mmol L^{-1} de fenol em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,6) para três varreduras consecutivas ($\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$).

A técnica de DPV ($E_{passo} = 0,005 \text{ V}$; $E_{pulso} = 0,05 \text{ V}$ e $t_{pulso} = 0,05 \text{ s}$) para o fenol também revelou dois picos: um próximo a $0,5 \text{ V}$ e outro, mais intenso, próximo a $0,85 \text{ V}$. Como esperado, na ausência de fenol e na presença apenas da solução tampão acetato (pH 5,6), o eletrodo não apresentou picos (linha verde da Figura 66). Novamente, a intensidade dos picos reduziu com a execução de varreduras consecutivas, provavelmente, pelo motivo já discutido.

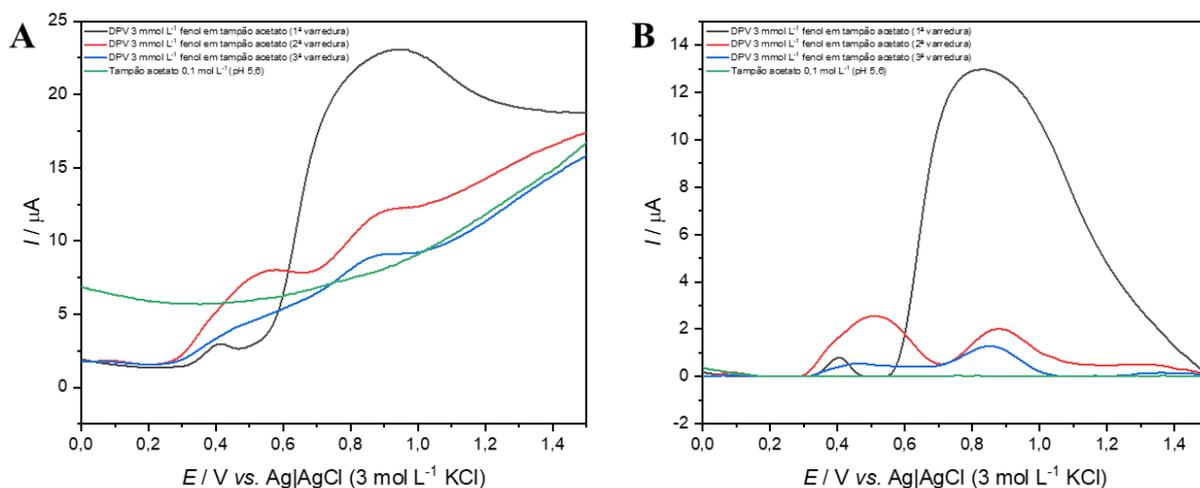


Figura 66. Respostas por DPV do tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) e de 3 mmol L⁻¹ de fenol no mesmo tampão, sem (A) e com (B) correção da linha de base, em três varreduras consecutivas.

Após a imobilização da enzima nos eletrodos, o ensaio em tampão acetato (pH 5,6) com força iônica de 0,1 mol L⁻¹ e concentração de fenilfosfato de 3 mmol L⁻¹, com ou sem glifosato na concentração de 1 μg mL⁻¹, foi também reproduzido com o tempo de incubação de 16 minutos (Apêndice K) com os biossensores eletroquímicos, utilizando a técnica de DPV ($E_{passo} = 0,005 \text{ V}$; $E_{pulso} = 0,05 \text{ V}$ e $t_{pulso} = 0,05 \text{ s}$). A Figura 67 apresenta a média das triplicatas das respostas obtidas pela técnica, antes e após a correção da linha de base. Os dados coletados são do primeiro ciclo de varredura, e eletrodos distintos foram usados em cada ensaio.

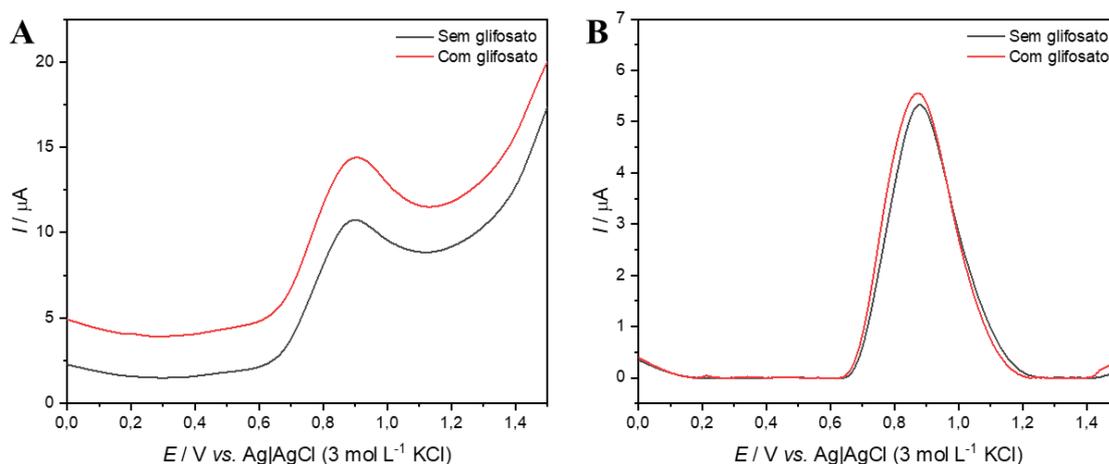


Figura 67. Respostas por DPV do eletrodo modificado com fosfatase ácida em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) contendo 3 mmol L⁻¹ de fenilfosfato, com e sem glifosato (1 μg mL⁻¹), após 16 minutos de incubação.

Dessa vez, apenas um pico pôde ser verificado em $0,879 \pm 0,003$ V e em $0,884 \pm 0,020$ V, com e sem a presença de glifosato, nessa ordem, atribuído à oxidação do fenol produzido pela quebra do substrato pela enzima. Os valores das correntes de pico detectados foram $5,332 \pm 0,641$ μ A e $5,599 \pm 0,364$ μ A na presença e ausência de inibidor, respectivamente. Dentro do desvio padrão associado a esses ensaios, não há diferenças entre os valores detectados com e sem o herbicida. Portanto, conclui-se que o biossensor eletroquímico produzido com a utilização dos eletrodos impressos em 3D tratados com NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 minutos neste trabalho não foi capaz de detectar glifosato no tampão, no pH, nas concentrações e no tempo de incubação testados.

4.13 Detecção de fipronil

A oxidação eletroquímica do fipronil também foi investigada por CV (50 mV s⁻¹) e DPV ($E_{passo} = 0,005$ V; $E_{pulso} = 0,05$ V e $t_{pulso} = 0,05$ s) em tampão Britton-Robinson (BR) 0,1 mol L⁻¹ em diferentes valores de pH, utilizando os eletrodos impressos em 3D tratados em NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 minutos. A Figura 68 mostra as respostas obtidas por CV (terceiro ciclo de varredura) e DPV dos tampões utilizados sem a presença de fipronil com e sem etanol (com e sem correção da linha de base).

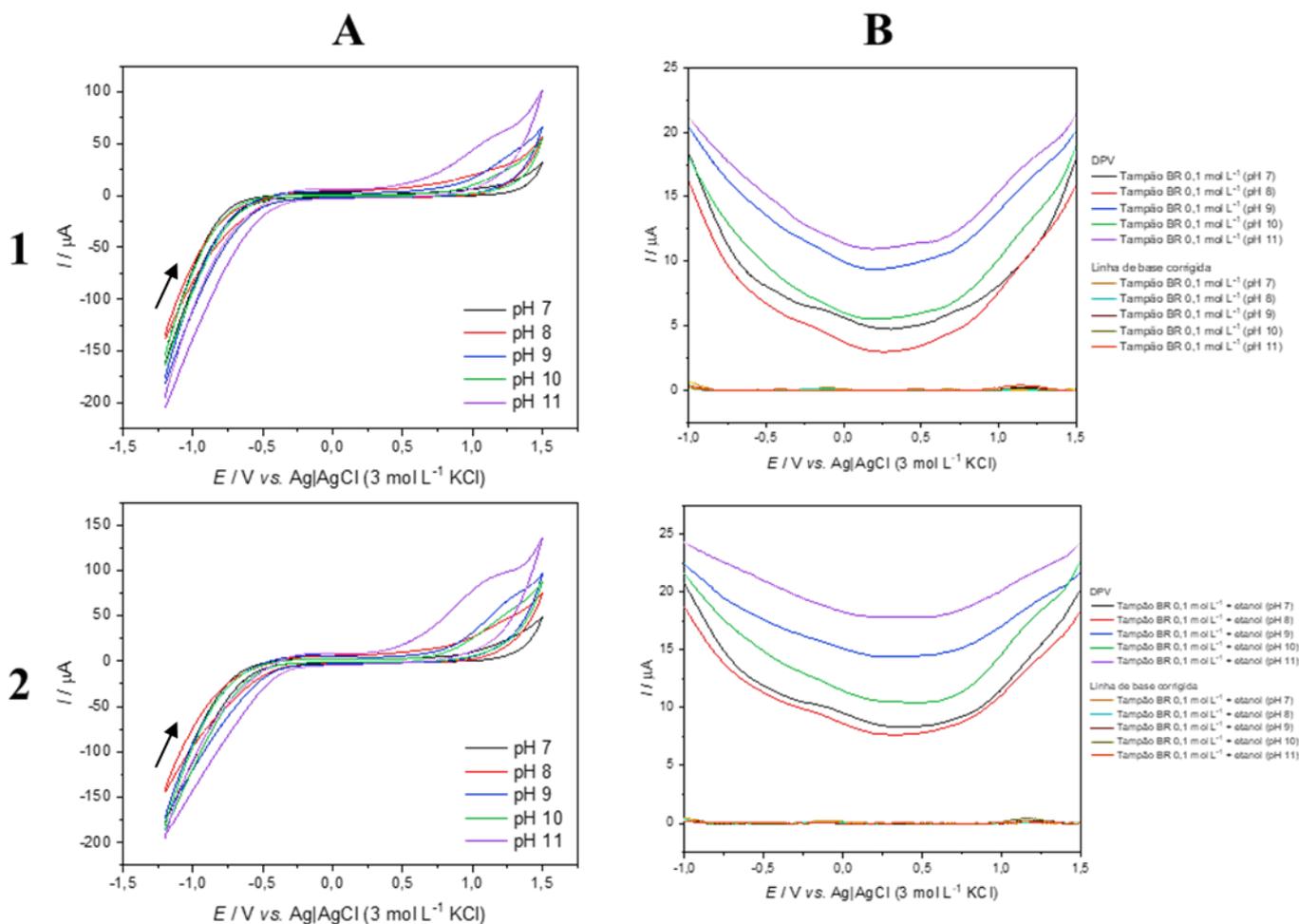


Figura 68. Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1} , terceiro ciclo de varredura) (A) e respostas por voltametria de pulso diferencial ($E_{\text{passo}} = 0,005 \text{ V}$; $E_{\text{pulso}} = 0,05 \text{ V}$ e $t_{\text{pulso}} = 0,05 \text{ s}$) (B) dos tampões BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes pHs (1) e dos mesmos tampões contendo etanol (2).

Durante a detecção de fipronil ($50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) por CV nos diferentes pHs, apresentada na Figura 69, o primeiro ciclo de varredura (de potenciais negativos a positivos) revelou um único processo oxidativo que ocorre em aproximadamente $1,23 \text{ V}$, $1,15 \text{ V}$, $1,04 \text{ V}$, $0,98 \text{ V}$ e $0,96 \text{ V}$ para os pHs 7, 8, 9, 10 e 11, respectivamente, seguido pelo aparecimento de dois picos de redução na varredura reversa, que não são tão evidentes nos pHs 10 e 11. No segundo e no terceiro ciclos, entretanto, um novo pico de oxidação surge entre $0,0$ e $0,1 \text{ V}$ (dependendo do pH utilizado), o que pode ser atribuído às espécies geradas na redução do ciclo anterior. Além disso, o pico de oxidação original reaparece nesses novos ciclos de varredura, e os picos de redução se tornam ligeiramente mais intensos, porém menos evidentes nos pHs 10 e 11. O aparecimento desses picos também foi verificado por Montes *et al.* (2016) ao estudarem a oxidação de 1 mmol L^{-1}

de fipronil em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 /acetona (50:50, v/v), utilizando um eletrodo de carbono vítreo não modificado.

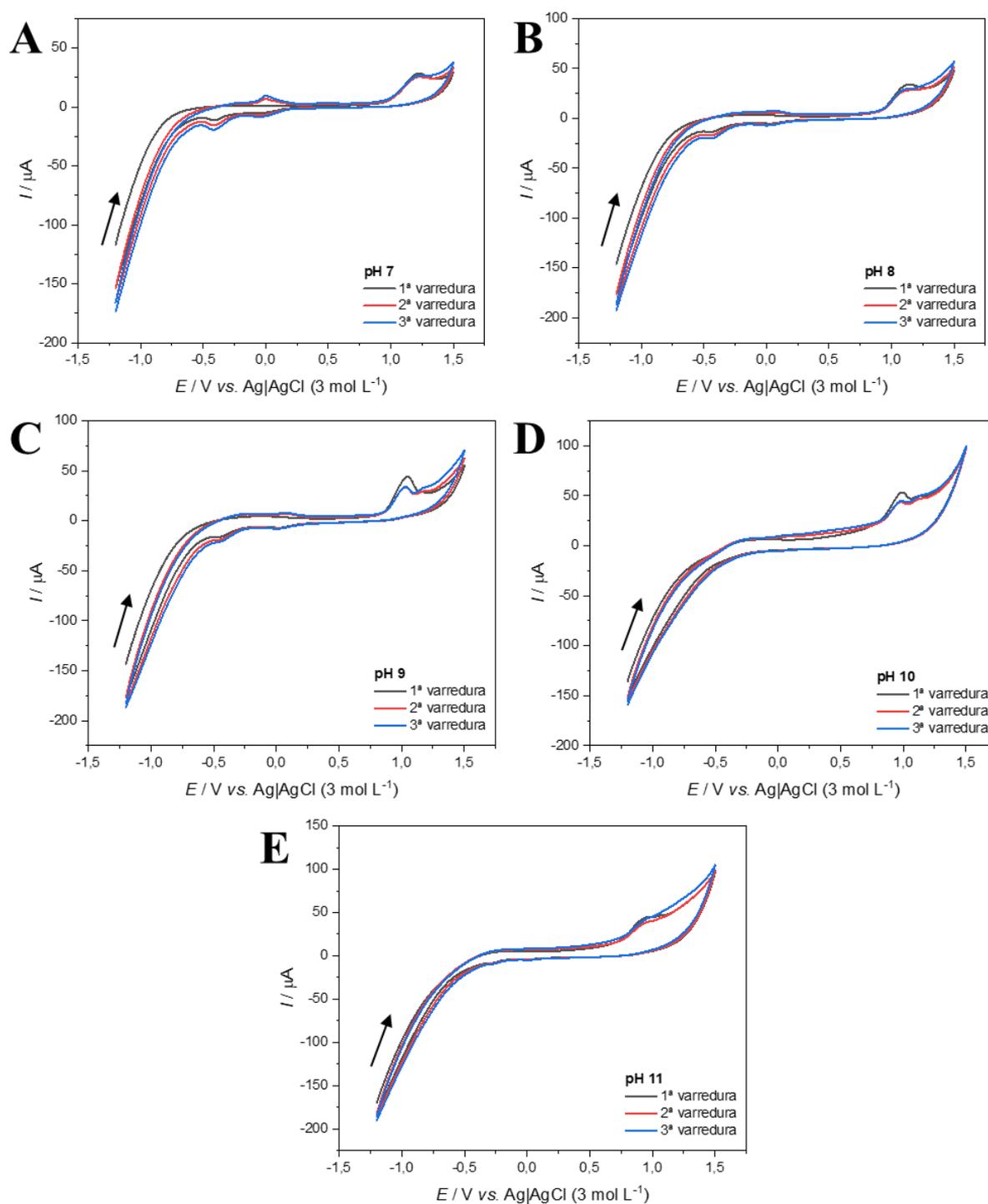


Figura 69. Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) dos tampões BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de fipronil em pH 7 (A), 8 (B), 9 (C), 10 (D) e 11 (E).

Após esse experimento, novas varreduras foram realizadas com um eletrodo ainda não utilizado na mesma faixa de potencial, mas partindo de potenciais positivos para negativos. Esse ensaio confirmou que o pico de oxidação ($\sim 0,08$ V para o pH 10) ausente no primeiro ciclo de varredura do sentido negativo para positivo já se manifesta desde o primeiro ciclo de varredura quando o sentido de varredura é trocado (Figura 70).

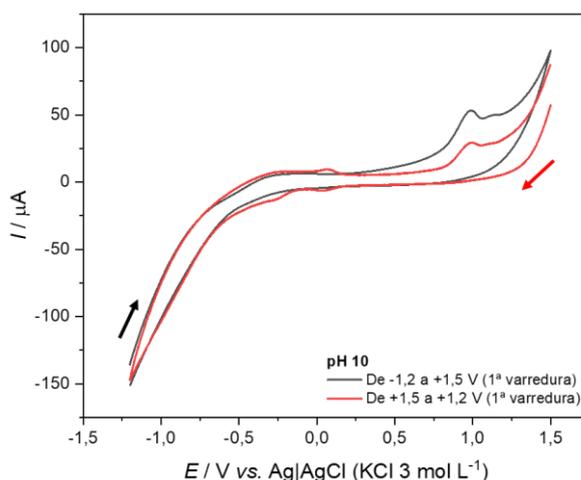


Figura 70. Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1} , primeiro ciclo de varredura) do tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 10) contendo $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de fipronil de $-1,2$ a $+1,5$ V (preto) e de $+1,5$ a $-1,2$ V (vermelho).

A Figura 71 compara os voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) para a detecção de fipronil ($50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em cada pH, obtidos após o primeiro e o terceiro ciclo de varredura, de potenciais negativos para positivos. A partir de sua análise, é possível perceber o surgimento do pico de oxidação entre $0,0$ e $0,1$ V e a intensificação dos picos de redução após o terceiro ciclo de varredura. Além disso, observou-se uma variação no potencial do pico de oxidação (E_p) conforme o pH da solução eletrolítica, sendo que o aumento do pH levou a uma redução de E_p .

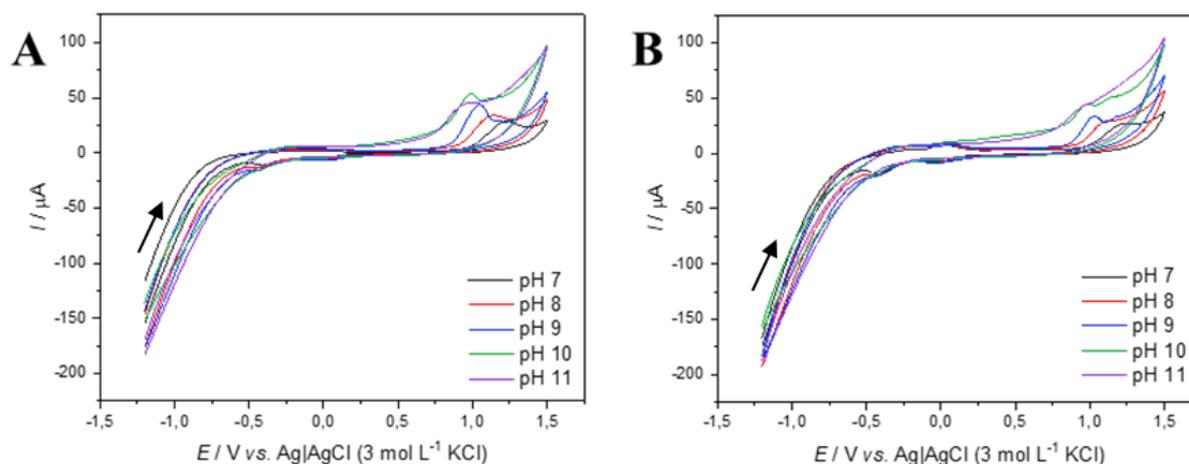


Figura 71. Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) do primeiro (A) e do terceiro (B) ciclo de varredura em tampões BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 50 μmol L^{-1} de fipronil em diferentes pHs.

O gráfico de E versus pH dos resultados do primeiro ciclo de CV (50 mV s^{-1}) para a detecção de fipronil foi obtido (Figura 72). O gráfico apresentou uma inclinação de -68 mV pH^{-1} , sugerindo que a oxidação eletroquímica do fipronil envolve a mesma quantidade de elétrons e prótons, próximo do valor teórico de -59 mV pH^{-1} fornecido pela equação de Nernst (Equação B12) (MONTES *et al.*, 2016).

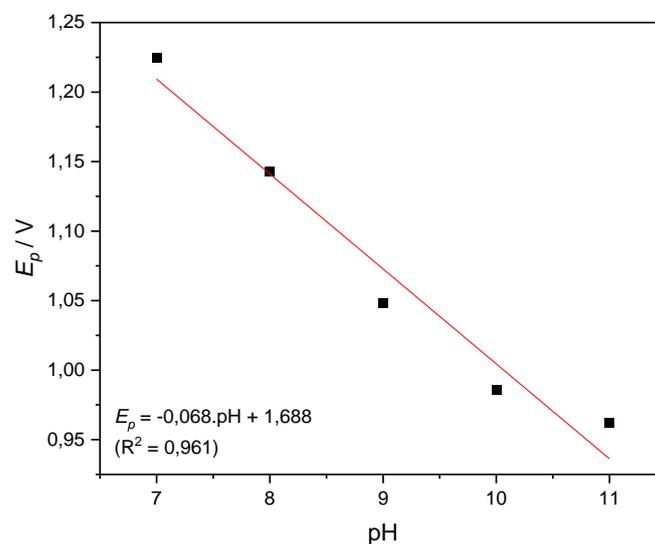


Figura 72. Gráfico de E_p versus pH obtido com os dados do primeiro ciclo de voltametria cíclica (50 mV s^{-1}) para a detecção de 50 μmol L^{-1} de fipronil em tampões BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

A detecção de fipronil também foi investigada pela técnica de DPV ($E_{passo} = 0,005 \text{ V}$; $E_{pulso} = 0,05 \text{ V}$ e $t_{pulso} = 0,05 \text{ s}$) nos mesmos tampões e na mesma concentração de fipronil, utilizando eletrodos distintos, conforme apresentado na Figura 73.

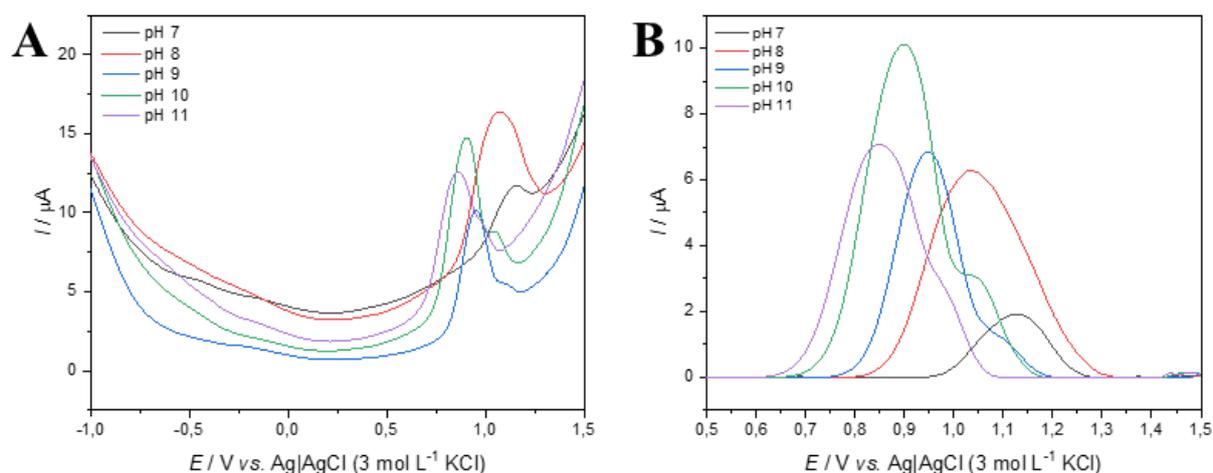


Figura 73. Respostas por DPV (1^o ciclo de varredura) de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de fipronil em tampões BR 0,1 mol L^{-1} em diferentes pHs sem (A) e com (B) a correção da linha de base.

Da mesma forma, foi observada uma redução no potencial de pico com o aumento do pH. Houve um aumento das correntes de pico até o pH 10, que foi então reduzida, em pH 11. Assim, conclui-se que o fipronil pode ser detectado pelos eletrodos de CB/PLA impressos em 3D tratados com $\text{NaOH } 3 \text{ mol L}^{-1}$ por 30 minutos nos tampões testados. O pH 10 foi escolhido para ensaios futuros, garantindo uma maior resposta em menores valores de potencial, sendo o mesmo valor de pH escolhido por El-Akaad *et al.* (2022) ao detectarem esse analito.

CAPÍTULO 5

Conclusões

5.1 Considerações finais

Diante dos resultados apresentados e discutidos ao longo desta dissertação, torna-se evidente a relevância dos pós-tratamentos de superfície aplicados a eletrodos impressos em 3D para o aprimoramento de seu desempenho eletroquímico, ampliando a área eletroativa, aumentando a constante de transferência heterogênea de elétrons e reduzindo a resistência à transferência de carga. Diferentes abordagens foram avaliadas, incluindo tratamentos químicos (DMF, NaOH 3 mol L⁻¹ e H₂SO₄ 1 mol L⁻¹, todos por 30 minutos), tratamentos eletroquímicos por voltametria cíclica em NaOH 0,1 mol L⁻¹ ou PBS 10x (pH 7,0), com varredura de +2,5 a -2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹), e tratamentos combinados (químico seguido de eletroquímico). As análises estatísticas por ANOVA e teste de Tukey, realizadas com os dados da caracterização eletroquímica por CV e EIS, apontaram os tratamentos NaOH, NaOH-EQ_{NaOH} e NaOH-EQ_{PBS} como os mais promissores. Para reduzir custos associados ao consumo de reagentes, optou-se pelo tratamento com NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 minutos.

Os eletrodos tratados com DMF e NaOH de forma isolada ou combinada exibiram menor resistência elétrica, indicando maior condutividade. Além disso, esses tratamentos aumentaram os ângulos de contato, sugerindo melhor remoção do PLA superficial e maior exposição do negro de fumo, material mais hidrofóbico. Houve uma redução no ângulo de contato do eletrodo sem tratamento em comparação com o filamento, sugerindo uma maior deposição de PLA na superfície do eletrodo durante a impressão.

A aplicação dos tratamentos químicos e combinados resultou na formação de irregularidades na superfície dos eletrodos, gerando diferentes níveis de rugosidade, enquanto tratamentos eletroquímicos levaram a esfoliações em suas superfícies. Entre os métodos químicos avaliados, o tratamento com H₂SO₄ foi o que menos alterou a topografia da superfície, um resultado alinhado com as análises eletroquímicas, medições de resistência elétrica e ângulos de contato, indicando uma menor remoção do PLA superficial e, conseqüentemente, menor exposição do negro de fumo.

Para o eletrodo submetido ao tratamento químico com NaOH, houve o surgimento de uma banda de média intensidade em cerca de 1576 cm⁻¹ nos espectros FTIR, que, provavelmente, ocorre devido ao estiramento de C=C de alcenos cíclicos, atribuído ao

CB. Portanto, o tratamento em NaOH poderia ter levado a uma maior exposição de CB nos eletrodos, o que estaria de acordo com os resultados apresentados.

A espectroscopia Raman demonstrou que tanto os tratamentos químicos quanto os eletroquímicos promovem alterações estruturais no negro de fumo dos eletrodos. No entanto, nem todas as formas de desordem estrutural parecem ser benéficas para o desempenho eletroquímico, pois certos defeitos podem não contribuir para a condutividade elétrica ou para a criação de sítios eletroativos.

Os ensaios termogravimétricos indicaram que o filamento de CB/PLA apresentou dois picos de degradação, corroborando as informações fornecidas pelo fabricante sobre a presença de polímeros adicionais, provavelmente plastificantes. Entre os tratamentos químicos, NaOH apresentou o maior impacto na degradação do PLA. Os tratamentos eletroquímicos, por sua vez, promoveram alterações mais expressivas na degradação do PLA do que os tratamentos químicos, com exceção do NaOH. A combinação de DMF com tratamento eletroquímico reduziu a resistência térmica dos filamentos, antecipando o início e o primeiro pico de degradação. Acima de 600 °C, houve um resíduo de $19,8 \pm 0,4\%$, correspondente ao negro de fumo, indicando que os tratamentos não alteraram significativamente a proporção entre PLA e negro de fumo nos eletrodos.

As propriedades termomecânicas do filamento e dos eletrodos estudados apresentaram valores inferiores aos do PLA puro, provavelmente devido à presença do negro de fumo. O tratamento com DMF, isolado ou combinado com tratamento eletroquímico, favoreceu interações interfaciais entre as cadeias poliméricas e o negro de fumo, justificando a redução da temperatura de transição vítrea. Não foi observada uma correlação direta entre o desempenho eletroquímico dos eletrodos e E'_{30} , visto que eletrodos com diferentes desempenhos eletroquímicos apresentaram tanto maior quanto menor rigidez.

O planejamento experimental para otimização da concentração de NaOH e do tempo de tratamento revelou que o aumento da concentração de NaOH pode ser uma estratégia eficaz para reduzir a resistência à transferência de carga e melhorar a condutividade do eletrodo. No entanto, tempos excessivamente longos de tratamento podem diminuir a corrente anódica, comprometendo a sensibilidade do eletrodo. A relação entre a corrente de pico anódica e a separação dos picos redox sugere a necessidade de equilibrar esses parâmetros ao definir as condições ideais do tratamento químico. Com base nos melhores resultados dos gráficos de contorno, foi estabelecido que a concentração de NaOH e o tempo de tratamento de 3 mol L^{-1} e 30 minutos,

respectivamente, constituem um potencial tratamento químico, dentro das faixas testadas, para a melhoria do desempenho eletroquímico dos eletrodos impressos em 3D.

A deposição de nanopartículas magnéticas sintetizadas neste trabalho sobre os eletrodos otimizados foi avaliada para potencialmente aprimorar o desempenho eletroquímico e aumentar a quantidade de biorreceptores ancorados. No entanto, nas condições testadas, as nanopartículas magnéticas não proporcionaram melhorias significativas, exceto para a variável R_{ct} , na qual a deposição de 20 μL de uma dispersão de 1 mg mL^{-1} apresentou o melhor desempenho. Diante dos resultados, optou-se por conduzir os experimentos subsequentes sem a incorporação de nanopartículas magnéticas, embora futuras investigações possam explorar outras concentrações e nanomateriais.

O eletrodo otimizado foi aplicado na detecção de glifosato utilizando um biossensor eletroquímico enzimático baseado na inibição da fosfatase ácida pelo herbicida. Os voltamogramas cíclicos obtidos na presença de fenol (produto da quebra do substrato fenilfosfato) durante os testes prévios revelaram a oxidação dessa espécie e a redução dos produtos gerados, mas com diminuição progressiva da resposta em varreduras consecutivas devido, possivelmente, à formação de polímeros não condutores do fenol adsorvidos na superfície eletrodo. Nos ensaios com o biossensor enzimático, os valores de corrente de pico detectados na presença e ausência de glifosato (1 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foram equivalentes, indicando que o biossensor, nas condições testadas, não foi capaz de detectar o herbicida de forma eficaz.

Para a detecção de fipronil (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em tampão Britton-Robinson, os voltamogramas cíclicos revelaram um processo oxidativo em todos os pHs avaliados, seguido pelo aparecimento de dois picos de redução. Nos ciclos subsequentes, surgiu um novo pico de oxidação, associado às espécies reduzidas previamente, enquanto os picos de redução se intensificaram. Os dados de CV e DPV revelaram uma diminuição do potencial de pico com o aumento do pH, com um máximo de corrente de pico em pH 10. Assim, concluiu-se que os eletrodos de CB/PLA tratados com NaOH 3 mol L^{-1} por 30 minutos permitiram a detecção de fipronil nas condições testadas, sendo o pH 10 selecionado para ensaios futuros, uma vez que proporciona a maior resposta eletroquímica em menores potenciais.

Este trabalho fundamenta estatisticamente a escolha de pós-tratamentos de superfície e demonstra a detecção do fipronil – um analito de grande relevância ambiental devido aos seus potenciais impactos nos ecossistemas e na saúde humana – em diferentes

valores de pH, cumprindo o seu objetivo. Ao buscar minimizar lacunas na pesquisa sobre sensores e biossensores eletroquímicos impressos em 3D, além de expandir a aplicação desses dispositivos na detecção de contaminantes ambientais, os resultados fornecem contribuições para o estudo e o desenvolvimento de dispositivos analíticos mais sustentáveis.

5.2 Sugestões para trabalhos futuros

Como sugestões futuras e possíveis desdobramentos deste trabalho de dissertação, diferentes ensaios e ideias podem ser testados, como proposto a seguir:

- 1) Propor novos pós-tratamentos de superfície e/ou novos planejamentos experimentais para melhorar o desempenho eletroquímico dos eletrodos de CB/PLA impressos em 3D;
- 2) Avaliar novas concentrações de nanopartículas magnéticas e/ou de outros nanomateriais, comparando a detecção do analito com e sem esses materiais;
- 3) Continuar os estudos de detecção de fipronil em pH 10, realizando ensaios de validação do sensor eletroquímico em termos de linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação, seletividade e estabilidade, por exemplo;
- 4) Sugerir novos ensaios com diferentes concentrações de reagentes, tampões, pHs e métodos de imobilização enzimática para verificar o funcionamento do biossensor eletroquímico de glifosato baseado na inibição da fosfatase ácida e, assim, também realizar os estudos propostos no item 3;
- 5) Testar, caso o biossensor enzimático baseado na imobilização de fosfatase ácida não funcione, a deposição de nanomateriais à base de metal, como cobre, uma vez que podem gerar complexos estáveis com o glifosato, permitindo sua determinação em uma solução tamponada sem a necessidade da utilização da enzima (DEY *et al.*, 2025; GONÇALVES *et al.*, 2023; PINTADO *et al.*, 2012; SOUSA *et al.*, 2024);
- 6) Realizar a caracterização do filamento e dos eletrodos por espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (*X-ray photoelectron spectroscopy* – XPS), a fim de verificar o surgimento de grupos funcionais na superfície dos eletrodos tratados, bem como avaliar a detecção de fipronil e glifosato com eletrodos submetidos aos outros tratamentos, para avaliar se o possível surgimento dos novos grupos auxiliaria na detecção desses analitos;
- 7) Testar a utilização dos eletrodos de CB/PLA tratados também na detecção de analitos de interesse biomédico e alimentício.

8) Avaliar a altura e o comprimento dos eletrodos na redução da resistência elétrica e no aprimoramento do desempenho eletroquímico dos eletrodos impressos em 3D (CRAPNELL *et al.*, 2022; RODRIGUES *et al.*, 2025).

CAPÍTULO 6

Referências Bibliográficas

3D LAB. *Saiba como configurar a primeira camada na impressão 3D*. 2018. Disponível em: <https://3dlab.com.br/saiba-configurar-a-primeira-camada/?srsltid=AfmBOoq53-vrmfWYZbeI7YTR4aO6iKPPI47VUkEXNQdkj1dQjDODg0c4>. Acesso em: 13 abr. 2024.

A. MOHAMMED, A. ABDULLAH. "Scanning Electron Microscopy (SEM): A review". In: **Proceedings of 2018 International Conference on Hydraulics and Pneumatics - HERVEX**, p. 77–85, Romania, 2018.

ABDALLA, A., HAMZAH, H. H., KEATTCH, O., *et al.* "Augmentation of conductive pathways in carbon black/PLA 3D-printed electrodes achieved through varying printing parameters", **Electrochimica Acta**, v. 354, p. 136618, 2020.

AL RASHID, A., AHMED, W., KHALID, M. Y., *et al.* "Vat photopolymerization of polymers and polymer composites: Processes and applications", **Additive Manufacturing**, v. 47, n. 102279, p. 102279, 2021.

ALKHOUZAAM, A., ABDELRAZEQ, H., KHRAISHEH, M., *et al.* "Spectral and Structural Properties of High-Quality Reduced Graphene Oxide Produced via a Simple Approach Using Tetraethylenepentamine", **Nanomaterials**, v. 12, n. 8, p. 1240, 2022.

ALVES, A. O., DE FARIA, L. V., CALDAS, N. M., *et al.* "3D-printed carbon black/polylactic acid electrode modified with silver particles: a powerful alternative and cost-effective sensor for nitrate sensing in real water samples", **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 29, p. 1217–1225, 2024.

AMARAL, E. M. F., DE ANDRADE, J. C. B., DE FREITAS, L. B., *et al.* "Electrochemical Sensors and Biosensors: Their Basic Working Principles and Some Applications", **Revista Virtual de Química**, v. 15, n. 3, p. 519–535, 2023.

AMBROSI, A., PUMERA, M. "3D-printing technologies for electrochemical applications", **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 10, p. 2740–2755, 2016.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Resolução da*

Diretoria Colegiada – RDC nº 166, de 24 de julho de 2017, 2017. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2017/rdc0166_24_07_2017.pdf.

Acesso em: 18 jan. 2025.

ASAB, G., ZEREFFA, E. A., ABDO SEGHNE, T. "Synthesis of Silica-Coated Fe₃O₄ Nanoparticles by Microemulsion Method: Characterization and Evaluation of Antimicrobial Activity", **International Journal of Biomaterials**, v. 2020, p. 4783612, 2020.

ATEŞ, S., BARAN AYDIN, E. "Fabrication of 3D-printed graphene/polylactic acid and carbon nanofiber/polylactic acid electrodes: New solvent-free electrochemical activation method for hydrogen evolution reactions", **Journal of Applied Polymer Science**, v. 140, n. 35, 2023.

ATTIA, Peter. M. *Reversibility in Cyclic Voltammetry Simulation*. [s.d.]. Disponível em: https://petermattia.com/cyclic_voltammetry_simulation/reversibility.html. Acesso em: 11 jan. 2025.

AWAD, A., FINA, F., GOYANES, A., *et al.* "Advances in powder bed fusion 3D printing in drug delivery and healthcare", **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 174, p. 406–424, 2021.

AYDIN, M., AYDIN, E. B., SEZGINTÜRK, M. K. "Carboxyethylsilanetriol-coated magnetic nanoparticles as an ultrasensitive immunoplatfrom for electrochemical magnetosensing of cotinine", **ACS biomaterials science & engineering**, v. 10, n. 4, p. 2567–2580, 2024. DOI: 10.1021/acsbmaterials.3c01872. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/acsbmaterials.3c01872>.

BĂNICĂ, F.-G. **Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications**. Chichester, John Wiley & Sons, 2012.

BARD, A. J. ., FAULKNER, L. R. . **Electrochemical methods : fundamentals and applications**. 2 ed. New York, John Wiley & Sons, 2001.

BARROSSE-ANTLE, L. E., BOND, A. M., COMPTON, R. G., *et al.* "Voltammetry in room temperature ionic liquids: Comparisons and contrasts with conventional electrochemical solvents.", **Chemistry – An Asian Journal**, v. 5, n. 2, p. 202–230, 2010.

- BASHIR, M. A. "Use of dynamic mechanical analysis (DMA) for characterizing interfacial interactions in filled polymers", **Solids**, v. 2, n. 1, p. 108–120, 2021
- BATRA, B., NARWAL, V., KALRA, V., *et al.* "Folic acid biosensors: A review", **Process Biochemistry**. v. 92, p. 343–354, 2020.
- BEDÊ, P. M., SILVA, M. H. P., FIGUEIREDO, A. B.-H. S., *et al.* "Nanostructured magnetic alginate composites for biomedical applications", **Polímeros**, v. 27, n. 4, p. 267–272, 2017.
- BELLMANN, C., CASPARI, A., MOITZI, C., *et al.* **Dynamic and Electrophoretic Light Scattering: Guidelines for particle-size analysis and zeta-potential determination**. 4. ed. [S.l.], Anton Paar, 2022.
- BOHLOOLI, S., KIA, S., BOHLOOLI, S., *et al.* "Development of molecularly imprinted polymer on ferric oxide nanoparticles modified electrode as electrochemical sensor for detection of human growth hormone", **Monatshefte fur chemie**, v. 153, n. 1, p. 39–48, 2022. DOI: 10.1007/s00706-021-02877-6. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00706-021-02877-6>.
- BRACHI, M., EL HOUSSEINI, W., BEAVER, K., *et al.* "Advanced Electroanalysis for Electrosynthesis", **ACS Organic and Inorganic Au**, v. 4, n. 2, p. 141–187, 2024.
- BRETT, C. M. A. ., BRETT, A. M. O. **Electrochemistry : principles, methods, and applications**. New York, Oxford University Press, 1993.
- BRITO, N. M., DE AMARANTE JUNIOR, O. P., POLESE, L., *et al.* "Validação De Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão", **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129–146, 2003.
- BROWNE, M. P., NOVOTNÝ, F., SOFER, Z., *et al.* "3D Printed Graphene Electrodes' Electrochemical Activation", **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 10, n. 46, p. 40294–40301, 2018.
- BUNACIU, A. A., FLESCIN, Ș., ABOUL-ENEIN, H. Y. "Evaluation of the protein secondary structures using fourier transform infrared spectroscopy", **Gazi University Journal of Science**, v. 27, n. 1, p. 637–644, 2014.
- BUTLER, J. A. V. "Studies in heterogeneous equilibria. Part III. A kinetic theory of reversible oxidation potentials at inert electrodes", **Transactions of the Faraday Society**,

v. 19, p. 734–739, 1924.

BUTMEE, P., TUMCHARERN, G., SONGSIRIRITTHIGUL, C., *et al.* "Enzymatic electrochemical biosensor for glyphosate detection based on acid phosphatase inhibition", **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 413, n. 23, p. 5859–5869, 2021.

BUTT, H. **Physics and chemistry of interfaces**. Weinheim, Wiley-VCH Verlag, 2003.

CAMMANN, K., LEMKE, U., ROHEN, A., *et al.* "Chemical Sensors and Biosensors—Principles and Applications", **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 30, n. 5, p. 516–539, 1991.

CAO, G. S., WANG, P., LI, X., *et al.* "Hydrogen peroxide electrochemical sensor based on Fe₃O₄ nanoparticles", **Micro & nano letters**, v. 9, n. 1, p. 16–18, 2014. DOI: 10.1049/mnl.2013.0612. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1049/mnl.2013.0612>.

CARDOSO, R. M., ROCHA, D. P., ROCHA, R. G., *et al.* "3D-printing pen versus desktop 3D-printers: Fabrication of carbon black/polylactic acid electrodes for single-drop detection of 2,4,6-trinitrotoluene", **Analytica Chimica Acta**, v. 1132, p. 10–19, 2020.

CARVALHO, R. M., FERREIRA, V. S., LUCCA, B. G. "A novel all-3D-printed thread-based microfluidic device with an embedded electrochemical detector: First application in environmental analysis of nitrite", **Analytical Methods**, v. 13, n. 11, p. 1349–1357, 2021.

CHAUDHARY, R., FABBRI, P., LEONI, E., *et al.* "Additive manufacturing by digital light processing: a review", **Progress in Additive Manufacturing**, v. 8, n. 2, p. 331–351, 2023.

CHEN, X., CAO, Q., CHEN, T., *et al.* "3D printing for precision construction of ceramic membranes: Current status, challenges, and prospects", **Advanced Membranes**, v. 3, n. 100068, p. 100068, 2023.

CHENG, T. S., NASIR, M. Z. M., AMBROSI, A., *et al.* "3D-printed metal electrodes for electrochemical detection of phenols", **Applied Materials Today**, v. 9, p. 212–219, 2017.

CONGUR, G. "An up-to-date review about (bio)sensor systems developed for detection of glyphosate", **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 103, n. 17, p. 5974–5986, 2023.

- CONTRERAS-NARANJO, J. E., PEREZ-GONZALEZ, V. H., MATA-GÓMEZ, M. A., *et al.* "3D-printed hybrid-carbon-based electrodes for electroanalytical sensing applications", **Electrochemistry Communications**, v. 130, n. 107098, p. 107098, 2021.
- CRAPNELL, R. D., GARCIA-MIRANDA FERRARI, A., WHITTINGHAM, M. J., *et al.* "Adjusting the connection length of additively manufactured electrodes changes the electrochemical and electroanalytical performance", **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 22, n. 23, p. 9521, 2022.
- CRAPNELL, R. D., SIGLEY, E., WILLIAMS, R. J., *et al.* "Circular Economy Electrochemistry: Recycling Old Mixed Material Additively Manufactured Sensors into New Electroanalytical Sensing Platforms", **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 11, n. 24, p. 9183–9193, 2023.
- CRUZ, M. A., YE, S., KIM, M. J., *et al.* "Multigram Synthesis of Cu-Ag Core–Shell Nanowires Enables the Production of a Highly Conductive Polymer Filament for 3D Printing Electronics", **Particle and Particle Systems Characterization**, v. 35, n. 5, p. 1700385, 2018.
- CURULLI, A. "Electrochemical biosensors in food safety: Challenges and perspectives", **Molecules**, v. 26, n. 10, p. 2940, 2021.
- DAMIATI, S., SCHUSTER, B. "Electrochemical biosensors based on S-layer proteins", **Sensors**, v. 20, n. 6, p. 1721, 2020.
- DE FARIA, L. V., DO NASCIMENTO, S. F. L., VILLAFUERTE, L. M., *et al.* "3D printed graphite-based electrode coupled with batch injection analysis: An affordable high-throughput strategy for atorvastatin determination", **Talanta**, v. 265, n. 124873, p. 124873, 2023.
- DEY, B., KUSHWAHA, K. S., CHOUDHURY, A., *et al.* "Novel non-enzymatic electrochemical sensing platform based on copper metal organic frameworks for detection of glyphosate herbicide in vegetables extract", **Microchemical Journal**, v. 208, n. 112407, p. 112407, 2025.
- DONG, C., PETROVIC, M., DAVIES, I. J. "Applications of 3D printing in medicine: A review", **Annals of 3D Printed Medicine**, v. 14, n. 100149, p. 100149, 2024.
- DOS SANTOS, D. M., CARDOSO, R. M., MIGLIORINI, F. L., *et al.* "Advances in 3D

printed sensors for food analysis”, **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 154, n. 116672, p. 116672, 2022.

DOS SANTOS, P. L., KATIC, V., LOUREIRO, H. C., *et al.* "Enhanced performance of 3D printed graphene electrodes after electrochemical pre-treatment: Role of exposed graphene sheets", **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 281, p. 837–848, 2019.

DUARTE, L. C., FIGUEREDO, F., CHAGAS, C. L. S., *et al.* "A review of the recent achievements and future trends on 3D printed microfluidic devices for bioanalytical applications", **Analytica Chimica Acta**, v. 1299, n. 342429, p. 342429, 2024.

EGGINS, B. R. **Chemical Sensors and Biosensors: Chemical sensors and biosensors**. Chichester: John Wiley & Sons, 2002.

EL-AKAAD, S., MOROZOV, R., GOLOVIN, M., *et al.* "A novel electrochemical sensor for the detection of fipronil and its toxic metabolite fipronil sulfone using TiO₂-polytriazine imide submicrostructured composite as an efficient electrocatalyst", **Talanta**, v. 238, p. 123025, 2022.

ELGRISHI, N., ROUNTREE, K. J., MCCARTHY, B. D., *et al.* "A practical beginner's guide to cyclic voltammetry", **Journal of Chemical Education**, v. 95, n. 2, p. 197–206, 2018.

ELHADAD, A. A., ROSA-SAINZ, A., CAÑETE, R., *et al.* "Applications and multidisciplinary perspective on 3D printing techniques: Recent developments and future trends", **Materials Science and Engineering: R, Reports**, v. 156, n. 100760, p. 100760, 2023.

ERDEM, A., YILDIZ, E., SENTURK, H., *et al.* "Implementation of 3D printing technologies to electrochemical and optical biosensors developed for biomedical and pharmaceutical analysis", **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 230, n. 115385, p. 115385, 2023.

ERDEY-GRÚZ, T., VOLMER, M. "Zur theorie der wasserstoff Überspannung", **Zeitschrift für physikalische Chemie**, v. 150A, n. 1, p. 203–213, 1930.

FAN, Y., FOWLER, G. D., ZHAO, M. "The past, present and future of carbon black as a rubber reinforcing filler – A review", **Journal of Cleaner Production**, v. 247, p. 119115, 2020.

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

GAYA, E., MENENDEZ, N., MAZARIO, E., *et al.* "Fe₃O₄-nanoparticle-modified sensor for the detection of dopamine, uric acid and ascorbic acid", **Chemosensors (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 2, p. 79, 2023. DOI: 10.3390/chemosensors11020079. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/chemosensors11020079>.

GEMEAY, A. H., KESHTA, B. E., EL-SHARKAWY, R. G., *et al.* "Chemical insight into the adsorption of reactive wool dyes onto amine-functionalized magnetite/silica core-shell from industrial wastewaters", **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 26, p. 32341–32358, 2020.

GLOWACKI, M. J., CIESLIK, M., SAWCZAK, M., *et al.* "Helium-assisted, solvent-free electro-activation of 3D printed conductive carbon-poly lactide electrodes by pulsed laser ablation", **Applied Surface Science**, v. 556, n. 149788, p. 149788, 2021.

GOMBAR, L. C., 2013, *Modificação de Superfícies de Polipropileno para Obtenção de Molhabilidade Foto-Reversível*. Dissertação de M.Sc. (Mestrado em Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

GONÇALVES, D. A., ALENCAR, L. M., ANJOS, J. P. B., *et al.* "Ultrasensitive electrochemical detection of glyphosate using crumpled graphene/copper oxide nanocomposite", **Materials Today Communications**, v. 36, n. 106746, p. 106746, 2023.

GRAND VIEW RESEARCH. *Biosensors Market Report*. [s.d.]b. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/biosensors-market>. Acesso em: 11 jan. 2025.

GRAND VIEW RESEARCH. *Electrochemical Sensors Market Report*. [s.d.]a. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/electrochemical-sensors-market-report>. Acesso em: 11 jan. 2025.

GRIESHABER, D., MACKENZIE, R., VÖRÖS, J., *et al.* "Electrochemical Biosensors-Sensor Principles and Architectures", **Sensors**, v. 8, n. 3, p. 1400–1458, 2008.

GUSMÃO, R., BROWNE, M. P., SOFER, Z., *et al.* "The capacitance and electron transfer of 3D-printed graphene electrodes are dramatically influenced by the type of solvent used for pre-treatment", **Electrochemistry Communications**, v. 102, p. 83–88,

2019.

HARVEY, D. T. *Instrumental Analysis*. LibreTexts, 2022. Disponível em: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_\(LibreTexts\)](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_(LibreTexts)). Acesso em: 28 dez. 2024.

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, J. F., TRACHIOTI, M. G., HRBAC, J., *et al.* "Spark-Discharge-Activated 3D-Printed Electrochemical Sensors", **Analytical Chemistry**, v. 96, n. 25, p. 10127–10133, 2024.

HUANG, C.-W., LIN, C., NGUYEN, M. K., *et al.* "A review of biosensor for environmental monitoring: principle, application, and corresponding achievement of sustainable development goals", **Bioengineered**, v. 14, n. 1, p. 58–80, 2023.

HUANG, Y., WU, T., FEI, Y., *et al.* "Modelling of heterogeneous structure and particle-scale analysis of LiFePO₄ electrode", **Energy**, n. 135006, p. 135006, 2025.

HUSSAN K S, J., SUBRAMANIAM, M. P., KENZ K T, M., *et al.* "Fabrication and challenges of 3D printed sensors for biomedical applications-Comprehensive review", **Results in Engineering**, v. 21, n. 101867, p. 101867, 2024.

INSTA3D. *Como evitar as lacunas entre o preenchimento e o contorno? - Serviço de impressão 3D FacFox*. 2020. Disponível em: <http://pt.insta3dm.com/info/how-to-prevent-the-gaps-between-infill-and-out-53151178.html>. Acesso em: 14 abr. 2024.

JAWHARI, T., ROID, A., CASADO, J. "Raman spectroscopic characterization of some commercially available carbon black materials", **Carbon**, v. 33, n. 11, p. 1561–1565, 1995.

JESSY MERCY, D., GIRIGOSWAMI, K., GIRIGOSWAMI, A. "A mini review on biosensor advancements-emphasis on quantum dots", **Results in Chemistry**, v. 7, n. 101271, p. 101271, 2024.

JIN, Y. A., LI, H., HE, Y., *et al.* "Quantitative analysis of surface profile in fused deposition modelling", **Additive Manufacturing**, v. 8, p. 142–148, 2015.

JORGE, E. O., NETO, M. M. M., ROCHA, M. M. "A mercury-free electrochemical sensor for the determination of thallium(I) based on the rotating-disc bismuth film electrode", **Talanta**, v. 72, n. 4, p. 1392–1399, 2007.

JOSHI, P. S., SUTRAVE, D. S. "A Brief Study of Cyclic Voltammetry and Electrochemical Analysis", **International Journal of ChemTech Research**, v. 11, n. 9, p. 77–88, 2018.

KALINKE, C., CRAPNELL, R. D., DE OLIVEIRA, P. R., *et al.* "How to Improve Sustainability in Fused Filament Fabrication (3D Printing) Research?", **Global Challenges**, v. 8, n. 7, p. 2300408, 2024.

KALINKE, C., DE OLIVEIRA, P. R., BANKS, C. E., *et al.* "3D-printed immunosensor for the diagnosis of Parkinson's disease", **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 381, n. 133353, p. 133353, 2023.

KALINKE, C., DE OLIVEIRA, P. R., NEUMSTEIR, N. V., *et al.* "Influence of filament aging and conductive additive in 3D printed sensors", **Analytica Chimica Acta**, v. 1191, n. 339228, p. 339228, 2022.

KALINKE, C., NEUMSTEIR, N. V., APARECIDO, G. D. O., *et al.* "Comparison of activation processes for 3D printed PLA-graphene electrodes: Electrochemical properties and application for sensing of dopamine", **Analyst**, v. 145, n. 4, p. 1207–1218, 2020.

KALINKE, C., NEUMSTEIR, N. V., ROBERTO DE OLIVEIRA, P., *et al.* "Sensing of L-methionine in biological samples through fully 3D-printed electrodes", **Analytica Chimica Acta**, v. 1142, p. 135–142, 2021.

KAMEYA, Y., HANAMURA, K. "Kinetic and Raman spectroscopic study on catalytic characteristics of carbon blacks in methane decomposition", **Chemical Engineering Journal**, v. 173, n. 2, p. 627–635, 2011.

KASSAB, A., AL NABHANI, D., MOHANTY, P., *et al.* "Advancing plastic recycling: Challenges and opportunities in the integration of 3D printing and distributed recycling for a circular economy", **Polymers**, v. 15, n. 19, 2023.

KATEY, B., HALL, N., TECH, V. "A Review of Biosensors and Their Applications", **ASME Open Journal of Engineering**, v. 2, 2023.

KATIC, V., DOS SANTOS, P. L., DOS SANTOS, M. F., *et al.* "3D Printed Graphene Electrodes Modified with Prussian Blue: Emerging Electrochemical Sensing Platform for Peroxide Detection", **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 11, n. 38, p. 35068–35078, 2019.

KAUR, H., BHOSALE, A., SHRIVASTAV, S. "Biosensors: Classification, Fundamental Characterization and New Trends: A Review", **International Journal of Health Sciences & Research**, v. 8, n. 6, p. 315–333, 2018.

KERGARAVAT, S. V., FABIANO, S. N., SOUTULLO, A. R., *et al.* "Comparison of the performance analytical of two glyphosate electrochemical screening methods based on peroxidase enzyme inhibition", **Microchemical Journal**, v. 160, n. 105654, p. 105654, 2021.

KESTILÄ, A., VEHKAMÄKI, M., NYMAN, L., *et al.* "3D-printed sensor electric circuits using atomic layer deposition", **Sensors and Actuators A: Physical**, v. 370, n. 115260, p. 115260, 2024.

KHANMOHAMMADI, A., JALILI GHAZIZADEH, A., HASHEMI, P., *et al.* "An overview to electrochemical biosensors and sensors for the detection of environmental contaminants", **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 17, n. 10, p. 2429–2447, 2020.

KHIZAR, S., ZINE, N., JAFFREZIC-RENAULT, N., *et al.* "Prospective analytical role of sensors for environmental screening and monitoring", **Trends in Analytical Chemistry: TRAC**, v. 157, n. 116751, p. 116751, 2022.

KHOSRAVI, H., CARRERAS-GALLO, O., CASALS-TERRÉ, J. "Mill scale-derived magnetite nanoparticles: A novel substrate for lactate oxidase-based biosensors", **Biosensors**, v. 13, n. 11, p. 957, 2023. DOI: 10.3390/bios13110957. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/bios13110957>.

KIMMEL, D. W., LEBLANC, G., MESCHIEVITZ, M. E., *et al.* "Electrochemical sensors and biosensors", **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 2, p. 685–707, 2012.

KLINGLER, R. J., KOCHI, J. K. "Electron-transfer kinetics from cyclic voltammetry. Quantitative description of electrochemical reversibility", **Journal of Physical Chemistry**, v. 85, n. 12, p. 1731–1741, 1981.

KOTERWA, A., KACZMARZYK, I., MANIA, S., *et al.* "The role of electrolysis and enzymatic hydrolysis treatment in the enhancement of the electrochemical properties of 3D-printed carbon black/poly(lactic acid) structures", **Applied Surface Science**, v. 574, n. 151587, p. 151587, 2022.

KOZŁOWSKA, K., CIEŚLIK, M., KOTERWA, A., *et al.* "Microwave-Induced

Processing of Free-Standing 3D Printouts: An Effortless Route to High-Redox Kinetics in Electroanalysis", **Materials**, v. 17, n. 12, p. 2833, 2024.

KUMAR, K. P. A., GHOSH, K., ALDUHAISH, O., *et al.* "Metal-plated 3D-printed electrode for electrochemical detection of carbohydrates", **Electrochemistry Communications**, v. 120, n. 106827, p. 106827, 2020.

KUMAR, S., VASYLIEVA, N., SINGH, V., *et al.* "A Facile, Sensitive and Rapid Sensing Platform Based on CoZnO for Detection of Fipronil; an Environmental Toxin", **Electroanalysis**, v. 32, n. 9, p. 2056–2064, 2020.

KWACZYŃSKI, K., SZYMANIEC, O., BOBROWSKA, D. M., *et al.* "Solvent-activated 3D-printed electrodes and their electroanalytical potential", **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 22797, 2023.

LARANJO, M. T., MORAWSKI, F. M., DIAS, S. L. P., *et al.* "Silica/titania graphite composite modified with chitosan and tyrosinase employed as a sensitive biosensor for phenolic compounds", **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 12, p. 2660–2671, 2019.

LAVAGNINI, I., ANTIOCHIA, R., MAGNO, F. "An extended method for the practical evaluation of the standard rate constant from cyclic voltammetric data", **Electroanalysis**, v. 16, n. 6, p. 505–506, 2004.

LAVIRON, E. "General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems", **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 19–28, 1979.

LAZANAS, A. C., PRODRMIDIS, M. I. "Electrochemical Impedance Spectroscopy—A Tutorial", **ACS Measurement Science Au**, v. 3, n. 3, p. 162–193, 2023.

LEE, J.-Y., AN, J., CHUA, C. K. "Fundamentals and applications of 3D printing for novel materials", **Applied Materials Today**, v. 7, p. 120–133, 2017.

LI, P., ABD EL-ATY, A. M., JIANG, H., *et al.* "Immunoassays and Emerging Analytical Techniques of Fipronil and its Metabolites for Food Safety: A Review", **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 72, n. 4, p. 2059–2076, 2024.

LI, X., LIU, T., ZHANG, Y., *et al.* "A novel electrochemical immunosensor for hepatitis B surface antigen based on Fe₃O₄ nanoflowers and heterogeneous chain reaction signal

amplification strategy", **Talanta**, v. 221, n. 121459, p. 121459, 2021.

LI, X., LIU, T., ZHANG, Y., *et al.* "A novel electrochemical immunosensor for hepatitis B surface antigen based on Fe₃O₄ nanoflowers and heterogeneous chain reaction signal amplification strategy", **Talanta**, v. 221, n. 121459, p. 121459, 2021. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121459. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121459>.

LIBRETEXTS. *Chronoamperometry*. [s.d.]b. Disponível em: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Courseware/Analytical_Electrochemistry%3A_The_Basic_Concepts/04_Voltammetric_Methods/A._Basics_of_Voltammetry/01_Potential_Step_Methods/a\)_Chronoamperometry](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Courseware/Analytical_Electrochemistry%3A_The_Basic_Concepts/04_Voltammetric_Methods/A._Basics_of_Voltammetry/01_Potential_Step_Methods/a)_Chronoamperometry). Acesso em: 9 jan. 2025.

LIBRETEXTS. *Fundamentals of Electrochemistry: Reversibility – Chemical vs. Electrochemical*. [s.d.]c. Disponível em: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Courseware/Analytical_Electrochemistry%3A_The_Basic_Concepts/03_Fundamentals_of_Electrochemistry/B%3A_The_Electrode_Process/02_Reversibility_Chemical_vs._Electrochemical](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Courseware/Analytical_Electrochemistry%3A_The_Basic_Concepts/03_Fundamentals_of_Electrochemistry/B%3A_The_Electrode_Process/02_Reversibility_Chemical_vs._Electrochemical). Acesso em: 5 jan. 2025.

LIBRETEXTS. *Infrared spectroscopy absorption table*. [s.d.]a. Disponível em: https://chem.libretexts.org/Ancillary_Materials/Reference/Reference_Tables/Spectroscopic_Reference_Tables/Infrared_Spectroscopy_Absorption_Table. Acesso em: 26 jan. 2025. LIM, G. Y., KUEK, R. J. X., TEO, J., *et al.* "Mechanical properties of additively manufactured kraft paper lattices and paper-epoxy interpenetrating phase composites for polymer foam replacement", **Additive Manufacturing**, v. 77, n. 103816, p. 103816, 2023.

LIM, J., YEAP, S. P., CHE, H. X., *et al.* "Characterization of magnetic nanoparticle by dynamic light scattering", **Nanoscale Research Letters**, v. 8, n. 1, p. 381, 2013.

LISBOA, T. P., DE FARIA, L. V., DE OLIVEIRA, W. B. V., *et al.* "Simultaneous monitoring of amoxicillin and paracetamol in synthetic biological fluids using a 3D printed disposable electrode with a lab-made conductive filament", **Analytical and**

Bioanalytical Chemistry, v. 416, n. 1, p. 215–226, 2024.

LIU, H., CHEN, P., LIU, Z., *et al.* "Electrochemical luminescence sensor based on double suppression for highly sensitive detection of glyphosate", **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 304, n. 127364, p. 127364, 2020.

LOPES, C. E. C., DE FARIA, L. V., ARAÚJO, D. A. G., *et al.* "Lab-made 3D-printed electrochemical sensors for tetracycline determination", **Talanta**, v. 259, n. 124536, p. 124536, 2023.

LUBE, T., STAUDACHER, M., HOFER, A. K., *et al.* "Stereolithographic 3D Printing of Ceramics: Challenges and Opportunities for Structural Integrity", **Advanced Engineering Materials**, v. 25, n. 7, p. 2200520, 2023.

MA, X., SHI, Y., GAO, G., *et al.* "Application and progress of electrochemical biosensors for the detection of pathogenic viruses", **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 950, n. 117867, p. 117867, 2023.

MAGAR, H. S., HASSAN, R. Y. A., MULCHANDANI, A. "Electrochemical impedance spectroscopy (Eis): Principles, construction, and biosensing applications", **Sensors**, v. 21, n. 19, p. 6578, 2021.

MAGHRABY, Y. R., EL-SHABASY, R. M., IBRAHIM, A. H., *et al.* "Enzyme Immobilization Technologies and Industrial Applications", **ACS Omega**, v. 8, n. 6, p. 5184–5196, 2023.

MAJUMDAR, J. D., MADAPANA, D., MANNA, I. "3-D Printing by Laser-Assisted Direct Energy Deposition (LDED): The Present Status", **Transactions of the Indian National Academy of Engineering**, v. 6, n. 4, p. 933–953, 2021.

MANAPAT, J. Z., CHEN, Q., YE, P., *et al.* "3D Printing of Polymer Nanocomposites via Stereolithography", **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 302, n. 9, p. 1600553, 2017.

MANZANARES PALENZUELA, C. L., NOVOTNÝ, F., KRUPIČKA, P., *et al.* "3D-Printed Graphene/Poly(lactic Acid) Electrodes Promise High Sensitivity in Electroanalysis", **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 9, p. 5753–5757, 2018.

MANZANARES PALENZUELA, C. L., PUMERA, M. "(Bio)Analytical chemistry enabled by 3D printing: Sensors and biosensors", **Trends in analytical chemistry**:

TRAC, v. 103, p. 110–118, 2018.

MANZANARES-PALENZUELA, C. L., HERMANOVA, S., SOFER, Z., *et al.* "Proteinase-sculptured 3D-printed graphene/polylactic acid electrodes as potential biosensing platforms: Towards enzymatic modeling of 3D-printed structures", **Nanoscale**, v. 11, n. 25, p. 12124–12131, 2019.

MARRA, M. C., OLIVEIRA, T. C., ROCHA, R. G., *et al.* "Enhancing the electrochemical performance of graphite sheet electrodes for ketamine detection", **Electrochimica Acta**, v. 508, n. 145219, p. 145219, 2024.

MARTINS, G., GOGOLA, J. L., BUDNI, L. H., *et al.* "3D-printed electrode as a new platform for electrochemical immunosensors for virus detection", **Analytica Chimica Acta**, v. 1147, p. 30–37, 2021.

MAZZARACCHIO, V., TOMEI, M. R., CACCIOTTI, I., *et al.* "Inside the different types of carbon black as nanomodifiers for screen-printed electrodes", **Electrochimica Acta**, v. 317, p. 673–683, 2019.

MCDONAGH, P., MCCOLE, M., SKILLEN, N., *et al.* "3D printed carbon black-polylactic acid/copper (CB-PLA/Cu) sensor for improved sustainability in monitoring photocatalytic hydrogen peroxide evolution", **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 11, n. 6, p. 111123, 2023.

MCKEEN, L. "Renewable Resource and Biodegradable Polymers", **The Effect of Sterilization on Plastics and Elastomers**, p. 305–317, 2012.

MERCADO LIVRE. *Impressora 3D Creality FDM Ender 3 S1 Plus Touch USB Bivolt*. [s.d.]. Disponível em: https://produto.mercadolivre.com.br/MLB-3566076573-imprensa-3d-creality-fdm-ender-3-s1-plus-touch-usb-bivolt-_JM. Acesso em: 29 dez. 2024.

METROHM. *Fundamental EIS Data fitting – How to obtain good starting values of equivalent circuit elements*. [s.d.]. Disponível em: https://www.metrohm.com/pt_br/applications/application-notes/autolab-applikationen-anautolab/an-eis-007.html. Acesso em: 10. jan. 2025

METTLER TOLEDO. *Espectroscopia UV-Vis: Conhecimento essencial*. [s.d.]. Disponível em:

https://www.mt.com/br/pt/home/applications/Application_Browse_Laboratory_Analyti cs/uv-vis-spectroscopy/uvvis-spectroscopy-explained.html. Acesso em: 17 jan. 2025.

MONGAY, C., CERDA, V. "A Britton-Robinson buffer of known ionic strength", **Ann. Chim**, v. 64, n. 5, 1974.

MONOŠÍK, R., STREĎANSKÝ, M., ŠTURDÍK, E. "Biosensors - classification, characterization and new trends", **Acta Chimica Slovaca**, v. 5, n. 1, p. 109–120, 2012.

MONTES, R. H. O., DORNELLAS, R. M., SILVA, L. A. J., *et al.* "Amperometric determination of the insecticide fipronil using batch injection analysis: comparison between unmodified and carbon-nanotube-modified electrodes", **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 20, n. 9, p. 2453–2459, 2016.

MONTGOMERY, D. C., RUNGER, G. C. **Applied Statistics and Probability for Engineers**. New York, John Wiley & Sons, 2010.

MORALES, M. A., HALPERN, J. M. "Guide to Selecting a Biorecognition Element for Biosensors", **Bioconjugate Chemistry**, v. 29, n. 10, p. 3231–3239, 2018.

MORRIS, L. K., ABU, E. A., BOWMAN, C., *et al.* "Effect of the Concentration of Supporting Electrolyte on Spectroelectrochemical Detection of $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ ", **Electroanalysis**, v. 23, n. 4, p. 939–946, 2011.

MOSTAFA, G. "Electrochemical Biosensors for the Detection of Pesticides", **The Open Electrochemistry Journal**, v. 2, n. 1, p. 22–42, 2010.

MUBARAK, S., DHAMODHARAN, D., BYUN, H.-S. "Recent advances in 3D printed electrode materials for electrochemical energy storage devices", **Journal of Energy Chemistry**, v. 81, p. 272–312, 2023.

MUÑOZ, J., OLIVER-DE LA CRUZ, J., FORTE, G., *et al.* "Graphene-based 3D-Printed nanocomposite bioelectronics for monitoring breast cancer cell adhesion", **Biosensors and Bioelectronics**, v. 226, n. 115113, p. 115113, 2023.

MUÑOZ, J., PUMERA, M. "3D-printed biosensors for electrochemical and optical applications", **Trends in Analytical Chemistry: TRAC**, v. 128, n. 115933, p. 115933, 2020a

MUÑOZ, J., PUMERA, M. "3D-Printed COVID-19 immunosensors with electronic readout", **Chemical Engineering Journal**, v. 425, n. 131433, p. 131433, 2021.

MUÑOZ, J., PUMERA, M. "Accounts in 3D-printed electrochemical sensors: Towards monitoring of environmental pollutants", **ChemElectroChem**, v. 7, n. 16, p. 3404–3413, 2020b.

NALBANDIAN, L., PATRIKIADOU, E., ZASPALIS, V., *et al.* "Magnetic Nanoparticles in Medical Diagnostic Applications: Synthesis, Characterization and Proteins Conjugation", **Current Nanoscience**, v. 12, n. 4, p. 455–468, 2015.

NEGASH, N., ALEMU, H., TESSEMA, M. "Flow Injection Amperometric Determination of Phenol and Chlorophenols at Single Wall Carbon Nanotube Modified Glassy Carbon Electrode", **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 05, n. 03, p. 188–198, 2014.

NICHOLSON, R. S. "Theory and Application of Cyclic Voltammetry for Measurement of Electrode Reaction Kinetics", **Analytical Chemistry**, v. 37, n. 11, p. 1351–1355, 1965.

NOVOTNÝ, F., URBANOVÁ, V., PLUTNAR, J., *et al.* "Preserving fine structure details and dramatically enhancing electron transfer rates in graphene 3D-printed electrodes via thermal annealing: Toward nitroaromatic explosives sensing", **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 11, n. 38, p. 35371–35375, 2019.

OKUMURA, F., AMARAL, R. B., ORESTES, E., *et al.* "Electrochemical and quantum chemical investigations of the insecticide fipronil", **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 5, p. 925–932, 2016.

OMAR, M. H., RAZAK, K. A., AB WAHAB, M. N., *et al.* "Recent progress of conductive 3D-printed electrodes based upon polymers/carbon nanomaterials using a fused deposition modelling (FDM) method as emerging electrochemical sensing devices", **RSC advances**, v. 11, n. 27, p. 16557–16571, 2021.

OSMAN, A., LU, J. "3D printing of polymer composites to fabricate wearable sensors: A comprehensive review", **Materials science & engineering. R, Reports: a review journal**, v. 154, n. 100734, p. 100734, 2023.

OSSILA. *Cyclic voltammetry: basic principles and theory*. [s.d.]. Disponível em: <https://www.ossila.com/pages/cyclic-voltammetry>. Acesso em: 5 jan. 2025.

PACHECO, W. F., SEMAAN, F. S., ALMEIDA, V. G. K., *et al.* "Voltammetry: A brief review about concepts", **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, 2013.

PALMSENS. *Differential Pulse Voltammetry (DPV)*. [s.d.]. Disponível em: <https://www.palmsens.com/knowledgebase-article/differential-pulse-voltammetry-dpv/>. Acesso em: 6 jan. 2025.

PATEL, M., AZANZA RICARDO, C. L., SCARDI, P., *et al.* "Morphology, structure and chemistry of extracted diesel soot - Part I: Transmission electron microscopy, Raman spectroscopy, X-ray photoelectron spectroscopy and synchrotron X-ray diffraction study", **Tribology International**, v. 52, p. 29–39, 2012.

PAUL, A. A., ALADESE, A. D., MARKS, R. S. "Additive Manufacturing Applications in Biosensors Technologies", **Biosensors**, v. 14, n. 2, p. 60, 2024.

PAWLYTA, M., ROUZAUD, J.-N., DUBER, S. "Raman microspectroscopy characterization of carbon blacks: Spectral analysis and structural information", **Carbon**, v. 84, p. 479–490, 2015.

PEREIRA, J. F. S., ROCHA, R. G., CASTRO, S. V. F., *et al.* "Reactive oxygen plasma treatment of 3D-printed carbon electrodes towards high-performance electrochemical sensors", **Sensors and Actuators. B, Chemical**, v. 347, n. 130651, p. 130651, 2021.

PEREIRA, M. V., DATTI, E., ALVARENGA, G. R., *et al.* "3D printing and its applications in spectroelectrochemistry", **Microchemical Journal**, v. 183, n. 108083, p. 108083, 2022.

PEREIRA, M. V., NEUMSTEIR, N. V., BONACIN, J. A. "Hydrogen production by 3D-printed electrodes", **Discover materials**, v. 4, n. 1, 2024.

PEREZ, M. Â. F. "Validação De Métodos Analíticos : Como Fazer ?", **Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens**, v. 22, n. 3, p. 1–9, 2010. .

PINTADO, S., MONTOYA, M. R., RODRÍGUEZ-AMARO, R., *et al.* "Electrochemical determination of glyphosate in waters using electrogenerated copper ions", **International Journal of Electrochemical Science**, v. 7, n. 3, p. 2523–2530.

PRAVEEN, S., SIM, G. S., SHAJI, N., *et al.* "3D-printed self-standing electrodes for flexible Li-ion batteries", **Applied materials today**, v. 26, n. 100980, p. 100980, 2022.

PROTOPASTA. *Conductive PLA*. 2025. Disponível em: <https://protopasta.com/collections/all/products/conductive-pla>. Acesso em: 15 fev. 2025.

PUTRI, K. N. A., INTASANTA, V., HOVEN, V. P. "Current significance and future perspective of 3D-printed bio-based polymers for applications in energy conversion and storage system", **Heliyon**, v. 10, n. 4, p. e25873, 2024.

PUTZBACH, W., RONKAINEN, N. J. "Immobilization techniques in the fabrication of nanomaterial-based electrochemical biosensors: A review", **Sensors**, v. 13, n. 4, p. 4811–4840, 2013.

RANDLES, J. E. B. "A cathode ray polarograph. Part II.—The current-voltage curves", **Transactions of the Faraday Society**, v. 44, n. 0, p. 327–338, 1948.

RANDVIIR, E. P., BANKS, C. E. "A review of electrochemical impedance spectroscopy for bioanalytical sensors", **Analytical methods: Advancing Methods and Applications**, v. 14, n. 45, p. 4602–4624, 2022..

RANDVIIR, E. P., BANKS, C. E. "Electrochemical impedance spectroscopy: an overview of bioanalytical applications", **Analytical methods: advancing methods and applications**, v. 5, n. 5, p. 1098, 2013.

REDONDO, E., MUÑOZ, J., PUMERA, M. "Green activation using reducing agents of carbon-based 3D printed electrodes: Turning good electrodes to great", **Carbon**, v. 175, p. 413–419, 2021.

RICHTER, E. M., ROCHA, D. P., CARDOSO, R. M., *et al.* "Complete additively manufactured (3D-printed) electrochemical sensing platform", **Analytical chemistry**, v. 91, n. 20, p. 12844–12851, 2019.

ROCHA, D. P., ROCHA, R. G., CASTRO, S. V. F., *et al.* "Posttreatment of 3D-printed surfaces for electrochemical applications: A critical review on proposed protocols", **Electrochemical Science Advances**, v. 2, n. 5, p. e2100136, 2022.

ROCHA, F. R. P., TEIXEIRA, L. S. G. "Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-Vis", **Quimica Nova**, v. 27, n. 5, p. 807–812, 2004.

ROCHA, R. G., RAMOS, D. L. O., DE FARIA, L. V., *et al.* "Printing parameters affect the electrochemical performance of 3D-printed carbon electrodes obtained by fused deposition modeling", **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 925, n. 116910, p. 116910, 2022.

RODRIGUES, A. C. M., BARBIERI, M. V., CHINO, M., *et al.* "A 3D printable adapter

for solid-state fluorescence measurements: the case of an immobilized enzymatic bioreceptor for organophosphate pesticides detection", **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 414, n. 5, p. 1999–2008, 2022.

RODRIGUES, J. G. A., SILVA, T. M. N., GOMES JUNIOR, S. B., *et al.* "Optimizing the Construction and Activation of 3D-Printed Electrochemical Sensors: An Experimental Design Approach for Simultaneous Electroanalysis of Paracetamol and Caffeine", **ACS Omega**, v. 10, n. 1, p. 1131–1143, 2025.

ROMANHOLO, P. V. V., RAZZINO, C. A., RAYMUNDO-PEREIRA, P. A., *et al.* "Biomimetic electrochemical sensors: New horizons and challenges in biosensing applications", **Biosensors and Bioelectronics**, v. 185, n. 113242, p. 113242, 2021.

RUAN, X., WANG, Y., KWON, E. Y., *et al.* "Nanomaterial-enhanced 3D-printed sensor platform for simultaneous detection of atrazine and acetochlor", **Biosensors and Bioelectronics**, v. 184, n. 113238, p. 113238, 2021.

RYU, H., THOMPSON, D., HUANG, Y., *et al.* "Electrochemical sensors for nitrogen species: A review", **Sensors and Actuators Reports**, v. 2, n. 1, p. 100022, 2020.

SACHDEVA, P., NATH, G., JAIN, U. "Phage based biosensors: Enhancing early detection of emerging pathogens in diagnostics", **Talanta Open**, v. 10, n. 100345, p. 100345, 2024.

SANLI, S. "Single-drop electrochemical immunosensor with 3D-printed magnetic attachment for onsite smartphone detection of amoxicillin in raw milk", **Food Chemistry**, v. 437, n. 137823, p. 137823, 2024.

SANTOS, J. S., PONTES, M. S., SANTIAGO, E. F., *et al.* "An efficient and simple method using a graphite oxide electrochemical sensor for the determination of glyphosate in environmental samples", **Science of the Total Environment**, v. 749, n. 142385, p. 142385, 2020.

SANTOS, M. F. P., 2007, *Desenvolvimento e Validação de Métodos de Espectroscopia no Infravermelho Próximo e Médio para Caracterização de Lamas de ETAR para Uso Agrícola*. Dissertação de M.Sc. (Mestrado em Engenharia Biológica), Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal.

SARAVANAN, M., GANESAN, M., AMBALAVANAN, S. "An in situ generated

carbon as integrated conductive additive for hierarchical negative plate of lead-acid battery", **Journal of Power Sources**, v. 251, p. 20–29, 2014.

SASSOLAS, A., BLUM, L. J., LECA-BOUVIER, B. D. "Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors", **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 3, p. 489–511, 2012.

SCHWAAB, M., PINTO, J. C. **Análise de Dados Experimentais I: Fundamentos de Estatística e Estimação de Parâmetros**. Rio de Janeiro, Editora E-papers, 2007.

SCHWAAB, M.; PINTO, J. C. **Análise de Dados Experimentais II: Planejamento de Experimentos**. Rio de Janeiro, Editora E-papers, 2011.

SCHWARTZ, J. J., HAMEL, J., EKSTROM, T., *et al.* "Not all PLA filaments are created equal: an experimental investigation", **Rapid prototyping journal**, v. 26, n. 7, p. 1263–1276, 2020.

SEKAR, N., RAMASAMY, R. P. "Electrochemical impedance spectroscopy for microbial fuel cell characterization", **Journal of Microbial and Biochemical Technology**, v. 6, n. 2, p. 1–14, 2013.

ŠEVČÍK, A. "Oscillographic polarography with periodical triangular voltage", **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, v. 13, p. 349–377, 1948.

SHARMA, A., FABER, H., KHOSLA, A., *et al.* "3D printed electrochemical devices for bio-chemical sensing: A review", **Materials science & Engineering. R, Reports: A Review Journal**, v. 156, n. 100754, p. 100754, 2023.

SHARMA, V., UY, D., GANGOPADHYAY, A., *et al.* "Structure and chemistry of crankcase and exhaust soot extracted from diesel engines", **Carbon**, v. 103, p. 327–338, 2016.

SHERGILL, R. S., PATEL, B. A. "Preprinting Saponification of Carbon Thermoplastic Filaments Provides Ready-to-Use Electrochemical Sensors", **ACS Applied Electronic Materials**, v. 5, n. 9, p. 5120–5128, 2023.

SIDDIQUI, S., SURANANAI, S., SAINATH, K., *et al.* "Emerging trends in development and application of 3D printed nanocomposite polymers for sustainable environmental solutions", **European Polymer Journal**, v. 196, n. 112298, p. 112298, 2023 .

SIGMA-ALDRICH. *Phosphatase, Acid from wheat germ ≥ 0.4 unit/mg solid*. 2024. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/sigma/p3627>. Acesso em: 10 jan. 2025.

SILVA, J. P. D., SANTOS, Y. R. P., BELLO, M. I. M. C. "Aplicação da ANOVA e dos testes de Fisher e Tukey em dados de recalque de edifícios de múltiplos pavimentos", **Revista Principia - Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB**, v. 59, n. 3, p. 829, 2022.

SILVA, V. A. O. P., FERNANDES-JUNIOR, W. S., ROCHA, D. P., *et al.* "3D-printed reduced graphene oxide/polylactic acid electrodes: A new prototyped platform for sensing and biosensing applications", **Biosensors and Bioelectronics**, v. 170, n. 112684, p. 112684, 2020.

SINGH, R. K., KIM, T. H., PATEL, K. D., *et al.* "Biocompatible magnetite nanoparticles with varying silica-coating layer for use in biomedicine: Physicochemical and magnetic properties, and cellular compatibility", **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 100, n. 7, p. 1734–1742, 2012.

SINGH, S., KUMAR, V., DHANJAL, D. S., *et al.* "Biological Biosensors for Monitoring and Diagnosis", **Microbial Biotechnology: Basic Research and Applications**, p. 317–335, 2020.

SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. **Fundamentals of Analytical Chemistry**. 9 ed. Singapore, Cengage Learning, 2014.

SKOOG, D. A.; HOLLEN, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of Instrumental Analysis**. 6 ed. Belmont, Thomson, 2007.

SMITH, B. C. **Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy**. 2. ed. Boca Raton, CRC Press, 2011.

SOK, V., FRAGOSO, A. "Amperometric biosensor for glyphosate based on the inhibition of tyrosinase conjugated to carbon nano-onions in a chitosan matrix on a screen-printed electrode", **Microchimica Acta**, v. 186, n. 8, p. 569, 2019.

SONG, D., CHEN, X., WANG, M., *et al.* "3D-printed flexible sensors for food monitoring", **Chemical Engineering Journal**, v. 474, n. 146011, p. 146011, 2023.

SOUSA, K. A. P., MAROLI, C., MICHEL, A. R., *et al.* "Long-lasting copper carbon

nanotubes for non-enzymatic electrochemical sensing of glyphosate", **Diamond and Related Materials**, v. 148, n. 111483, p. 111483, 2024.

SOUZA, M. M. C., ROCHA, R. G., SIQUEIRA, G. P., *et al.* "Additively manufactured ready - to - use platform using conductive recycled PLA for ketamine sensing", **Microchimica Acta**, v. 192, n. 2, p. 60, 2025.

SRIDHARAN, G., ATCHUDAN, R., MAGESH, V., *et al.* "Advanced electrocatalytic materials based biosensors for cancer cell detection – A review", **Electroanalysis**, v. 35, n. 9, p. e202300093, 2023.

STEFANO, J. S., GUTERRES E SILVA, L. R., ROCHA, R. G., *et al.* "New conductive filament ready-to-use for 3D-printing electrochemical (bio)sensors: Towards the detection of SARS-CoV-2", **Analytica Chimica Acta**, v. 1191, n. 339372, p. 339372, 2022.

STEFANO, J. S., KALINKE, C., DA ROCHA, R. G., *et al.* "Electrochemical (Bio)Sensors Enabled by Fused Deposition Modeling-Based 3D Printing: A Guide to Selecting Designs, Printing Parameters, and Post-Treatment Protocols", **Analytical Chemistry**, v. 94, n. 17, p. 6417–6429, 2022.

SUNDARAM, S., ANNAMALAI, S. K. "Selective immobilization of hydroquinone on carbon nanotube modified electrode via phenol electro-oxidation method and its hydrazine electro-catalysis and Escherichia coli antibacterial activity", **Electrochimica Acta**, v. 62, p. 207–217, 2012.

SUWANNACHAT, J., SAENCHOOPA, A., TUN, W. S. T., *et al.* "An electrochemical AChE-based biosensor for organophosphate pesticides using a modified CuNWs/rGO nanocomposite on a screen-printed carbon electrode", **Food Chemistry**, v. 434, n. 137431, p. 137431, 2024.

TABE, H., OSHIMA, H., IKEYAMA, S., *et al.* "Enhanced catalytic stability of acid phosphatase immobilized in the mesospaces of a SiO₂-nanoparticles assembly for catalytic hydrolysis of organophosphates", **Molecular Catalysis**, v. 510, n. 111669, p. 111669, 2021.

TEHRI, N., KUMAR, N. "Current trends in enzymatic biosensors for pesticides determination ", **International Research Journal of Environmental Sciences**, v. 9, n. 1, p. 87–107, 2020.

TOMASINI, E. P., HALAC, E. B., REINOSO, M., *et al.* "Micro-Raman spectroscopy of carbon-based black pigments", **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 43, n. 11, p. 1671–1675, 2012.

TRACHIOTI, M. G., LAZANAS, A. C., PRODRAMIDIS, M. I. "Shedding light on the calculation of electrode electroactive area and heterogeneous electron transfer rate constants at graphite screen-printed electrodes", **Microchimica Acta**, v. 190, n. 7, p. 251, 2023.

TSAGAROPOULOS, G., EISENBERG, A. "Dynamic mechanical study of the factors affecting the two glass transition behavior of filled polymers. Similarities and differences with random ionomers", **Macromolecules**, v. 28, n. 18, p. 6067–6077, 1995.

TULI, N. T., KHATUN, S., RASHID, A. B. "Unlocking the future of precision manufacturing: A comprehensive exploration of 3D printing with fiber-reinforced composites in aerospace, automotive, medical, and consumer industries", **Heliyon**, v. 10, n. 5, p. e27328, 2024.

UNWIN, P. R. **Introduction to electroanalytical techniques and instrumentation**. Encyclopedia of Electrochemistry: Online, Wiley, 2007.

USLU, B., OZKAN, S. A. "Electroanalytical Methods for the Determination of Pharmaceuticals: A Review of Recent Trends and Developments", **Analytical Letters**, v. 44, n. 16, p. 2644–2702, 2011.

VALLE, A. L., MELLO, F. C. C., ALVES-BALVEDI, R. P., *et al.* "Glyphosate detection: methods, needs and challenges", **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, n. 1, p. 291–317, 2019.

VASAN, A. S. S., MAHADEO, D. M., DORAISWAMI, R., *et al.* "Point-of-care biosensor system", **Frontiers in Bioscience**, v. 5 S, n. 1, p. 39–71, 2013.

VELUSAMY, V., ARSHAK, K., KOROSTYNSKA, O., *et al.* "An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors", **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 2, p. 232–254, 2010.

VERMA, N., BHARDWAJ, A. "Biosensor Technology for Pesticides—A review", **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, n. 6, p. 3093–3119, 2015.

WALLACE, G. G. "Dissolved oxygen: the electroanalytical chemists dilemma", **Trends**

in **Analytical Chemistry**, v. 4, n. 6, p. 145–148, 1985.

WANG, J. **Analytical Electrochemistry**. 2 ed. New York, John Wiley & Sons, 2000.

WANG, K., VASYLIEVA, N., WAN, D., *et al.* "Quantitative Detection of Fipronil and Fipronil-Sulfone in Sera of Black-Tailed Prairie Dogs and Rats after Oral Exposure to Fipronil by Camel Single-Domain Antibody-Based Immunoassays", **Analytical Chemistry**, v. 91, n. 2, p. 1532–1540, 2019.

WANG, L., GAO, W., NG, S., *et al.* "Chiral Protein-Covalent Organic Framework 3D-Printed Structures as Chiral Biosensors", **Analytical Chemistry**, v. 93, n. 12, p. 5277–5283, 2021.

WANG, L., TIAN, Y., YU, X., *et al.* "Advances in improved/enhanced oil recovery technologies for tight and shale reservoirs", **Fuel**, v. 210, p. 425–445, 2017.

WANG, X., JIANG, M., ZHOU, Z., *et al.* "3D printing of polymer matrix composites: A review and prospective", **Composites. Part B, Engineering**, v. 110, p. 442–458, 2017.

WANG, X., ZHOU, J., WANG, H. "Bioreceptors as the key components for electrochemical biosensing in medicine", **Cell Reports Physical Science**, v. 5, n. 2, p. 101801, 2024.

WANG, Y., LI, R., SHEN, Y., *et al.* "Electrochemical sensing of fipronil in fruit and vegetable based on gold nanocrystal and target-induced DNA cycle signal amplification", **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 406, n. 135420, p. 135420, 2024.

WEI, M., ZHANG, F., WANG, W., *et al.* **3D direct writing fabrication of electrodes for electrochemical storage devices. Journal of Power Sources**, v. 354, p. 134–147, 2017.

WIRTH, D. M., SHEAFF, M. J., WALDMAN, J. V., *et al.* "Electrolysis Activation of Fused-Filament-Fabrication 3D-Printed Electrodes for Electrochemical and Spectroelectrochemical Analysis", **Analytical Chemistry**, v. 91, n. 9, p. 5553–5557, 2019.

WROBEL VON ZUBEN, T., KALINKE, C., CAMPOS JANEGITZ, B., *et al.* "3D-printed amperometric sensor for the detection of ethanol in saliva", **Electroanalysis**, v. 35, n. 11, 2023.

WULANDARI, L., NURI, PRATOKO, D. K., *et al.* "Determination α -amylase inhibitor activity of methanol extract of coffee leaves using UV-Vis spectrophotometric method and validation", **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 743, n. 1, p. 012094, 2021.

XU, J., CHAU, Y., LEE, Y.-K. "Phage-based electrochemical sensors: A review", **Micromachines**, v. 10, n. 12, p. 855, 2019.

YANG, Z., LIN, F. "Heterogeneous, defect-rich battery particles and electrodes: Why do they matter, and how can one leverage them?", **The Journal of Physical Chemistry. C, Nanomaterials and Interfaces**, v. 125, n. 18, p. 9618–9629, 2021.

YOUNG, H. D., FREEDMAN, R. A. **Física III – Eletromagnetismo**. 14. ed. São Paulo, Pearson, 2019.

ZAMBRANO-INTRIAGO, L. A., AMORIM, C. G., ARAÚJO, A. N., *et al.* "Development of an inexpensive and rapidly preparable enzymatic pencil graphite biosensor for monitoring of glyphosate in waters", **Science of the Total Environment**, v. 855, n. 158865, p. 158865, 2023.

ZHANG, M., YANG, Y., GUO, W. "Electrochemical sensor for sensitive nitrite and sulfite detection in milk based on acid-treated Fe₃O₄@SiO₂ nanoparticles", **Food chemistry**, v. 430, n. 137004, p. 137004, 2024. DOI: 10.1016/j.foodchem.2023.137004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137004>.

ZHAO, B., CHEN, Z., HAN, G. C., *et al.* "Carbon-based electrochemical sensor: Modified electrodes and as-prepared 3D printed electrodes for simultaneous detection of purines and pyrimidines", **Microchemical Journal**, v. 197, n. 109894, p. 109894, 2024.

ANEXOS

ANEXO A

Informações contidas na ficha de dados de segurança (*Safety Data Sheet – SDS*) do filamento de PLA condutivo *Protopasta®*.

Section 1: Identification of the substance/mixture and of the company/undertaking

1.1 Product Identifier

Product form Filament

Trade name Composite Conductive Fiber PLA

Product code CDP1xxxx

1.2 Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against

For use in 3D printers at recommended temperatures

1.3 Details of the supplier of the safety data sheet

Protoplant, Inc

12001 NE 60th Way, B-2

Vancouver, WA 98682

www.proto-pasta.com

Emergency telephone number: 360.524.0667

Section 3: Composition/Information on ingredients

3.1 Substances/Mixtures

Chemical Name	CAS No	Weight %
Poly lactide resin	9051-89-2	>67
Carbon black	1333-86-4	<20
Other polymers	n/a	<13

Section 9: Physical and chemical properties

9.1 Information on basic physical and chemical properties

Physical state	Solid
Appearance	Monofilament plastic, thin strand
Color	Black
Odor	Light, sweet odor during processing; none at room temperature
Odor threshold	Not applicable
pH	Not applicable
Melting point	195-225C
Freezing point	Not applicable
Boiling point	Not applicable
Flash point	Not determined
Relative evaporation rate	Not applicable
Flammability	Combustible if heated
Explosion limits	Not applicable
Explosive properties	Not applicable
Oxidizing properties	Not applicable
Vapor pressure	Not determined
Relative density	1.24 g/cc
Relative vapor density at 20C	Not determined
Solubility	Insoluble
Log Pow	Not determined
Log Kow	Not determined
Auto-ignition temperature	300-400C
Decomposition temperature	250C
Viscosity	Not applicable
Viscosity, kinematic	Not applicable
Viscosity, dynamic	Not applicable

APÊNDICES

APÊNDICE A

Técnicas eletroanalíticas

Devido ao reconhecimento entre o receptor e o analito em sensores e biossensores eletroquímicos, o conversor de sinal transforma o analito e sua resposta em sinais elétricos, como capacitância (C), corrente elétrica (I), potencial elétrico (E), impedância (Z), entre outros. Dessa forma, é possível realizar tanto a detecção qualitativa quanto quantitativa do analito-alvo, que pode ser feita utilizando diferentes técnicas voltamétricas, como voltametria de varredura linear (*linear sweep voltammetry* – LSV), voltametria cíclica (*cyclic voltammetry* – CV) e voltametria de pulso diferencial (*differential pulse voltammetry* – DPV); técnicas amperométricas, como a cronoamperometria (*chronoamperometry* – CA); e impedimétricas, como a espectroscopia de impedância eletroquímica (*electrochemical impedance spectroscopy* – EIS) (AMARAL *et al.*, 2023; BATRA *et al.*, 2020). Devido a relevância dessas técnicas no desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos, os fundamentos e conceitos que permeiam as técnicas citadas serão discutidas.

É interessante ressaltar que a remoção do oxigênio dissolvido é essencial em análises eletroquímicas, uma vez que o oxigênio pode causar interferências, como picos inesperados e perda de reversibilidade em reações. Isso ocorre devido à formação de espécies reativas, como o ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), que afetam os processos eletroquímicos e alteram a resposta dos analitos. Para evitar essas interferências, a solução pode, por exemplo, ser purgada com um gás inerte, como o nitrogênio (N_2), antes das medições (ELGRISHI *et al.*, 2018; WALLACE, 1985).

A.1 Cronoamperometria

A cronoamperometria é uma técnica caracterizada pelo monitoramento da corrente ao longo do tempo com a aplicação de um potencial constante em um eletrodo. Pensando-se em uma reação de oxidação, com a aplicação de um degrau de potencial suficientemente mais negativo do que o potencial formal ($E^{0'}$) do par redox, a espécie oxidada na superfície do eletrodo é reduzida de forma rápida e completa. Isso reduz a concentração dessa espécie na interface eletrodo-solução a zero, enquanto a espécie

reduzida começa a se formar. Esse processo cria gradientes de concentração tanto para a espécie oxidada, que se difunde da solução para a superfície do eletrodo, quanto para a espécie reduzida, que se difunde para longe da interface. O fluxo de corrente em um sistema controlado por difusão é diretamente proporcional ao gradiente de concentração na interface eletrodo-solução, conforme a equação de Cottrell (BARD e FAULKNER, 2001; LIBRETEXTS, [s.d.]a):

$$I(t) = \frac{nFAD_0^{1/2}C_0^*}{\pi^{1/2}t^{1/2}} \text{ (Equação A1)}$$

em que $I(t)$ é a corrente em função do tempo, n é o número de elétrons transferidos na reação, F é a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}), A é a área do eletrodo (cm^2), D_0 é o coeficiente de difusão da espécie oxidada ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$), C_0^* é a concentração inicial da espécie oxidada (mol cm^{-3}), e t é o tempo decorrido após o degrau de potencial.

A corrente decai com o tempo seguindo uma relação de $t^{1/2}$ e reflete o comportamento do transporte de massa limitado por difusão. Nos primeiros instantes após o degrau de potencial, há também uma contribuição da corrente capacitiva (I_c), resultante do rearranjo das cargas na dupla camada elétrica. Essa corrente capacitiva decai rapidamente, como $1/t$ e pode ser desprezada em tempos mais longos (LIBRETEXTS, [s.d.]a).

Experimentos de cronoamperometria podem envolver um único degrau de potencial, onde apenas a corrente gerada na etapa inicial é medida, ou degraus duplos, nos quais o potencial é revertido após um intervalo de tempo (τ). No método de degrau duplo, o potencial inicial (E_1) é aplicado, seguido por um potencial de redução (E_2) e, em seguida, o potencial é revertido para um valor final ($E_f = E_1$). A análise das correntes medidas em tempos correspondentes nas etapas de avanço e reversão fornece informações sobre a reversibilidade química e eletroquímica do sistema (Figura A1) (BARD e FAULKNER, 2001; LIBRETEXTS, [s.d.]a).

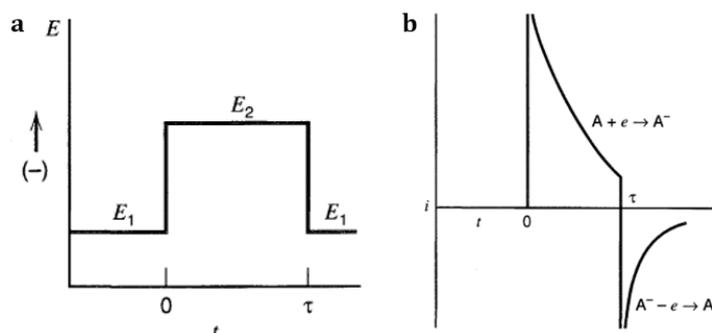


Figura A1. Cronoamperometria com passo duplo de potencial. (a) Forma de onda típica e (b) resposta de corrente.

Fonte: Adaptado de Bard e Faulkner (2001).

Neste trabalho, a cronoamperometria foi empregada como método de ativação dos eletrodos impressos em 3D durante a triagem inicial, apresentada no Apêndice C.2.

A.2 Voltametrias

A voltametria é uma técnica eletroanalítica baseada nos fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e a camada fina de solução próxima a essa superfície. É classificada como dinâmica, pois envolve a presença de corrente elétrica ($I > 0$), que é medida em função da aplicação controlada de um potencial (E). Nessa técnica, as informações sobre o analito são obtidas por meio da análise da corrente elétrica gerada entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar, enquanto um potencial é aplicado entre o eletrodo de trabalho e o de referência (ELGRISHI *et al.*, 2018; PACHECO *et al.*, 2013).

O gráfico que representa a corrente em função do potencial é conhecido como voltamograma. A corrente gerada, que resulta de processos de transferência de elétrons durante reações de oxirredução (Equação A2), está diretamente relacionada à quantidade de analito presente na interface do eletrodo, desde que este seja eletroativo, ou seja, capaz de sofrer reações redox na faixa de potencial aplicada (PACHECO *et al.*, 2013).



em que O é a forma oxidada de uma espécie, R é a forma reduzida, e^- representa o elétron e n consiste no número de elétrons envolvidos da reação de redução representada.

Os eletrodos interagem predominantemente com espécies carregadas positiva ou negativamente, que podem reagir ou não em sua superfície. Espécies neutras também podem interagir por adsorção. A reação que ocorre no eletrodo é composta por várias

etapas, sendo fundamental considerar, primeiramente, o transporte das espécies químicas até a superfície do eletrodo e, em seguida, a reação propriamente dita. A corrente resultante é influenciada por processos como transferência de massa (movimento das espécies da solução para a interface), transferência de carga (troca de elétrons na superfície do eletrodo) e reações químicas que podem ocorrer antes ou depois da transferência de elétrons, sejam elas homogêneas (como protonações e dimerizações) ou heterogêneas (como adsorções, dessorções, decomposições catalíticas ou cristalizações) (Figura A2) (UNWIN, 2007).

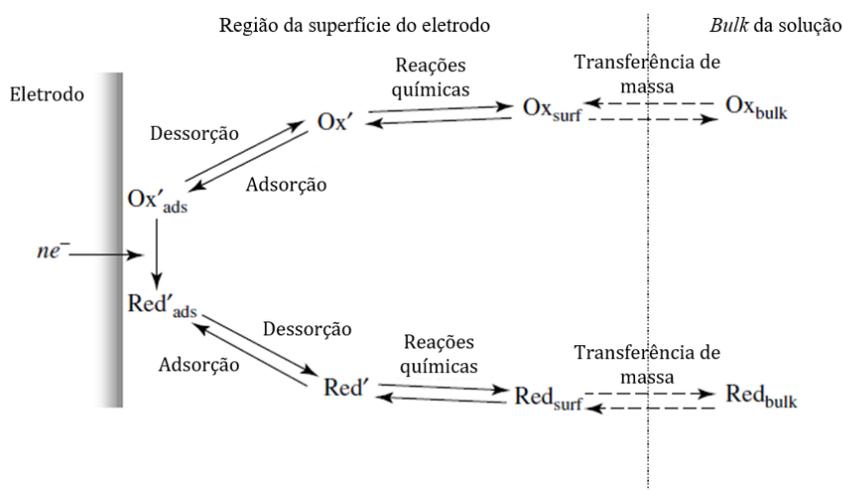


Figura A2. Esquema do conjunto das etapas que resulta na medida voltamétrica.

Fonte: Adaptado de Unwin (2007)

Como visto na Seção 2.3, o transporte de massa pode acontecer por migração, convecção e difusão. Na prática voltamétrica, as condições experimentais são ajustadas para minimizar os transportes de massa por migração e convecção. A migração, que é o movimento de íons em resposta a campos elétricos, é suprimida pelo uso de eletrólitos suporte em excesso (cerca de 100 vezes maiores que a espécie de interesse, como já discutido), evitando a formação de gradientes de carga. Já a convecção, que decorre de perturbações mecânicas no fluxo da solução, é reduzida ao interromper agitações mecânicas ou borbulhamento de gases antes da aplicação do potencial. Assim, considera-se que o transporte de massa ocorre predominantemente por difusão, isto é, pelo movimento espontâneo devido ao gradiente de concentração (PACHECO *et al.*, 2013).

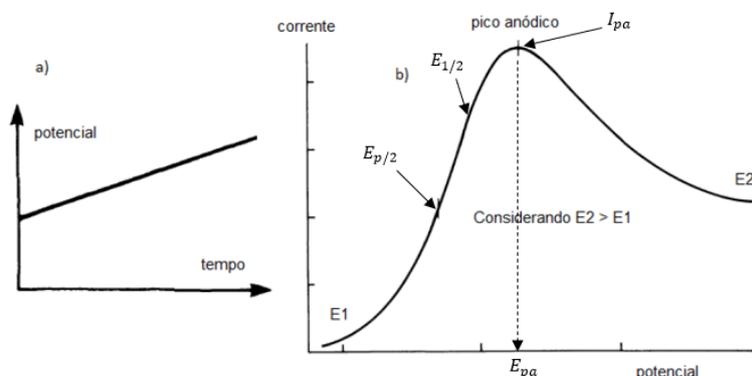
Por exemplo, durante a redução de uma espécie oxidada O (Equação A2), sua concentração na superfície do eletrodo diminui, criando um gradiente de concentração que resulta no transporte dessa espécie da solução para a interface eletrodo/solução. A

transferência de carga, associada às reações de oxidação e redução, ocorre nessa interface, gerando corrente elétrica. A corrente total é composta por duas parcelas: a corrente faradaica, que resulta das reações redox do analito, e a corrente capacitiva, necessária para carregar a dupla camada elétrica na interface (ELGRISHI *et al.*, 2018; PACHECO *et al.*, 2013).

O potencial aplicado ao eletrodo de trabalho atua como força motriz para as reações eletroquímicas. Potenciais mais negativos favorecem reações de redução, enquanto potenciais mais positivos promovem reações de oxidação. Assim, uma varredura no sentido negativo é chamada de varredura catódica, enquanto uma varredura no sentido positivo é denominada varredura anódica (ELGRISHI *et al.*, 2018; PACHECO *et al.*, 2013).

A.2.1 Voltametria de varredura linear

Na voltametria de varredura linear (*linear sweep voltammetry* – LSV), o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia linearmente com o tempo (Figura A3). Essa técnica permite a aplicação de velocidades de varredura relativamente altas, até 1000 mV s^{-1} , porém não é considerada muito sensível (PACHECO *et al.*, 2013).



Fonte: Adaptado de Pacheco *et al.* (2013).

A corrente é medida diretamente em função do potencial aplicado, resultando na contribuição tanto da corrente faradaica (desejada) quanto da corrente capacitiva (ruído), o que limita sua aplicabilidade em medidas quantitativas. Os limites de detecção, nas estimativas mais otimistas, são da ordem de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (PACHECO *et al.*, 2013; USLU

e OZKAN, 2011). Embora o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho determine se uma corrente faradaica ocorre, a intensidade dessa corrente é influenciada pela taxa da reação de oxidação ou redução. Dois fatores principais afetam essa taxa: o transporte de massa, que se refere ao movimento dos reagentes e produtos em direção e afastamento do eletrodo, e o transporte eletrônico, que envolve o fluxo de elétrons entre o eletrodo e as espécies na solução (HARVEY, 2022).

Nesta dissertação, a técnica de LSV foi empregada não como técnica eletroanalítica, mas nos ensaios de resistência elétrica.

A.2.2 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica é a técnica mais frequentemente utilizada para obter informações sobre processos eletroquímicos. Sua eficiência vem da capacidade de fornecer rapidamente informações sobre a termodinâmica de processos redox, a cinética de reações heterogêneas de transferência de elétrons e reações químicas acopladas a processos adsorptivos. Enquanto na voltametria de varredura linear o potencial é escaneado em uma única direção, seja para valores mais positivos ou mais negativos, na voltametria cíclica, a varredura é realizada em ambas as direções (HARVEY, 2002).

Em um experimento de voltametria cíclica utilizando uma espécie que apresenta reação de oxirredução reversível, o potencial é inicialmente aplicado a um valor em que nenhuma redução ocorre. À medida que o potencial varia para regiões mais positivas (anódica), a oxidação do composto em solução ocorre, gerando um pico de corrente proporcional à concentração desse composto. Quando o potencial atinge um valor escolhido em que nenhuma reação de redução ocorre (potencial de mudança), o potencial é varrido novamente em direção ao valor inicial, agora mais negativo (catódica) (Figura A4.A). O tipo de voltamograma gerado depende do mecanismo redox específico que o composto sofre no eletrodo (HARVEY, 2022; PACHECO *et al.*, 2013). Como resposta, observa-se, para uma reação reversível envolvendo um elétron, um par de picos (catódico e anódico), cujos parâmetros eletroquímicos mais relevantes são os potenciais de pico catódico e anódico (E_{pc} e E_{pa}), as correntes de pico catódico e anódico (I_{pc} e I_{pa}), o potencial de meia onda ($E_{1/2}$) e o potencial de meio pico ($E_{p/2}$), fundamentais para caracterizar o processo eletroquímico ocorrido (BARD e FAULKNER, 2001; BRETT e BRETT, 1993; SKOOG *et al.*, 2007).

Para sistemas eletroquimicamente reversíveis (nernstianos), o potencial de meia onda ($E_{1/2}$) está relacionado ao potencial de pico (E_p) conforme a equação abaixo (BARD e FAULKNER, 2001):

$$E_p = E_{1/2} - 1,109 \frac{RT}{nF} = \frac{28,5 \text{ mV}}{n} \text{ (a } 25 \text{ }^\circ\text{C)} \text{ (Equação A3)}$$

Como o pico apresenta uma forma relativamente larga, o que pode dificultar a determinação do potencial de pico, é conveniente, em alguns casos, relatar o potencial no ponto ($I_p/2$), conhecido como potencial de meio pico ($E_{p/2}$). Este valor é dado por:

$$E_{p/2} = E_{1/2} + 1,09 \frac{RT}{nF} = E_{1/2} + \frac{28,0 \text{ mV}}{n} \text{ (a } 25 \text{ }^\circ\text{C)} \text{ (Equação A4)}$$

Vale destacar que ($E_{1/2}$) está localizado aproximadamente no ponto médio entre E_{pa} e E_{pc} (geralmente coincidindo com o potencial formal $E^{0'}$ do par redox em sistemas eletroquimicamente reversíveis), sendo um critério útil para identificar uma onda nernstiana (Figura A4.B).

$$|E_p - E_{p/2}| = 2,20 \frac{RT}{nF} = \frac{56,5 \text{ mV}}{n} \text{ (a } 25 \text{ }^\circ\text{C)} \text{ (Equação A5)}$$

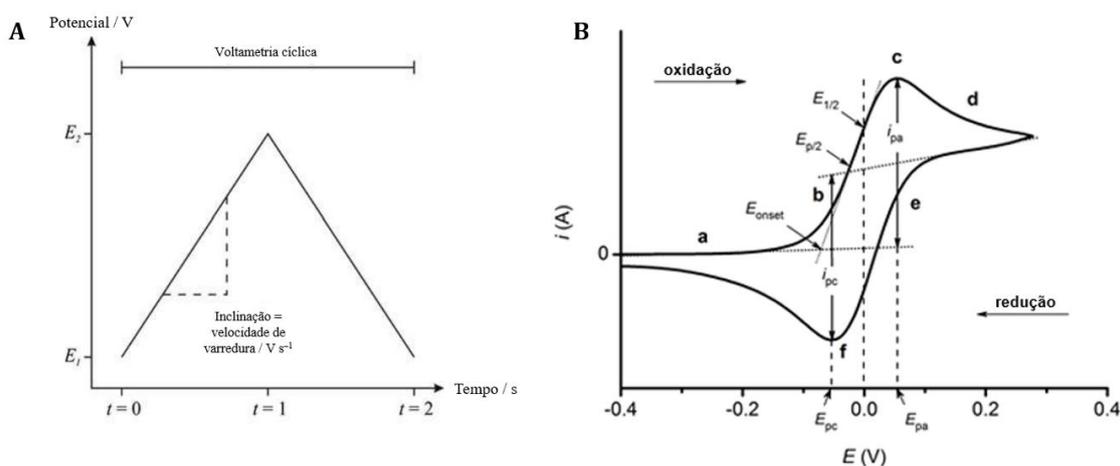


Figura A4. (A) Variação do potencial em função do tempo em voltametria cíclica. (B) Exemplo de um voltamograma cíclico (forma de “bico de pato”) para um processo redox reversível com um elétron: a) potencial insuficiente para oxidar o analito; b) chegada ao potencial início da oxidação (E_{onset}), com aumento exponencial da corrente; c) pico anódico (I_{pa}) no potencial anódico máximo (E_{pa}); d) limitação por transporte de massa do *bulk* para o eletrodo e diminuição da corrente; e) reversão para potenciais negativos e redução do analito; f) pico catódico (I_{pc}) no potencial catódico máximo (E_{pc}).

Fonte: Adaptado de Joshi e Sutrave (2018) e Ossila ([s.d.]).

Duas abordagens são frequentemente usadas para relatar dados de voltametria cíclica, mas geralmente não há uma explicação clara sobre a convenção de sinal aplicada

na coleta e plotagem dos dados. No entanto, o eixo de potencial (x) pode fornecer pistas sobre a convenção utilizada, como descrito na Figura A5. Cada gráfico inclui uma seta que indica a direção em que o potencial foi varrido para a obtenção dos dados.

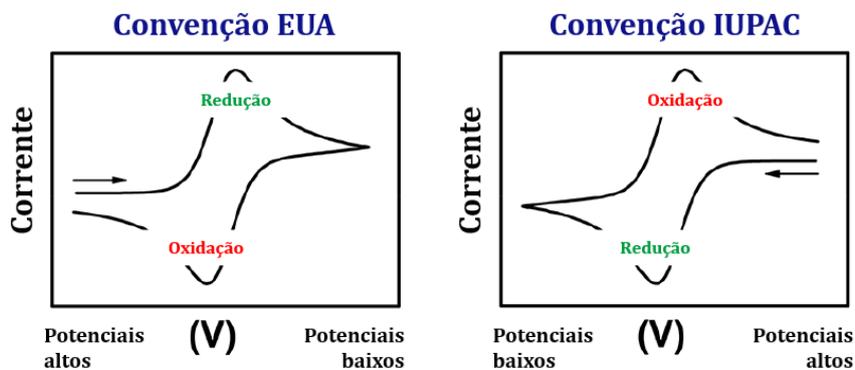


Figura A5. Convenções usadas para relatar dados de voltametria cíclica.

Fonte: Adaptado de Elgrishi *et al.* (2018).

Um parâmetro fundamental a considerar ao avaliar a resposta de um sistema eletroquímico é a área eletroativa (A_e) do eletrodo de trabalho, visto que a corrente de pico (I_p) depende de A_e , independentemente do comportamento do sistema (reversível, quase-reversível ou irreversível), como mostrado na Figura A6. A A_e do eletrodo também está relacionada à densidade de corrente j ($A\text{ cm}^{-2}$) observada durante experimentos eletroquímicos, sendo, portanto, essencial para uma compreensão completa do processo eletroquímico em estudo. Além disso, a A_e está envolvida em diversos cálculos de parâmetros eletroquímicos, como a constante de transferência heterogênea de elétrons (k_0) e a capacitância da dupla camada elétrica (C_{dl}) (TRACHIOTI *et al.*, 2023).

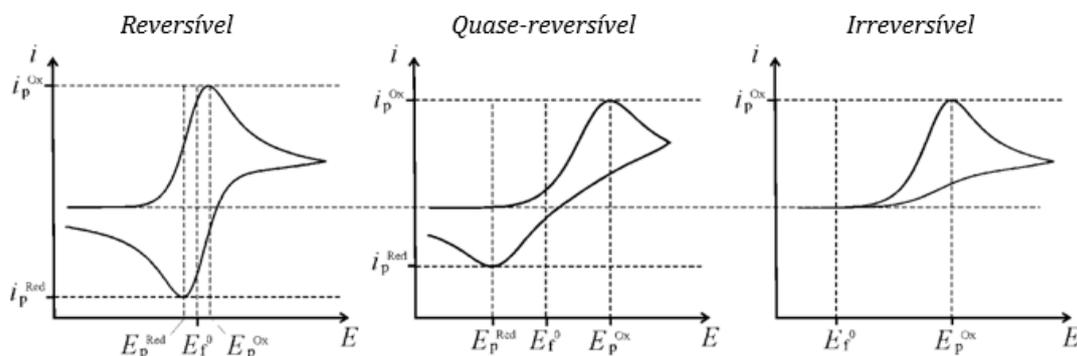


Figura A6. Comparação das formas de onda voltamétricas cíclicas para processos reversíveis, quase-reversíveis e irreversíveis.

Fonte: Adaptado de Barrose-Antle *et al.* (2010).

A área eletroativa do eletrodo pode ser determinada por voltametria cíclica na presença de uma espécie redox na solução de medição. Para processos reversíveis ($I_{pa}/I_{pc} = 1$ e $n\Delta E_p \approx 59$ mV – em prática, $n\Delta E_p < 63$ mV –, onde n é o número de elétrons envolvidos na reação redox e ΔE_p é a diferença de potencial entre os picos) (BARD e FAULKNER, 2001), a corrente de pico (I_p) é descrita pela equação de Randles-Ševčík (RANDLES, 1948; ŠEVČÍK, 1948) :

$$I_p = 2,69 \cdot 10^5 n^{3/2} A_e \sqrt{D} C \sqrt{v} \text{ (Equação A6)}$$

em que I_p é a corrente de pico em A, n é o número de elétrons envolvidos na reação eletroquímica, A_e é a área eletroativa do eletrodo em cm^2 , C é a concentração da espécie redox na solução em mol cm^{-3} , D é o coeficiente de difusão da espécie redox em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ e v é a velocidade de varredura do potencial em V s^{-1} .

Em sistemas reversíveis envolvendo espécies redox que se difundem livremente, a equação de Randles-Ševčík descreve a relação entre a corrente de pico e a velocidade de varredura, mostrando que gráficos de I_p versus \sqrt{v} devem apresentar linearidade. A inclinação da reta obtida pode ser usada para calcular a área eletroativa do eletrodo (BARD e FAULKNER, 2001). No caso de espécies adsorvidas no eletrodo, a resposta de corrente é representada pela equação (ELGRISHI *et al.*, 2018):

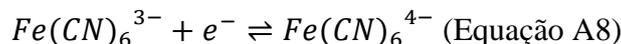
$$I_p = \frac{n^2 F^2}{4RT} v A_e \Gamma^* \text{ (Equação A7)}$$

onde Γ^* representa a cobertura superficial da espécie adsorvida, expressa em mol cm^{-2} .

Para espécies adsorvidas, espera-se que a corrente varie linearmente com v . No caso de um analito considerado como livremente difundido, desvios da linearidade nos gráficos de I_p em função de \sqrt{v} podem indicar quase-reversibilidade eletroquímica ou uma transferência de elétrons ocorrendo por meio de espécies adsorvidas na superfície. A análise da separação entre os picos de oxidação e redução pode ajudar a identificar a causa desses desvios. Para processos quase-reversíveis, essa separação varia com a taxa de varredura. Já para espécies adsorvidas na superfície, não ocorre variação na separação entre os picos (ELGRISHI *et al.*, 2018).

Compostos redox comuns, como o ferricianeto de potássio ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) e o ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$) (Equação A8), frequentemente exibem comportamento quase-reversível ($63 < n\Delta E_p < 200$ mV), especialmente ao usar materiais

de eletrodo não convencionais, como eletrodos impressos em 3D (TRACHIOTI *et al.*, 2023).



Quando o mecanismo de transporte é controlado pela difusão, diversos trabalhos envolvendo sensores e biossensores eletroquímicos impressos em 3D acabam optando pelo uso da Equação A6, provavelmente para fins de simplificação (DOS SANTOS *et al.*, 2019; KALINKE *et al.*, 2020; KALINKE *et al.*, 2021; RICHTER *et al.*, 2019; ROCHA *et al.*, 2022). No entanto, devido ao comportamento quase-reversível nesses casos, a equação de Randles-Ševčík modificada abaixo (Equação A9) poderia ser utilizada (TRACHIOTI *et al.*, 2023):

$$I_p = (2,69 \cdot 10^5 n^{3/2} A_e \sqrt{DC} \sqrt{v}) K(\Lambda, \alpha) \text{ (Equação A9)}$$

onde $K(\Lambda, \alpha)$ é um parâmetro adimensional específico para reações quase-reversíveis. A estimativa de $K(\Lambda, \alpha)$ exige, inicialmente, o cálculo de $\Delta(\Lambda, \alpha)$ (Equação A10), um parâmetro adimensional que depende dos valores de E_p (potencial de pico), de $E_{p/2}$ (potencial de meio pico) – obtidos do voltamograma cíclico –, da constante dos gases ideais ($R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), da constante de Faraday ($F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$), da temperatura (T) em kelvin, além de Λ (Equação A11), outro parâmetro adimensional. Este, por sua vez, depende de ψ (TRACHIOTI *et al.*, 2023).

$$E_{p/2} - E_p = \Delta(\Lambda, \alpha) \left(\frac{RT}{F} \right) = 26\Delta(\Lambda, \alpha) \text{ a } 25 \text{ }^\circ\text{C} \text{ (Equação A10)}$$

$$\Lambda = \psi \sqrt{\pi} \text{ (Equação A11)}$$

ψ é um parâmetro cinético, cuja determinação é descrita a seguir. O próximo passo consiste em calcular $\log \Lambda$. Utilizando o gráfico $\Delta(\Lambda, \alpha) = f(\log \Lambda)$ (Figura A7.A), como os parâmetros $\Delta(\Lambda, \alpha)$ e $\log \Lambda$ são conhecidos, o coeficiente de transferência (α) pode ser estimado graficamente. Finalmente, o parâmetro $K(\Lambda, \alpha)$ é obtido graficamente a partir do gráfico $K(\Lambda, \alpha) = f(\log \Lambda)$, considerando o valor estimado de α (Figura A7.B) (BARD e FAULKNER, 2001; TRACHIOTI *et al.*, 2023).

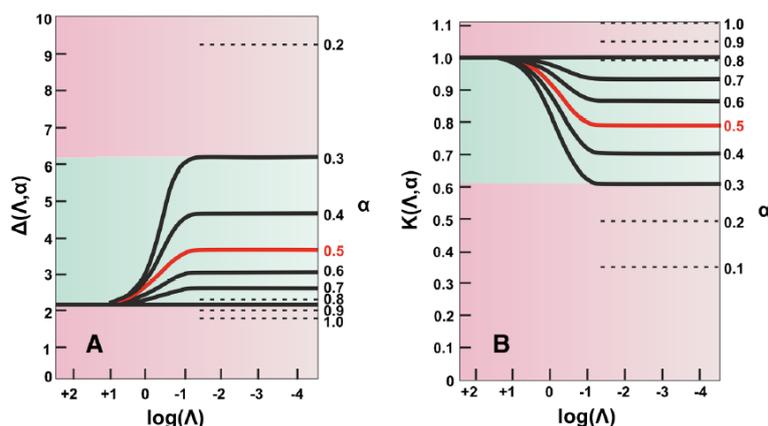


Figura A7. Variação de (A) $\Delta(\Lambda, \alpha)$ e (B) $K(\Lambda, \alpha)$ com Λ para diferentes valores de α .

Fonte: Trachioti *et al.*, (2023).

O parâmetro ψ é definido como uma função de ΔE_p (Equações A16 e A17), que, em processos não reversíveis, depende da velocidade de varredura (v) (ΔE_p muda com a velocidade de varredura). Como $K(\Lambda, \alpha) = f(\log \Lambda) = f(\psi) = f(\sqrt{v})$, diferentes valores de $K(\Lambda, \alpha)$ surgem para diferentes velocidades de varredura. Em outras palavras, o parâmetro $K(\Lambda, \alpha)$ na Equação A9 indica que, em processos quase-reversíveis ($63 < n\Delta E_p < 200$ mV), a corrente de pico não é proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura (TRACHIOTI *et al.*, 2023).

Em um processo irreversível (geralmente quando $n\Delta E_p > 200$ mV), a corrente de pico pode ser descrita pela seguinte equação (TRACHIOTI *et al.*, 2023):

$$I_p = 2,99 \cdot 10^5 n \sqrt{\alpha n'} A_e \sqrt{DC} \sqrt{v} \quad (\text{Equação A12})$$

onde n e n' representam, respectivamente, o número de elétrons envolvidos na reação eletroquímica e o número de elétrons transferidos antes da etapa determinante da velocidade da reação. Os demais termos possuem os significados anteriormente mencionados. Assumindo $n = n' = 1$, a corrente de pico pode ser determinada por meio da equação modificada de Randles-Ševčík abaixo (TRACHIOTI *et al.*, 2023):

$$I_p = 2,99 \cdot 10^5 n \sqrt{\alpha} A_e \sqrt{DC} \sqrt{v} \quad (\text{Equação A13})$$

O coeficiente de transferência (α) mede a simetria da barreira de energia associada a uma etapa de transferência de elétrons. Para reações completamente simétricas em termos de energia (reações reversíveis), α assume o valor de 0,5. Já em reações irreversíveis, α deve ser calculado utilizando a seguinte relação (BARD e FAULKNER, 2001):

$$|E_p - E_{p/2}| = \frac{1,857RT}{\alpha} = \frac{47,7 \text{ mV}}{\alpha} \text{ (a } 25 \text{ }^\circ\text{C)} \text{ (Equação A14)}$$

A voltametria cíclica também possibilita a obtenção da constante de transferência heterogênea de elétrons (k^0), outro parâmetro essencial para avaliar o desempenho eletroquímico de eletrodos, que reflete a cinética das reações entre as espécies redox e a superfície do eletrodo. Em termos gerais, k^0 representa a eficiência cinética na troca de elétrons entre as formas oxidada e reduzida de um par redox. Sistemas com valores elevados de k^0 atingem o equilíbrio rapidamente, enquanto aqueles com valores baixos apresentam uma cinética mais lenta (BARD e FAULKNER, 2001). A constante k^0 não mede diretamente a velocidade da transferência de elétrons, que ocorre em uma escala de tempo extremamente curta (10^{-16} s), mas o tempo necessário para que as espécies eletroativas e suas atmosferas iônicas se reorganizem para que a transferência de elétrons ocorra (TRACHIOTI *et al.*, 2023).

O método de Nicholson é amplamente utilizado para calcular k^0 em reações quase-reversíveis (NICHOLSON, 1965). Ele se baseia no parâmetro cinético adimensional ψ , conforme descrito na Equação A15 (TRACHIOTI *et al.*, 2023).

$$k^0 = \psi \cdot \sqrt{\frac{\pi D n \nu F}{RT}} \text{ (Equação A15)}$$

O parâmetro ψ depende de $n\Delta E_p$, e o método é aplicável dentro do intervalo de $63 < n\Delta E_p < 212$ mV, ou, em termos de ψ , $7 > \psi > 0,1$. O limite superior de $\psi = 7$ indica a transição entre um sistema reversível para quase-reversível (ou $n\Delta E_p > 63$ mV), enquanto o limite inferior ($\psi = 0,1$) marca a transição de um sistema quase-reversível para um sistema irreversível (ou $n\Delta E_p > 212$ mV). Para calcular k^0 usando esse método, é necessário obter o valor de ψ , desde que $n\Delta E_p$ esteja dentro do limite de quase-reversível ($63 < n\Delta E_p < 212$ mV) (TRACHIOTI *et al.*, 2023).

ψ pode ser determinado graficamente (Figura A8) ou calculado pela equação empírica de Lavagnini *et al.* (2004) abaixo:

$$\psi = \frac{-0,6288 + 0,0021(n\Delta E_p)}{1 - 0,017(n\Delta E_p)} \text{ (Equação A16)}$$

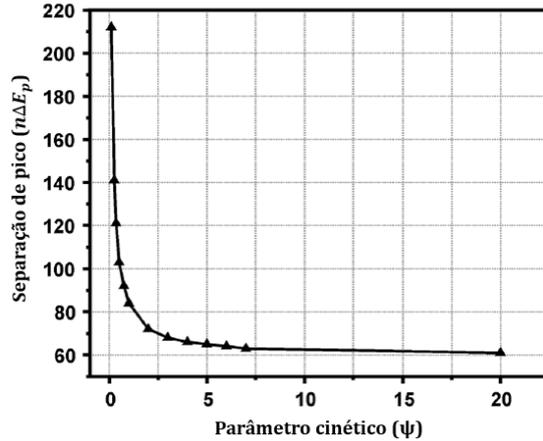


Figura A8. Curva de trabalho mostrando a variação de $n\Delta E_p$ com ψ .

Fonte: Adaptado de Trachioti *et al.* (2023).

Para valores de $n\Delta E_p$ entre 140 e 200 mV, Lavagnini e colaboradores (2004) propuseram uma fórmula alternativa (Equação A17) que proporciona valores mais precisos de ψ nessa faixa específica.

$$\psi = 2,18 \sqrt{\frac{\alpha}{\pi}} e^{-\left(\frac{\alpha^2 n F}{RT}\right) \Delta E_p} \text{ (Equação A17)}$$

Outra abordagem é plotar, em diferentes velocidades de varredura, a Equação A15 como uma função $f(x) = ax$, onde $f(x) = \psi$, $x = 1/\sqrt{\pi D n v F / (RT)}$ e o coeficiente angular a (inclinação) corresponde a k^0 , com a restrição de que $n\Delta E_p$ seja mantido abaixo de 212 mV. De maneira geral, o valor médio em diferentes taxas de varredura é considerado mais confiável do que aquele obtido para uma única taxa.

Outro método bastante empregado para o cálculo de k^0 , quando $n\Delta E_p$ é maior do que 150 mV, é o método de Klingler-Kochi (KLINGLER e KOCHI, 1981), que utiliza a seguinte equação:

$$k^0 = 2,18 \cdot \sqrt{\frac{\alpha D n v F}{RT}} e^{-\left(\frac{\alpha^2 n F}{RT}\right) \Delta E_p} \text{ (Equação A18)}$$

em que α é o coeficiente de transferência da varredura direta, determinado pela Equação A14. Os demais termos têm o mesmo significado descrito anteriormente.

Esse método permite determinar k^0 diretamente a partir do valor de $n\Delta E_p$, sem a necessidade de calcular outros parâmetros, como ψ . Contudo, assim como no método de Nicholson, é recomendável utilizar o valor médio de k^0 obtido em diferentes taxas de varredura para garantir maior confiabilidade nos resultados (TRACHIOTI *et al.*, 2023).

Para investigar o mecanismo de oxidação de espécies eletroativas, principalmente em sistemas irreversíveis, a equação de Laviron (1979) pode ser utilizada. Essa equação permite calcular parâmetros cinéticos essenciais já citados, como o coeficiente de transferência de carga (α) e a constante de transferência heterogênea de elétrons (k^0). O primeiro passo é realizar um experimento de voltametria cíclica com o eletrodo de trabalho em questão, utilizando diferentes velocidades de varredura (v), mantendo a concentração do redox e a temperatura constantes. Com os voltamogramas obtidos, é necessário identificar o potencial de pico (E_p) e a corrente de pico (I_p) para cada taxa de varredura (LAVIRON, 1979).

A equação de Laviron (Equação A19) para uma reação redox irreversível é expressa como uma relação entre o potencial de pico (E_p) e a velocidade de varredura (v), envolvendo variáveis como o potencial formal do par redox ($E^{0'}$), a constante universal dos gases ideais ($R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), a temperatura (T), a constante de transferência heterogênea (k^0), a constante de Faraday ($F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$), o número de elétrons envolvidos na reação redox (n) e o coeficiente de transferência de elétrons (α) (LAVIRON, 1979).

$$E_p = E^{0'} + \frac{RT}{\alpha nF} \ln\left(\frac{RTk^0}{\alpha nF}\right) + \frac{RT}{\alpha nF} \ln(v) \text{ (Equação A19)}$$

Para determinar α e k^0 , é preciso plotar um gráfico de E_p contra $\ln(v)$, onde a equação linearizada de Laviron (Equação A20) se apresenta com uma inclinação que corresponde a $RT/(\alpha nF)$, e com coeficiente linear (b) igual a $E^{0'} + RT/(\alpha nF) \ln(RTk^0/(\alpha nF))$ (LAVIRON, 1979).

$$E_p = \frac{RT}{\alpha nF} \ln(v) + b \text{ (Equação A20)}$$

Com o coeficiente angular do gráfico obtido, é possível calcular o coeficiente de transferência de carga α , utilizando a relação entre a inclinação e os parâmetros conhecidos. Se o valor de α é conhecido, é possível determinar o número de elétrons envolvido na reação redox. Para calcular k^0 , pode-se utilizar o valor de α junto com a interseção do gráfico. Caso o valor de $E^{0'}$ não seja conhecido, ele pode ser estimado como a média dos potenciais de pico anódico e catódico em uma voltametria cíclica de baixa velocidade de varredura para uma reação quase-reversível (LAVIRON, 1979).

$$k^0 = \frac{\alpha nF}{RT} e^{\frac{\alpha nF(b-E^{0'})}{RT}} \text{ (Equação A21)}$$

Alternativamente, k^0 pode ser obtido pela seguinte equação:

$$\log k^0 = \alpha \log(1 - \alpha) + (1 - \alpha) \log \alpha - \log \left(\frac{RT}{nFv} \right) - \frac{\alpha \log(1 - \alpha) nF \Delta E_p}{2,3RT} \text{ (Equação A22)}$$

Para reações redox reversíveis, a análise é simplificada. A equação de Laviron para essas reações assume que os picos anódico e catódico são simétricos. Nesse caso, o cálculo de k^0 também é realizado a partir da análise do gráfico de E_p versus $\ln(v)$, mas com a seguinte equação:

$$E_p = E^{0'} + \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{RTv}{nFk^0} \right) \text{ (Equação A23)}$$

O valor de $E^{0'}$ para reações reversíveis pode ser estimado como a média dos potenciais de pico anódico e catódico, e a partir daí o cálculo de k^0 pode ser feito de maneira semelhante àquela das reações irreversíveis.

$$E_p = \frac{RT}{nF} \ln(v) + b \text{ (Equação A24)}$$

onde o coeficiente angular corresponde a $RT/(nF)$, e o coeficiente linear (b) é igual a $E^{0'} + RT/(nF) \cdot \ln(RT/(nFk^0))$.

A partir da interseção do gráfico (coeficiente linear), pode-se determinar k^0 :

$$k^0 = \frac{RT}{nF} e^{\frac{nF(b-E^{0'})}{RT}} \text{ (Equação A25)}$$

Em eletroquímica, os conceitos de reversibilidade química e eletroquímica tratados nessa seção são, muitas vezes, confundidos. Assim, tais conceitos serão melhor discutidos no Apêndice B.

Nos experimentos desta dissertação, a técnica de CV foi utilizada tanto na caracterização eletroquímica do filamento e dos eletrodos impressos em 3D quanto na detecção dos analitos.

A.2.3 Voltametria de pulso diferencial

A voltametria de pulso é uma técnica eficaz para reduzir interferências causadas por correntes de fundo e destacar a corrente faradaica de maneira seletiva. A técnica de DPV foi empregada nesta dissertação na detecção dos analitos. A metodologia consiste na medição periódica de corrente enquanto uma série de pulsos de potencial é aplicada ao sistema. Durante o processo, a diminuição progressiva da corrente capacitiva contribui para uma avaliação mais precisa da corrente faradaica. Entre as técnicas baseadas em

pulsos, a voltametria de pulso diferencial (DPV) destaca-se por sua alta sensibilidade e ampla aplicação em diferentes áreas (BRACHI *et al.*, 2024).

Na DPV, o procedimento começa com a aplicação de um potencial inicial por um período de tempo definido (I_1 na Figura A9.a). Após isso, o potencial é aumentado de forma incremental por alguns milivolts e mantido em um novo nível (E_{pulso}) por um intervalo predeterminado (I_2 na Figura A9.a). Em seguida, o potencial é reduzido para um valor ligeiramente superior ao ponto de partida (a diferença é chamada de E_{passo}), repetindo-se o ciclo e formando uma onda com aspecto de escada. As medições de corrente são realizadas em dois momentos: antes do início de cada pulso e próximo ao seu final (t_{pulso}). A diferença entre essas duas correntes é calculada e registrada, permitindo a construção de um voltamograma (Figura A9.b) que representa as variações da corrente em função do potencial aplicado (BRACHI *et al.*, 2024). O tempo de intervalo entre os pulsos (período de pulso – t_{int}) é dada pela razão entre o potencial de passo e a velocidade de varredura (v) (PALMSENS, [s.d.]).

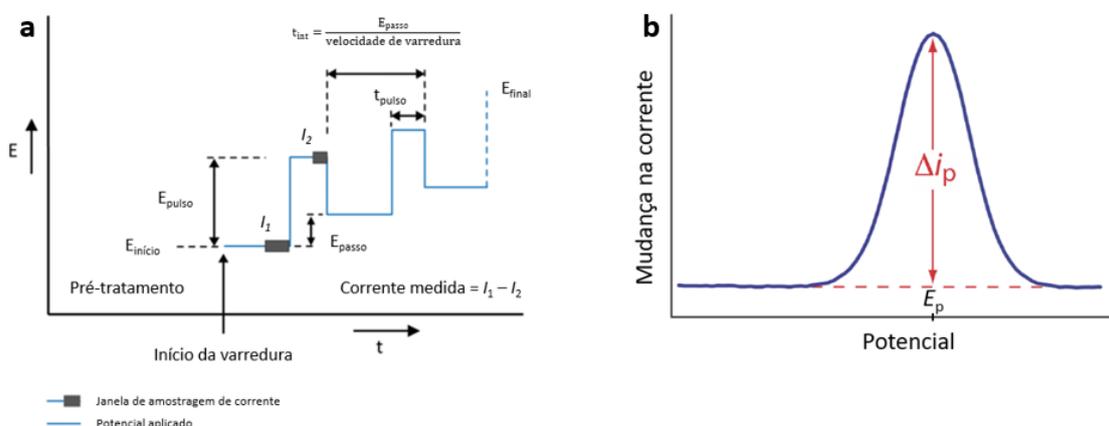


Figura A9. Potencial aplicado durante a voltametria de pulso diferencial (a) e voltamograma para um experimento de voltametria de pulso diferencial (b).

Fonte: Adaptado de PalmSens ([s.d.]) (a) e Harvey (2022) (b).

O gráfico resultante apresenta um pico, que é normalmente proporcional à concentração do analito na solução, de acordo com a seguinte equação (BARD e FAULKNER, 2001):

$$I_p = \frac{nFAD^{1/2}C}{\sqrt{\pi t_m}} \left(\frac{1-\sigma}{1+\sigma} \right) \text{ (Equação A26)}$$

onde I_p é a corrente do pico, n o número de elétrons envolvidos na reação redox, F a constante de Faraday, A a área do eletrodo, t_m o tempo entre a primeira e a segunda leitura de corrente, D o coeficiente de difusão, C a concentração do analito, e $\sigma = \exp(nF\Delta E/(2RT))$, sendo ΔE a amplitude do pulso (E_{pulso} na Figura A9.a).

O potencial de pico obtido na DPV (E_p) não corresponde ao potencial redox. Ele está relacionado ao potencial de meia onda de acordo com a Equação A27 (BARD e FAULKNER, 2001):

$$E_p = E_{1/2} - E_{pulso}/2 \text{ (Equação A27)}$$

Um benefício do voltamograma derivado é a capacidade de detectar picos separados para substâncias com potenciais de meia onda que diferem em apenas 0,04 a 0,05 V, ao contrário da voltametria clássica, que requer uma diferença de cerca de 0,2 V para resolver picos. A técnica de DPV oferece maior sensibilidade e, normalmente, proporciona picos bem definidos em níveis de concentrações até $2 \cdot 10^{-3}$ daquelas da onda voltamétrica clássica. Além disso, a escala de corrente para ΔI_p (eixo y da Figura A9.b) é geralmente medida em nanoampères (nA) (SKOOG *et al.*, 2007).

A maior sensibilidade da DPV pode ser atribuída a duas fontes. A primeira é o aumento da corrente faradaica, e a segunda é a redução da corrente de carregamento não faradaica. Para explicar o aumento, pode-se pensar nos eventos que ocorrem na camada superficial ao redor de um eletrodo quando o potencial é repentinamente aumentado em 50 mV. Se uma espécie eletroativa estiver presente nesta camada, haverá um aumento na corrente que reduz a concentração do reagente ao nível exigido pelo novo potencial. À medida que a concentração de equilíbrio para esse potencial é alcançada, no entanto, a corrente decai para um nível suficiente apenas para contrabalançar a difusão, ou seja, à corrente controlada pela difusão. Na voltametria clássica, o aumento inicial da corrente não é observado porque a escala de tempo da medição é longa em relação à duração da corrente momentânea. Por outro lado, na DPV, a medição da corrente é realizada antes que o aumento tenha decaído completamente. Assim, a corrente medida contém tanto uma componente controlada pela difusão quanto uma componente relacionada à redução da camada superficial até a concentração exigida pela expressão de Nernst. A corrente total é geralmente várias vezes maior que a corrente de difusão. Sob condições hidrodinâmicas, a solução se torna homogênea em relação ao analito até que a próxima sequência de pulsos ocorra. Assim, em um dado potencial aplicado, um aumento de corrente idêntico acompanha cada pulso de voltagem (SKOOG *et al.*, 2007).

A.3 Espectroscopia de impedância eletroquímica

A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) é uma técnica amplamente reconhecida pela sua eficácia em fornecer informações sobre processos que ocorrem na interface eletrodo-eletrólito envolvendo a cinética e os mecanismos de diversos sistemas eletroquímicos, sendo frequentemente utilizada em áreas como estudos de corrosão, ciência de semicondutores, tecnologias de energia, sensores químicos, biossensores e diagnósticos não invasivos (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023; MAGAR *et al.*, 2021; METROHM, [s.d]). Seu princípio envolve a aplicação de um sinal senoidal (tensão ou corrente alternada) a um sistema eletroquímico em equilíbrio ou em estado estacionário, abrangendo uma ampla faixa de frequências. A resposta do sistema, também em forma de onda senoidal (tensão ou corrente, dependendo do sinal de entrada), é monitorada para análise. Desde que o sistema eletroquímico seja linear e invariante no tempo (ou seja, a relação entre entrada e saída é linear, e as características do sistema não se alteram com o tempo), a EIS pode ser tratada como uma técnica baseada em funções de transferência, na qual a saída (corrente ou tensão alternada) é modelada em relação à entrada (tensão ou corrente alternada) em diferentes frequências (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023).

A impedância, em essência, representa a oposição ao fluxo de corrente elétrica em um circuito e é medida na mesma unidade que a resistência, o ohm (Ω). Contudo, há uma distinção fundamental entre resistência e impedância: a resistência, regida pela lei de Ohm (Equação 1), é típica de circuitos de corrente contínua (*direct current* – DC), onde a corrente não alterna, e pode ser vista como a impedância com ângulo de fase igual a zero. Em circuitos de corrente alternada (*alternating current* – AC), o conceito de resistência só é aplicável se três condições forem satisfeitas: a tensão e a corrente devem estar em fase, a resistência não deve depender da frequência, e deve ser válida para qualquer valor de corrente e tensão. No entanto, na maioria dos casos, o ângulo de fase não é zero, devido à presença de dois outros fenômenos além da resistência convencional, que influenciam o fluxo de corrente em um circuito: a indutância (L), que surge da indução de tensões no condutor geradas pelos campos magnéticos da corrente, e a capacitância (C), relacionada ao armazenamento eletrostático de carga induzido pela tensão entre os condutores. Juntas, a indutância e a capacitância compõem a reatância (X) (RANDVIIR e BANKS, 2022; RANDVIIR e BANKS, 2013; SEKAR e RAMASAMY, 2013).

A impedância (Z), dessa forma, expande o conceito de resistência para circuitos AC, sendo representada como um número complexo que combina magnitude e ângulo de fase. Enquanto em circuitos DC o sinal pode ser interpretado como um caso limite da

corrente alternada com frequência tendendo a zero, em circuitos AC a impedância inclui uma parte real (resistência) e uma parte imaginária (reatância) no plano complexo. Para sinais senoidais de corrente ou tensão, a magnitude da impedância (Equação A29) é dada pela razão entre a amplitude da tensão e a da corrente. Já o ângulo de fase da impedância reflete o atraso ou avanço entre os dois sinais indicando o quanto a corrente está adiantada em relação à tensão (RANDVIIR e BANKS, 2022; RANDVIIR e BANKS, 2013; SEKAR e RAMASAMY, 2013).

$$Z(j\omega) = \frac{E(j\omega)}{I(j\omega)} \text{ (Equação A28)}$$

onde Z é a impedância, E é a voltagem (tensão), I é a corrente, j é o componente imaginário, e ω é a frequência.

Um sinal senoidal x em um tempo t é descrito pela Equação A29, onde X_0 é a amplitude de sinal, também chamada de sinal de pico (X_p) (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023).

$$x(t) = X_0 \text{sen}(\omega t) \text{ (Equação A29)}$$

As características temporais de um sinal senoidal podem ser descritas pela frequência (f) (número de ciclos por segundo), medida em Hertz (Hz), e pelo período (T) (tempo necessário para completar um ciclo), medido em segundos (s). Essas grandezas estão relacionadas entre si e também à frequência angular (ω) por meio da seguinte equação (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023):

$$\omega = 2\pi f = 2\pi/T \text{ (Equação A30)}$$

Para comparar dois sinais senoidais com a mesma frequência, é necessário observar, além de suas magnitudes, a diferença de fase entre eles, caso exista. Na Figura A10, estão representados dois sinais senoidais, $x(t)$ e $y(t)$, que possuem a mesma frequência e magnitude. Apesar disso, os valores instantâneos desses sinais apresentam diferenças devido ao ângulo de fase ou defasagem (φ) entre os vetores rotativos correspondentes. Um dos sinais pode ser definido como referência, e a defasagem entre os dois é expressa em relação a esse sinal de referência. Como mostrado na Figura A10, os valores instantâneos do sinal senoidal $y(t)$ são determinados pela Equação A31 (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023).

$$y(t) = Y_0 \text{sen}(\omega t - \varphi) \text{ (Equação A31)}$$

O vetor fixo em um instante t , posicionado em um ângulo de rotação ωt , é denominado fasor, representado por \sim . O fasor é um número complexo que expressa a amplitude e a fase de um sinal senoidal. No exemplo da Figura A10, o ângulo de fase do fasor \tilde{X} , utilizado como referência, é igual a zero, e a diferença de fase entre os fasores \tilde{X} e \tilde{Y} é representada por φ . Quando os fasores estão "fora de fase", diz-se que o fasor \tilde{Y} está "atrasado" em relação a \tilde{X} (ou, alternativamente, que \tilde{X} está "adiantado"). Se $\varphi = 0$, os fasores estão "em fase", ou seja, alcançam seus valores máximos e mínimos simultaneamente (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023).

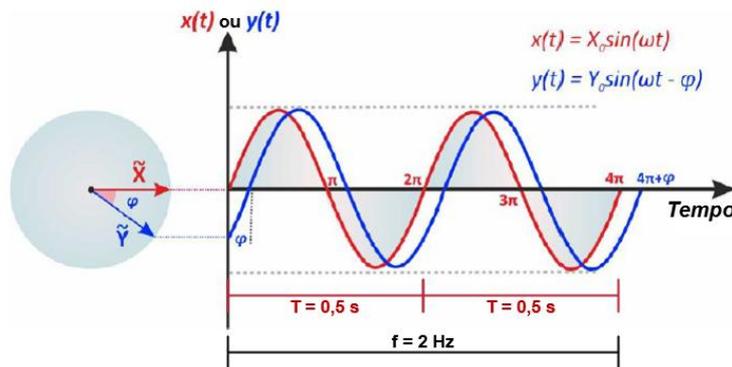


Figura A10. Diagramas de fasores para os sinais senoidais $x(t)$ e $y(t)$. Os vetores imóveis após um tempo específico correspondem aos fasores \tilde{X} e \tilde{Y} e a diferença de fase entre eles. Se o período (T) for 0,5 s, a frequência (f) equivale a 2 Hz.

Fonte: Adaptado de Lazanas e Prodromidis (2023).

A impedância é a resistência total ao fluxo de corrente em um circuito elétrico composto por resistores (R), capacitores (C) e indutores (L). A impedância do circuito varia dependendo dos diferentes componentes presentes e de como eles estão conectados. Quando uma tensão alternada de baixa amplitude, com uma frequência específica, é aplicada ao circuito, ela é descrita por uma equação (Equação A32) similar à Equação A29 (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023; MAGAR *et al.*, 2021):

$$E(t) = E_0 \sin(\omega t) \text{ (Equação A32)}$$

A corrente alternada resultante na mesma frequência é medida, expressa pela Equação A33, similar à Equação 31 (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023; MAGAR *et al.*, 2021):

$$I(t) = I_0 \sin(\omega t - \varphi) \text{ (Equação A33)}$$

A impedância do circuito nessa frequência ($Z(\omega)$) é dada por (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023):

$$Z(\omega) = |Z|e^{j\varphi} = |Z|(\cos\varphi + j\text{sen}) = Z' + jZ'' \text{ (Equação A34)}$$

onde Z' representa a resistência (a parte real da impedância, no eixo x), Z'' representa a reatância (a parte imaginária, no eixo y), $|Z|$ é o módulo da impedância, $\varphi = \omega t$ é a fase, e j é a unidade imaginária ($j^2 = -1$).

Com respeito a Z' , Z'' e $|Z|$, as seguintes relações são obtidas (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023):

$$Z' = |Z|\cos\varphi \text{ (Equação A35)}$$

$$Z'' = |Z|\text{sen}\varphi \text{ (Equação A36)}$$

$$|Z| = \sqrt{(Z')^2 + (Z'')^2} \text{ (Equação A37)}$$

Apesar de sua complexidade, a impedância equivalente dos elementos em série do circuito segue a regra de Kirchhoff (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023):

$$Z_{eq} = Z_1 + Z_2 + Z_3 + \dots \text{ (Equação A38)}$$

Já a impedância de elementos conectados em paralelo é calculada por (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023):

$$\frac{1}{Z_{eq}} = \frac{1}{Z_1} + \frac{1}{Z_2} + \frac{1}{Z_3} + \dots \text{ (Equação A3916)}$$

Os componentes real e imaginário da impedância podem ser representados em gráficos de Nyquist (Figura A11), que devem ser interpretados corretamente para determinar resistências de solução (R_s), resistências à transferência de carga (*charge transfer*) (R_{ct}), capacitância da dupla camada (*double layer*) (C_{dl}), impedância de Warburg (Z_w), assim como as constantes de tempo, por exemplo (RANDVIIR e BANKS, 2013). Nesse gráfico, Z' é positivo e Z'' também é positivo, mas representado como $-Z''$ (METROHM [s.d]).

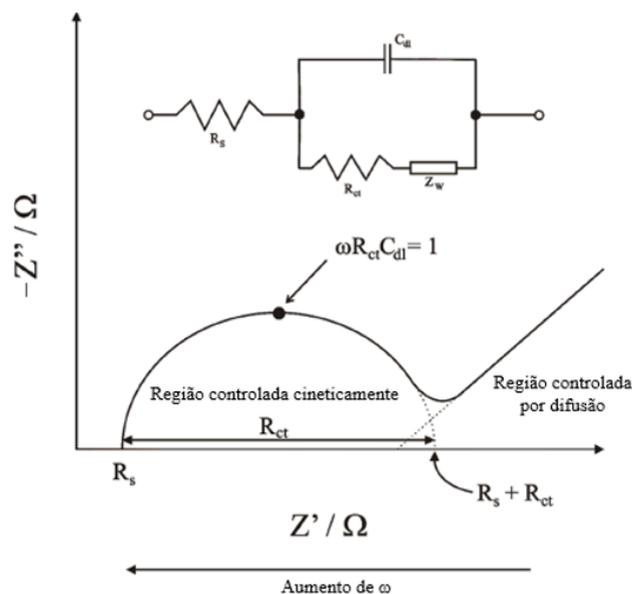


Figura A11. Circuito equivalente simples de Randles para uma célula eletroquímica e gráfico de Nyquist.

Fonte: Adaptado de Randviir e Banks (2013).

Os circuitos de EIS são comumente simplificados em diagramas de circuitos, o que facilita a compreensão dos componentes que contribuem para a impedância total do circuito e é útil para simulações computacionais de sistemas impedimétricos. Em um experimento eletroquímico, a impedância geralmente provém da resistência da solução (R_s), do carregamento da camada dupla na superfície do eletrodo (C_{dl}), da resistência à transferência de carga (R_{ct}) e do elemento de Warburg (Z_w), como ilustrado na Figura 25. Esses elementos, quando combinados, formam o circuito de Randles, amplamente utilizado para simulações de experimentos de EIS. Contudo, muitos casos na prática são mais complexos. Fatores como mudanças na adsorção alteram a impedância e precisam ser considerados, assim como o vínculo com enzimas (biorreconhecimento) e os compósitos do eletrodo (RANDVIIR e BANKS, 2013).

O elemento de Warburg descreve a difusão dos íons na solução durante uma reação eletroquímica. Em frequências altas, a impedância de Warburg não é observada, pois a migração dos íons ocorre em um tempo muito maior do que a frequência operacional, o que torna as contribuições da impedância irrelevantes devido ao movimento lento das moléculas na solução. Dessa forma, as contribuições de Warburg aparecem geralmente na região de baixa frequência. A parte à direita da Figura A11 mostra a região controlada por difusão em um gráfico de Nyquist obtido com EIS. A resistência da solução é independente da frequência e é observada na Figura A11 na maior frequência, onde ocorre a interceptação com o eixo real (R_s). A resistência à transferência

de carga (R_{ct}) é a oposição ao movimento de elétrons e é uma quantidade real. R_{ct} pode ser observada na Figura A11 na segunda interseção extrapolada com o eixo real, na região de frequências médias a baixas. Essa região é indicada como a região controlada cineticamente no gráfico de Nyquist, sendo associada à constante de transferência heterogênea (k^0) (MAGAR *et al.*, 2021; RANDVIIR e BANKS, 2013).

A determinação da corrente de troca (I_0) também pode ser realizada a partir de dados de EIS. Ela está relacionada aos valores de R_{ct} conforme indicado pela Equação 48 (TRACHIOTI *et al.*, 2023).

$$I_0 = \frac{RT}{nFR_{ct}} \text{ (Equação A40)}$$

A relação entre a corrente de troca I_0 e k^0 é descrita pela Equação A41 (TRACHIOTI *et al.*, 2023).

$$I_0 = nFAk^0 C_{ox}^{*\alpha} C_{red}^{*1-\alpha} \text{ (Equação A41)}$$

em que $C^* = C_{ox}^* = C_{red}^*$ representa a concentração do par redox na solução. A combinação das Equações A40 e A41 permite estabelecer a relação entre R_{ct} e k^0 como mostrado a seguir (TRACHIOTI *et al.*, 2023):

$$k^0 = \frac{RT}{n^2 F^2 A C R_{ct}} \text{ (Equação A42)}$$

É possível realizar uma estimativa gráfica alternativa de k^0 invertendo a Equação A41 e interpretando-a como uma função $f(x) = ax$, onde $f(x) = R_{ct}$, $x = 1/C$, e $a = \text{inclinação} = RT/n^2 F^2 A k^0$. Com o aumento das concentrações da sonda redox, ocorre uma redução nos valores de R_{ct} (TRACHIOTI *et al.*, 2023).

A capacitância da camada dupla (C_{dl}) pode ser estimada a partir da Figura A11, observando o valor máximo de Z'' da semicircunferência. O elemento capacitivo de uma célula eletroquímica é muitas vezes representado por um elemento de fase constante (CPE), que leva em conta fatores que afetam a capacitância do sistema, como não homogeneidades de superfície que resultam em diferentes taxas de reação na superfície e introduzem múltiplas constantes de tempo (RANDVIIR e BANKS, 2013).

O efeito indutivo (L) ser observado tanto em altas quanto em baixas frequências. Em altas frequências, geralmente é atribuído ao movimento de elétrons nos cabos que conectam a célula ao potenciostato. Esse movimento pode causar a ressonância dos elétrons em um dos cabos, gerando um campo magnético oscilante que, por sua vez, induz

uma corrente no cabo vizinho. No gráfico de Nyquist, esse efeito indutivo aparece como pontos no segundo quadrante. Já em baixas frequências, o comportamento indutivo é causado por alterações no número de sítios disponíveis para a transferência de carga. Um exemplo típico é a adsorção de uma espécie química seguida por sua posterior dessorção. O gráfico de Nyquist resultante apresenta um semicírculo na região negativa do eixo $-Z''$ localizado no segundo quadrante, como ilustrado na Figura A12 (METROHM, [s.d.]).

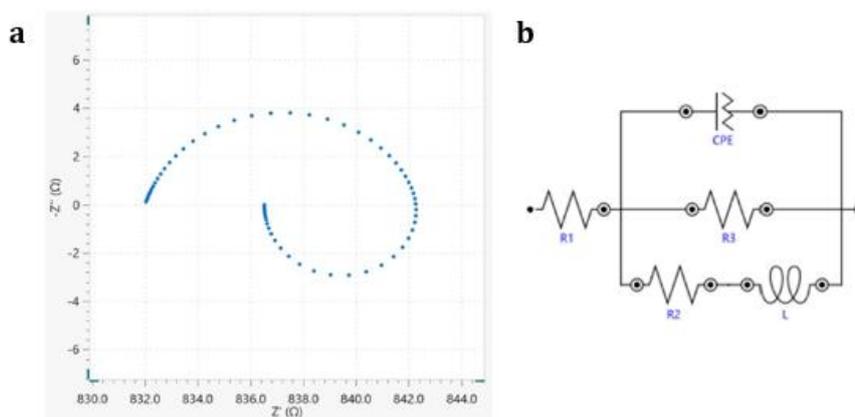


Figura A12. Um exemplo de gráfico de Nyquist, onde um efeito indutivo em baixas frequências está presente, representado por um semicírculo no segundo quadrante (a) e um exemplo de circuito equivalente do gráfico de Nyquist representado (b).

Fonte: Adaptado de Metrohm ([s.d.]).

Em algumas situações, reações químicas homogêneas podem ocorrer simultaneamente às reações redox eletroquímicas. Nesses casos, utiliza-se o elemento de Gerischer, que é aplicável apenas quando a reação química segue uma cinética de primeira ordem.

Como foi destacado, uma das principais vantagens da EIS é a possibilidade de simular os dados (espectro de impedância) a partir de um circuito elétrico equivalente, o que possibilita a obtenção de valores numéricos para os componentes presentes no circuito. Para isso, pode-se utilizar o *software* incluso nos analisadores de resposta em frequência, bem como programas especializados. A qualidade da modelagem dos dados com relação ao circuito equivalente é determinada pelo valor do qui-quadrado (χ^2). Contudo, é importante ressaltar que não há um modelo único de circuito para cada espectro de impedância. A simulação de um espectro de impedância pode ser realizada com diferentes circuitos, pois alguns deles possuem uma representação matemática idêntica. Um exemplo disso é mostrado na Figura A13. A escolha do circuito mais

adequado depende de um conhecimento detalhado do sistema eletroquímico (LAZANAS e PRODROMIDIS, 2023).

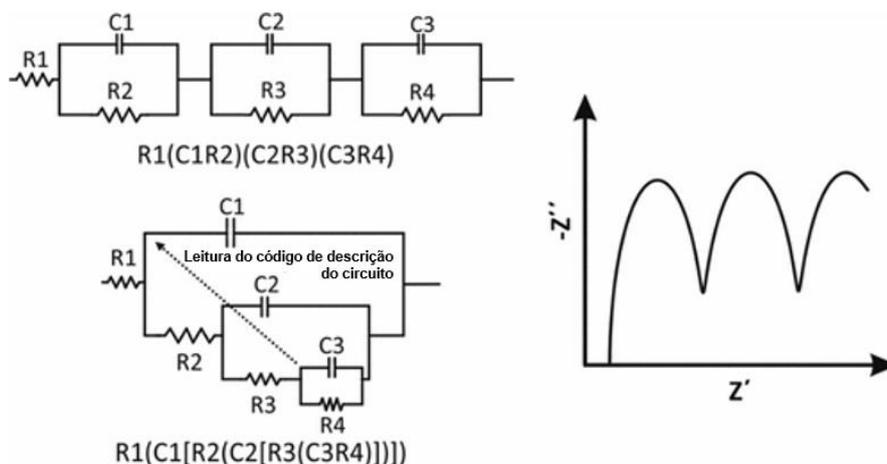


Figura A13. Exemplos de diferentes circuitos elétricos que geram espectros de impedância idênticos.

Fonte: Adaptado de Lazanas e Prodromidis (2023).

Alguns *designs* comuns de eletrodos com seus respectivos gráficos de Nyquist e modelos de circuitos equivalentes são apresentados na Figura A14, usando Fe^{2+} e Fe^{3+} como sonda redox (RANDVIIR e BANKS, 2022). Os circuitos das Figuras A14.A e A14.D foram empregados neste trabalho na caracterização eletroquímica do filamento e dos eletrodos tratados e não tratados, substituindo o capacitor por um elemento de fase constante.

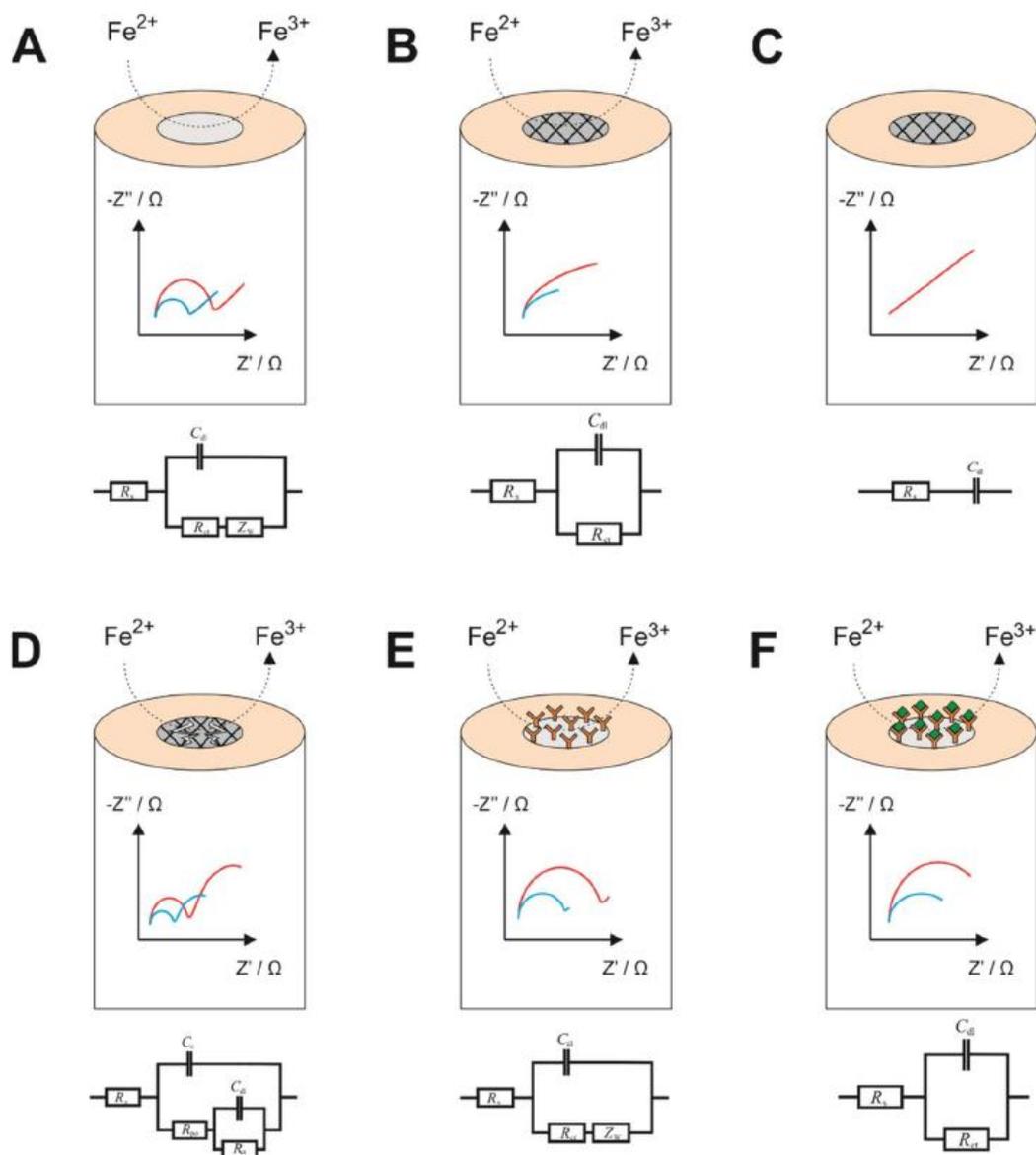


Figura A14. Uma descrição gráfica não exaustiva das superfícies de eletrodos com gráficos de Nyquist complementares de um experimento EIS e um modelo de circuito equivalente que pode corresponder ao perfil de EIS observado experimentalmente. (A) Um eletrodo não modificado na presença de um par redox; (B) um eletrodo revestido com uma camada isolante na presença de um par redox; (C) um eletrodo com uma camada isolante sem a presença de um par redox; (D) um revestimento falhado na presença de um par redox; (E) um eletrodo modificado com um anticorpo na presença de um par redox; (F) um eletrodo modificado com um anticorpo ligado ao seu antígeno complementar na presença de uma sonda redox. As linhas azuis indicam o mesmo experimento com uma concentração mais alta de sonda redox, já que a impedância é inversamente proporcional à concentração da espécie em solução.

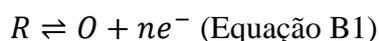
Fonte: Randviir e Banks (2022).

Em experimentos de EIS, é importante utilizar concentrações equimolares do par redox (forma oxidada e reduzida) para garantir que o equilíbrio entre os dois estados esteja estabelecido antes de começar a medição. Isso ocorre porque, ao contrário de métodos voltamétricos, onde o equilíbrio é forçado por variação de potencial, na EIS o equilíbrio já deve estar presente na célula no início do experimento. Esse equilíbrio pode ser alcançado de duas formas: ou misturando as concentrações equimolares de espécies oxidadas e reduzidas desde o início, ou aplicando um potencial DC sobre a perturbação AC para alcançar concentrações iguais de produtos e reagentes, por exemplo, aplicando o potencial de meia onda ($E_{1/2}$) (RANDVIIR e BANKS, 2022).

APÊNDICE B

Reversibilidade química e eletroquímica

Para a redução de uma forma oxidada (O) de uma espécie em solução, a transferência de elétrons pode ser expressa pela reação da Equação A2 ($O + ne^- \rightleftharpoons R$). A seta dupla, comum em expressões de equilíbrio, indica que a forma oxidada pode ser regenerada a partir da forma reduzida, significando que o produto gerado é estável dentro do intervalo de tempo do experimento voltamétrico (LIBRETEXTS, [s.d.]c). Assim, a reação de redução correspondente é descrita pela seguinte equação:

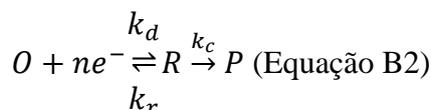


onde n é o número estequiométrico de elétrons envolvidos no processo, R representa a forma reduzida da espécie em solução, e O é a forma oxidada.

Este caso representa a condição de reversibilidade química do par redox O/R . Contudo, outro tipo de reversibilidade é observado na voltametria: a reversibilidade eletroquímica. Ela está relacionada à taxa com que a transferência de elétrons ocorre entre o eletrodo de trabalho e as espécies redox da solução. Quando a transferência ocorre rapidamente, sem barreiras termodinâmicas significativas, é considerada reversível ou eletroquimicamente reversível. Já transferências de elétrons que apresentam obstáculos, impedindo uma rápida ocorrência, são classificadas como irreversíveis ou eletroquimicamente irreversíveis. Taxas intermediárias de transferência definem o regime quase-reversível (LIBRETEXTS, [s.d.]c).

B.1 Reversibilidade química

A transferência de elétrons, por definição, é um processo heterogêneo que ocorre entre o eletrodo de trabalho (sólido) e uma espécie em solução próxima à sua superfície. Para avaliar a reversibilidade química, é preciso saber se a espécie gerada eletroquimicamente (reação redox) é estável frente a reações químicas (homogêneas) subsequentes à transferência de elétrons. Essas reações podem ser representadas pela Equação B2 (LIBRETEXTS, [s.d.]c):



onde P é um produto que não pode ser reconvertido em O por transferência direta de elétrons. A constante de velocidade da reação química (k_c) determina a extensão da conversão de R em P . Se k_c for grande, o par redox será quimicamente irreversível na escala de tempo do experimento. Se k_c for baixa (ou nula), o sistema será quimicamente reversível. Para valores intermediários de k_c , o sistema apresenta reversibilidade química limitada. É importante ressaltar que o termo "quase-reversível" não é aplicado nesse contexto, sendo reservado para descrever reversibilidade eletroquímica (LIBRETEXTS, [s.d.]c).

Além disso, a observação da reversibilidade química depende da velocidade com que o experimento é realizado. Em medições realizadas em uma escala de tempo lenta, um sistema pode parecer quimicamente irreversível, enquanto medições rápidas podem revelar a reversibilidade química do sistema (LIBRETEXTS, [s.d.]c).

Para o mecanismo eletroquímico de primeira ordem $O + ne^- \rightleftharpoons R \rightarrow P$, a taxa instantânea da reação $R \rightarrow O$ no tempo t , expressa em mol s^{-1} , é determinada pela reação eletroquímica reversa (ATTIA, [s.d.]):

$$r_r = Ak_r C_R(x = 0, t) \text{ (Equação B317)}$$

Nessa equação, A corresponde à área do eletrodo, e $x = 0$ refere-se à superfície do eletrodo, local onde ocorre a transferência de carga.

A taxa instantânea da reação $R \rightarrow P$, no tempo t , também em mol s^{-1} , é descrita pela reação química de primeira ordem abaixo (ATTIA, [s.d.]):

$$r_c = V k_r C_R(t) \text{ (Equação B4)}$$

em que V representa o volume total da solução, uma vez que R pode reagir para formar P em toda a extensão do volume da solução, e não apenas na superfície do eletrodo.

A reação é considerada quimicamente irreversível se (ATTIA, [s.d.]):

$$\int_{t=0}^{t=t_{final}} r_c(t) dt \gg \int_{t=0}^{t=t_{final}} r_r(t) dt \text{ (Equação B5)}$$

Isso significa que a conversão de R em P ao longo do experimento é significativamente maior do que sua conversão em O . Os fatores A e V nas expressões de r_r e r_c destacam como a geometria da célula pode influenciar o grau de irreversibilidade química (ATTIA, [s.d.]c).

No caso de um mecanismo eletroquímico envolvendo uma reação química de primeira ordem, o grau de irreversibilidade química é determinado pela extensão da

reação. Essa extensão depende da constante de velocidade da reação química, k_c , e da escala de tempo do experimento, t (ATTIA, [s.d.]). Bard e Faulkner (2001) definem t_k como a escala de tempo característica do experimento. Para um experimento de voltametria cíclica que vai de um potencial inicial V_i até um potencial final V_f e retorna a V_i , com uma taxa de varredura v , t_k é dado pela Equação B6. Assim, o parâmetro cinético adimensional que governa o grau de irreversibilidade química é expresso por $k_c t_k$ (BARD e FAULKNER, 2001).

$$t_k = 2(V_i - V_f)/v \text{ (Equação B6)}$$

De forma intuitiva, tanto uma alta constante de reação química (k_c) quanto uma duração experimental maior aumentam a irreversibilidade química, mostrado na Figura B1 (ATTIA, [s.d.]).

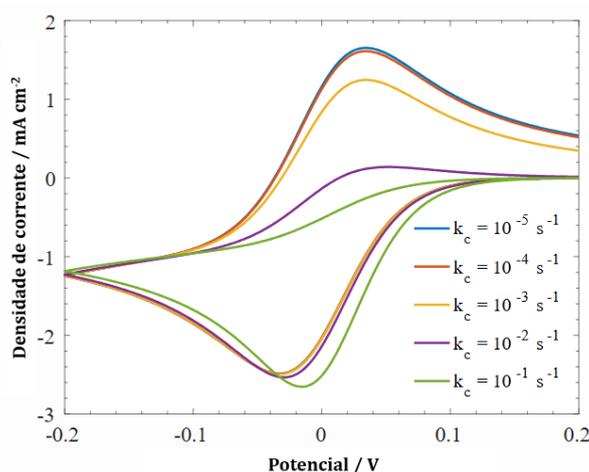


Figura B1. Efeito do aumento da constante de velocidade da reação química, k_c , em um sistema.

Fonte: Adaptado de Attia ([s.d.]).

B.2 Reversibilidade eletroquímica

A transferência de elétrons entre as espécies em solução e os eletrodos sólidos é inerentemente heterogênea, com as constantes de taxa de reação dependendo do potencial aplicado ao eletrodo. O aumento do potencial acelera a reação, e a taxa de transferência de elétrons também depende da concentração da espécie redox na superfície do eletrodo. Considerando um sistema quimicamente reversível apresentado ($O + ne^- \rightleftharpoons R$), mas com foco nas constantes de taxa para as reações direta (k_d) e reversa (k_r), no equilíbrio, as constantes se igualam quando o potencial aplicado corresponde ao potencial padrão (E^0). Nessas condições, a constante de velocidade heterogênea padrão (k_s , também

chamada de k^0 , como neste trabalho), é utilizada, sendo expressa em cm s^{-1} (LIBRETEXTS, [s.d.]c).

Valores elevados de k^0 indicam que o equilíbrio entre O e R é rapidamente alcançado após a aplicação de um potencial. Já valores baixos de k^0 refletem cinética lenta, exigindo mais tempo para o equilíbrio. A magnitude de k^0 é influenciada por diversos fatores, incluindo o tipo e a complexidade das moléculas envolvidas na transferência de elétrons, além dos rearranjos moleculares que podem ocorrer após esse processo. As faixas de k^0 usualmente usadas para caracterizar a reversibilidade eletroquímica são (LIBRETEXTS, [s.d.]c; ATTIA, [s.d.]):

- Reversível: $k^0 > 0,020 \text{ cm s}^{-1}$
- Quase-reversível: $0,020 > k^0 > 5 \cdot 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$
- Irreversível: $k^0 < 5 \cdot 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$

No entanto, a magnitude de k^0 define, na verdade, a facilidade eletroquímica, que mede a facilidade cinética de um par redox. A reversibilidade eletroquímica é definida pela razão entre a transferência de carga (k^0) e a transferência de massa, dada por $(Df\nu)^{0,5}$, sendo $f = nF/(RT)$. A transferência de massa, por sua vez, depende da velocidade de varredura. Dessa forma, k^0 não é suficiente para definir a reversibilidade eletroquímica. Bard e Faulkner (2001) definem um parâmetro de reversibilidade eletroquímica (Λ), mostrado na Equação B7. Já a assimetria eletroquímica é determinada pela diferença de α em relação a 0,5 (ATTIA, [s.d.]; BARD e FAULKNER, 2001).

$$\Lambda = \frac{k^0}{(Df\nu)^{0,5}} \text{ (Equação B718)}$$

Bard e Faulkner (2001) fornecem os seguintes intervalos para Λ :

- Reversível: $\Lambda \geq 15$
- Quase-reversível: $15 \geq \Lambda \geq 10^{-2(1+\alpha)}$
- Irreversível: $\Lambda \leq 10^{-2(1+\alpha)}$

As constantes k_d e k_r mudam à medida que o potencial aplicado (E) se afasta do valor de E^0 segundo as equações cinéticas de Butler-Volmer (BARD e FAULKNER, 2001):

$$k_d = k_s \exp [-\alpha nF(E - E^0)/(RT)] \text{ (Equação B8)}$$

$$k_r = k_s \exp [(1 - \alpha)nF(E - E^0)/(RT)] \text{ (Equação B9)}$$

onde α é o coeficiente de transferência já apresentado, que reflete a simetria entre as barreiras de energia para as reações direta e reversa, com valores variando geralmente entre 0,3 e 0,7 na maioria dos sistemas eletroquímicos. As outras variáveis também já foram descritas previamente.

A energia acima e abaixo da energia termodinâmica (expressa por E^0) necessária para impulsionar a reação de transferência eletrônica a uma determinada taxa é chamada de sobrepotencial. O efeito de um pequeno k_s e do sobrepotencial associado é a extensão das curvas voltamétricas correspondentes observadas para um par redox. Esse efeito é ilustrado na Figura B2.

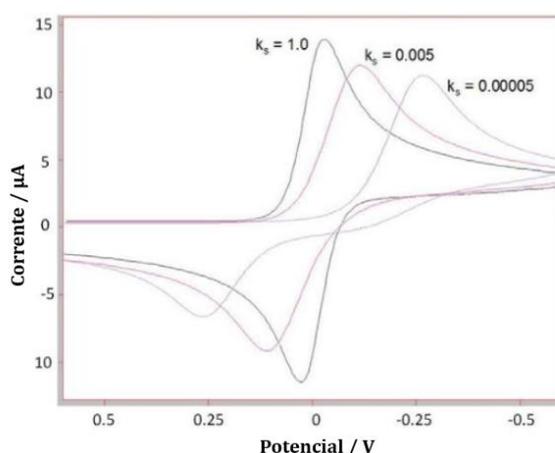


Figura B2. Efeito do valor de k^0 e do sobrepotencial na extensão das curvas voltamétricas para um par redox. Efeitos semelhantes na forma dos picos também são observados para valores decrescentes do coeficiente de transferência (α) na reação direta. As taxas de varredura para cada um dos três traços mostrados são as mesmas. A forma dos picos também pode ser afetada ao aumentar ou diminuir a velocidade de varredura.

Fonte: Adaptado de (LIBRETEXTS, [s.d.].c).

Uma equação fundamental para caracterizar sistemas redox no regime de reversibilidade é a equação de Nernst. Essa equação permite o cálculo das concentrações de equilíbrio relativas das duas espécies em um par redox, com base no potencial eletroquímico aplicado (E) e no potencial termodinâmico (E^0) do par (LIBRETEXTS, [s.d.].c).

Para a reação geral de redução



a equação de Nernst tem a seguinte forma:

$$E = E^0 - \left(\frac{RT}{nF}\right) \log \left[\frac{A_R^b}{A_O^a}\right] \text{ (Equação B11)}$$

onde R é a constante dos gases ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T é a temperatura em kelvin (K), n é o número estequiométrico de elétrons envolvidos no processo, F é a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}), A_R e A_O representam as atividades das espécies reduzidas e oxidadas do par redox, respectivamente, que são elevadas aos coeficientes estequiométricos correspondentes. Se houver espécies adicionais envolvidas na reação, suas atividades e coeficientes estequiométricos serão incorporados no termo logarítmico da equação de Nernst (LIBRETEXTS, [s.d.]c).

Na prática, é conveniente substituir as atividades na equação de Nernst por concentrações molares. Como os valores de E^0 correspondem a potenciais padrão de semicélulas medidos em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio (SHE), com todas as espécies em unidade de atividade, eles não são adequados quando se utilizam valores de concentração. Em vez disso, é propício utilizar potenciais formais ($E^{0'}$), que são potenciais de semicélulas medidos em relação ao SHE quando a razão de concentração R/O é igual a 1 e outras condições de solução são especificadas. Substituindo $E^{0'}$ e os termos de concentração para R e O , a equação de Nernst a 25°C torna-se (LIBRETEXTS, 2025):

$$E = E^{0'} - (0,05916/n) \log \left[\frac{C_R}{C_O}\right] \text{ (Equação B12)}$$

Butler (1924) e Volmer (1930) desenvolveram um modelo amplamente utilizado para descrever o processo de transferência de carga em eletroquímica. Com a utilização das Equações B8 e B9, é possível encontrar a equação característica completa de corrente-potencial (Equação B13). Para uma redução simples envolvendo um elétron, na qual uma espécie O é convertida em sua forma reduzida R :

$$I = F A k^0 \left[C_O(0, t) e^{\left(\frac{-\alpha F(E-E^{0'})}{RT}\right)} - C_R(0, t) e^{\left(\frac{(1-\alpha)F(E-E^{0'})}{RT}\right)} \right] \text{ (Equação B13)}$$

onde $E^{0'}$ (ou E_f^0 na Figura 20) é o potencial formal do par redox O/R , k^0 é a constante de transferência heterogênea de elétrons em $E^{0'}$, $(E - E^{0'})$ é a sobretensão, ou seja, a diferença entre o potencial aplicado e o potencial formal, α é o coeficiente de transferência de carga, A é a área do eletrodo e $C_O(0, t)$ e $C_R(0, t)$ são as concentrações superficiais de O e R , respectivamente.

APÊNDICE C

Escolha das condições em que os experimentos foram realizados

C.1 Tratamento químico com ou sem banho ultrassônico

- Eletrodos testados (tratamento e ensaios feitos à temperatura ambiente: ~25 °C):

- Eletrodos sem tratamento;
- Eletrodos submersos em 30 mL de água ultrapura por 30 min com banho ultrassônico (aquecedor desligado, frequência 40 KHz);
- Eletrodos submersos em 30 mL de água ultrapura por 30 min sem banho ultrassônico;
- Eletrodos submersos em 30 mL de NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 min com banho ultrassônico (aquecedor desligado, frequência 40 KHz);
- Eletrodos submersos em 30 mL de NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 min sem banho ultrassônico;

- Lavagem por 30 s com água ultrapura;

- Secagem em estufa (70 °C por 1 h);

- Voltametria cíclica (40 mL de solução):

- Eletrodo de referência (RE): Ag|AgCl (KCl 1 mol L⁻¹);
- Eletrodo de trabalho (WE): eletrodo impresso em 3D;
- Contraeletrodo (CE): fio de platina;

- Ângulo de contato: 3 µL de água ultrapura (temperatura ambiente).

- Banho ultrassônico:

- Modelo: 7Lab SSBu;
- Capacidade: 3,8 L;
- Timer: 60 min;
- Aquecimento: 35 °C (aquecedor desligado);
- Controlador: Digital;
- Frequência de trabalho: 40 kHz.

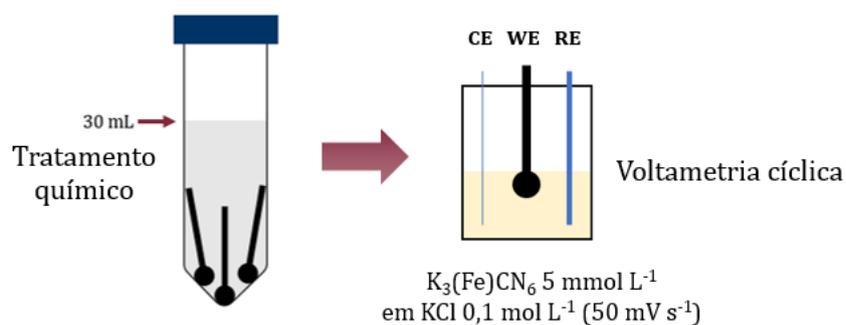


Figura C1. Condições em que os tratamentos e a voltametria cíclica foram realizados para a escolha do tratamento químico.

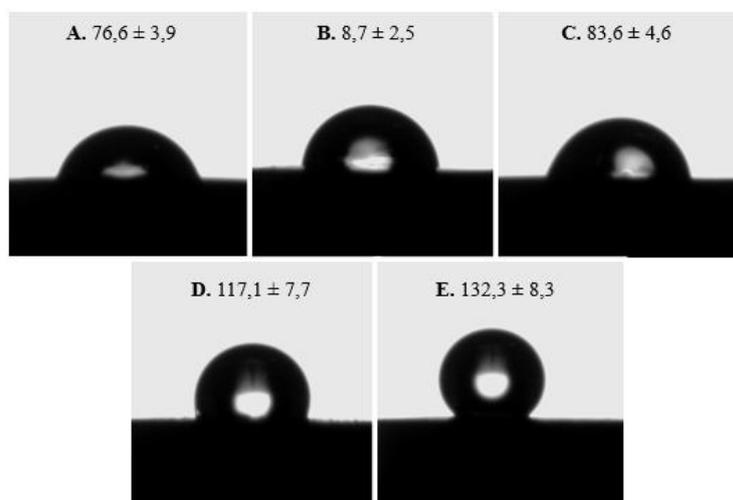


Figura C2. Ângulo de contato médio (triplicata): A. Sem tratamento, B. Água ultrapura com banho ultrassônico, C. Água ultrapura sem banho ultrassônico, D. NaOH 3 mol L⁻¹ com banho ultrassônico e E. NaOH 3 mol L⁻¹ sem banho ultrassônico.

Tabela C1. Dados obtidos com os voltamogramas cíclicos da Figura C3. Foi escolhida a realização dos tratamentos químicos sem banho ultrassônico (em negrito).

Tratamentos	I_{pa} (μA)	I_{pc} (μA)	E_{pa} (V)	E_{pc} (V)	I_{pa}/I_{pc}	ΔE_p (V)
1. Sem tratamento	81,34 ± 4,37	-172,617 ± 6,69	1,143 ± 0,034	-1,078 ± 0,023	0,47 ± 0,04	2,221 ± 0,053
2. Água ultrapura com banho ultrassônico	57,31 ± 18,96	-127,37 ± 41,37	1,157 ± 0,084	-1,010 ± 0,016	0,45 ± 0,08	2,167 ± 0,078
3. Água ultrapura sem banho ultrassônico	65,59 ± 4,21	-126,71 ± 16,51	1,132 ± 0,029	-0,992 ± 0,064	0,52 ± 0,04	2,124 ± 0,089
4. NaOH 3 mol L ⁻¹ com banho ultrassônico	27,68 ± 8,13	-148,23 ± 5,97	0,831 ± 0,007	-0,610 ± 0,009	0,19 ± 0,06	1,441 ± 0,004
5. NaOH 3 mol L⁻¹ sem banho ultrassônico	123,55 ± 62,08	-173,94 ± 48,64	0,742 ± 0,075	-0,458 ± 0,093	0,68 ± 0,15	1,200 ± 0,168

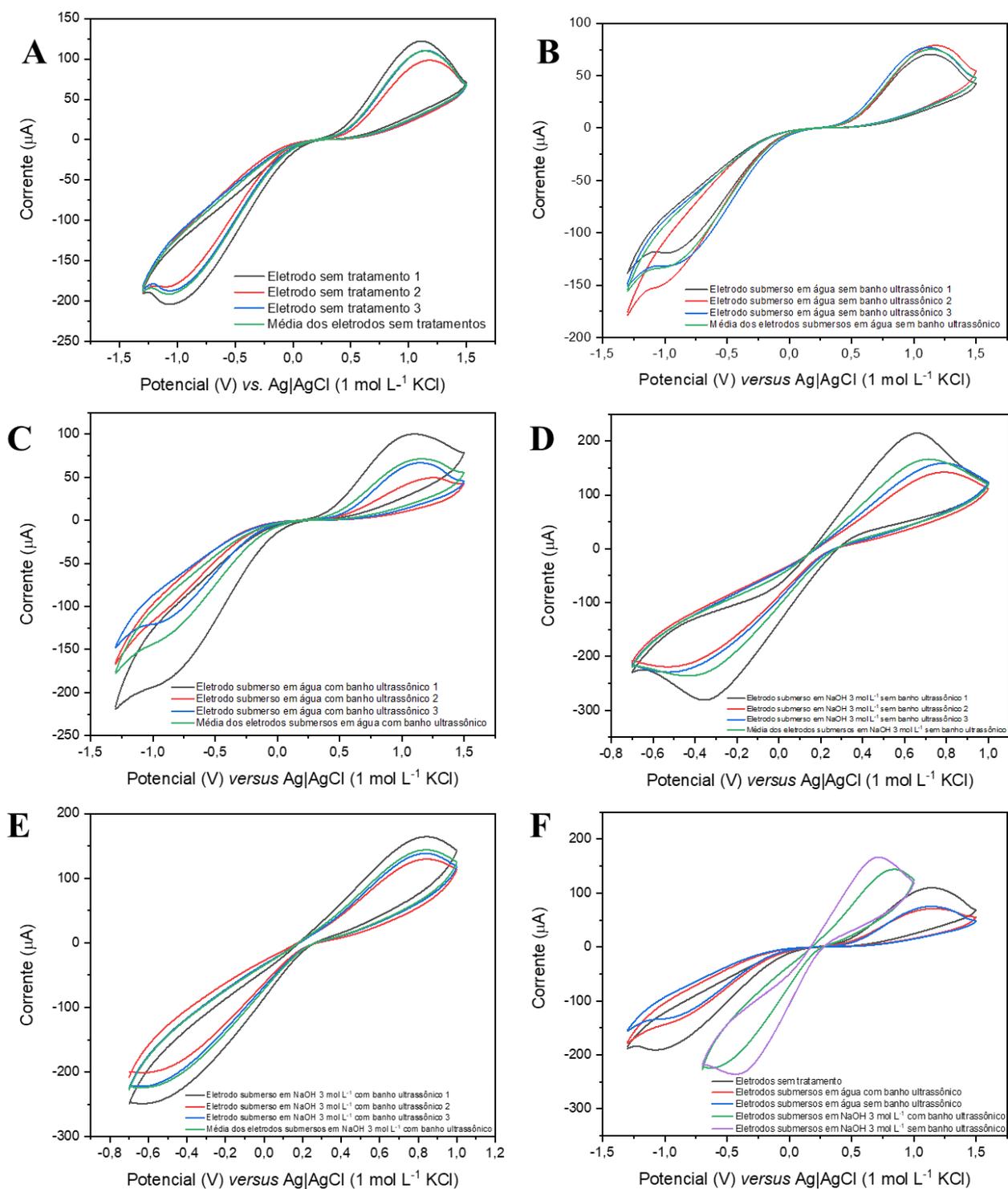


Figura C3. Voltamogramas cíclicos (triplicata) para a escolha da realização dos tratamentos químicos com ou sem banho ultrassônico em solução de 5 mmol L⁻¹ de K₃Fe(CN)₆ em 0,1 mol L⁻¹ de KCl (50 mV s⁻¹): (A) eletrodos sem tratamento, (B) eletrodos submersos em água ultrapura com banho ultrassônico, (C) eletrodos submersos em água ultrapura sem banho ultrassônico, (D) eletrodos submersos em NaOH 3 mol L⁻¹ com banho ultrassônico, (E) eletrodos submersos NaOH 3 mol L⁻¹ sem banho ultrassônico e (F) médias dos tratamentos plotadas juntas.

Conclusões:

Conclui-se que o banho ultrassônico contribui menos para o aumento do desempenho eletroquímico do eletrodo do que o tratamento sem banho (ensaios de CV em triplicata a 50 mV s^{-1}). Provavelmente, isso ocorre devido ao fato de que no tratamento sem ultrassom, as hidroxilas do NaOH possuem mais tempo e condições para difundir uniformemente pela superfície do eletrodo e interagir com o PLA. O ultrassom, por outro lado, promove a formação de microbolhas e sua implosão (cavitação), que cria turbulência local e correntes de alta energia. Embora isso possa aumentar a mistura em líquidos homogêneos, pode também perturbar a difusão das hidroxilas na interface CB/PLA, resultando em reações incompletas ou desiguais. Assim, o uso do banho ultrassônico pode ter limitado o tempo de interação necessário para que as hidroxilas atinjam e reajam com camadas mais profundas do PLA, dificultando o processo de saponificação do PLA pelo NaOH, que ocorre por hidrólise das ligações éster. Sem ultrassom, a reação pode ter ocorrido de forma mais uniforme e prolongada, permitindo uma remoção mais eficaz do PLA, expondo uma maior quantidade do material condutor.

C.2 Tratamento eletroquímico

- Tratamentos baseados:

- +1,4 V seguido de $-1,0 \text{ V}$, ambos por 200 s, em NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (RICHTER *et al.*, 2019);
- +1,8 V por 15 min seguido de CV (50 mV s^{-1}) de 0,0 a $-1,8 \text{ V}$ (1 ciclo) PBS 10x (pH 7,4) (KALINKE *et al.*, 2020).

- Tratamentos eletroquímicos testados (tratamentos e ensaios feitos à ambiente: $\sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$):

- +1,8 V por 15 min seguido de VC de 0,0 a $-1,8 \text{ V}$ (1 ciclo, 50 mV s^{-1}) em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$;
- +1,4 V seguido de $-1,0 \text{ V}$ (cronoamperometria), ambos por 200 s, em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$;
- +2,5 V por 10 min seguido de CV de 0,0 a $-2,5 \text{ V}$ (1 ciclo, 50 mV s^{-1}) em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$;
- +2,5 V seguido de $-2,5 \text{ V}$ (cronoamperometria), ambos por 5 min, em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$;
- CV de $-2,5 \text{ V}$ a $+2,5 \text{ V}$ (5 ciclos, 100 mV s^{-1}) em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$;

- CV de +2,5 V a -2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹) em NaOH 0,1 mol L⁻¹.
- Lavagem por 30 s com água ultrapura;
- Secagem em estufa (70 °C por 1 h);
- Voltametria cíclica (40 mL de solução):
 - Eletrodo de referência (RE): Ag|AgCl (KCl 3 mol L⁻¹);
 - Eletrodo de trabalho (WE): eletrodo impresso em 3D;
 - Contraeletrodo (CE): fio de platina.

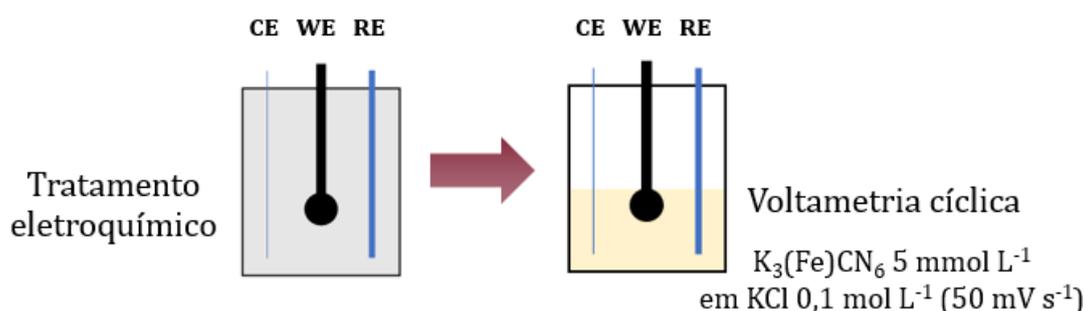
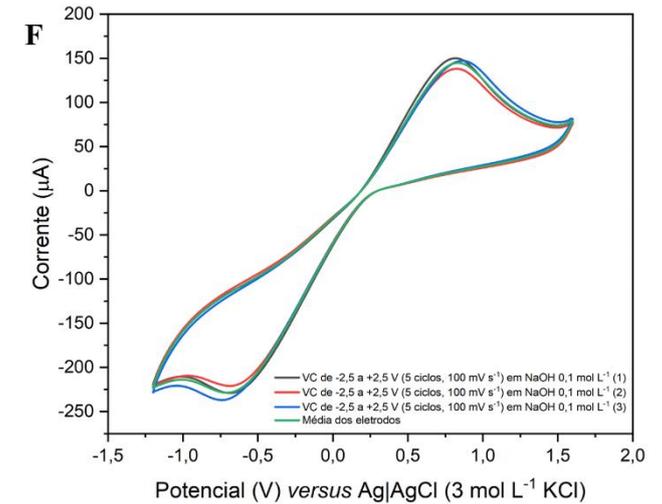
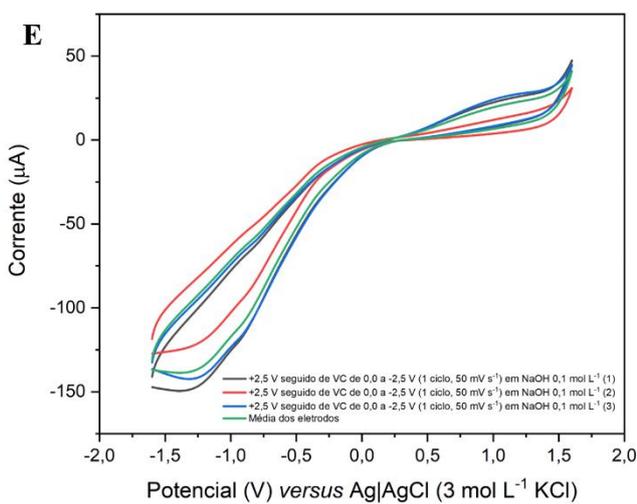
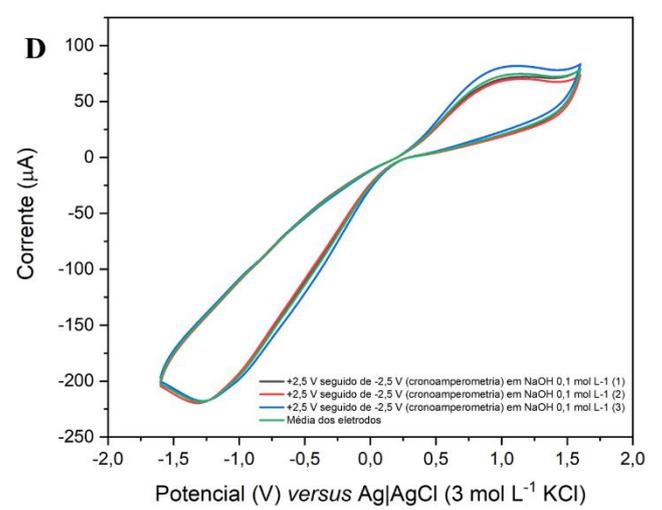
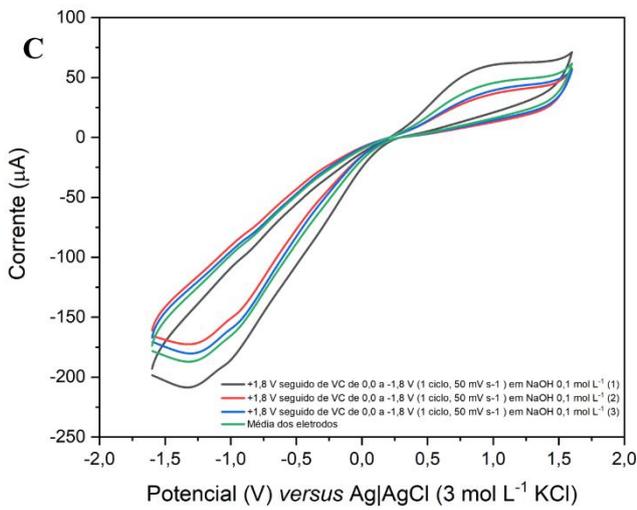
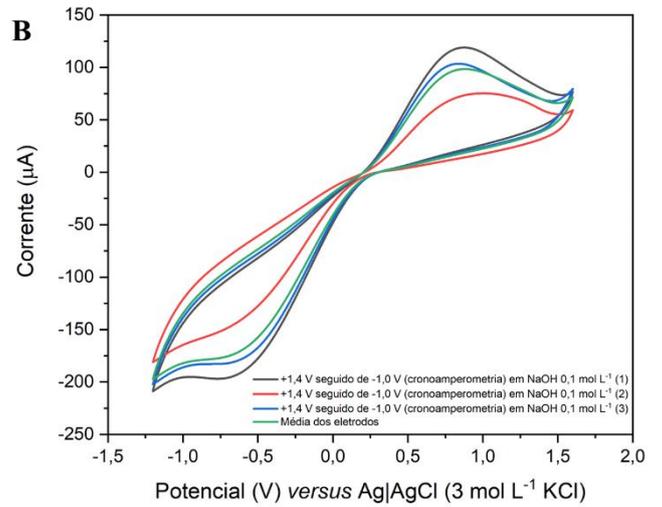
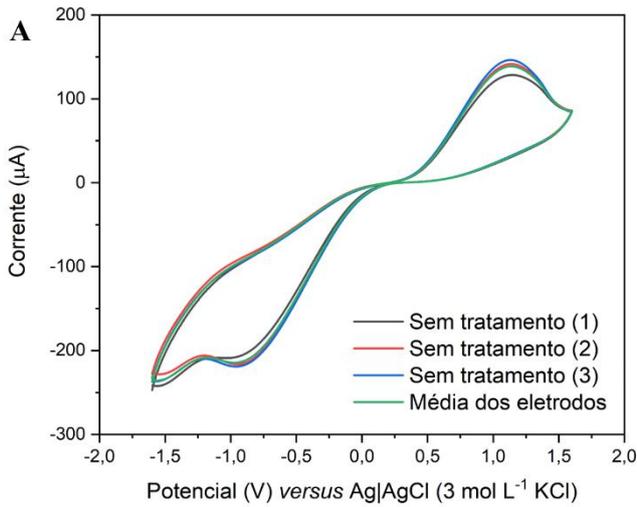


Figura C4. Condições em que os tratamentos e a voltametria cíclica foram realizados para a escolha do tratamento eletroquímico.

Tabela C2. Dados obtidos com os voltamogramas cíclicos da Figura C5. Foi escolhido o tratamento eletroquímico por CV de +2,5 V a -2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹).

Tratamentos	I_{pa} (μ A)	I_{pc} (μ A)	E_{pa} (V)	E_{pc} (V)	I_{pa}/I_{pc}	ΔE_p (V)
Sem tratamento	115,68 \pm 7,23	-207,20 \pm 5,16	1,123 \pm 0,019	-0,972 \pm 0,038	0,56 \pm 0,02	2,095 \pm 0,056
+1,4 V seguido de -1,0 V, ambos por 200 s, em NaOH 0,1 mol L ⁻¹	29,17 \pm 14,85	-148,51 \pm 21,64	0,901 \pm 0,092	-0,745 \pm 0,020	0,19 \pm 0,08	1,646 \pm 0,104
+1,8 V por 15 min seguido de VC de 0,0 a -1,8 V (1 ciclo, 50 mV s ⁻¹) em NaOH 0,1 mol L ⁻¹	7,82 \pm 1,80	-159,40 \pm 8,79	1,019 \pm 0,067	-1,313 \pm 0,015	0,05 \pm 0,01	2,332 \pm 0,064
+2,5 V por 10 min seguido de CV de 0,0 a -2,5 V (1 ciclo, 50 mV s ⁻¹) em NaOH 0,1 mol L ⁻¹	3,91 \pm 1,49	-128,06 \pm 13,21	1,188 \pm 0,079	-1,379 \pm 0,061	0,03 \pm 0,01	2,567 \pm 0,021
+2,5 V seguido de -2,5 V, ambos por 5 min, em NaOH 0,1 mol L ⁻¹	24,56 \pm 7,06	-177,61 \pm 7,62	1,130 \pm 0,031	-1,285 \pm 0,020	0,14 \pm 0,05	2,415 \pm 0,028
CV de -2,5 V a +2,5 V (5 ciclos, 100 mV s ⁻¹) em NaOH 0,1 mol L ⁻¹	112,93 \pm 2,31	-158,78 \pm 58,45	0,776 \pm 0,016	-0,638 \pm 0,067	0,80 \pm 0,36	1,414 \pm 0,080
CV de +2,5 V a -2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹) em NaOH 0,1 mol L⁻¹	120,09 \pm 22,71	-193,275 \pm 9,23	0,747 \pm 0,035	-0,663 \pm 0,008	0,62 \pm 0,10	1,410 \pm 0,037



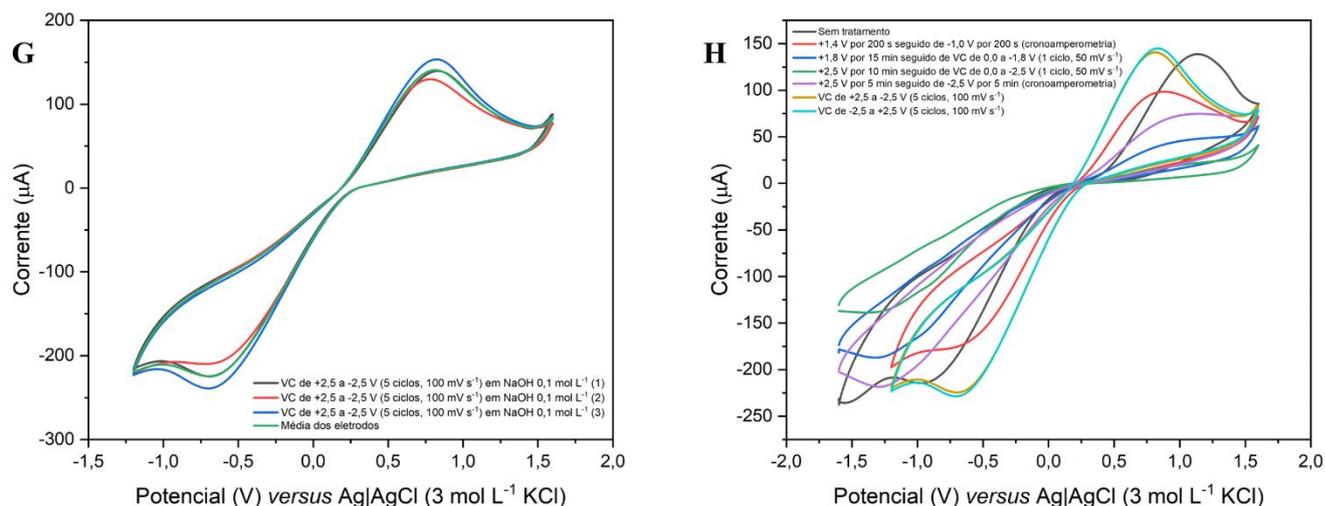


Figura C5. Voltamogramas cíclicos (triplicata) para a escolha do tratamento eletroquímico em solução de 5 mmol L⁻¹ de K₃Fe(CN)₆ em 0,1 mol L⁻¹ de KCl (50 mV s⁻¹): (A) eletrodos sem tratamento, (B) +1,4 V seguido de -1,0 V (cronoamperometria), ambos por 200 s, em NaOH 0,1 mol L⁻¹, (C) +1,8 V por 15 min seguido de VC de 0,0 a -1,8 V (1 ciclo, 50 mV s⁻¹) em NaOH 0,1 mol L⁻¹, (D) +2,5 V seguido de -2,5 V (cronoamperometria), ambos por 5 min, em NaOH 0,1 mol L⁻¹, (E) +2,5 V por 10 min seguido de VC de 0,0 a -2,5 V (1 ciclo, 50 mV s⁻¹) em NaOH 0,1 mol L⁻¹, (F) VC de -2,5 a +2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹) em NaOH 0,1 mol L⁻¹ e (G) VC de +2,5 a -2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹) em NaOH 0,1 mol L⁻¹ e (H) médias dos tratamentos plotadas juntas.

Conclusões:

Com base nessa triagem inicial, verificou-se que os tratamentos por voltametria cíclica (CV) de -2,5 V a +2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹) em NaOH 0,1 mol L⁻¹ e de +2,5 V a -2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹) em NaOH 0,1 mol L⁻¹, propostos neste trabalho, apresentaram os melhores resultados em termos de reversibilidade eletroquímica utilizando Fe(CN)₆^{3-/4-} como par redox (cálculos realizados pelos parâmetros obtidos pela execução de ensaios de VC em triplicata em 50 mV s⁻¹ apenas), sem grandes diferenças entre os eletrodos submetidos a eles. O aumento do potencial aplicado sobre o eletrodo e a aplicação de varreduras consecutivas parecem contribuir positivamente para o aumento do desempenho eletroquímico do eletrodo. O tratamento por CV de +2,5 V a -2,5 V (5 ciclos, 100 mV s⁻¹) foi, então, selecionado. Considerando a imobilização de biorreceptores na superfície do eletrodo em trabalhos futuros, o término da voltametria cíclica no potencial positivo poderia resultar na oxidação de espécies na superfície do eletrodo (BROWNE *et al.*, 2018), o que poderia, em última instância, facilitar a ancoragem dessas moléculas por ligações covalentes.

C.3 Escolha da solução contendo o par redox

- Tratamento químico: eletrodos submersos em 30 mL de NaOH 3 mol L⁻¹ por 30 min (sem banho ultrassônico) à temperatura ambiente (~25 °C);
- Lavagem em água ultrapura por 30 s;
- Secagem em estufa (70 °C por 1 h);
- Voltametria cíclica (40 mL de solução):
 - K₃Fe(CN)₆ 5 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ (50 mV s⁻¹);
 - K₄Fe(CN)₆ 5 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ (50 mV s⁻¹);
 - K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ 5:5 mmol L⁻¹ (equimolar) em KCl 0,1 mol L⁻¹ (50 mV s⁻¹);
 - K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ 1:1 mmol L⁻¹ (equimolar) em KCl 0,1 mol L⁻¹ (50 mV s⁻¹).
 - Eletrodo de referência (ER): Ag|AgCl (KCl 3 mol L⁻¹);
 - Eletrodo de trabalho (ET): eletrodo impresso em 3D tratado;
 - Contraeletrodo (CE): fio de platina.

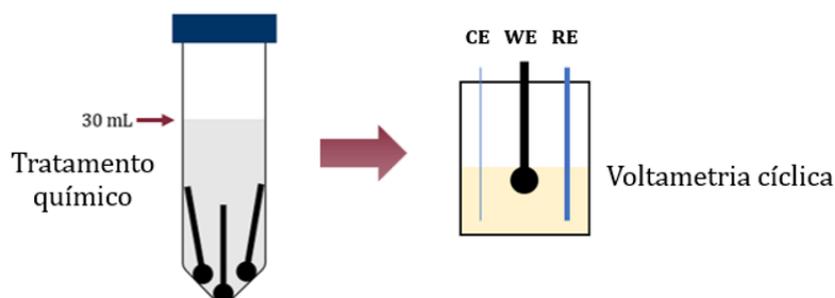


Figura C6. Condições em que os tratamentos e a voltametria cíclica foram realizados para a escolha da solução contendo o par redox.

Tabela C3. Parâmetros obtidos com os voltamogramas cíclicos da Figura C7. Foi escolhido a solução K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ 1:1 mmol L⁻¹ (equimolar) em KCl 0,1 mol L⁻¹.

Soluções	I_{pa}	I_{pc}	E_{pa}	E_{pc}	I_{pa}/I_{pc}	ΔE (V)
Ferricianeto 5 mmol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹	48,87 ± 9,25	-208,47 ± 24,90	0,802 ± 0,013	-0,530 ± 0,017	0,24 ± 0,07	1,332 ± 0,029
Ferrocianeto 5 mmol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹	180,41 ± 13,03	-67,65 ± 11,23	1,127 ± 0,069	-0,499 ± 0,046	2,70 ± 0,28	1,626 ± 0,115
Ferri/ferrocianeto 5 mmol L ⁻¹ (equimolar) em KCl 0,1 mol L ⁻¹	103,27 ± 18,77	-134,53 ± 10,45	1,046 ± 0,035	-0,629 ± 0,033	0,78 ± 0,20	1,676 ± 0,067
Ferri/ferrocianeto 1 mmol L⁻¹ (equimolar) em KCl 0,1 mol L⁻¹	45,21 ± 2,53	-50,13 ± 3,97	0,800 ± 0,034	-0,393 ± 0,035	0,90 ± 0,03	1,194 ± 0,069

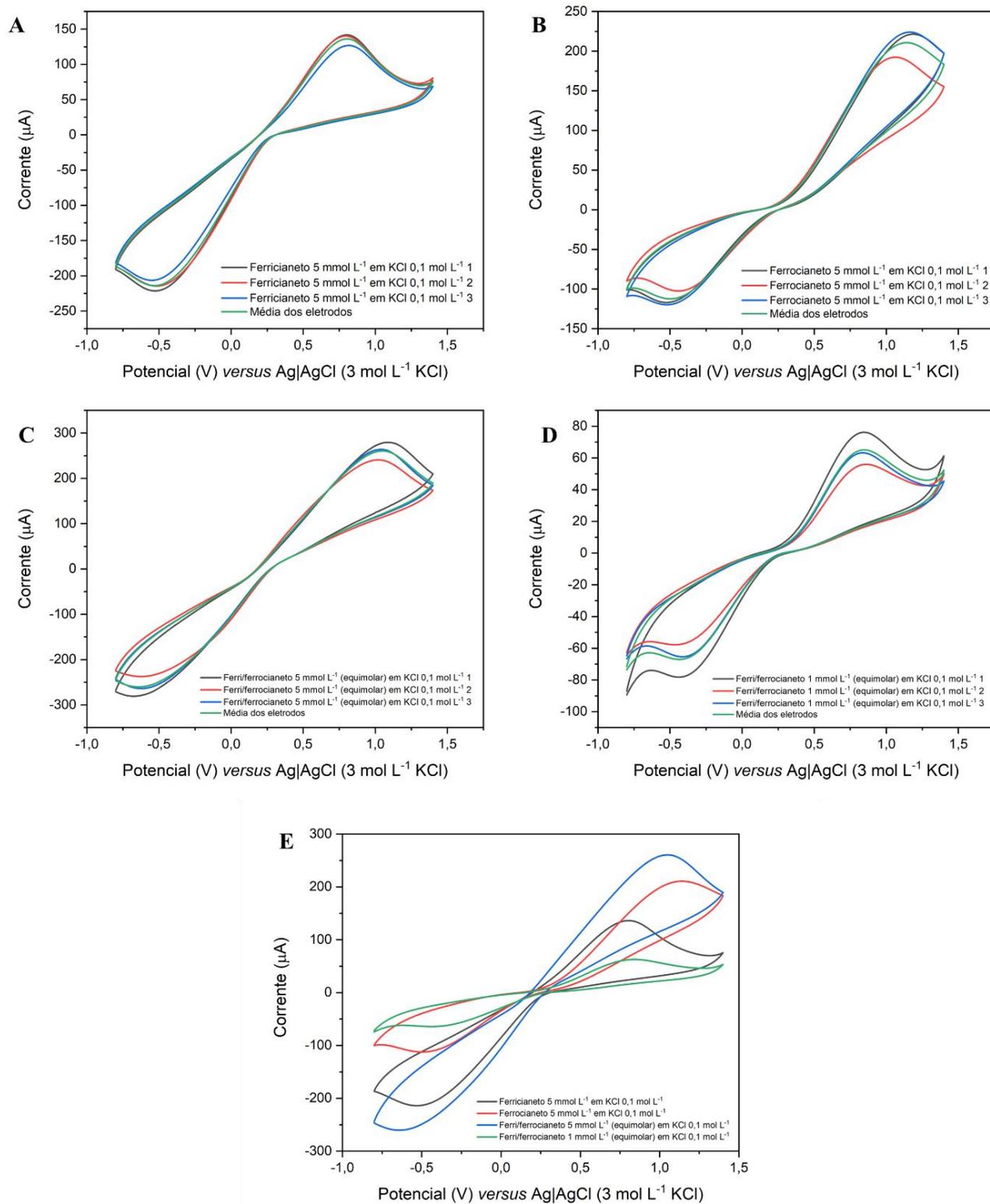


Figura C7. Voltamogramas cíclicos para a escolha da solução contendo o par redox (50 mV s^{-1}): (A) ferricianeto 5 mmol L^{-1} em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, (B) ferrocianeto 5 mmol L^{-1} em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, (C) ferri/ferrocianeto 5 mmol L^{-1} (equimolar) em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, (D) ferri/ferrocianeto 1 mmol L^{-1} em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e (E) médias dos tratamentos plotadas juntas.

Conclusões:

Os resultados obtidos com uma solução equimolar de 1:1 mmol L⁻¹ de K₃Fe(CN)₆/K₃Fe(CN)₆ em 0,1 mol L⁻¹ KCl apresentaram os melhores resultados em termos de reversibilidade eletroquímica. Considerando que a concentração do eletrólito de suporte deve ser significativamente maior do que a do par redox (Seção 2.3) e que é interessante que experimentos de EIS utilizem soluções equimolares para garantir que o equilíbrio entre os estados oxidado e reduzido (Apêndice A.3), sem a necessidade de aplicação de um potencial DC sobre a perturbação AC para alcançar concentrações iguais de produtos e reagentes, essa solução foi escolhida.

APÊNDICE D

Ajustes dos dados de EIS

Filamentos, eletrodos sem tratamentos e eletrodos tratados (com exceção do tratamento com DMF-EQ_{PBS}):

R1 – resistência da solução (R_s);

R2 – resistência à transferência de carga (R_{ct});

Q1 – elemento de fase constante (capacitância da dupla camada elétrica – C_{dl});

W1 – elemento de Warburg (W).

Eletrodos tratados com DMF-EQ_{PBS}:

R1 – resistência da solução (R_s);

R2 – resistência adicional, provavelmente devido aos poros criados pelas deformidades causadas pelo tratamento (R_{po});

Q1 – elemento de fase constante adicional, provavelmente devido à carga resultante da ocupação desses poros por espécies carregadas (C_c);

R3 – resistência à transferência de carga (R_{ct});

Q2 – elemento de fase constante (capacitância da dupla camada elétrica – C_{dl}).

Tabela D1. Dados de EIS ajustados aos circuitos da Figura 65 no *software PalmSens 5.10*.

Tratamentos	Valores ajustados			
	R(Q[RW]) 61 freqs			
	Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
Filamento	R 1 (Ω)	1791	1943	1761
	Q 1 (T)	8,33E-07	1,79E-06	1,59E-06
	n 1 (ϕ)	0,855	0,79	0,806
	R 2 (Ω)	3,74E+04	3,14E+04	1,72E+04
	W 1 (σ)	1,23E+03	9,38E+02	3,34E+02
	Qui- quadrado:	0,0002	0,0007	0,0003
	R(Q[RW]) 61 freqs			
Sem tratamento	Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3

	R 1 (Ω)	1888	1948	1816
	Q 1 (T)	1,14E-06	9,60E-07	1,26E-06
	n 1 (ϕ)	0,911	0,917	0,908
	R 2 (Ω)	1,68E+04	2,10E+04	1,62E+04
	W 1 (σ)	4,92E+02	3,52E+02	2,87E+02
	Qui- quadrado:	0,0001	9,44E-05	0,0001
R(Q[RW]) 61 freqs				
	Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
DMF	R 1 (Ω)	1476	1566	1531
	Q 1 (T)	4,46E-05	7,34E-05	3,36E-05
	n 1 (ϕ)	0,802	0,719	0,825
	R 2 (Ω)	724,7	897,3	813
	W 1 (σ)	2,23E+02	2,45E+02	2,76E+02
	Qui- quadrado:	7,21E-05	9,13E-05	6,90E-05
	R(Q[RW]) 61 freqs			
	Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
H ₂ SO ₄	R 1 (Ω)	1729	1652	1804
	Q 1 (T)	1,30E-06	1,49E-06	2,07E-06
	n 1 (ϕ)	0,899	0,897	0,892
	R 2 (Ω)	9282	7419	5222
	W 1 (σ)	5,40E+01	1,50E+02	1,79E+02
	Qui- quadrado:	0,0002	9,49E-05	0,0001
	R(Q[RW]) 61 freqs			
	Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
NaOH	R 1 (Ω)	1662	1598	1604
	Q 1 (T)	2,13E-04	1,09E-04	1,39E-04
	n 1 (ϕ)	0,702	0,829	0,783

	R 2 (Ω)	292,9	281,6	264,8
	W 1 (σ)	1,87E+02	2,05E+02	2,07E+02
	Qui- quadrado:	6,03E-05	5,51E-05	6,49E-05
R(Q[RW]) 61 freqs				
	Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
EQ _{NaOH}	R 1 (Ω)	1727	1808	1751
	Q 1 (T)	5,77E-06	5,58E-06	5,71E-06
	n 1 (ϕ)	0,889	0,892	0,894
	R 2 (Ω)	2142	2089	2218
	W 1 (σ)	1,69E+02	1,89E+02	1,63E+02
	Qui- quadrado:	6,98E-05	7,92E-05	7,61E-05
	R(Q[RW]) 61 freqs			
	Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
EQ _{PBS}	R 1 (Ω)	1753	1675	1683
	Q 1 (T)	3,23E-06	4,61E-06	4,05E-06
	n 1 (ϕ)	0,896	0,892	0,899
	R 2 (Ω)	5592	3746	4230
	W 1 (σ)	2,63E+02	2,26E+02	2,30E+02
	Qui- quadrado:	9,33E-05	6,46E-05	6,27E-05
	R(Q[RW]) 61 freqs			
	Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
DMF-EQ _{NaOH}	R 1 (Ω)	1753	1681	1622
	Q 1 (T)	3,92E-04	4,70E-04	4,43E-04
	n 1 (ϕ)	0,782	0,779	0,777
	R 2 (Ω)	1604	1271	1112
	W 1 (σ)	2,87E+02	2,49E+02	2,67E+02
	Qui- quadrado:	8,56E-05	7,96E-05	7,31E-05

R(Q[R(QR)]) 61 freqs				
	Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
DMF-EQ _{PBS}	R 1 (Ω)	1419	1340	1485
	Q 1 (T)	8,44E-04	9,85E-04	1,00E-03
	n 1 (ϕ)	0,449	0,509	0,487
	R 2 (Ω)	708,4	297,4	459
	Q 2 (T)	2,57E-04	6,07E-04	3,55E-04
	n 2 (ϕ)	1	1	1
	R 3 (Ω)	2915	2399	3266
	Qui- quadrado:	0,0001	4,58E-05	0,0001
R(Q[RW]) 61 freqs				
	Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
H ₂ SO ₄ -EQ _{NaOH}	R 1 (Ω)	1902	1914	1808
	Q 1 (T)	6,13E-06	6,02E-06	7,29E-03
	n 1 (ϕ)	0,873	0,867	0,846
	R 2 (Ω)	2169	2105	2141
	W 1 (σ)	1,44E+02	1,45E+02	211,4
	Qui- quadrado:	0,0001	0,0001	7,12E-5
	R(Q[RW]) 61 freqs			
	Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
H ₂ SO ₄ -EQ _{PBS}	R 1 (Ω)	1732	1630	1832
	Q 1 (T)	5,04E-06	3,46E-06	3,80E-06
	n 1 (ϕ)	0,868	0,903	0,902
	R 2 (Ω)	3175	3784	3600
	W 1 (σ)	3,20E+02	2,43E+02	1,98E+02
	Qui- quadrado:	8,88E-05	7,41E-05	2,79E-5
R(Q[RW]) 61 freqs				
NaOH-EQ _{NaOH}				

Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
R 1 (Ω)	1641	1660	1738
Q 1 (T)	2,28E-04	3,12E-04	5,67E-04
n 1 (ϕ)	0,685	0,646	0,612
R 2 (Ω)	280,5	267,9	183,8
W 1 (σ)	2,50E+02	2,27E+02	2,12E+02
Qui- quadrado:	5,93E-05	5,92E-05	6,32E-05

R(Q[RW]) 61 freqs			
Elemento	Eletrodo 1	Eletrodo 2	Eletrodo 3
R 1 (Ω)	1689	1705	1798
Q 1 (T)	7,22E-05	5,13E-05	8,13E-05
n 1 (ϕ)	0,812	0,814	0,742
R 2 (Ω)	352,2	478	400,9
W 1 (σ)	2,27E+02	2,31E+02	2,14E+02
Qui- quadrado:	5,65E-05	8,03E-05	6,51E-05

NaOH-EQ_{PBS}

APÊNDICE E

Análise de variância para as variáveis I_{pa} (75 mV s^{-1}), I_{pa}/I_{pc} (75 mV s^{-1}), ΔE_p (75 mV s^{-1}), A_e , k^0 , R_{ct} , R e ângulo de contato obtidas a partir da caracterização eletroquímica dos eletrodos submetidos aos diversos pós-tratamentos de superfície

Tabela E1. Tabela de análise de variância para I_{pa} (75 mV s^{-1}), obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para I_{pa} Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	390235,1	1	390235,1	8404,187	0,000000
Variável (Eletrodos)	22202,2	11	2018,4	43,468	0,000000
Erro	1114,4	24	46,4		

Tabela E2. Tabela de análise de variância para I_{pa}/I_{pc} (75 mV s^{-1}), obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para I_{pa}/I_{pc} Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	39,52333	1	39,52333	20501,16	0,000000
Variável (Eletrodos)	0,14902	11	0,01355	7,03	0,000035
Erro	0,04627	24	0,00193		

Tabela E3. Tabela de análise de variância para ΔE_p (75 mV s^{-1}), obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para ΔE_p Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	38,70146	1	38,70146	27901,26	0,00
Variável (Eletrodos)	1,72420	11	0,15675	113,00	0,00
Erro	0,03329	24	0,00139		

Tabela E4. Tabela de análise de variância para A_e , obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para A_e Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	8,778263	1	8,778263	7375,694	0,000000
Variável (Eletrodos)	0,338865	11	0,030806	25,884	0,000000
Erro	0,028564	24	0,001190		

Tabela E5. Tabela de análise de variância para k^0 , obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para k^0 Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	0,000063	1	0,000063	13144,86	0,000000
Variável (Eletrodos)	0,000002	11	0,000000	42,43	0,000000
Erro	0,000000	24	0,000000		

Tabela E6. Tabela de análise de variância para R_{ct} , obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para R_{ct} Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	475302495	1	475302495	463,7502	0,000000
Variável (Eletrodos)	818987139	11	74453376	72,6438	0,000000
Erro	24597852	24	1024910		

Tabela E7. Tabela de análise de variância para R , obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para Resistência Elétrica Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	142,9619	1	142,9619	4001,421	0,000000
Variável (Eletrodos)	2,8059	11	0,2551	7,139	0,000031
Erro	0,8575	24	0,0357		

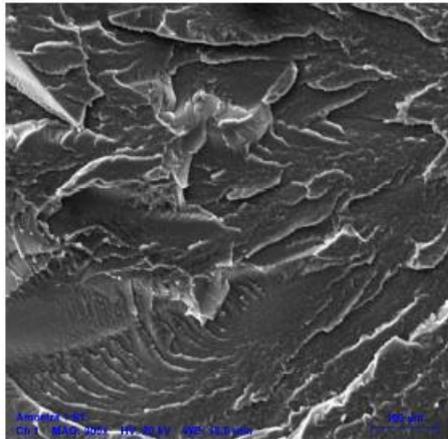
Tabela E8. Tabela de análise de variância para os ângulos de contato, obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para Ângulo de Contato Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	340939,2	1	340939,2	18516,45	0,000000
Variável (Eletrodos)	14829,6	11	1348,1	73,22	0,000000
Erro	441,9	24	18,4		

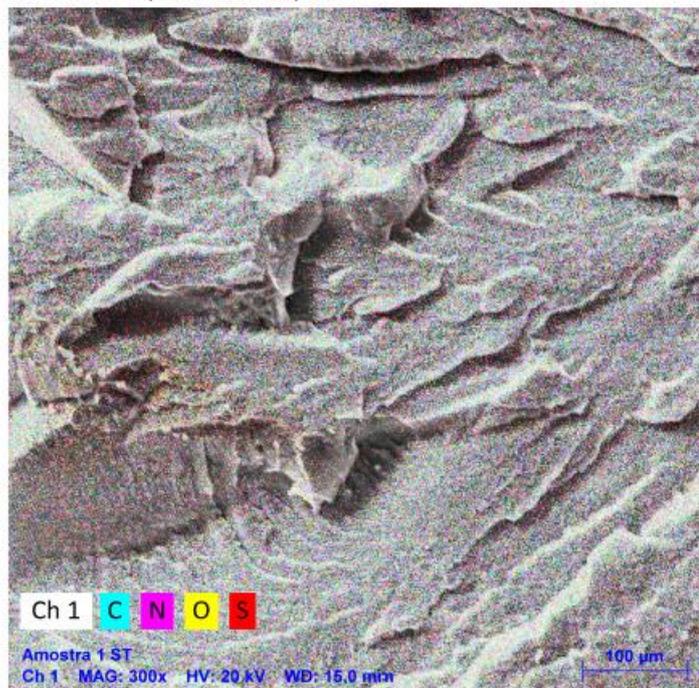
APÊNDICE F

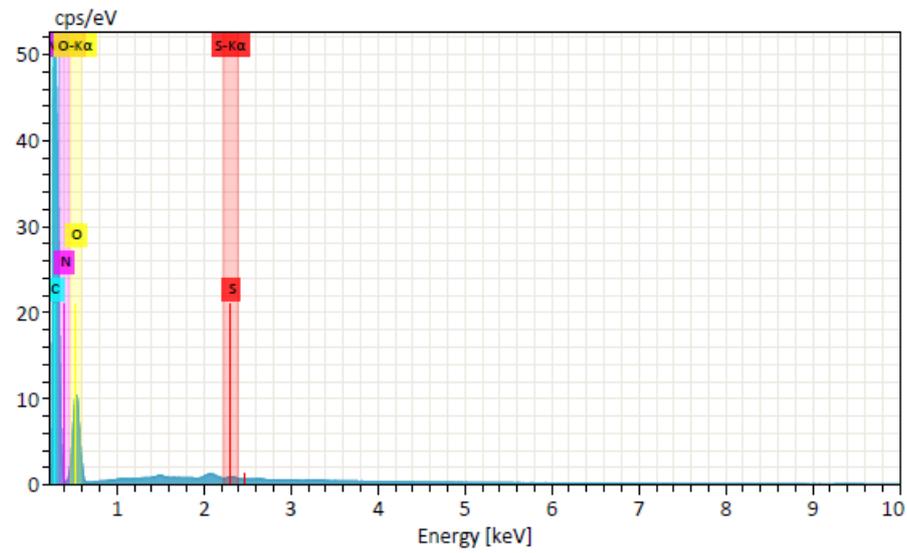
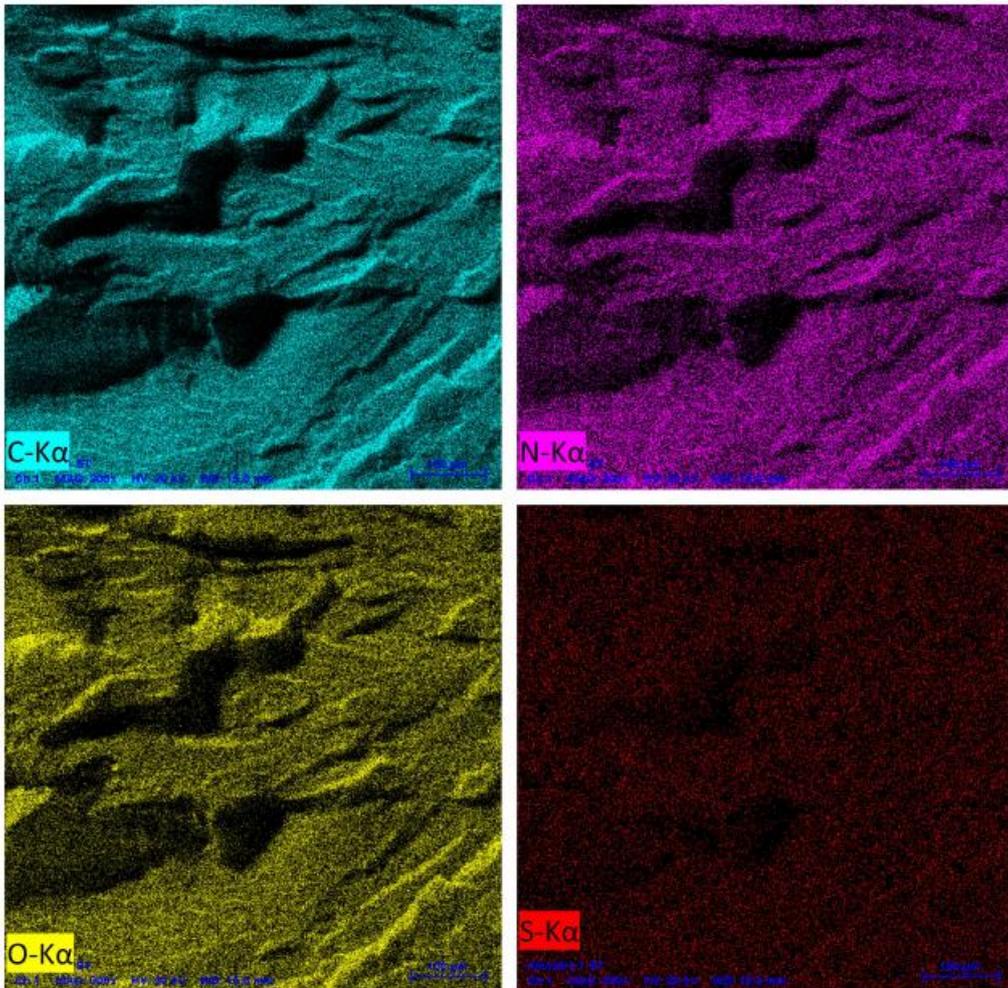
Dados obtidos por EDS: elementos químicos, mapas de distribuição elementar e composição química.

F.1 Seção transversal do filamento *Protopasta*® (CB/PLA)



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	29/08/2024	11:09:51	20,0 keV	300x	15,0 mm

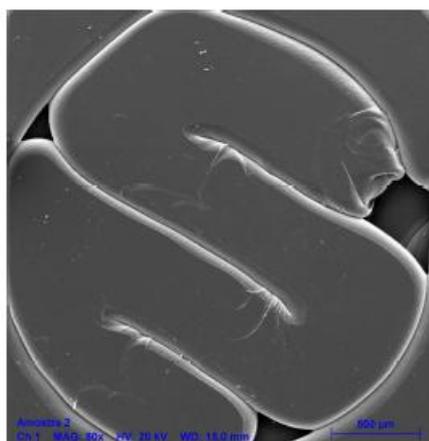




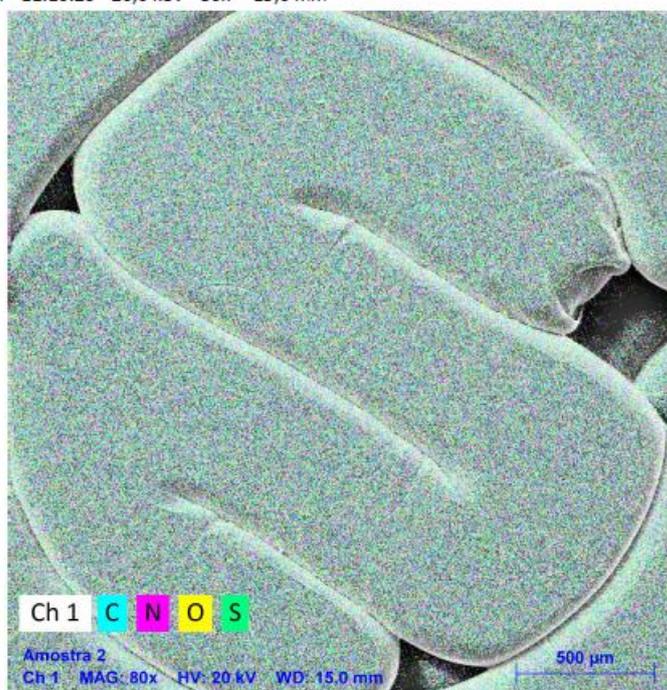
Map

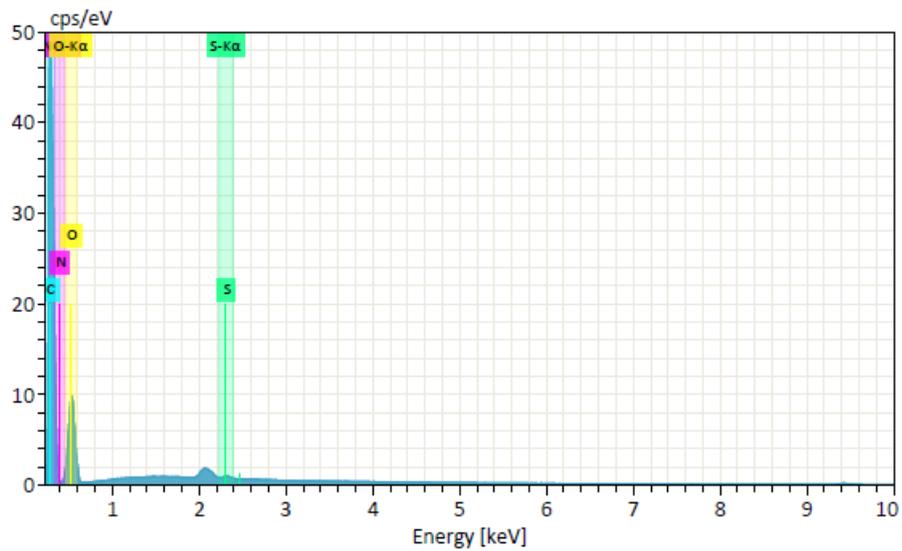
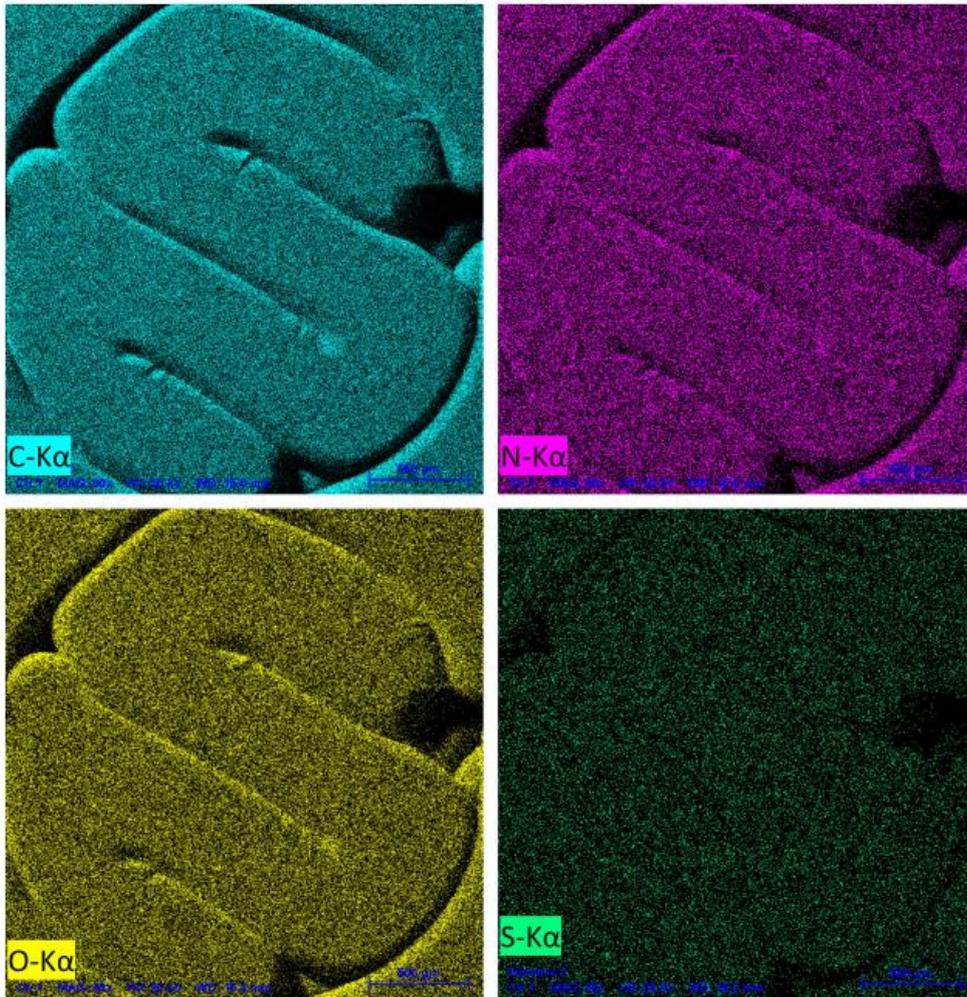
Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
C	6	1066630	47,29	47,29	53,10	4,94	10,44
N	7	90637	20,67	20,67	19,91	2,37	11,45
O	8	289822	31,98	31,98	26,96	3,46	10,82
S	16	6991	0,06	0,06	0,02	0,03	46,14
		Sum	100,00	100,00	100,00		

F.2 Eletrodo sem tratamento



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	29/08/2024	11:10:23	20,0 keV	80x	15,0 mm

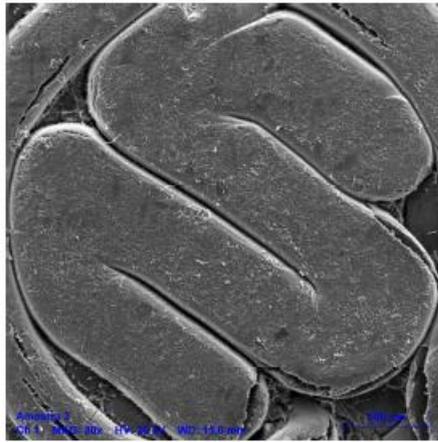




Map

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
C	6	949205	47,39	47,39	53,20	4,96	10,46
N	7	80694	20,79	20,79	20,01	2,40	11,53
O	8	254347	31,75	31,75	26,76	3,45	10,87
S	16	6871	0,07	0,07	0,03	0,03	42,11
		Sum	100,00	100,00	100,00		

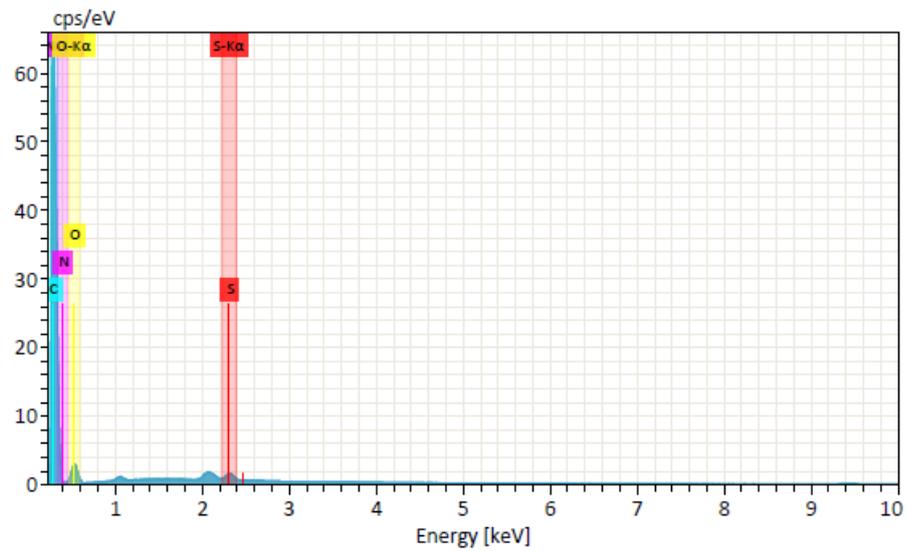
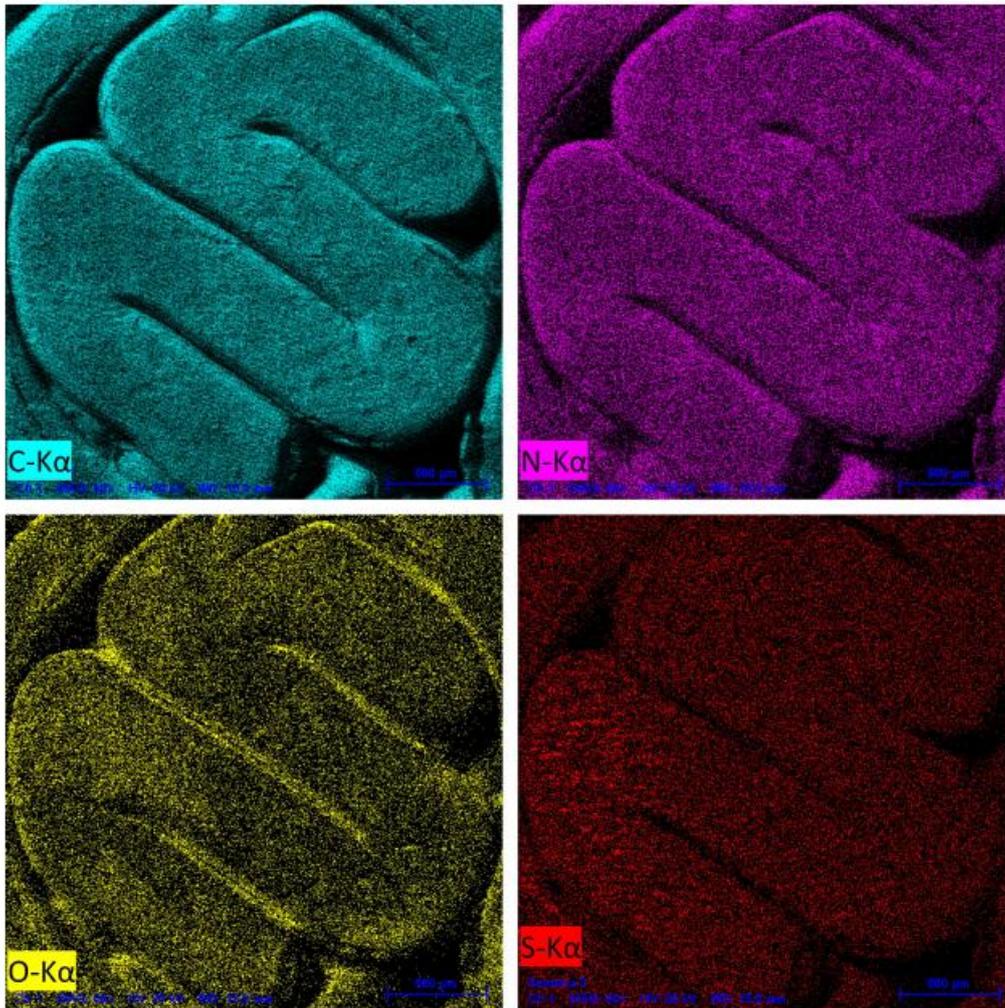
F.3 DMF



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	29/08/2024	11:12:02	20,0 keV	80x	15,0 mm



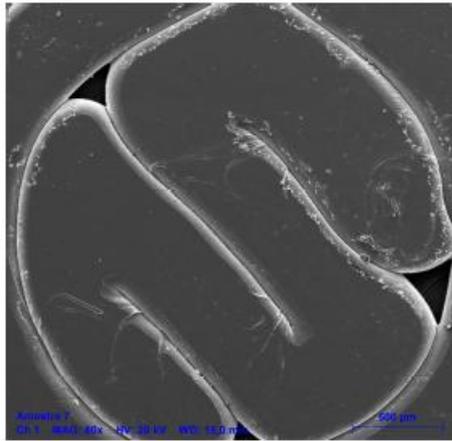
Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Amostra 3	29/08/2024	11:12:02	20,0 keV	80x	15,0 mm



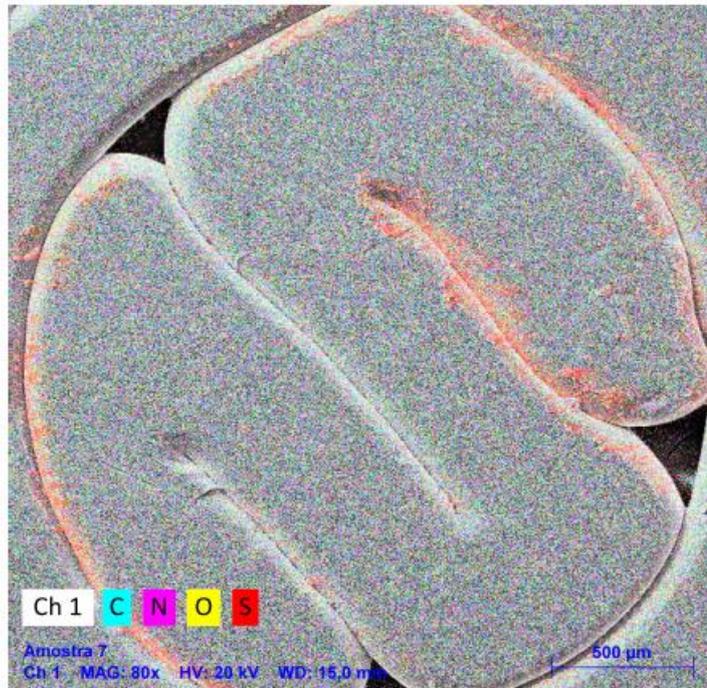
Map

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
C	6	1374133	55,98	55,98	60,70	5,81	10,39
N	7	114647	31,15	31,15	28,96	3,51	11,26
O	8	84597	12,54	12,54	10,20	1,45	11,57
S	16	37966	0,33	0,33	0,13	0,04	11,19
Sum			100,00	100,00	100,00		

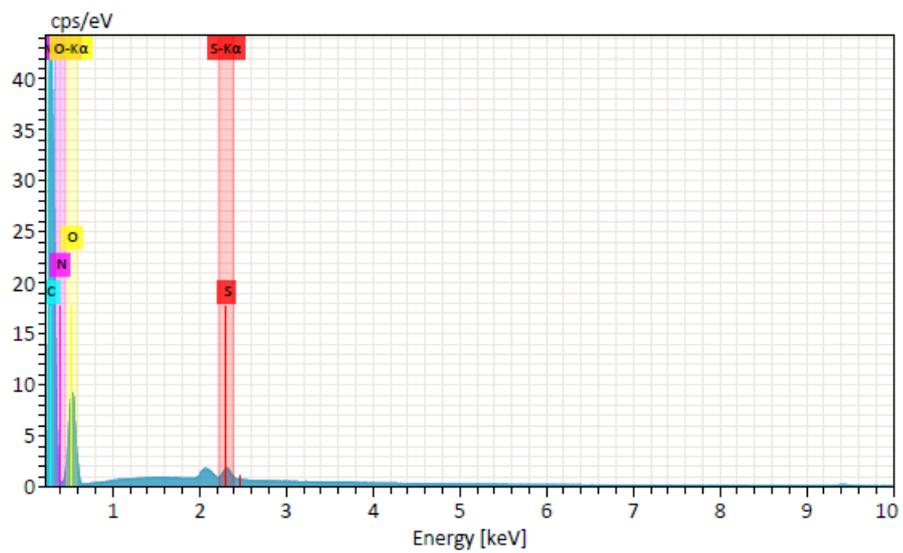
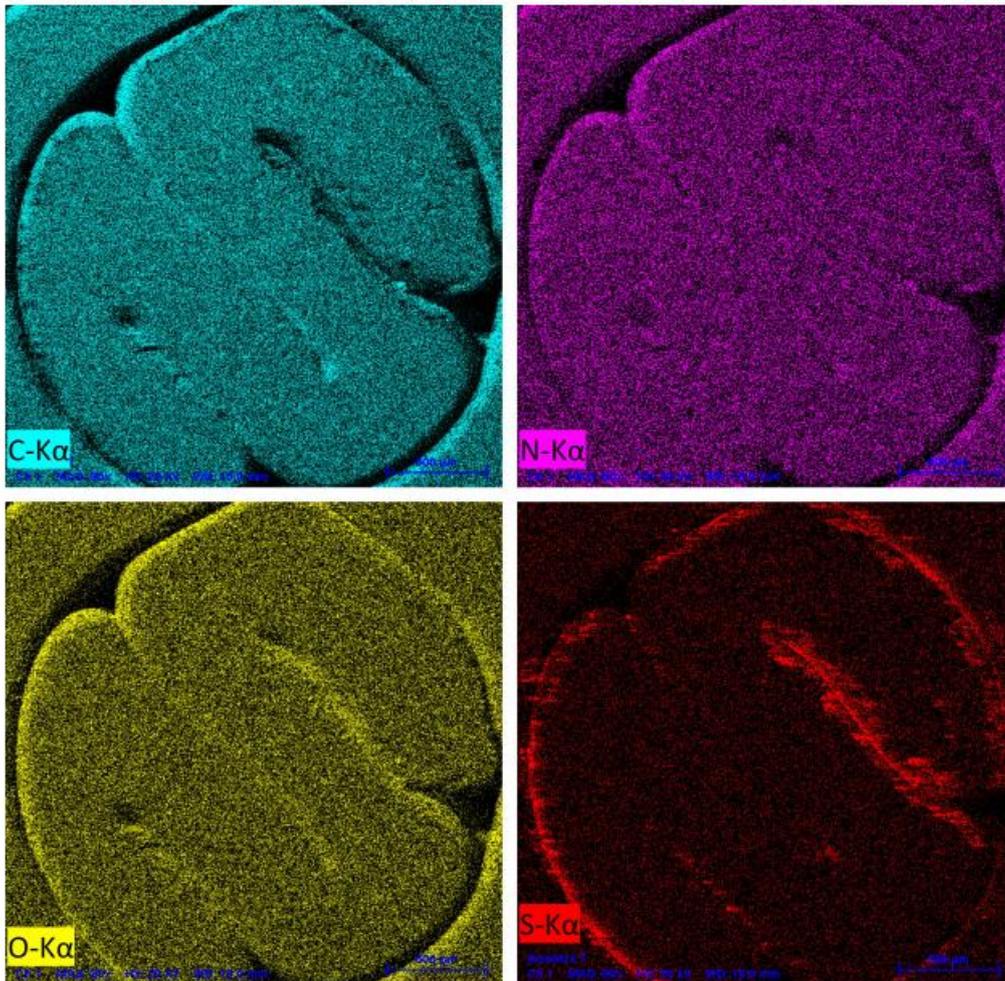
F.4 H₂SO₄



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	29/08/2024	11:50:52	20,0 keV	80x	15,0 mm



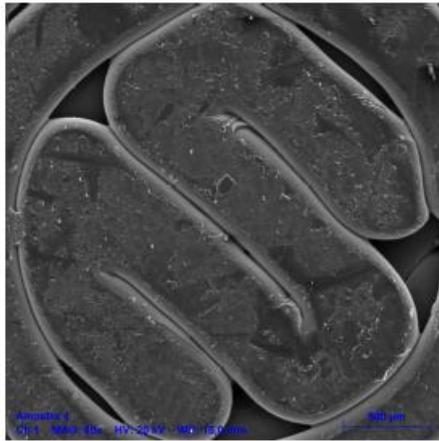
Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Amostra 7	29/08/2024	11:50:52	20,0 keV	80x	15,0 mm



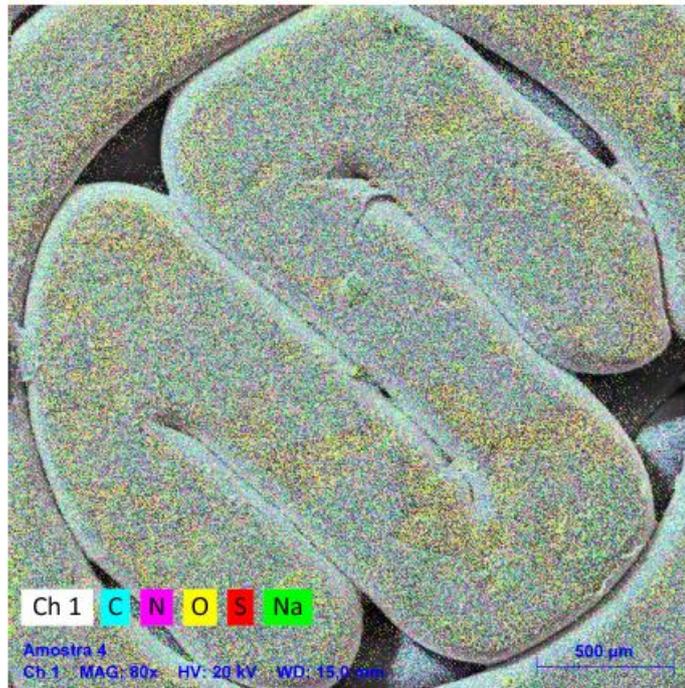
Map

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [% (1 sigma)]	rel. error [% (1 sigma)]
C	6	874851	46,97	46,97	52,88	4,92	10,48
N	7	77256	20,53	20,53	19,82	2,37	11,56
O	8	250250	32,09	32,09	27,12	3,49	10,88
S	16	40145	0,41	0,41	0,17	0,04	9,76
Sum			100,00	100,00	100,00		

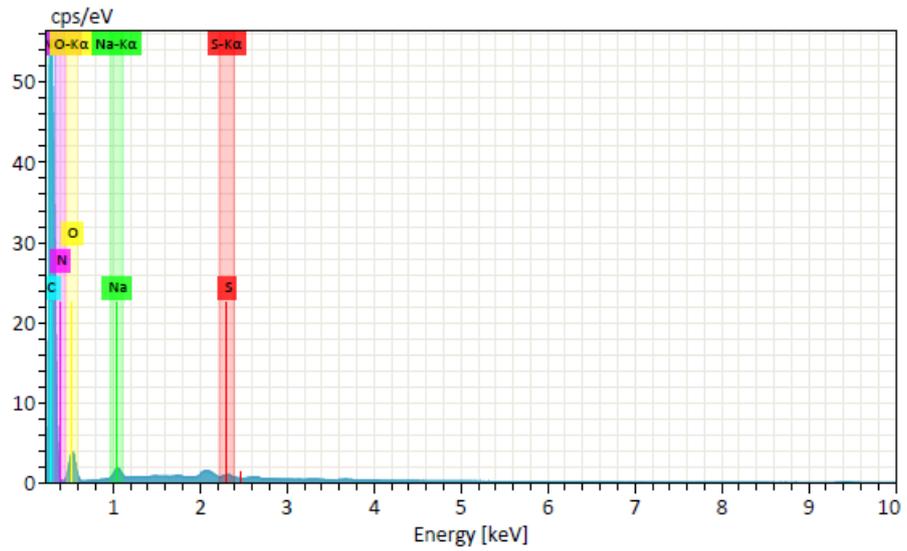
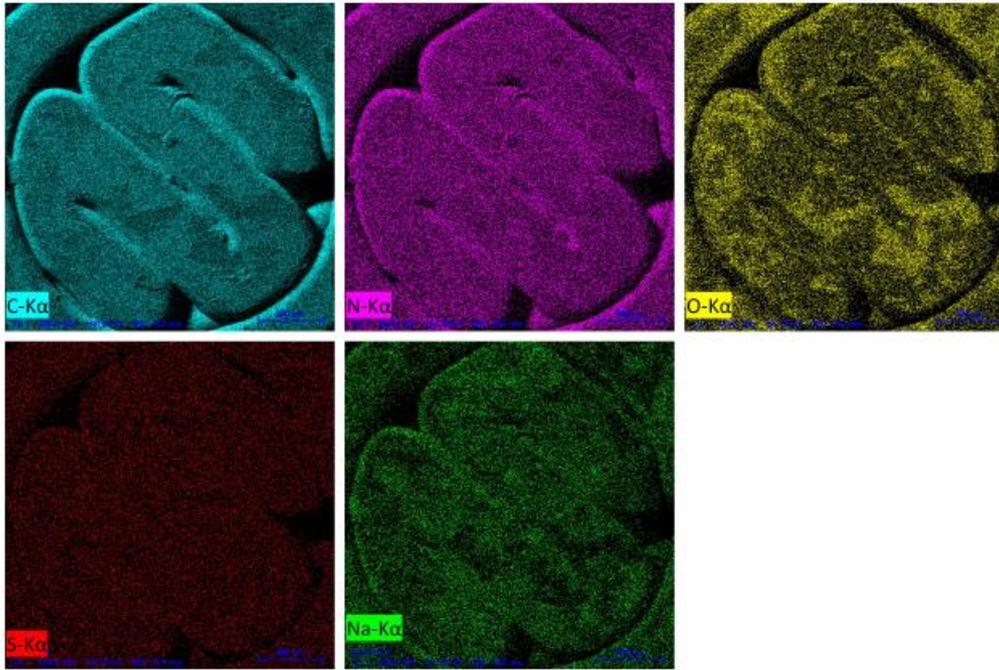
F.5 NaOH



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	29/08/2024	11:15:32	20,0 keV	80x	15,0 mm



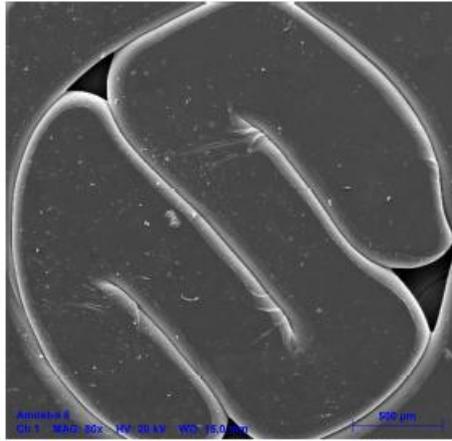
Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Amostra 4	29/08/2024	11:15:32	20,0 keV	80x	15,0 mm



Map

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
C	6	1174142	54,01	54,01	59,12	5,63	10,42
N	7	99072	28,58	28,58	26,83	3,25	11,36
O	8	107774	16,51	16,51	13,57	1,88	11,37
S	16	14956	0,15	0,15	0,06	0,03	20,08
Na	11	37444	0,75	0,75	0,43	0,07	9,84
Sum			100,00	100,00	100,00		

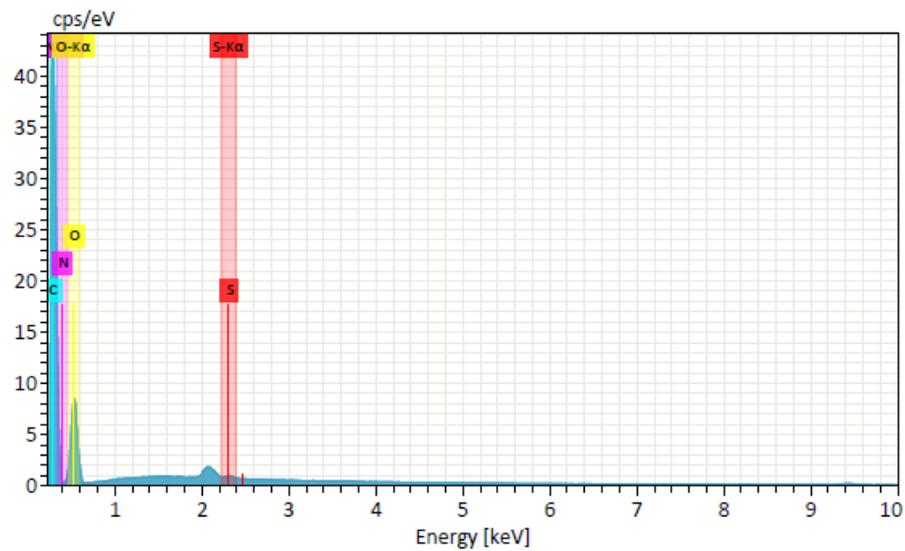
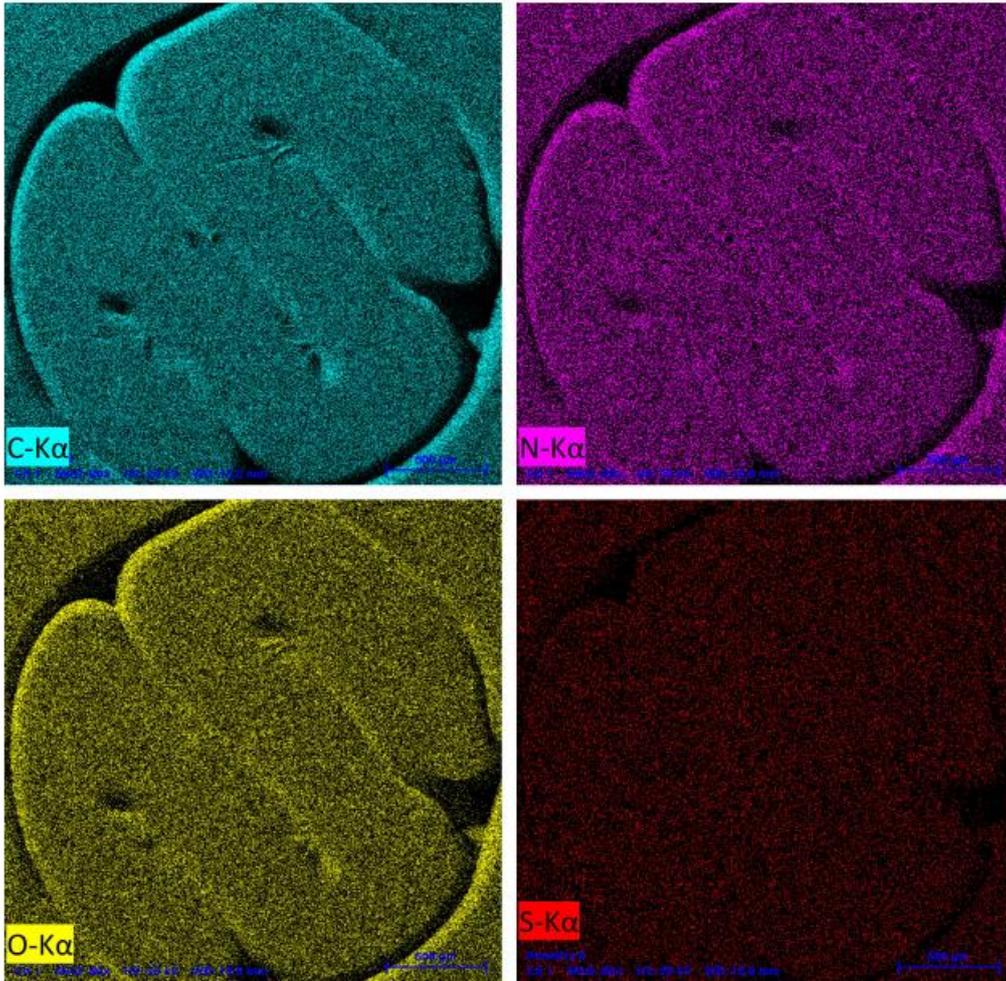
F.6 EQ_{NaOH}



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	29/08/2024	11:56:46	20,0 keV	80x	15,0 mm

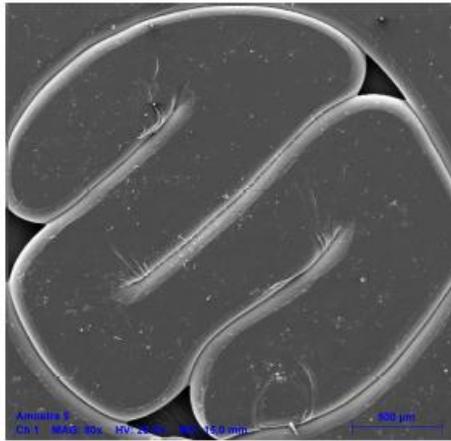


Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Amostra 8	29/08/2024	11:56:46	20,0 keV	80x	15,0 mm



Map							
Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
C	6	873155	47,70	47,70	53,51	5,00	10,48
N	7	73491	20,85	20,85	20,06	2,42	11,60
O	8	228348	31,34	31,34	26,39	3,42	10,92
S	16	9401	0,10	0,10	0,04	0,03	29,10
		Sum	100,00	100,00	100,00		

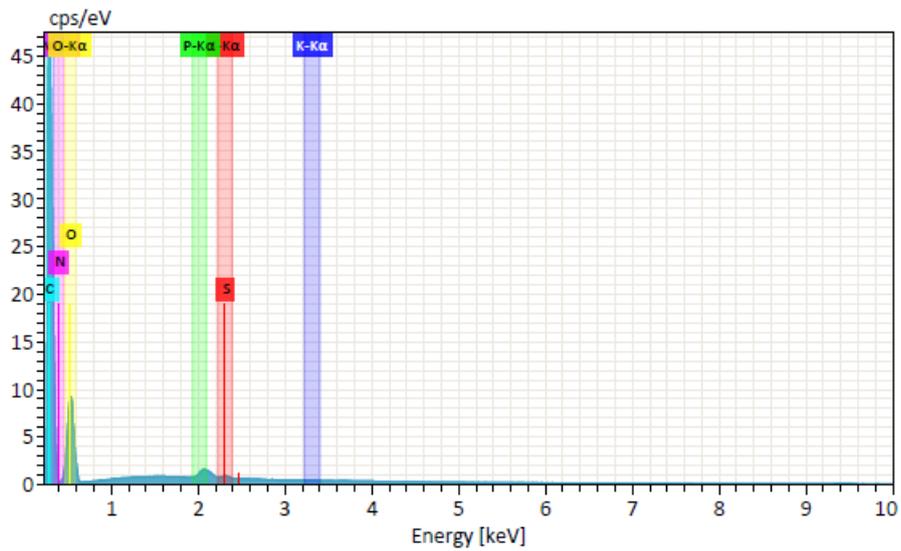
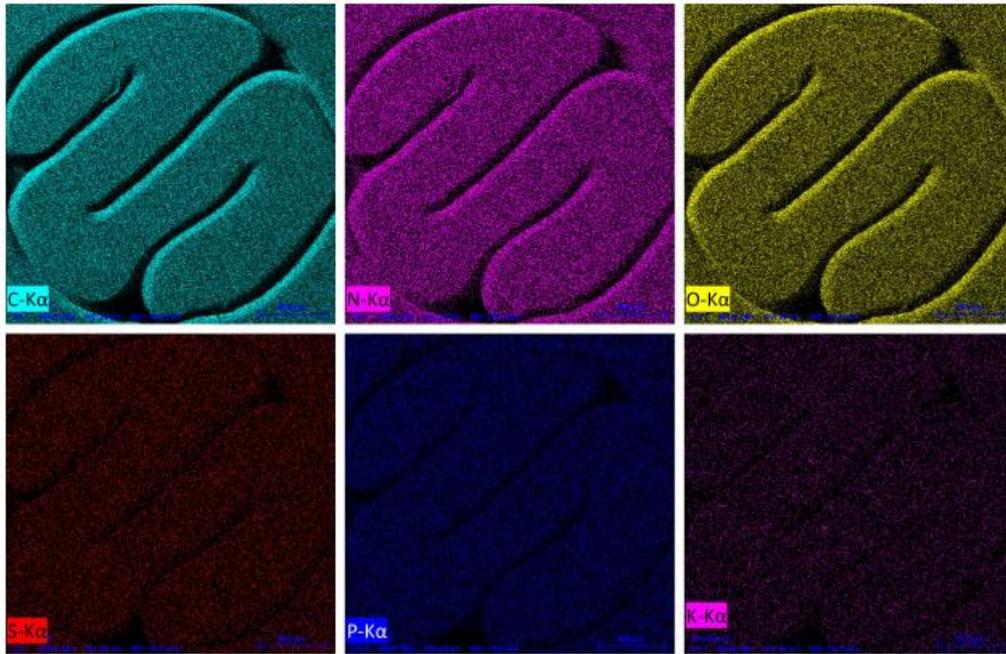
F.7 EQ_{PBS}



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	29/08/2024	11:56:46	20,0 keV	80x	15,0 mm



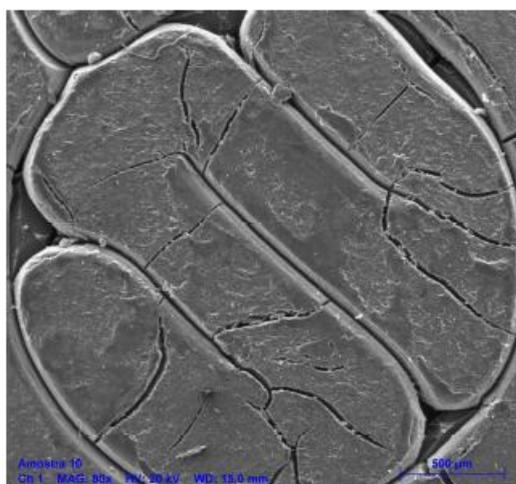
Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Amostra 9	29/08/2024	12:01:20	20,0 keV	80x	15,0 mm



Map

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
C	6	963150	47,56	47,56	53,43	4,98	10,46
N	7	82235	20,69	20,69	19,93	2,38	11,52
O	8	258729	31,41	31,41	26,49	3,41	10,87
S	16	7982	0,08	0,08	0,03	0,03	35,96
P	15	24011	0,23	0,23	0,10	0,03	14,63
K	19	1482	0,02	0,02	0,01	0,00	4,30
		Sum	100,00	100,00	100,00		

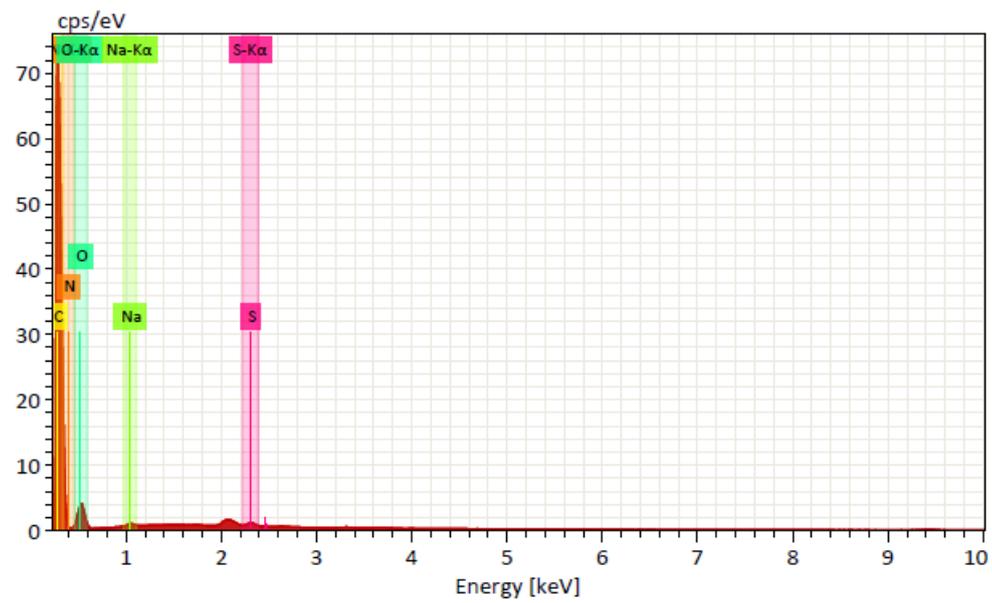
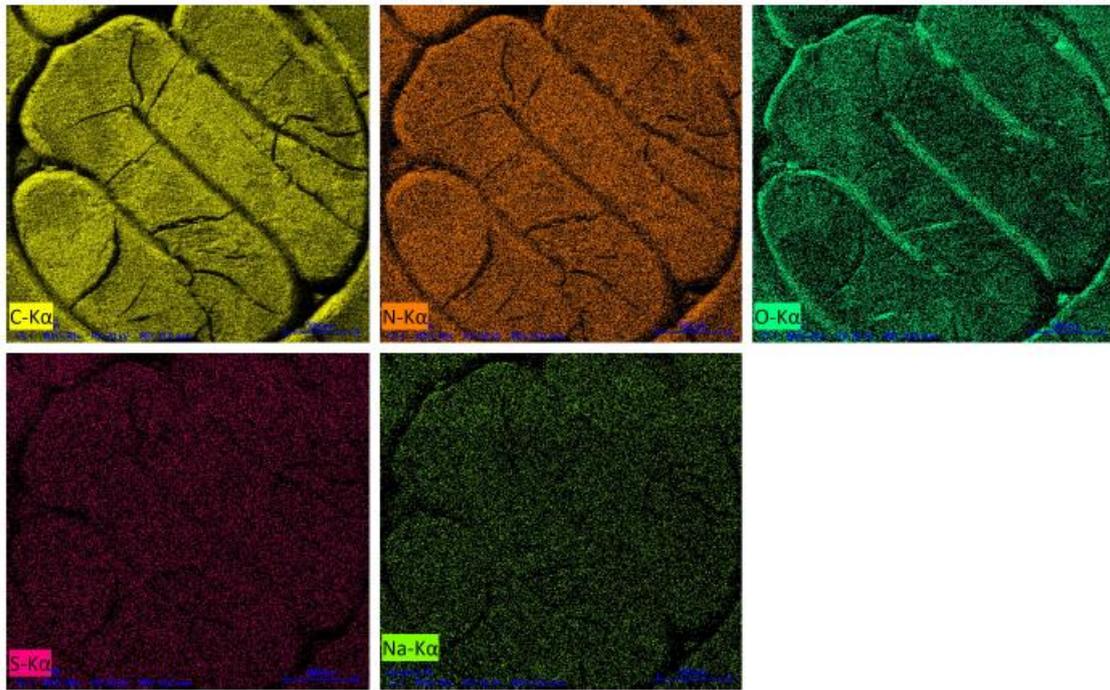
F.8 DMF-EQ_{NaOH}



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	30/08/2024	13:29:43	20,0 keV	80x	15,0 mm



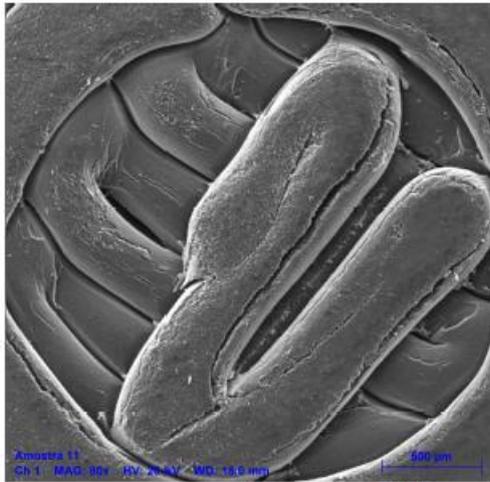
Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Amostra 10	30/08/2024	13:29:44	20,0 keV	80x	15,0 mm



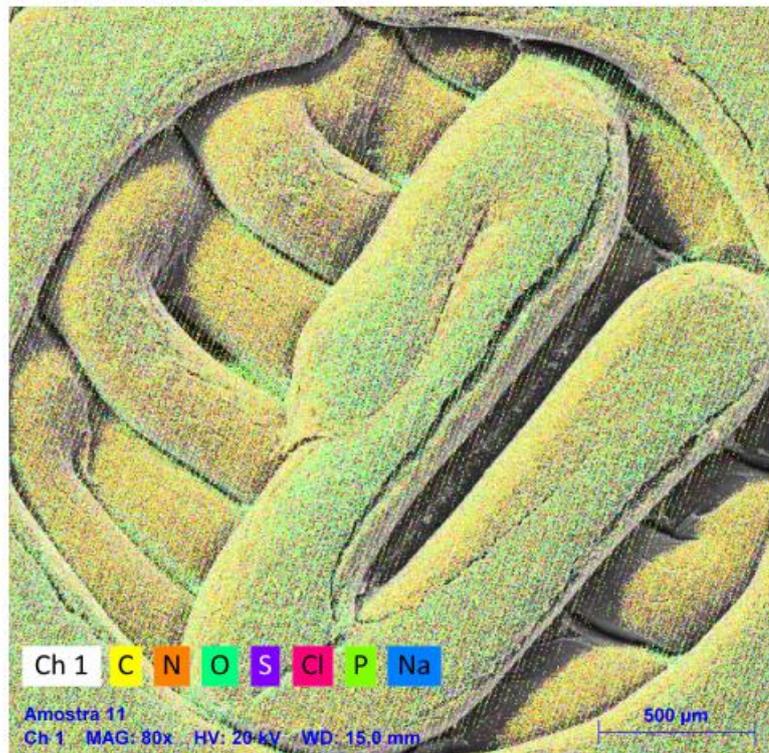
Map

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [% (1 sigma)]	rel. error [% (1 sigma)]
C	6	1522403	55,08	55,08	59,92	5,71	10,37
N	7	126430	30,12	30,12	28,09	3,38	11,21
O	8	112565	14,49	14,49	11,83	1,65	11,36
S	16	17524	0,15	0,15	0,06	0,03	20,72
Na	11	10630	0,16	0,16	0,09	0,04	22,08
		Sum	100,00	100,00	100,00		

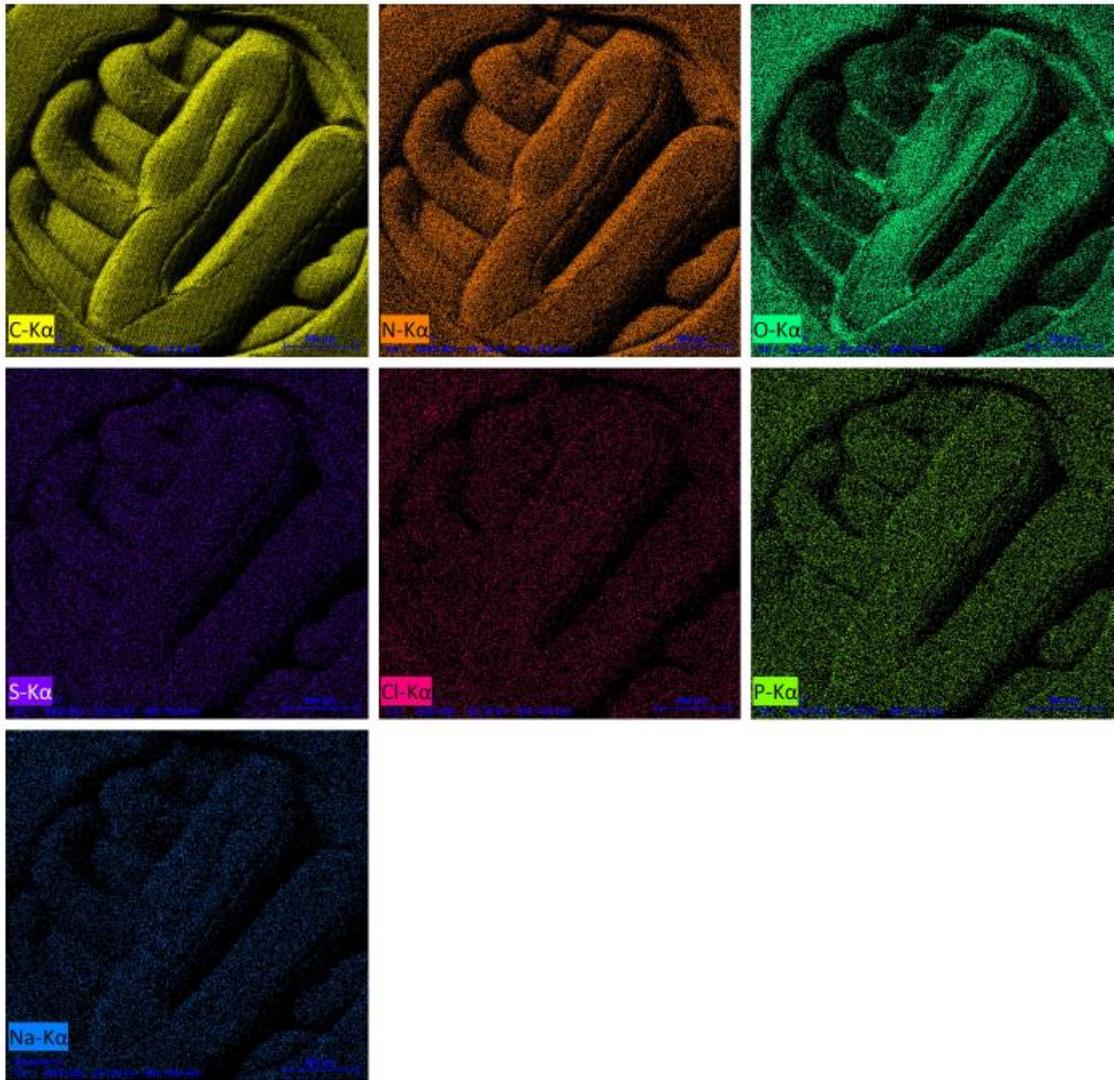
F.9 DMF-EQ_{PBS}

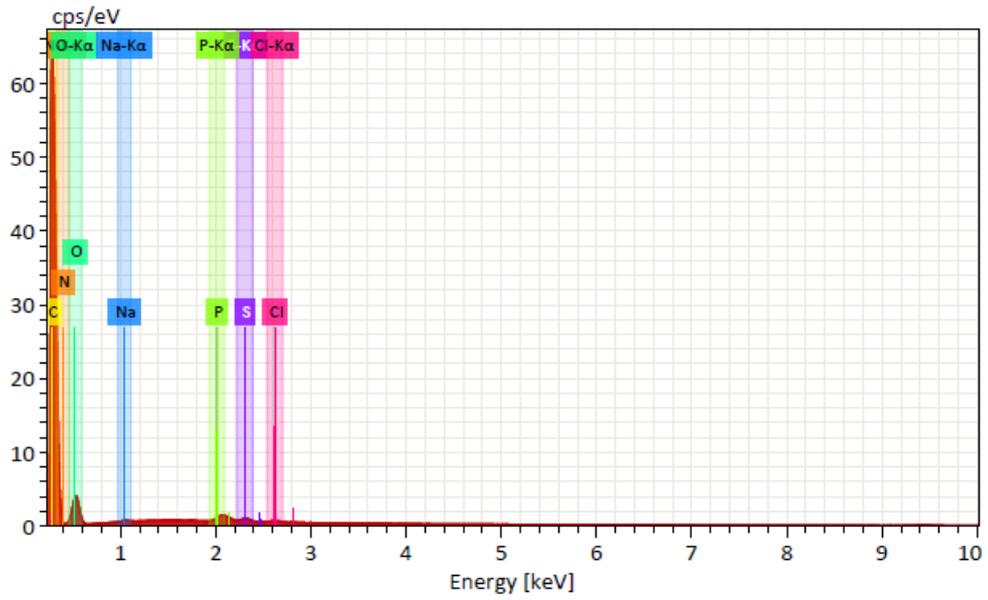


Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	30/08/2024	13:50:28	20,0 keV	80x	15,0 mm



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Amostra 11	30/08/2024	13:50:29	20,0 keV	80x	15,0 mm

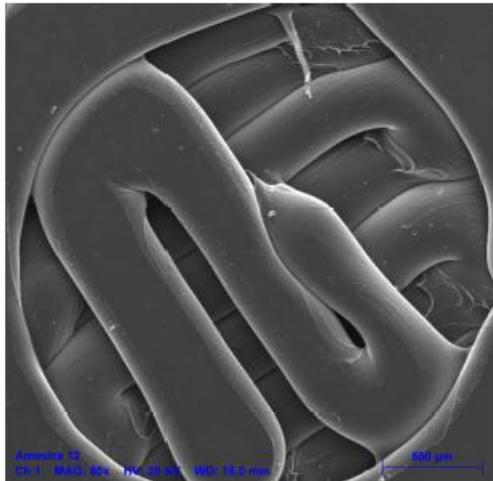




Map

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
C	6	1346020	54,74	54,74	59,67	5,69	10,39
N	7	112290	29,37	29,37	27,45	3,31	11,28
O	8	111008	15,54	15,54	12,72	1,77	11,36
S	16	10988	0,10	0,10	0,04	0,03	29,69
Cl	17	4215	0,04	0,04	0,02	0,00	3,87
P	15	17809	0,16	0,16	0,07	0,03	20,09
Na	11	3144	0,06	0,06	0,03	0,03	52,14
		Sum	100,00	100,00	100,00		

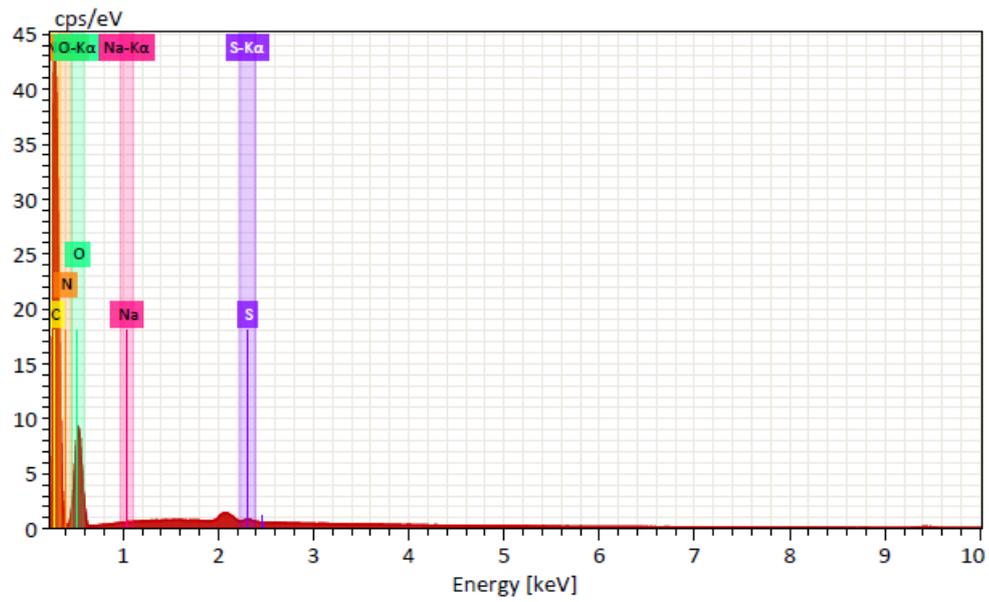
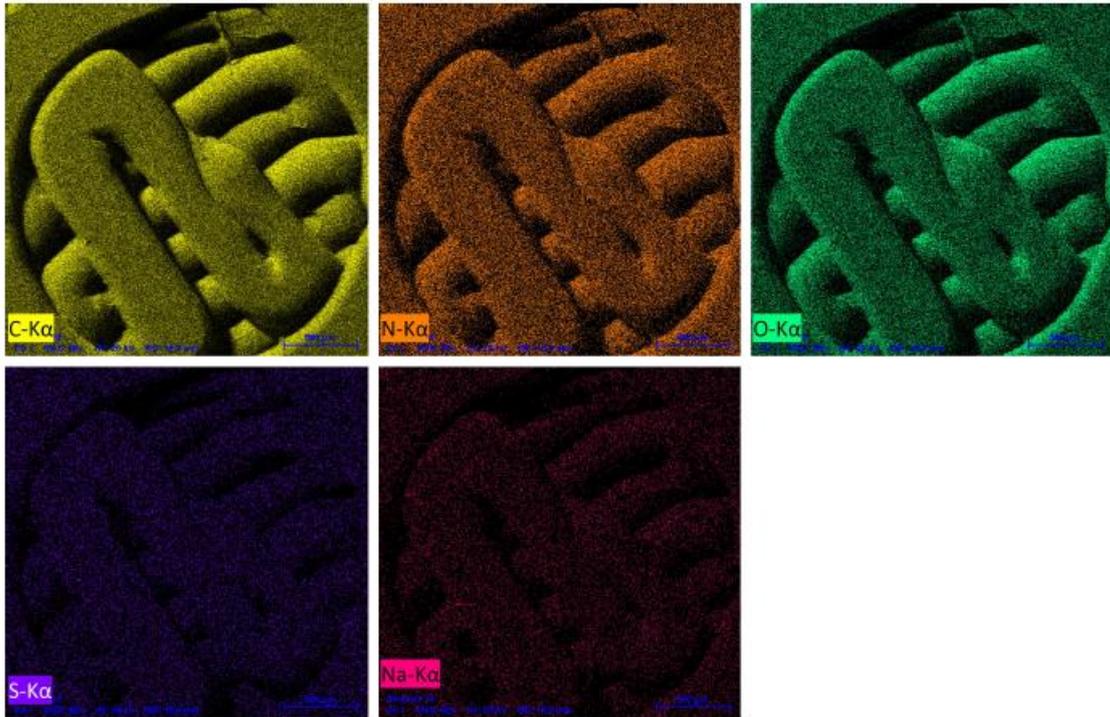
F.10 H₂SO₄-EQ_{NaOH}



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	30/08/2024	13:50:28	20,0 keV	80x	15,0 mm



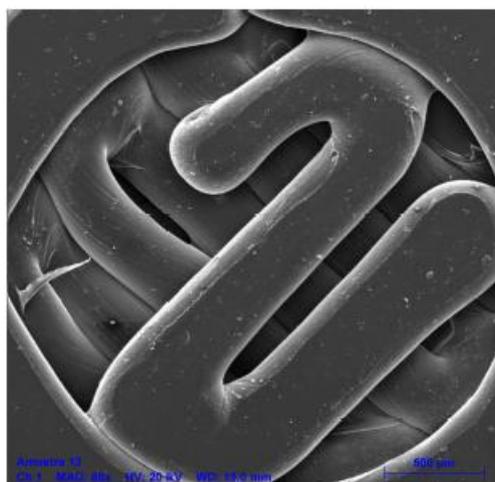
Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Amostra 12	30/08/2024	14:01:12	20,0 keV	80x	15,0 mm



Map

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [% (1 sigma)]	rel. error [% (1 sigma)]
C	6	904953	46,89	46,89	52,72	4,91	10,47
N	7	78831	20,79	20,79	20,04	2,40	11,54
O	8	251521	32,24	32,24	27,21	3,51	10,88
S	16	6382	0,07	0,07	0,03	0,03	42,21
Na	11	603	0,01	0,01	0,01	0,00	8,97
		Sum	100,00	100,00	100,00		

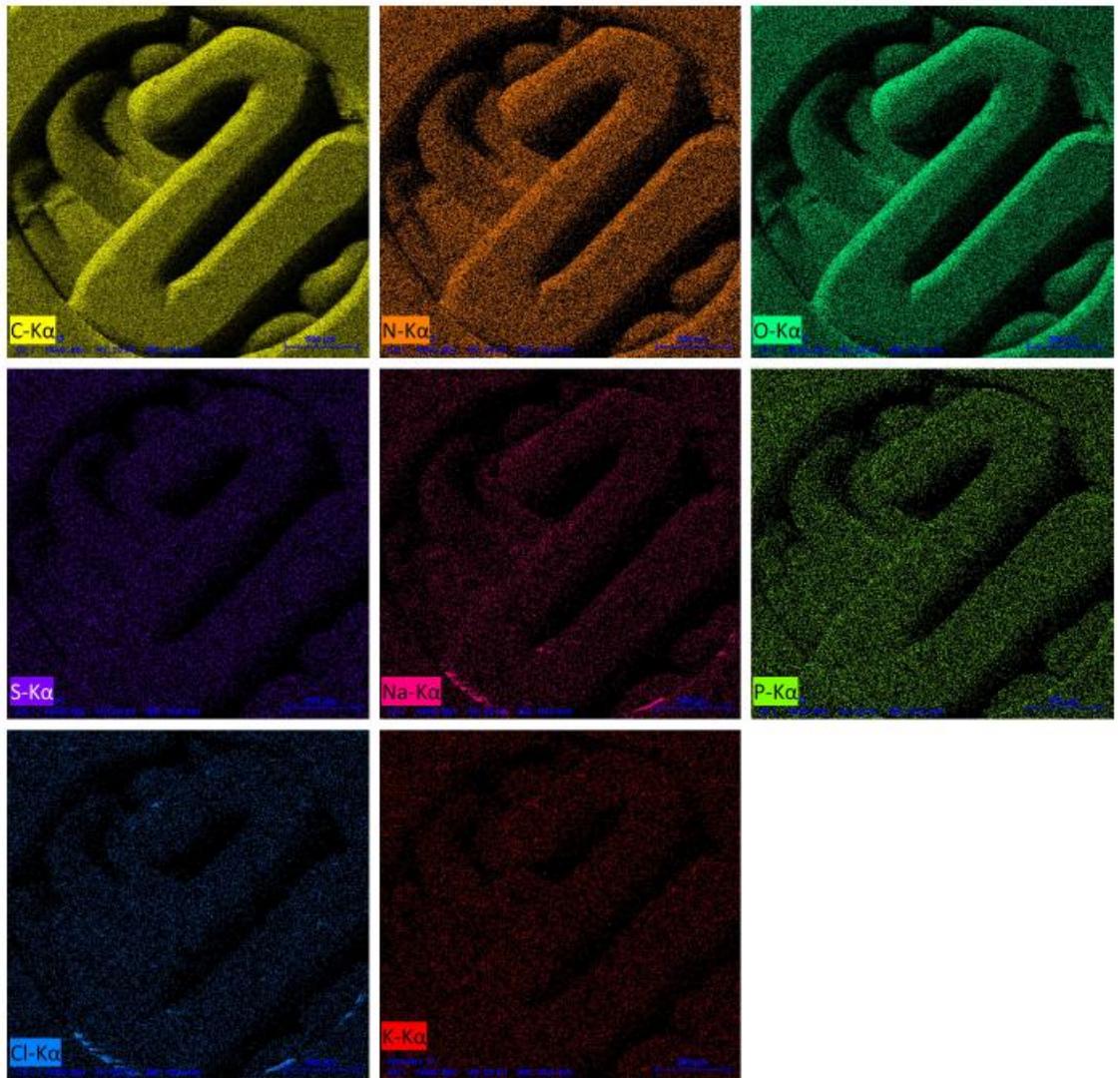
F.11 H₂SO₄-EQPBS

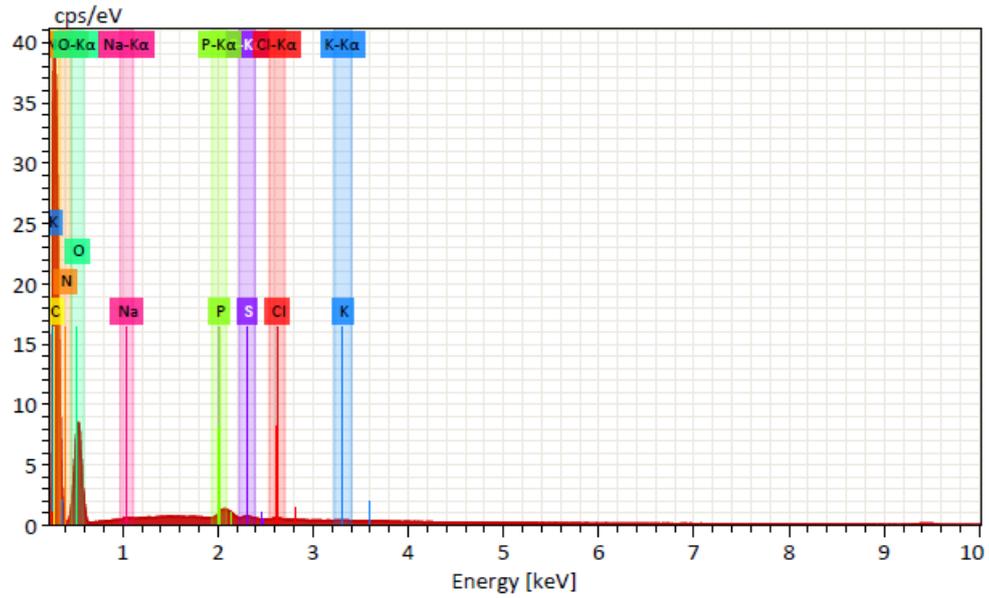


Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	30/08/2024	13:50:28	20,0 keV	80x	15,0 mm



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Amostra 13	30/08/2024	14:37:16	20,0 keV	80x	15,0 mm

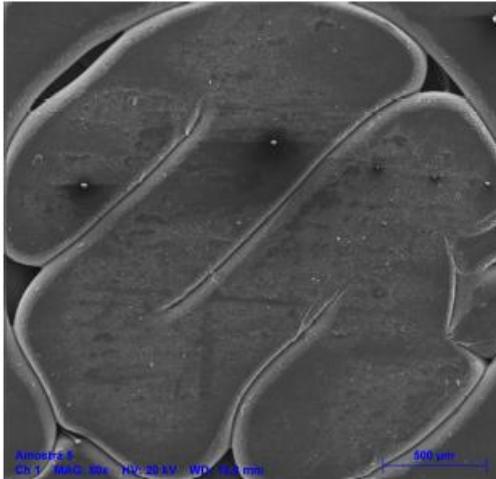




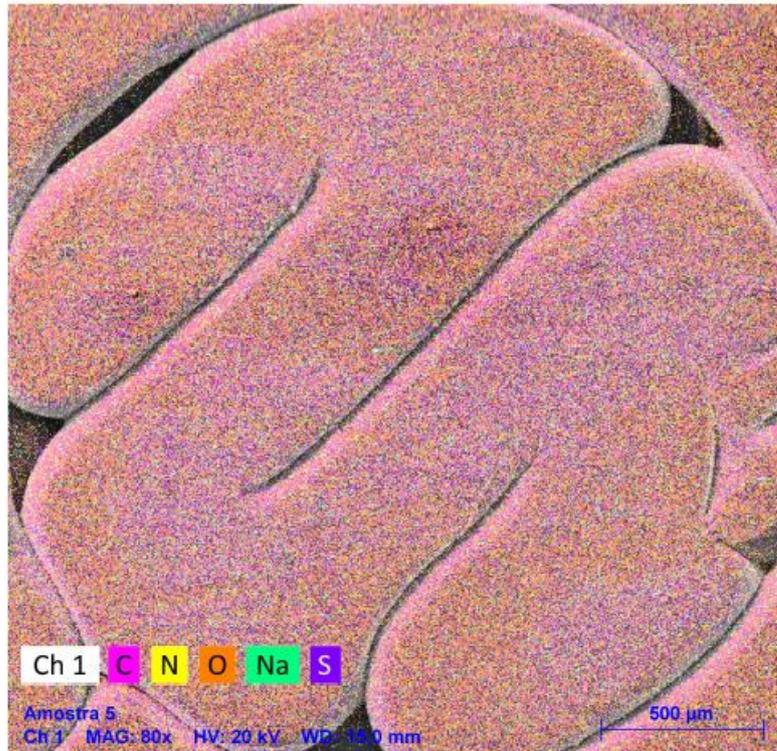
Map

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
C	6	830199	56,16	56,16	62,51	5,89	10,48
N	7	21343	8,62	8,62	8,23	1,12	13,03
O	8	234452	34,79	34,79	29,07	3,79	10,90
S	16	5457	0,07	0,07	0,03	0,03	37,68
Na	11	1947	0,05	0,05	0,03	0,03	56,66
P	15	17695	0,23	0,23	0,10	0,03	14,66
K	19	1509	0,03	0,03	0,01	0,00	4,28
Cl	17	2987	0,05	0,05	0,02	0,00	4,05
		Sum	100,00	100,00	100,00		

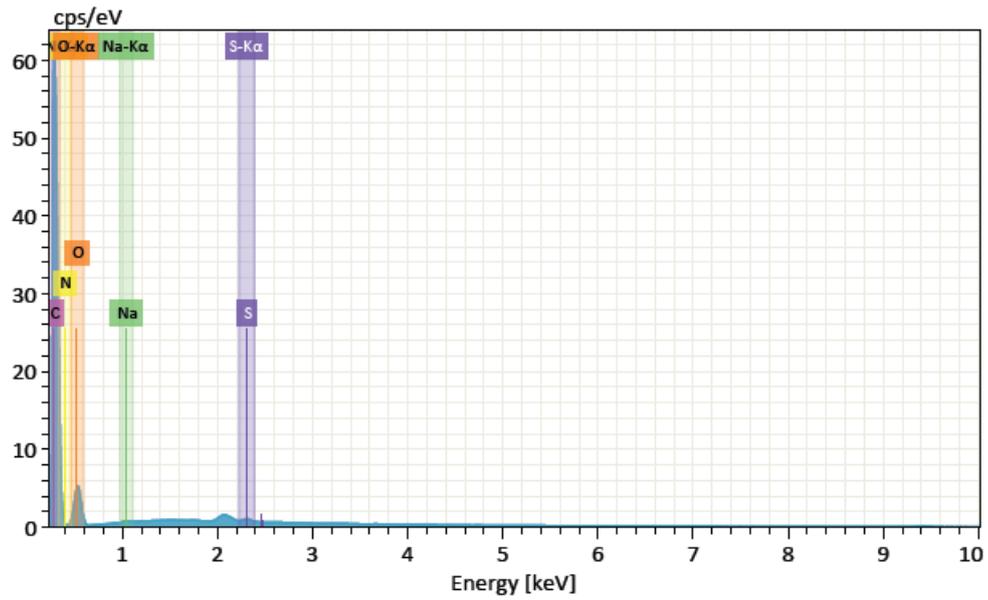
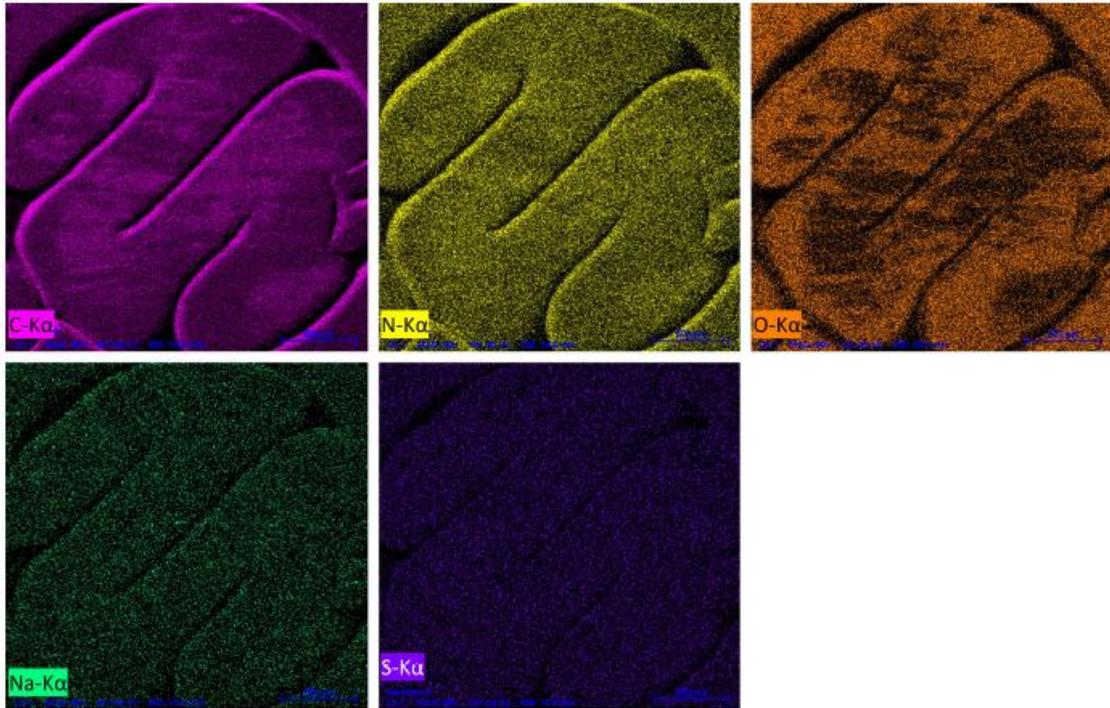
F.12 NaOH-EQ_{NaOH}



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	29/08/2024	11:37:49	20,0 keV	80x	15,0 mm



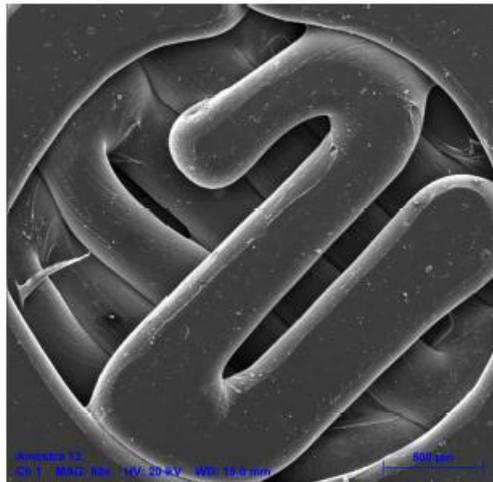
Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Amostra 5	29/08/2024	11:37:49	20,0 keV	80x	15,0 mm



Map

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
C	6	1395091	53,65	53,65	58,81	5,57	10,39
N	7	110390	26,55	26,55	24,96	3,00	11,30
O	8	158043	19,61	19,61	16,14	2,18	11,13
Na	11	4884	0,08	0,08	0,05	0,03	37,82
S	16	13073	0,11	0,11	0,04	0,03	26,98
		Sum	100,00	100,00	100,00		

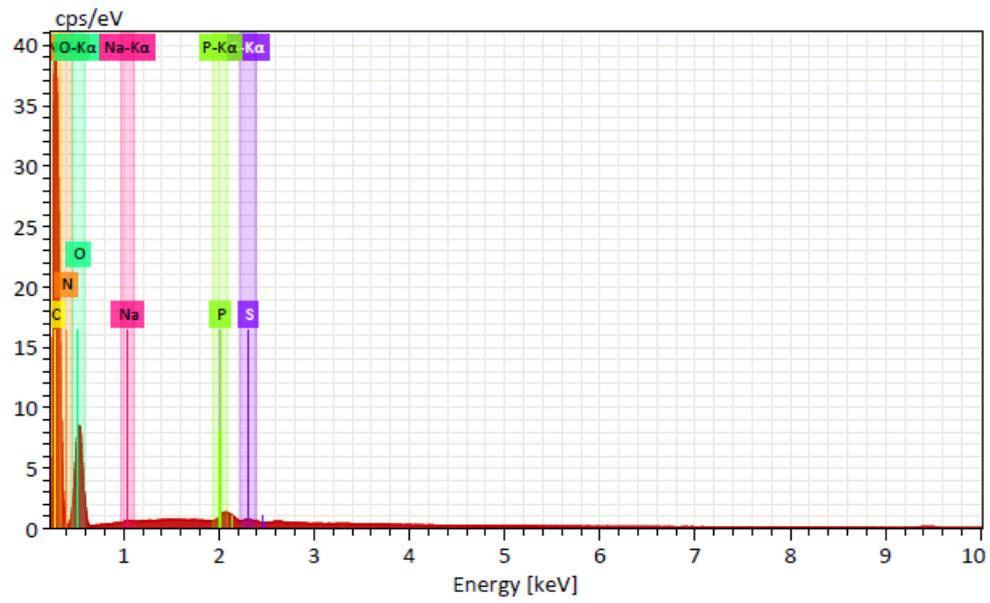
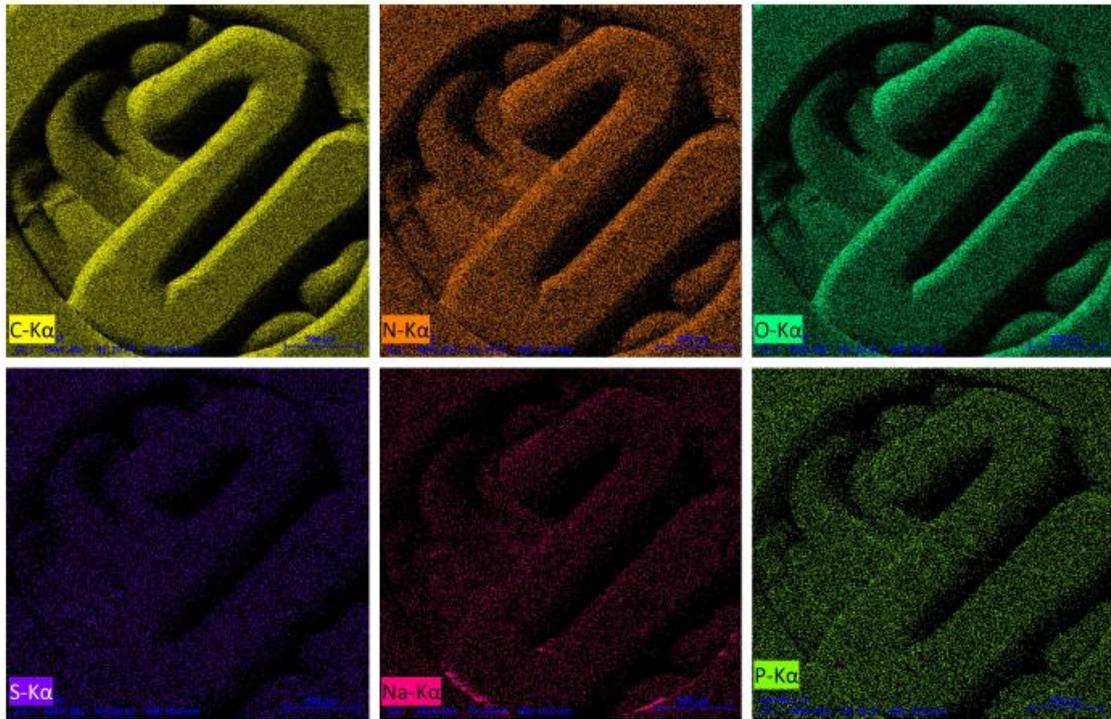
F.13 NaOH-EQPBS



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Ch 1	30/08/2024	13:50:28	20,0 keV	80x	15,0 mm



Name	Date	Time	HV [kV]	Mag	WD [mm]
Amostra 13	30/08/2024	14:37:16	20.0 keV	80x	15.0 mm



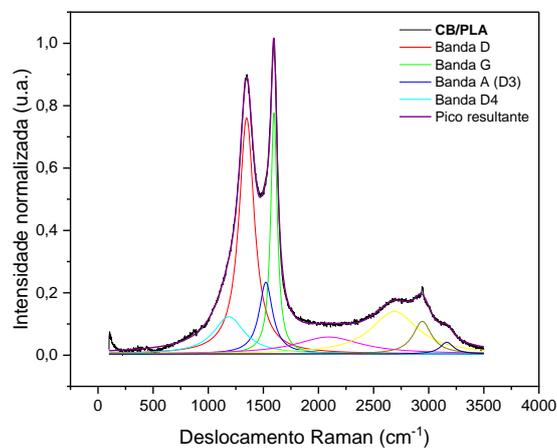
Map

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
C	6	822712	46,75	46,75	52,63	4,91	10,49
N	7	71397	20,49	20,49	19,78	2,38	11,62
O	8	234993	32,52	32,52	27,48	3,55	10,90
S	16	1426	0,02	0,02	0,01	0,00	4,89
Na	11	2408	0,06	0,06	0,03	0,03	52,16
P	15	13919	0,16	0,16	0,07	0,03	19,50
		Sum	100,00	100,00	100,00		

APÊNDICE G

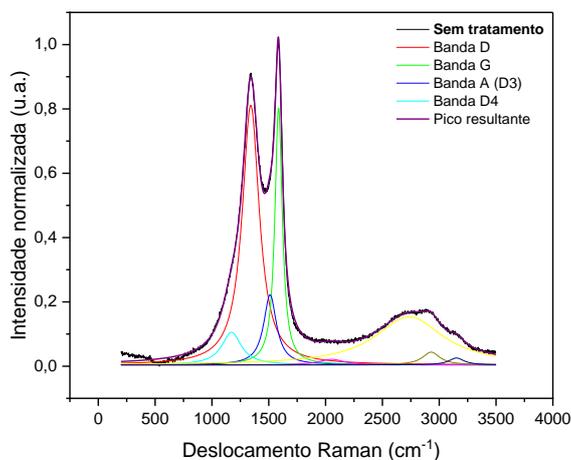
Dados de espectroscopia Raman

G.1 Filamento *Protopasta*[®] (CB/PLA)



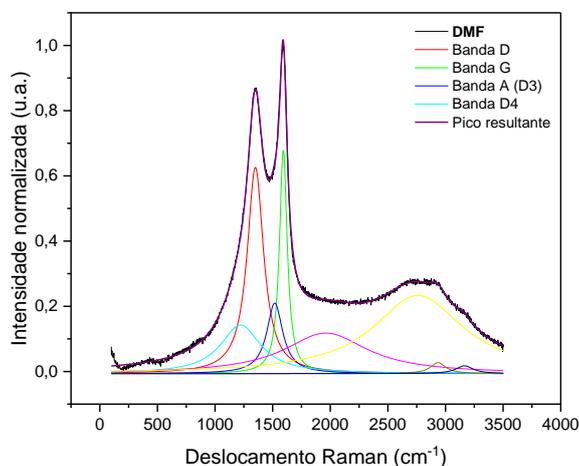
Filamento ($R^2 = 0,99831$)	Dados	Valor	Erro padrão
Banda D	Posição do pico (cm^{-1})	1348,07299	0,22897
	Largura à meia altura (cm^{-1})	166,82555	1,34779
	Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	198,39522	2,68132
	Altura do pico (u.a.)	0,75709	0,00465
Banda G	Posição do pico (cm^{-1})	1596,19353	0,13396
	Largura à meia altura (cm^{-1})	70,67347	0,65762
	Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	85,87096	1,48909
Banda A (D3)	Posição do pico (cm^{-1})	1522,68786	1,51023
	Largura à meia altura (cm^{-1})	148,03442	4,99036
	Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	53,54789	2,88988
Banda D4	Posição do pico (cm^{-1})	1187,32545	4,56188
	Largura à meia altura (cm^{-1})	340,8536	7,77683
	Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	64,12767	2,92334
	Altura do pico (u.a.)	0,11977	0,00336

G.2 Sem tratamento



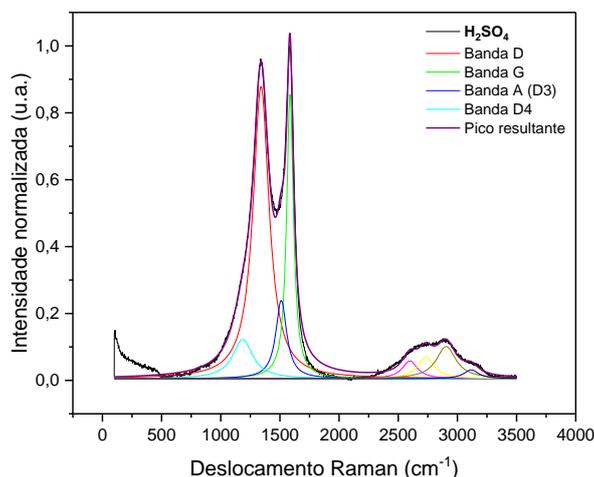
Sem tratamento ($R^2 = 0,99844$)		Dados	Valor	Erro padrão
Banda D		Posição do pico (cm^{-1})	1341,7709	0,23203
		Largura à meia altura (cm^{-1})	182,4354	1,37985
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	231,28444	2,48566
		Altura do pico (u.a.)	0,80708	0,00307
Banda G		Posição do pico (cm^{-1})	1586,39304	0,1623
		Largura à meia altura (cm^{-1})	78,32419	0,65521
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	98,31941	1,58863
		Altura do pico (u.a.)	0,79914	0,00684
Banda A (D3)		Posição do pico (cm^{-1})	1511,56496	1,40487
		Largura à meia altura (cm^{-1})	135,74683	5,07541
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	46,47519	2,83377
		Altura do pico (u.a.)	0,21796	0,00561
Banda D4		Posição do pico (cm^{-1})	1171,8262	2,2946
		Largura à meia altura (cm^{-1})	207,62972	5,92268
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	33,14327	1,55851
		Altura do pico (u.a.)	0,10162	0,00255

G.3 DMF



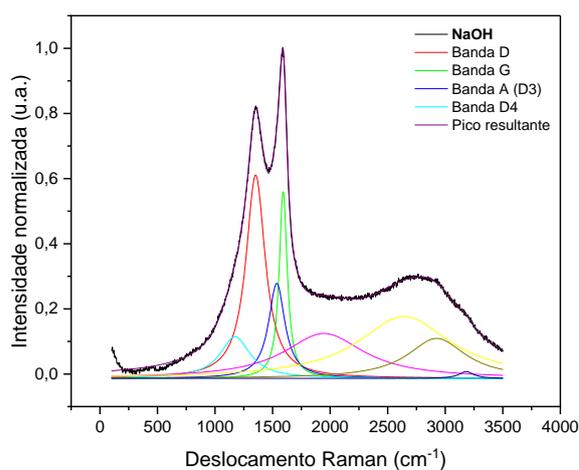
DMF ($R^2 = 0,99881$)		Dados	Valor	Erro padrão
Banda D		Posição do pico (cm^{-1})	1349,71288	0,27705
		Largura à meia altura (cm^{-1})	172,46961	2
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	171,25101	4,22752
		Altura do pico (u.a.)	0,63212	0,00868
Banda G		Posição do pico (cm^{-1})	1592,52461	0,16809
		Largura à meia altura (cm^{-1})	81,3326	0,88875
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	87,48118	2,05505
		Altura do pico (u.a.)	0,68475	0,00903
Banda A (D3)		Posição do pico (cm^{-1})	1518,23719	2,18624
		Largura à meia altura (cm^{-1})	168,92015	7,22389
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	57,35882	4,35319
		Altura do pico (u.a.)	0,21617	0,00753
Banda D4		Posição do pico (cm^{-1})	1221,69672	7,45744
		Largura à meia altura (cm^{-1})	425,6825	8,25654
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	99,7209	6,07833
		Altura do pico (u.a.)	0,14914	0,00684

G.4 H₂SO₄



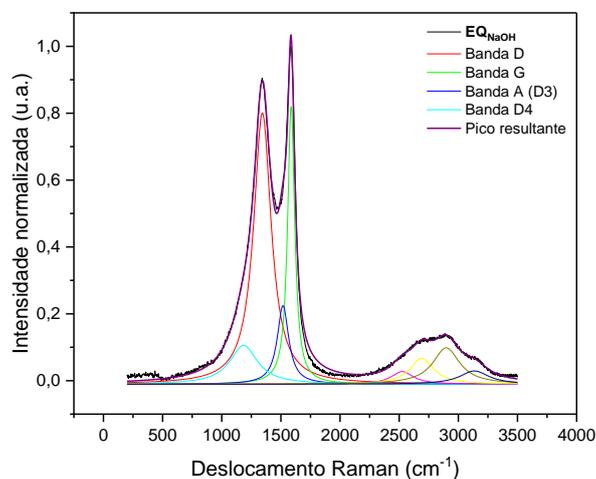
H₂SO₄ ($R^2 = 0,98947$)		Dados	Valor	Desvio padrão
Banda D		Posição do pico (cm^{-1})	1340,11995	0,49972
		Largura à meia altura (cm^{-1})	164,69468	2,66861
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	226,06119	5,02836
		Altura do pico (u.a.)	0,87383	0,00692
Banda G		Posição do pico (cm^{-1})	1585,50799	0,31481
		Largura à meia altura (cm^{-1})	69,05001	1,11444
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	92,23871	2,42352
		Altura do pico (u.a.)	0,85041	0,01107
Banda A (D3)		Posição do pico (cm^{-1})	1511,15135	2,06974
		Largura à meia altura (cm^{-1})	111,4822	8,06648
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	41,01823	4,14924
		Altura do pico (u.a.)	0,23423	0,0085
Banda D4		Posição do pico (cm^{-1})	1185,27926	5,49878
		Largura à meia altura (cm^{-1})	206,21398	12,85759
		Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	37,98853	3,89449
		Altura do pico (u.a.)	0,11728	0,00662

G.5 NaOH



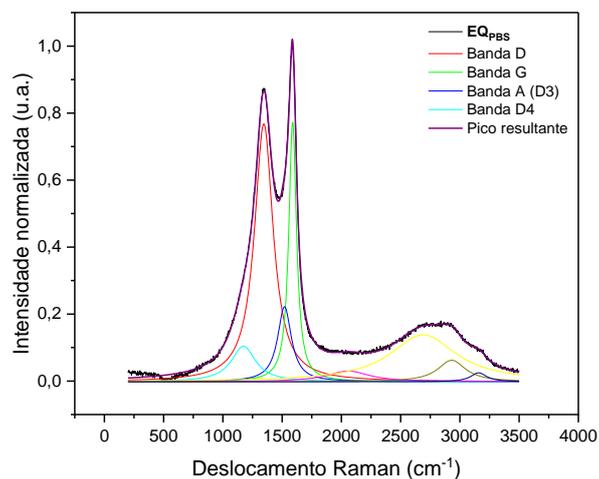
NaOH ($R^2 = 0,99826$)	Dados	Valor	Desvio padrão
Banda D	Posição do pico (cm^{-1})	1352,75818	0,36708
	Largura à meia altura (cm^{-1})	203,13168	2,34451
	Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	199,20872	3,829
	Altura do pico (u.a.)	0,62433	0,00526
Banda G	Posição do pico (cm^{-1})	1592,36126	0,31833
	Largura à meia altura (cm^{-1})	84,31776	1,88038
	Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	75,90907	4,21906
Banda A (D3)	Posição do pico (cm^{-1})	1536,30979	3,36664
	Largura à meia altura (cm^{-1})	171,9129	6,26301
	Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	78,81902	7,54248
Banda D4	Posição do pico (cm^{-1})	1174,65388	4,10662
	Largura à meia altura (cm^{-1})	317,98945	8,49807
	Área do pico ($\text{u.a.} \cdot \text{cm}^{-1}$)	63,90044	3,68701
	Altura do pico (u.a.)	0,12793	0,00449

G.6 EQ_{NaOH}



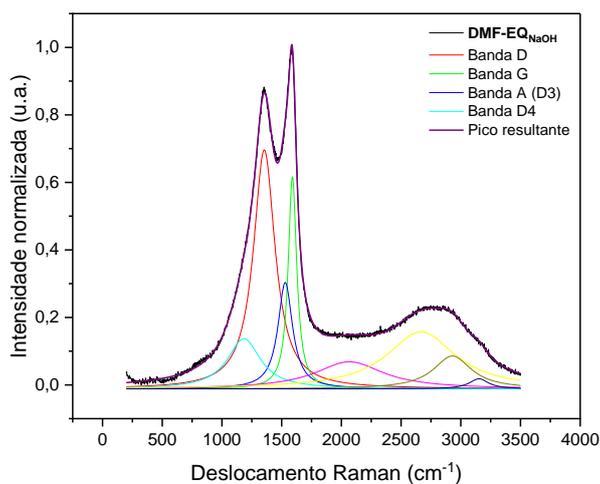
EQ_{NaOH} (R² = 0,99761)		Dados	Valor	Desvio padrão
Banda D		Posição do pico (cm ⁻¹)	1343,35483	0,30989
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	180,09795	1,75751
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	229,42554	3,55788
		Altura do pico (u.a.)	0,81099	0,00536
Banda G		Posição do pico (cm ⁻¹)	1586,75651	0,18524
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	72,02893	0,66992
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	93,94812	1,62099
		Altura do pico (u.a.)	0,83035	0,00753
Banda A (D3)		Posição do pico (cm ⁻¹)	1517,54134	1,34551
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	117,44322	4,64535
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	43,31976	2,68763
		Altura do pico (u.a.)	0,23482	0,006
Banda D4		Posição do pico (cm ⁻¹)	1184,75479	4,83062
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	283,88698	8,77362
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	51,83364	3,2746
		Altura do pico (u.a.)	0,11624	0,00459

G.7 EQ_{PBS}



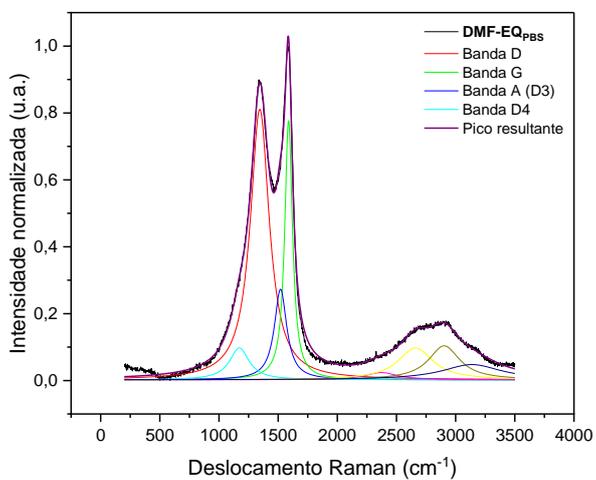
EQ_{PBS} (R² = 0,99884)		Dados	Valor	Desvio padrão
Banda D		Posição do pico (cm ⁻¹)	1345,47218	0,22885
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	190,66302	1,38165
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	230,66192	2,52795
		Altura do pico (u.a.)	0,77018	0,00326
Banda G		Posição do pico (cm ⁻¹)	1588,6893	0,15655
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	77,72328	0,6852
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	94,60946	1,73242
		Altura do pico (u.a.)	0,77493	0,00781
Banda A (D3)		Posição do pico (cm ⁻¹)	1520,01735	1,56464
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	140,8075	4,73324
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	49,62727	2,99881
		Altura do pico (u.a.)	0,22438	0,00644
Banda D4		Posição do pico (cm ⁻¹)	1173,3867	2,59432
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	248,03202	5,78144
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	41,37396	1,78041
		Altura do pico (u.a.)	0,10619	0,00264

G.8 DMF-EQ_{NaOH}



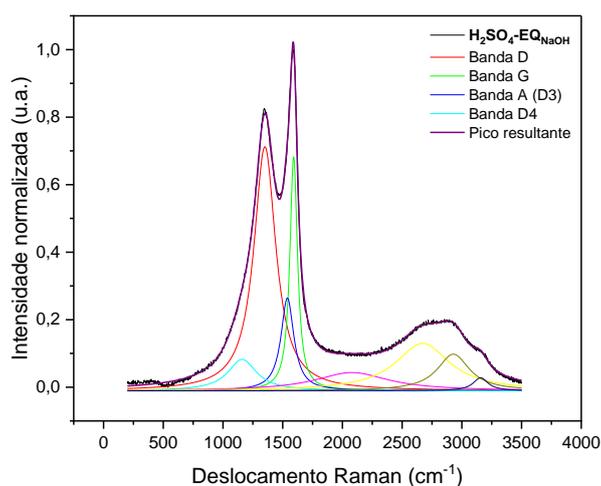
DMF-EQ _{NaOH} (R ² = 0,99917)		Dados	Valor	Desvio padrão
Banda D	Posição do pico (cm ⁻¹)		1354,3444	0,31247
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)		219,18072	2,0798
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)		243,65202	4,11892
	Altura do pico (u.a.)		0,7077	0,00556
Banda G	Posição do pico (cm ⁻¹)		1590,17763	0,27031
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)		86,01631	1,17589
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)		84,84515	2,93044
	Altura do pico (u.a.)		0,62795	0,01341
Banda A (D3)	Posição do pico (cm ⁻¹)		1529,90424	1,77877
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)		147,92033	4,24572
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)		73,24573	4,78255
	Altura do pico (u.a.)		0,31524	0,012
Banda D4	Posição do pico (cm ⁻¹)		1183,95609	3,45339
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)		335,43339	5,46195
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)		78,39547	3,35221
	Altura do pico (u.a.)		0,14879	0,00443

G.9 DMF-EQ_{PBS}



DMF-EQ_{PBS} (R² = 0,99756)		Dados	Valor	Desvio padrão
Banda D		Posição do pico (cm ⁻¹)	1344,80275	0,30697
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	193,92379	1,88101
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	246,37563	3,31772
		Altura do pico (u.a.)	0,80881	0,00366
Banda G		Posição do pico (cm ⁻¹)	1588,12879	0,24674
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	77,98353	0,9057
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	94,91889	2,26665
		Altura do pico (u.a.)	0,77487	0,01027
Banda A (D3)		Posição do pico (cm ⁻¹)	1520,10206	1,58001
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	126,85397	5,06339
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	53,99228	3,74424
		Altura do pico (u.a.)	0,27096	0,00863
Banda D4		Posição do pico (cm ⁻¹)	1171,71577	2,96547
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	199,46365	8,04932
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	29,89201	2,00915
		Altura do pico (u.a.)	0,09541	0,00341

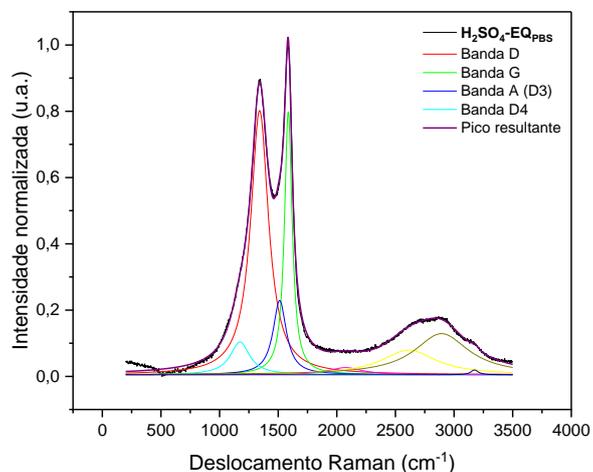
G.10 H₂SO₄-EQ_{NaOH}



H₂SO₄-EQ_{NaOH} (R² = 0,99911)		Dados	Valor	Desvio padrão
Banda D		Posição do pico (cm ⁻¹)	1350,58639	0,2468
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	222,54419	1,54615
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	252,69205	2,7089
		Altura do pico (u.a.)	0,72286	0,00304
Banda G		Posição do pico (cm ⁻¹)	1591,79256	0,22474
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	76,3222	0,92404
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	83,08768	2,5377
		Altura do pico (u.a.)	0,69305	0,01311
Banda A (D3)		Posição do pico (cm ⁻¹)	1539,39669	1,83118
		Largura à meia altura (cm ⁻¹)	130,47108	3,61709
		Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	56,32662	3,79098
Banda D4		Altura do pico (u.a.)	0,27484	0,01144
		Posição do pico (cm ⁻¹)	1160,60678	3,26465

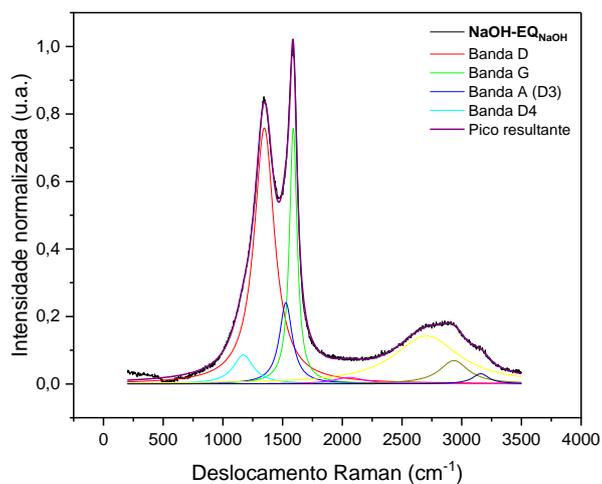
Largura à meia altura (cm ⁻¹)	291,90589	6,97792
Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	42,61392	2,07543
Altura do pico (u.a.)	0,09294	0,00273

G.11 H₂SO₄-EQPBS



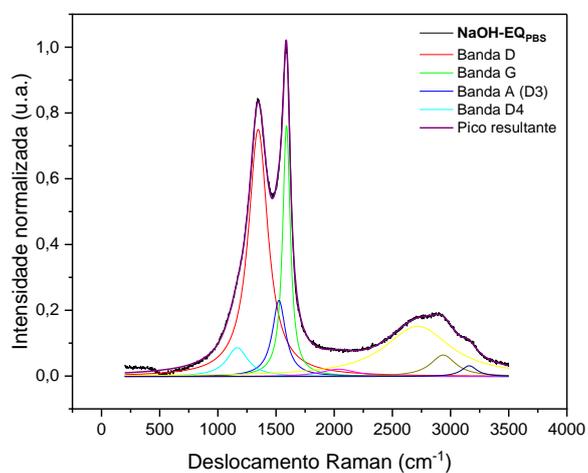
H ₂ SO ₄ -EQPBS (R ² = 0,99824)	Dados	Valor	Desvio padrão
Banda D	Posição do pico (cm ⁻¹)	1341,40713	0,25305
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)	184,31587	1,51644
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	230,77871	2,69788
	Altura do pico (u.a.)	0,7971	0,00328
Banda G	Posição do pico (cm ⁻¹)	1586,21799	0,17626
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)	78,20941	0,72544
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	97,50927	1,77913
	Altura do pico (u.a.)	0,79372	0,00774
Banda A (D3)	Posição do pico (cm ⁻¹)	1512,68039	1,54931
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)	137,28145	5,40479
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	48,33923	3,16595
	Altura do pico (u.a.)	0,22417	0,00635
Banda D4	Posição do pico (cm ⁻¹)	1173,88395	2,39863
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)	199,08072	6,32498
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	30,93356	1,63375
	Altura do pico (u.a.)	0,09892	0,00279

G.12 NaOH-EQ_{NaOH}



NaOH-EQ _{NaOH} (R ² = 0,99845)		Dados	Valor	Desvio padrão
Banda D	Posição do pico (cm ⁻¹)		1346,92433	0,2702
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)		204,95143	1,68592
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)		244,01381	2,83453
	Altura do pico (u.a.)		0,75796	0,00301
Banda G	Posição do pico (cm ⁻¹)		1589,24665	0,21222
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)		77,05077	0,84349
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)		91,57183	2,21064
	Altura do pico (u.a.)		0,7566	0,01047
Banda A (D3)	Posição do pico (cm ⁻¹)		1527,27194	1,79215
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)		130,50326	4,73788
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)		49,23948	3,49895
	Altura do pico (u.a.)		0,2402	0,0089
Banda D4	Posição do pico (cm ⁻¹)		1170,86596	2,66341
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)		204,79757	7,20272
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)		27,54782	1,68661
	Altura do pico (u.a.)		0,08563	0,00284

G.13 NaOH-EQ_{PBS}

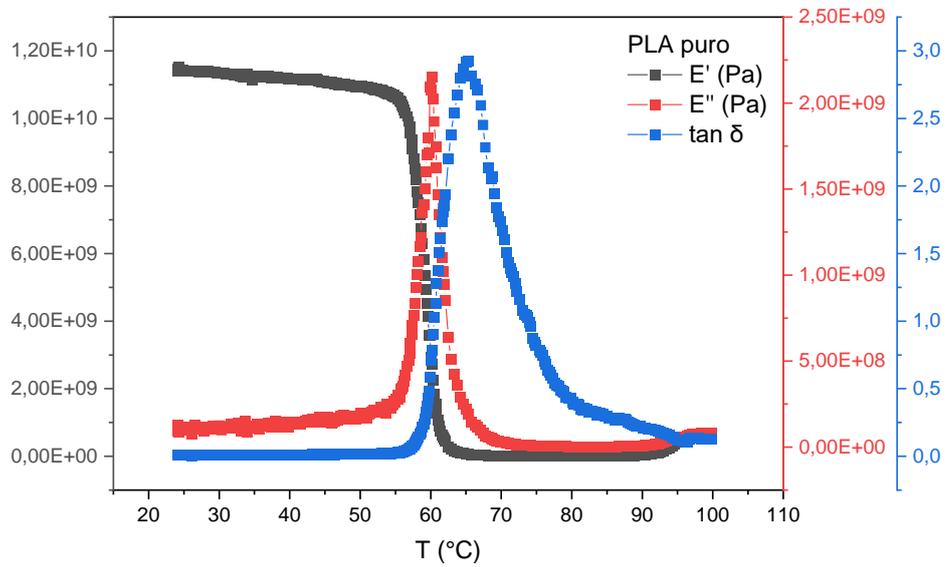


NaOH-EQ_{PBS} (R² = 0,99875)	Dados	Valor	Desvio padrão
Banda D	Posição do pico (cm ⁻¹)	1346,29831	0,24608
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)	203,2664	1,51483
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	239,97282	2,57584
	Altura do pico (u.a.)	0,75158	0,00287
Banda G	Posição do pico (cm ⁻¹)	1589,71785	0,18316
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)	78,50257	0,77158
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	94,07455	2,01724
	Altura do pico (u.a.)	0,7629	0,00929
Banda A (D3)	Posição do pico (cm ⁻¹)	1525,17186	1,73076
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)	137,44199	4,71391
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	49,93268	3,30392
	Altura do pico (u.a.)	0,23128	0,00784
Banda D4	Posição do pico (cm ⁻¹)	1166,26541	2,50344
	Largura à meia altura (cm ⁻¹)	218,85743	6,50704
	Área do pico (u.a.* cm ⁻¹)	30,19528	1,56117
	Altura do pico (u.a.)	0,08783	0,00248

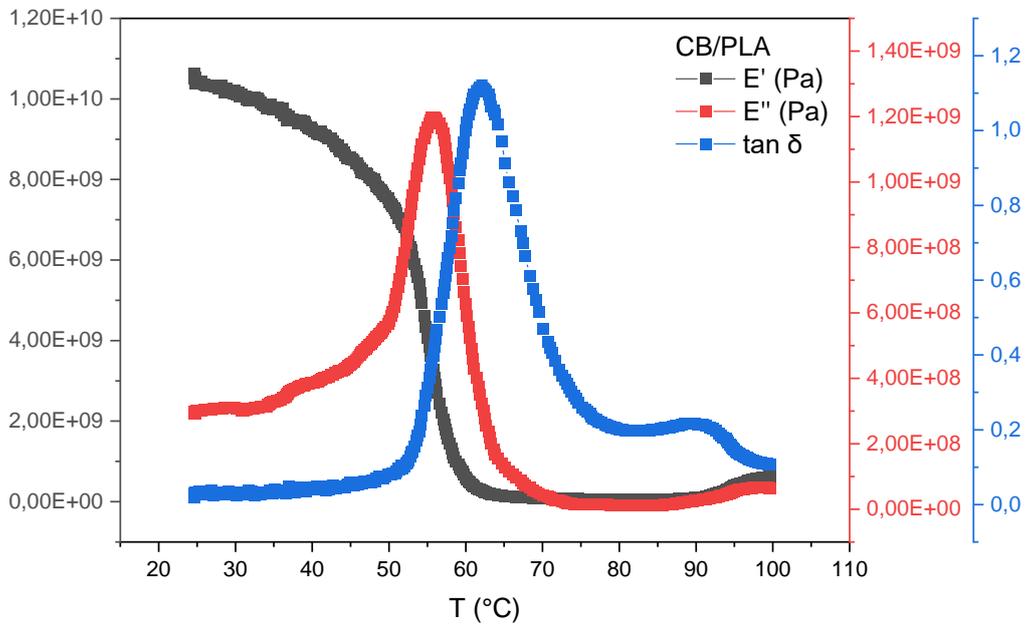
APÊNDICE H

Caracterização das amostras por DMA

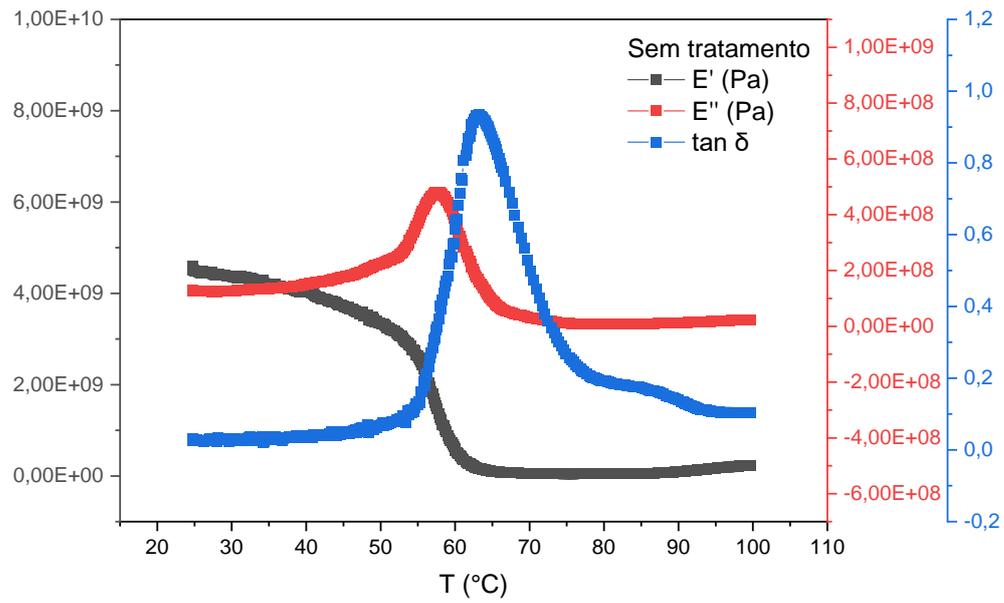
H.1 PLA puro



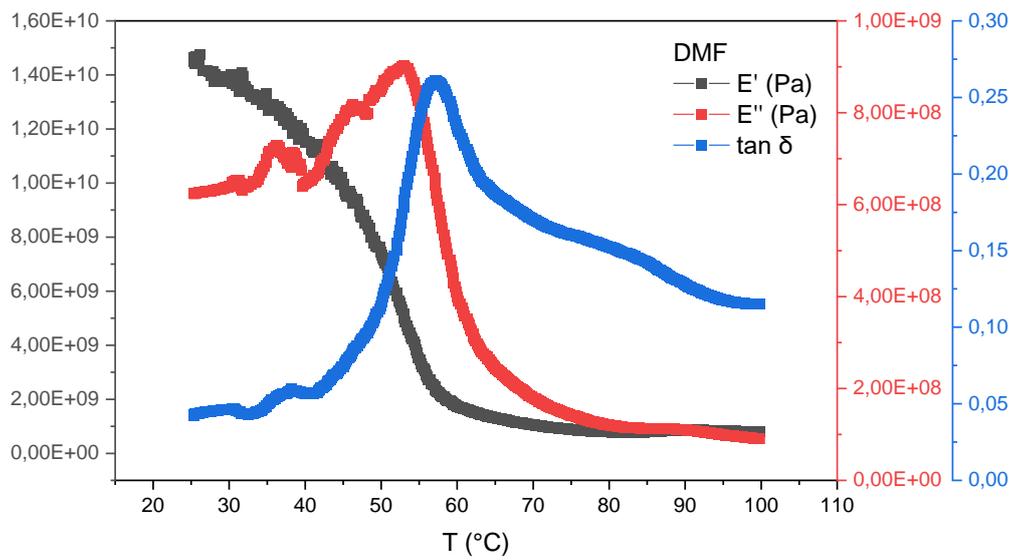
H.2 Filamento *Protopasta*® (CB/PLA)



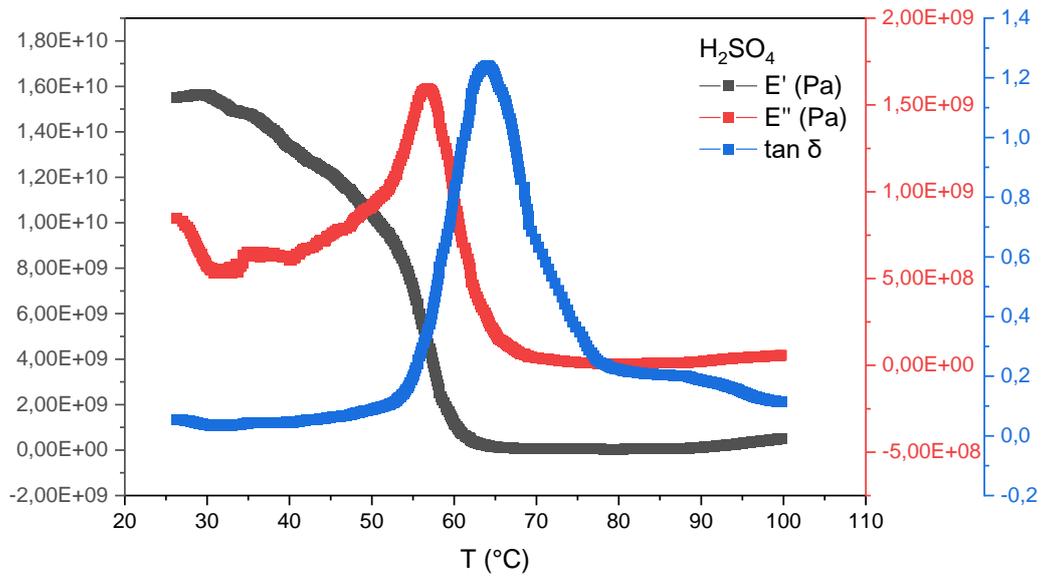
H.3 Sem tratamento



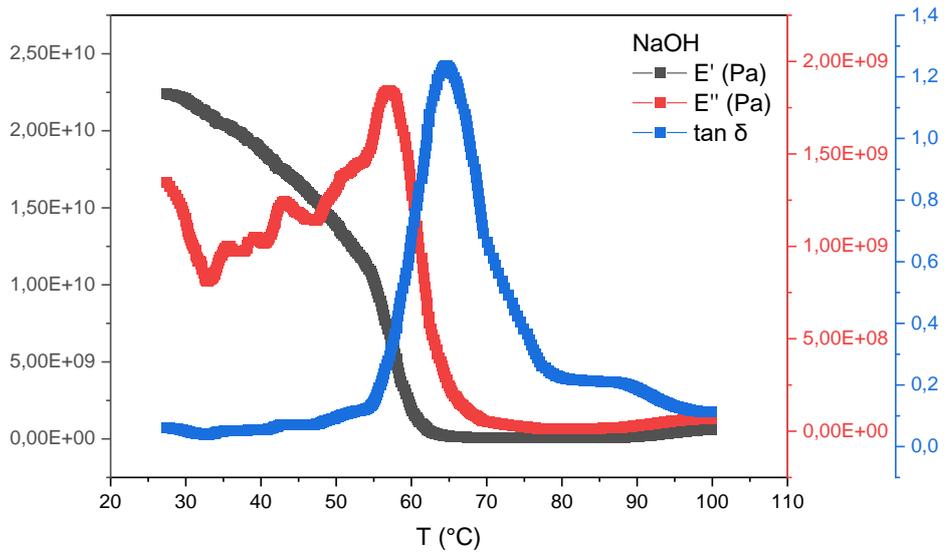
H.4 DMF



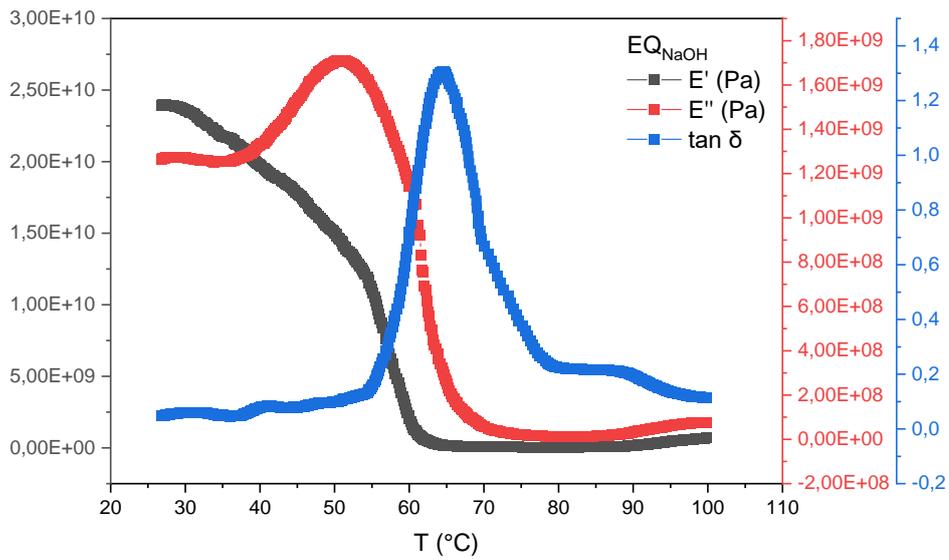
H.5 H₂SO₄



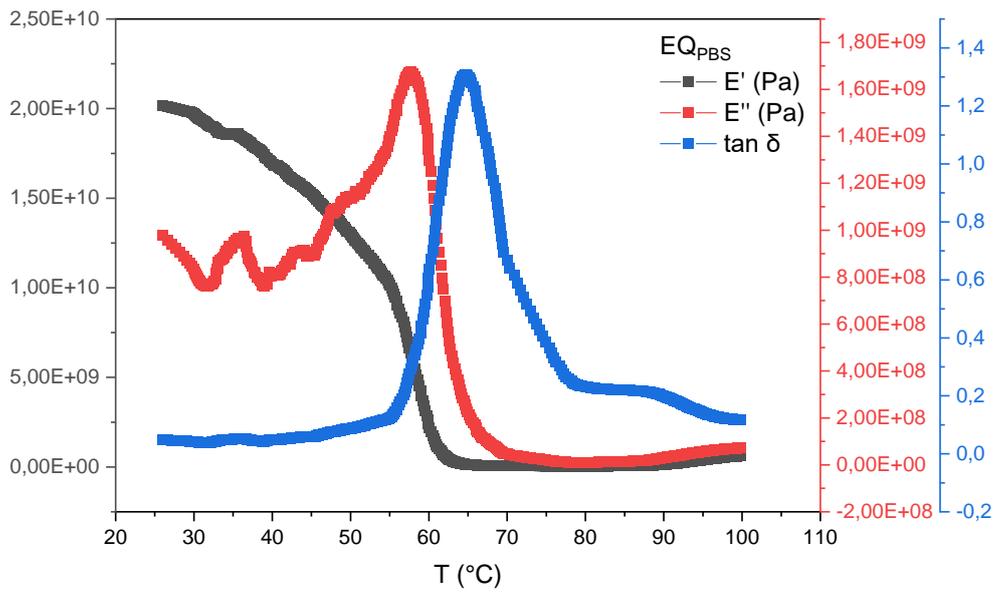
H.6 NaOH



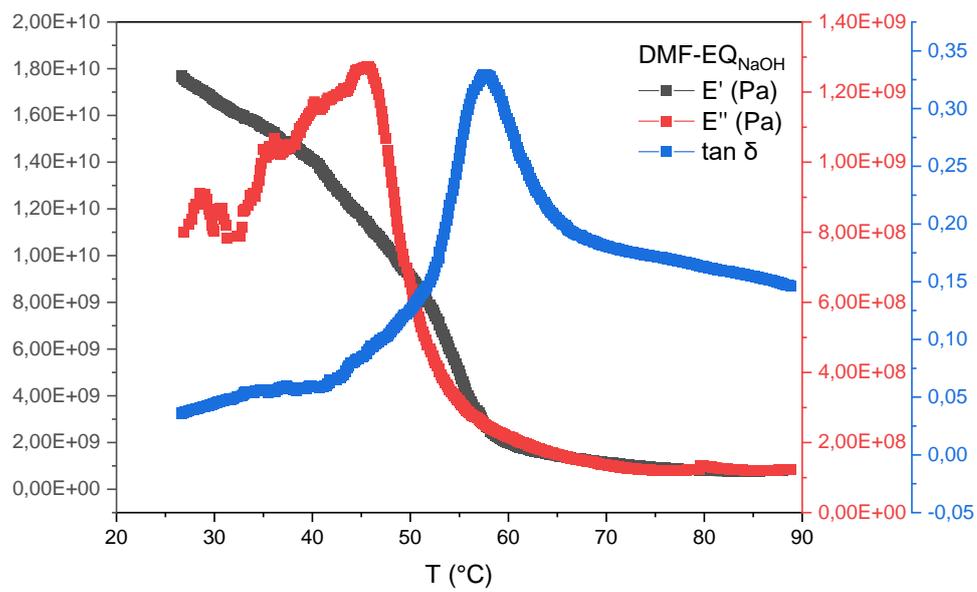
H.7 EQ_{NaOH}



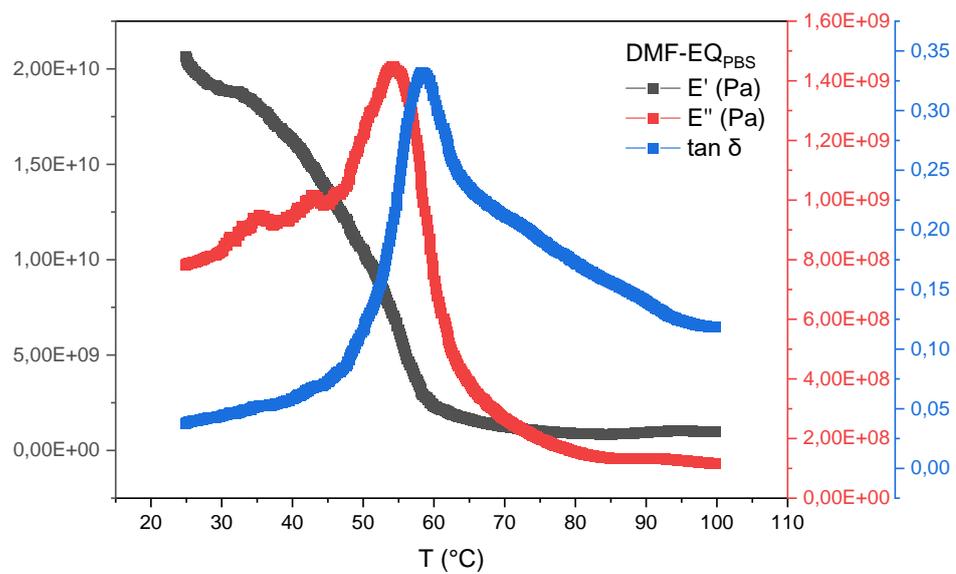
H.8 EQ_{PBS}



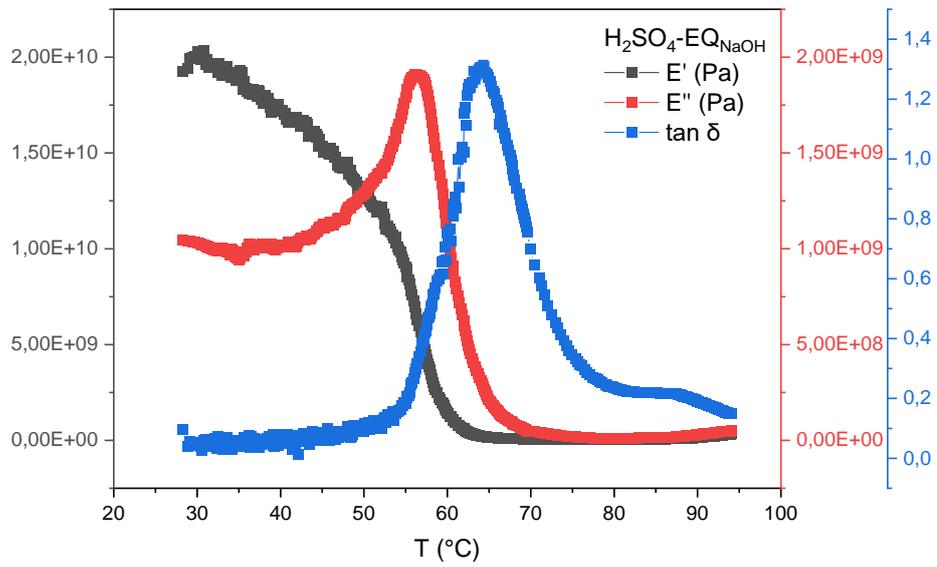
H.9 DMF-EQ_{NaOH}



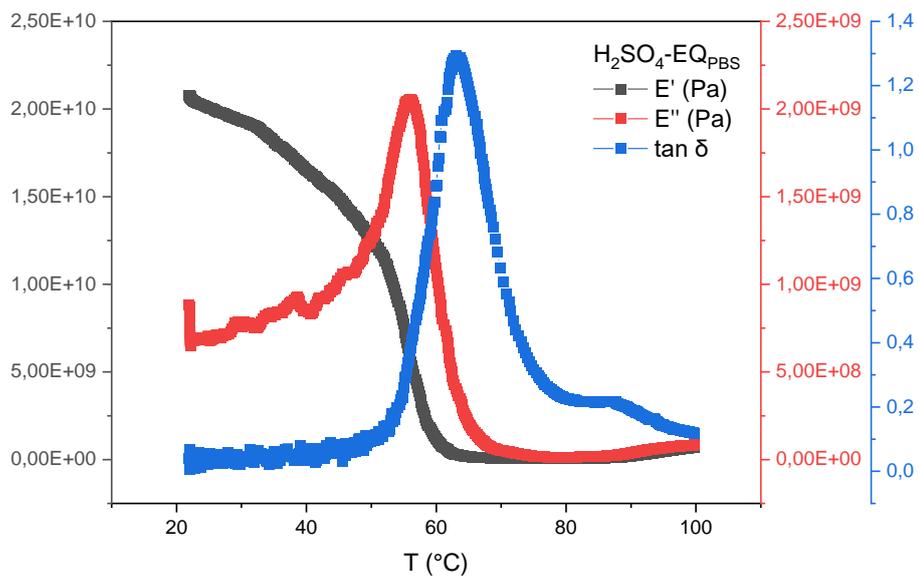
H.10 DMF-EQ_{PBS}



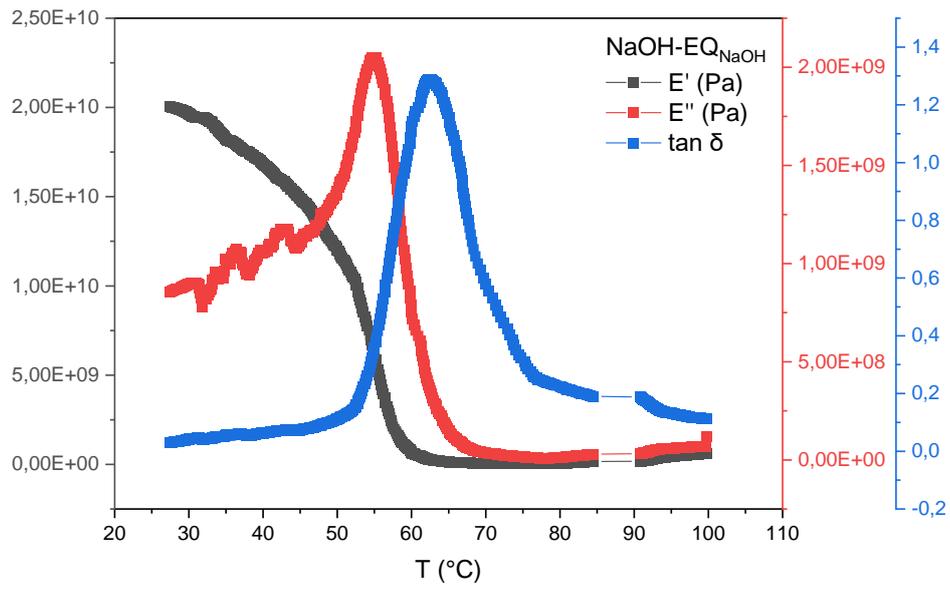
H.11 H₂SO₄-EQ_{NaOH}



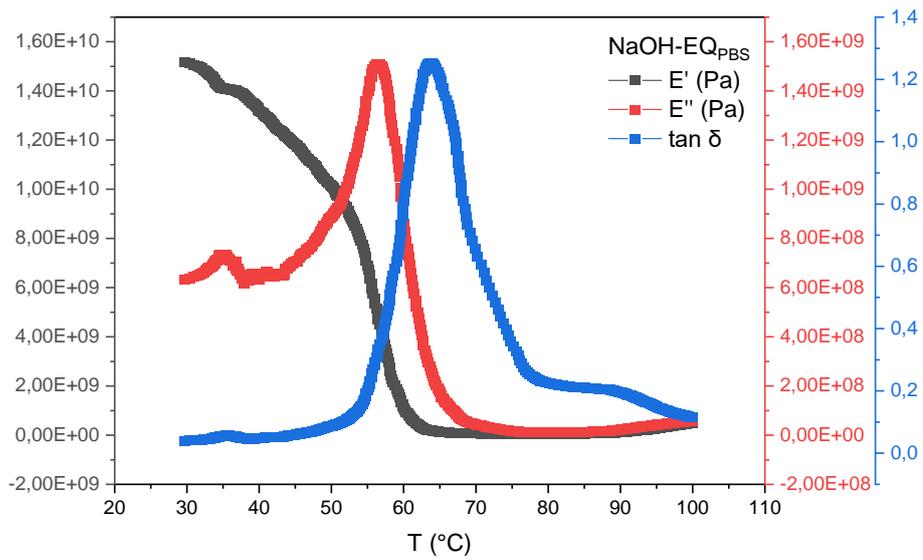
H.12 H₂SO₄-EQ_{PBS}



H.13 NaOH-EQ_{NaOH}



H.14 NaOH-EQ_{PBS}



APÊNDICE I

Resultados por CV e EIS para otimização da concentração de NaOH e do tempo de tratamento e obtenção dos modelos empíricos

I.1 Resultados por CV e EIS para eletrodos tratados com NaOH 1 mol L⁻¹

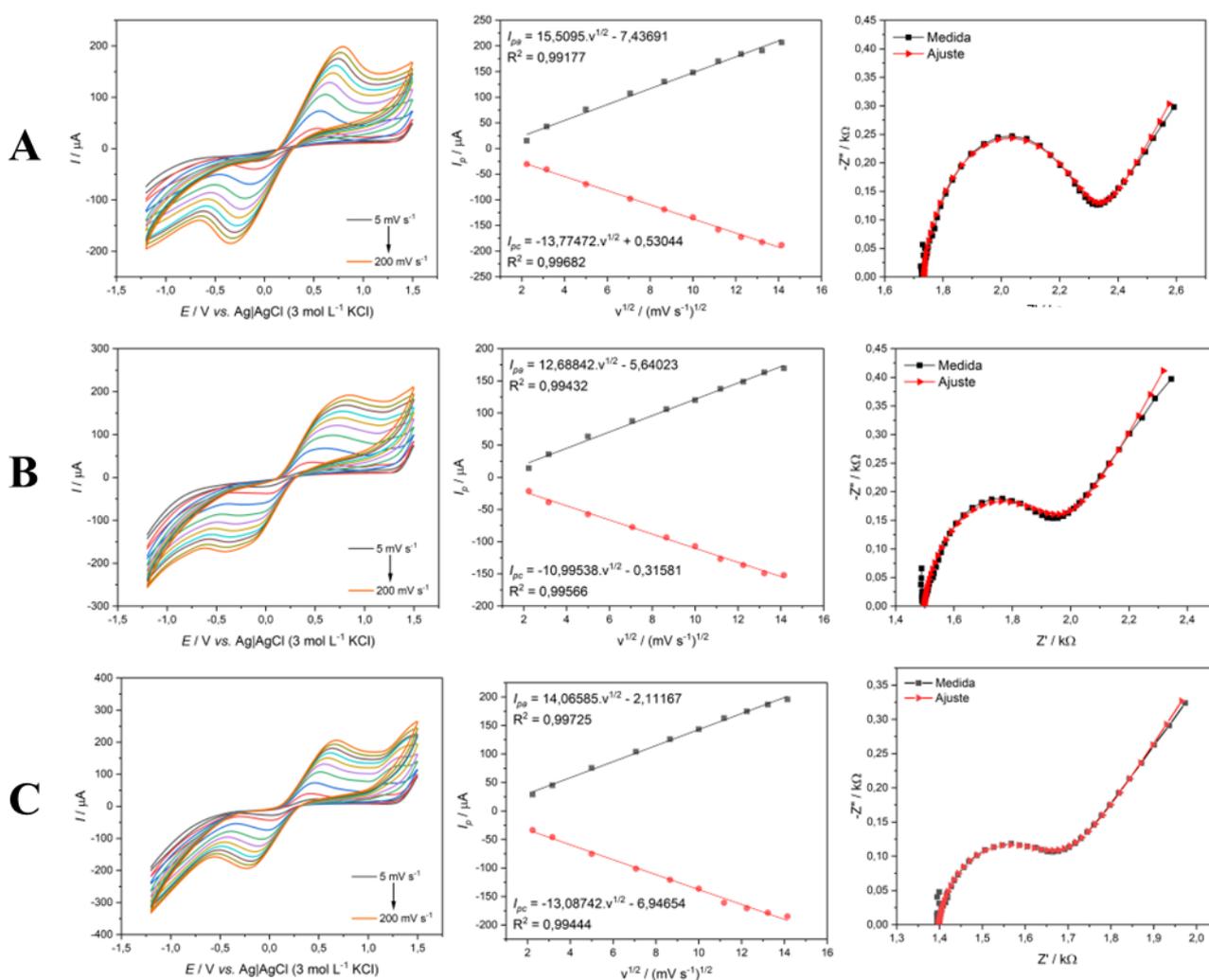


Figura I1. Voltamogramas cíclicos, I_p versus \sqrt{v} e gráficos de Nyquist dos eletrodos tratados em NaOH 1 mol L⁻¹ por 15 minutos (A), 30 minutos (B) e 45 minutos (C). As medidas foram realizadas em solução de ferricianeto/ferrrocianeto 1:1 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹.

I.2 Resultados por CV e EIS para eletrodos tratados com NaOH 2 mol L⁻¹

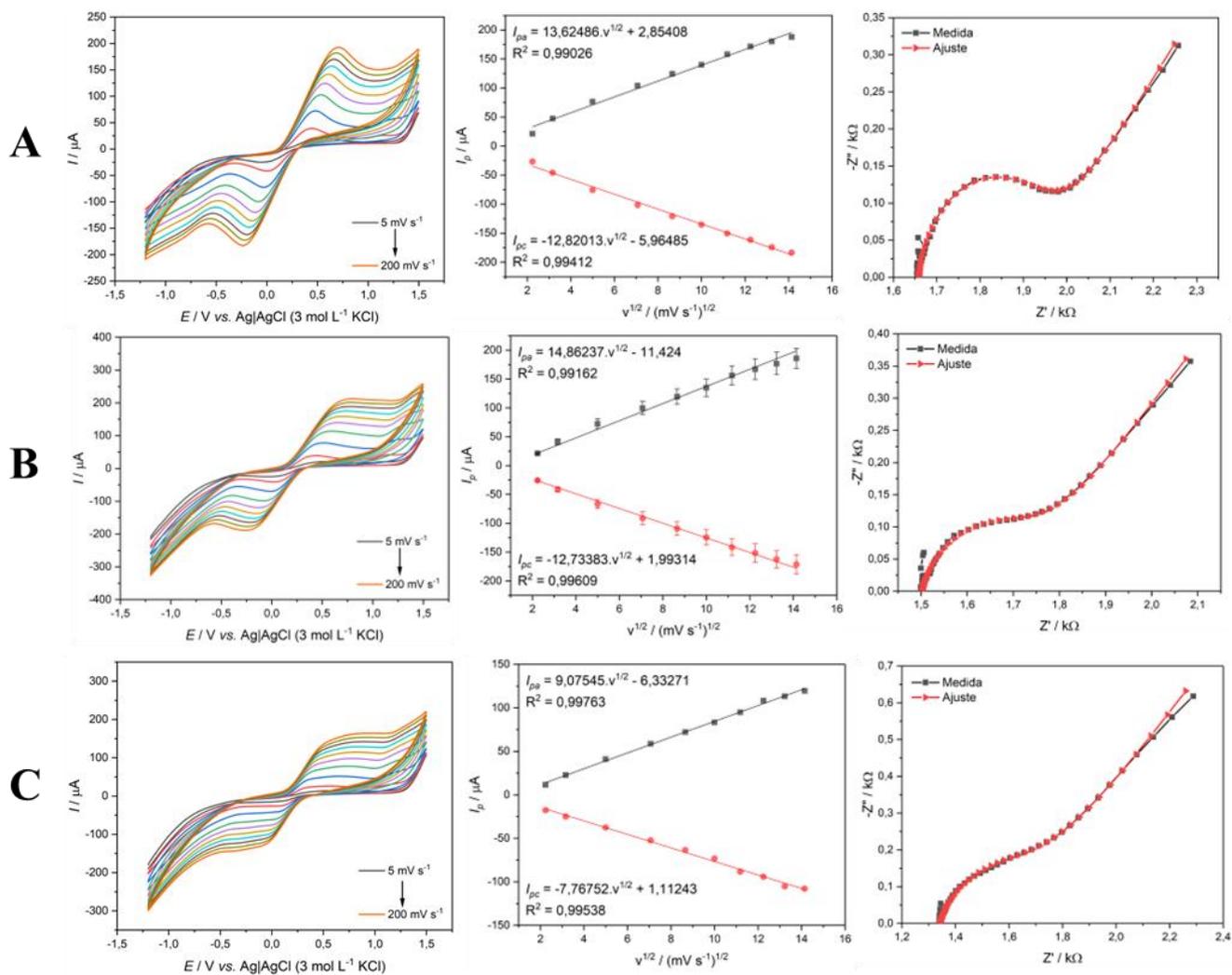


Figura I2. Voltamogramas cíclicos, I_p versus \sqrt{v} e gráficos de Nyquist dos eletrodos tratados em NaOH 2 mol L⁻¹ por 15 minutos (A), 30 minutos (ponto central), realizado em triplicata (B), e 45 minutos (C). As medidas foram realizadas em solução de ferricianeto/ferrocianeto 1:1 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹.

I.3 Resultados por CV e EIS para eletrodos tratados com NaOH 3 mol L⁻¹

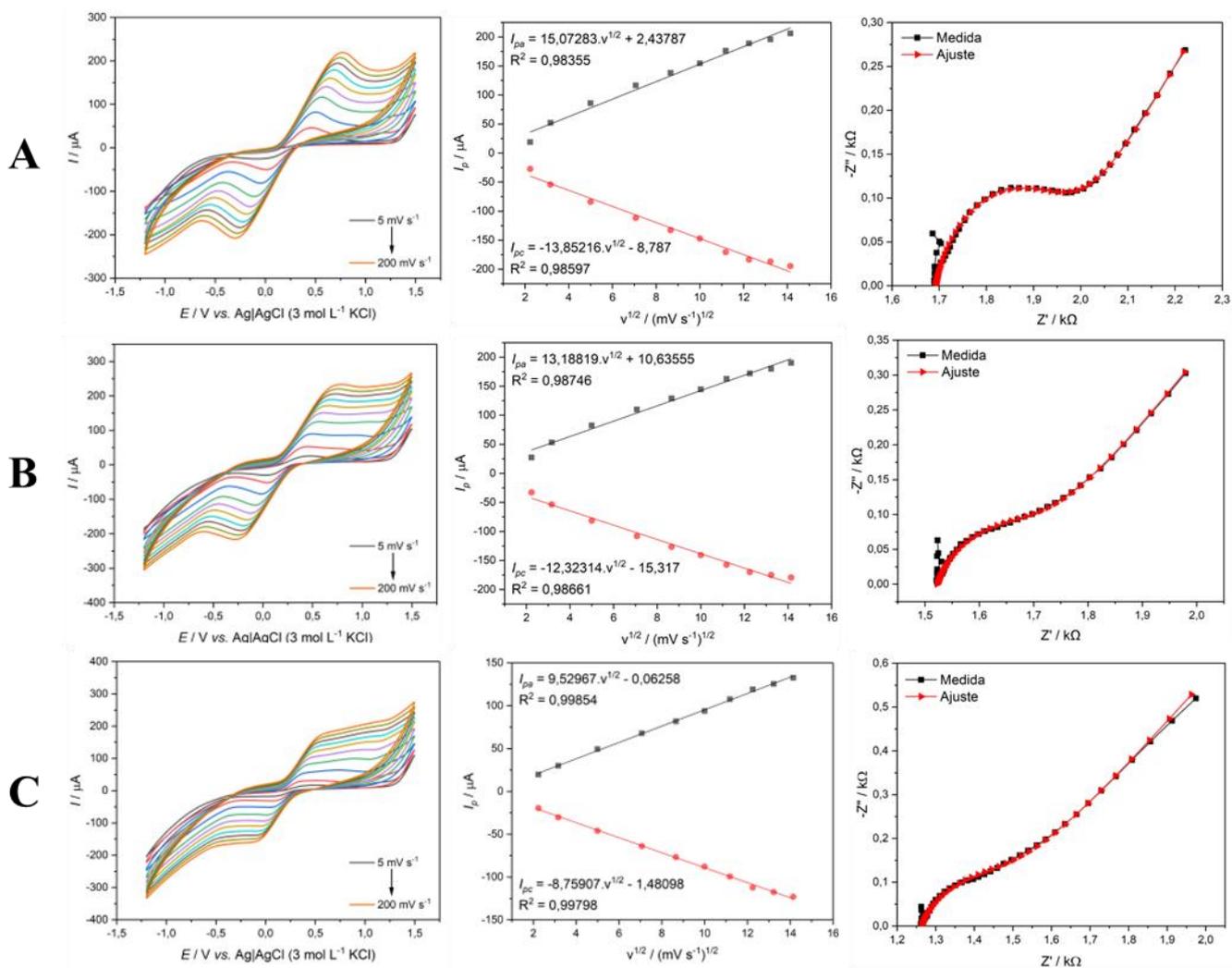


Figura I3. Voltamogramas cíclicos, I_p versus \sqrt{v} e gráficos de Nyquist dos eletrodos tratados em NaOH 3 mol L⁻¹ por 15 minutos (A), 30 minutos (B) e 45 minutos (C). As medidas foram realizadas em solução de ferricianeto/ferrocianeto 1:1 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹.

I.4 Obtenção do modelo empírico para I_{pa}

Model: $I_{pa} = a_0 + a_1 z_1 + a_2 z_2 + a_3 z_1 z_2 + a_4 z_1^2 + a_5 z_2^2 + a_6 z_1 z_2 + a_7 z_1^2 z_2 + a_8 z_1^2 z_2^2 + a_9 z_1^2 z_2^2 z_1 + a_{10} z_1^2 z_2^2 z_2$ (Dados)									
Dep. var: I_{pa} Loss: (OBS-PRED)**2									
Final loss: 353,40666667 R= ,96101 Variance explained: 92,353%									
N=11	a0	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7	a8
Estimate	119,5333	11,5500	-26,1740	-12,9350	-1,9833	-21,2073	10,9390	-20,6850	22,8223
Std.Err.	7,6747	9,3996	9,3996	6,6465	12,1348	12,1348	11,5121	11,5121	16,7266
t(2)	15,5750	1,2288	-2,7846	-1,9461	-0,1634	-1,7476	0,9502	-1,7968	1,3644
-95%CL	86,5117	-28,8930	-66,6170	-41,5325	-54,1951	-73,4191	-38,5934	-70,2174	-49,1466
+95%CL	152,5549	51,9930	14,2690	15,6625	50,2284	31,0044	60,4714	28,8474	94,7912
p-value	0,0041	0,3441	0,1084	0,1910	0,8852	0,2226	0,4423	0,2142	0,3057

Excluindo a4

Model: $I_{pa} = a_0 + a_1 z_1 + a_2 z_2 + a_3 z_1 z_2 + a_5 z_2^2 + a_6 z_1^2 z_2 + a_7 z_1^2 z_2^2 + a_8 z_1^2 z_2^2 z_1 + a_9 z_1^2 z_2^2 z_2$ (Dados)								
Dep. var: I_{pa} Loss: (OBS-PRED)**2								
Final loss: 358,12700000 R= ,96047 Variance explained: 92,251%								
N=11	a0	a1	a2	a3	a5	a6	a7	a8
Estimate	118,7400	11,5500	-26,1740	-12,9350	-20,4140	10,9390	-20,6850	20,83900
Std.Err.	4,8862	7,7258	7,7258	5,4630	9,1413	9,4621	9,4621	9,46212
t(3)	24,3010	1,4950	-3,3879	-2,3678	-2,2332	1,1561	-2,1861	2,20236
-95%CL	103,1899	-13,0369	-50,7609	-30,3206	-49,5056	-19,1737	-50,7977	-9,27369
+95%CL	134,2901	36,1369	-1,5871	4,4506	8,6776	41,0517	9,4277	50,95169
p-value	0,0002	0,2318	0,0428	0,0987	0,1117	0,3314	0,1167	0,11492

Excluindo a6

Model: $I_{pa} = a_0 + a_1 z_1 + a_2 z_2 + a_3 z_1 z_2 + a_5 z_2^2 + a_7 z_1^2 z_2^2 + a_8 z_1^2 z_2^2 z_1 + a_9 z_1^2 z_2^2 z_2$ (Dados)							
Dep. var: I_{pa} Loss: (OBS-PRED)**2							
Final loss: 517,67596133 R= ,94233 Variance explained: 88,799%							
N=11	a0	a1	a2	a3	a5	a7	a8
Estimate	118,7400	11,5500	-18,8813	-12,9350	-20,4140	-20,6850	20,83900
Std.Err.	5,0876	8,0442	4,6443	5,6881	9,5181	9,8521	9,85212
t(4)	23,3390	1,4358	-4,0655	-2,2740	-2,1448	-2,0995	2,11518
-95%CL	104,6145	-10,7843	-31,7761	-28,7278	-46,8403	-48,0389	-6,51487
+95%CL	132,8655	33,8843	-5,9866	2,8578	6,0123	6,6689	48,19287
p-value	0,0000	0,2244	0,0153	0,0853	0,0986	0,1037	0,10189

Excluindo a1

Model: $I_{pa} = a_0 + a_2 z_2 + a_3 z_1 z_2 + a_5 z_2^2 + a_7 z_1^2 z_2^2 + a_8 z_1^2 z_2^2 z_1 + a_9 z_1^2 z_2^2 z_2$ (Dados)						
Dep. var: I_{pa} Loss: (OBS-PRED)**2						
Final loss: 784,48096133 R= ,91118 Variance explained: 83,026%						
N=11	a0	a2	a3	a5	a7	a8
Estimate	118,7400	-18,8813	-12,9350	-20,4140	-9,1350	20,83900
Std.Err.	5,6017	5,1136	6,2629	10,4799	6,2629	10,84768
t(5)	21,1971	-3,6923	-2,0653	-1,9479	-1,4586	1,92106
-95%CL	104,3403	-32,0264	-29,0343	-47,3533	-25,2343	-7,04585
+95%CL	133,1397	-5,7363	3,1643	6,5253	6,9643	48,72385
p-value	0,0000	0,0141	0,0938	0,1090	0,2045	0,11278

Excluindo a7

Model: $lpa = a_0 + a_2z^2 + a_3z^1z^2 + a_5z^2^2 + a_8z^1^2z^2^2$ (Dados)					
Dep. var: lpa Loss: (OBS-PRED)**2					
Final loss: 1118,2738613 R= ,87065 Variance explained: 75,803%					
N=11	a0	a2	a3	a5	a8
Estimate	118,7400	-18,8813	-12,9350	-20,4140	20,83900
Std.Err.	6,1054	5,5734	6,8260	11,4221	11,82304
t(6)	19,4484	-3,3877	-1,8950	-1,7872	1,76258
-95%CL	103,8006	-32,5190	-29,6377	-48,3630	-8,09094
+95%CL	133,6794	-5,2436	3,7677	7,5350	49,76894
p-value	0,0000	0,0147	0,1069	0,1241	0,12844

Excluindo a8

Model: $lpa = a_0 + a_2z^2 + a_3z^1z^2 + a_5z^2^2$ (Dados)				
Dep. var: lpa Loss: (OBS-PRED)**2				
Final loss: 1697,2924227 R= ,79545 Variance explained: 63,274%				
N=11	a0	a2	a3	a5
Estimate	118,7400	-18,8813	-12,9350	-6,5213
Std.Err.	6,9638	6,3570	7,7857	9,4290
t(7)	17,0511	-2,9702	-1,6614	-0,6916
-95%CL	102,2733	-33,9133	-31,3453	-28,8174
+95%CL	135,2067	-3,8494	5,4753	15,7747
p-value	0,0000	0,0208	0,1406	0,5115

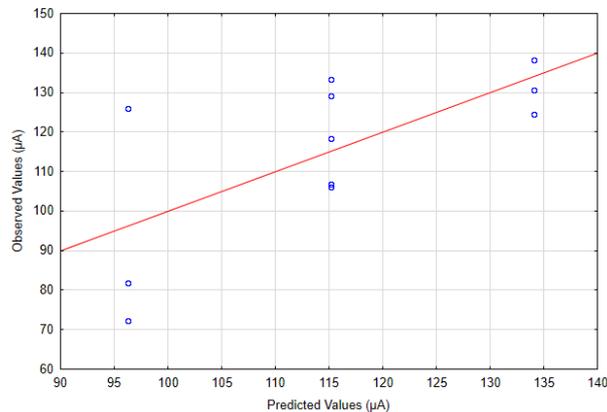
Excluindo a5

Model: $lpa = a_0 + a_2z^2 + a_3z^1z^2$ (Dados)			
Dep. var: lpa Loss: (OBS-PRED)**2			
Final loss: 1813,2773002 R= ,77952 Variance explained: 60,765%			
N=11	a0	a2	a3
Estimate	115,1829	-18,8813	-12,9350
Std.Err.	4,5393	6,1463	7,5276
t(8)	25,3745	-3,0720	-1,7183
-95%CL	104,7152	-33,0547	-30,2937
+95%CL	125,6506	-4,7080	4,4237
p-value	0,0000	0,0153	0,1241

Excluindo a3

Model: $lpa = a_0 + a_2z^2$ (Dados)		
Dep. var: lpa Loss: (OBS-PRED)**2		
Final loss: 2482,5342002 R= ,68032 Variance explained: 46,284%		
N=11	a0	a2
Estimate	115,1829	-18,8813
Std.Err.	5,0076	6,7803
t(9)	23,0016	-2,7847
-95%CL	103,8549	-34,2195
+95%CL	126,5109	-3,5432
p-value	0,0000	0,0212

A relação entre os valores obtidos e preditos pela equação acima é encontrada no gráfico abaixo:



Observações:

- O parâmetro “a3” foi mantido apenas como uma constante de ajuste para gerar uma superfície 3D.
- Equação que melhor descreve I_{pa} : $I_{pa} = a_0 + a_2 * z_2 + a_3 * z_1 * z_2$

I.5 Obtenção do modelo empírico para ΔE_p

Model: deltaEp = a0+a1*z1+a2*z2+a3*z1*z2+a4*z1^2+a5*z2^2+a... (Dados)									
Dep. var: deltaEp Loss: (OBS-PRED)**2									
Final loss: ,000724667 R= ,99654 Variance explained: 99,309%									
N=11	a0	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7	a8
Estimate	0,71233	-0,011000	-0,08650	-0,001500	0,001667	-0,12183	-0,02650	-0,05200	0,101333
Std.Err.	0,01099	0,013460	0,01346	0,009518	0,017377	0,01738	0,01648	0,01648	0,023952
t(2)	64,81716	-0,817247	-6,42654	-0,157604	0,095915	-7,01137	-1,60754	-3,15441	4,230701
-95%CL	0,66505	-0,068913	-0,14441	-0,042451	-0,073098	-0,19660	-0,09743	-0,12293	-0,001723
+95%CL	0,75962	0,046913	-0,02859	0,039451	0,076432	-0,04707	0,04443	0,01893	0,204390
p-value	0,00024	0,499655	0,02337	0,889243	0,932333	0,01974	0,24919	0,08751	0,051585

Excluindo a4

Model: deltaEp = a0+a1*z1+a2*z2+a3*z1*z2+a5*z2^2+a6*z1^2*z... (Dados)								
Dep. var: deltaEp Loss: (OBS-PRED)**2								
Final loss: ,000728000 R= ,99653 Variance explained: 99,306%								
N=11	a0	a1	a2	a3	a5	a6	a7	a8
Estimate	0,7130	-0,011000	-0,08650	-0,001500	-0,12250	-0,02650	-0,05200	0,103000
Std.Err.	0,0070	0,011015	0,01102	0,007789	0,01303	0,01349	0,01349	0,013491
t(3)	102,3456	-0,998635	-7,85281	-0,192565	-9,39899	-1,96433	-3,85450	7,634872
-95%CL	0,6908	-0,046055	-0,12155	-0,026288	-0,16398	-0,06943	-0,09493	0,060067
+95%CL	0,7352	0,024055	-0,05144	0,023288	-0,08102	0,01643	-0,00907	0,145934
p-value	0,0000	0,391567	0,00430	0,859598	0,00255	0,14424	0,03085	0,004665

Excluindo a3

Model: deltaEp = a0+a1*z1+a2*z2+a5*z2^2+a6*z1^2*z2+a7*z1*z... (Dados)							
Dep. var: deltaEp Loss: (OBS-PRED)**2							
Final loss: ,000737000 R= ,99648 Variance explained: 99,298%							
N=11	a0	a1	a2	a5	a6	a7	a8
Estimate	0,7130	-0,01100	-0,08650	-0,1225	-0,02650	-0,05200	0,103000
Std.Err.	0,0061	0,00960	0,00960	0,0114	0,01176	0,01176	0,011755
t(4)	117,4547	-1,14606	-9,01213	-10,7865	-2,25431	-4,42352	8,761992
-95%CL	0,6961	-0,03765	-0,11315	-0,1540	-0,05914	-0,08464	0,070362
+95%CL	0,7299	0,01565	-0,05985	-0,0910	0,00614	-0,01936	0,135638
p-value	0,0000	0,31567	0,00084	0,0004	0,08723	0,01148	0,000935

Excluindo a1

Model: deltaEp = a0+a2*z2+a5*z2^2+a6*z1^2*z2+a7*z1*z2^2+a8... (Dados)						
Dep. var: deltaEp Loss: (OBS-PRED)**2						
Final loss: ,000979000 R= ,99532 Variance explained: 99,067%						
N=11	a0	a2	a5	a6	a7	a8
Estimate	0,7130	-0,08650	-0,1225	-0,02650	-0,06300	0,103000
Std.Err.	0,0063	0,00989	0,0117	0,01212	0,00700	0,012118
t(5)	113,9380	-8,74233	-10,4636	-2,18675	-9,00460	8,499639
-95%CL	0,6969	-0,11193	-0,1526	-0,05765	-0,08098	0,071849
+95%CL	0,7291	-0,06107	-0,0924	0,00465	-0,04502	0,134151
p-value	0,0000	0,00032	0,0001	0,08043	0,00028	0,000371

Excluindo a6

Model: deltaEp = a0+a2*z2+a5*z2^2+a7*z1*z2^2+a8*z1^2*z2^2 (Dados)					
Dep. var: deltaEp Loss: (OBS-PRED)**2					
Final loss: ,001915333 R= ,99083 Variance explained: 98,175%					
N=11	a0	a2	a5	a7	a8
Estimate	0,71300	-0,1042	-0,12250	-0,06300	0,103000
Std.Err.	0,00799	0,0073	0,01495	0,00893	0,015473
t(6)	89,23351	-14,2810	-8,19485	-7,05220	6,656721
-95%CL	0,69345	-0,1220	-0,15908	-0,08486	0,065139
+95%CL	0,73255	-0,0863	-0,08592	-0,04114	0,140861
p-value	0,00000	0,0000	0,00018	0,00041	0,000556

Observações:

- Equação que melhor descreve ΔE_p :

$$\Delta E_p = a0+a2*z2+a5*z2^2+a7*z1*z2^2+a8*z1^2*z2^2$$

I.6 Obtenção do modelo empírico para R_{ct}

Model: $R_{ct} = a_0 + a_1z_1 + a_2z_2 + a_3z_1z_2 + a_4z_1^2 + a_5z_2^2 + a_6z_1z_2 + a_7z_1^2z_2 + a_8z_1^2z_2^2$ (Dados)									
Dep. var: Rct Loss: (OBS-PRED)**2									
Final loss: 14075,326667 R= ,93628 Variance explained: 87,663%									
N=11	a0	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7	a8
Estimate	301,1333	-120,450	52,500	63,725	27,017	51,267	-134,025	52,625	-35,692
Std.Err.	48,4344	59,320	59,320	41,945	76,582	76,582	72,652	72,652	105,560
t(2)	6,2173	-2,031	0,885	1,519	0,353	0,669	-1,845	0,724	-0,338
-95%CL	92,7369	-375,682	-202,732	-116,751	-302,487	-278,237	-446,619	-259,969	-489,882
+95%CL	509,5298	134,782	307,732	244,201	356,521	380,770	178,569	365,219	418,498
p-value	0,0249	0,179	0,470	0,268	0,758	0,572	0,206	0,544	0,767

Excluindo a8

Model: $R_{ct} = a_0 + a_1z_1 + a_2z_2 + a_3z_1z_2 + a_4z_1^2 + a_5z_2^2 + a_6z_1z_2 + a_7z_1^2z_2$ (Dados)								
Dep. var: Rct Loss: (OBS-PRED)**2								
Final loss: 14879,891974 R= ,93251 Variance explained: 86,958%								
N=11	a0	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7
Estimate	308,6474	-120,450	52,500	63,7250	8,232	32,482	-134,025	52,625
Std.Err.	36,1283	49,799	49,799	35,2135	44,248	44,248	60,992	60,992
t(3)	8,5431	-2,419	1,054	1,8097	0,186	0,734	-2,197	0,863
-95%CL	193,6709	-278,934	-105,984	-48,3401	-132,585	-108,335	-328,127	-141,477
+95%CL	423,6239	38,034	210,984	175,7901	149,049	173,298	60,077	246,727
p-value	0,0034	0,094	0,369	0,1680	0,864	0,516	0,115	0,452

Excluindo a4

Model: $R_{ct} = a_0 + a_1z_1 + a_2z_2 + a_3z_1z_2 + a_5z_2^2 + a_6z_1^2z_2 + a_7z_1^2z_2^2$ (Dados)							
Dep. var: Rct Loss: (OBS-PRED)**2							
Final loss: 15051,547833 R= ,93170 Variance explained: 86,807%							
N=11	a0	a1	a2	a3	a5	a6	a7
Estimate	311,9400	-120,450	52,5000	63,7250	34,6767	-134,025	52,6250
Std.Err.	27,4331	43,376	43,3756	30,6712	37,1446	53,124	53,1241
t(4)	11,3709	-2,777	1,2104	2,0777	0,9336	-2,523	0,9906
-95%CL	235,7734	-240,880	-67,9300	-21,4319	-68,4534	-281,521	-94,8710
+95%CL	388,1066	-0,020	172,9300	148,8819	137,8067	13,471	200,1210
p-value	0,0003	0,050	0,2928	0,1063	0,4034	0,065	0,3780

Excluindo a5

Model: $R_{ct} = a_0 + a_1z_1 + a_2z_2 + a_3z_1z_2 + a_6z_1^2z_2 + a_7z_1^2z_2^2$ (Dados)						
Dep. var: Rct Loss: (OBS-PRED)**2						
Final loss: 18331,014773 R= ,91615 Variance explained: 83,933%						
N=11	a0	a1	a2	a3	a6	a7
Estimate	330,8545	-120,450	52,5000	63,7250	-134,025	52,6250
Std.Err.	18,2563	42,815	42,8147	30,2746	52,437	52,4371
t(5)	18,1228	-2,813	1,2262	2,1049	-2,556	1,0036
-95%CL	283,9253	-230,509	-57,5588	-14,0983	-268,819	-82,1689
+95%CL	377,7838	-10,391	162,5588	141,5483	0,769	187,4189
p-value	0,0000	0,037	0,2747	0,0892	0,051	0,3616

Excluindo a7

		Model: Rct = a0+a1*z1+a2*z2+a3*z1*z2+a6*z1^2*z2 (Dados)				
		Dep. var: Rct Loss: (OBS-PRED)**2				
		Final loss: 22023,535606 R= ,89831 Variance explained: 80,696%				
N=11		a0	a1	a2	a3	a6
Estimate		330,8545	-85,367	52,5000	63,7250	-134,025
Std.Err.		18,2672	24,734	42,8403	30,2927	52,468
t(6)		18,1120	-3,451	1,2255	2,1036	-2,554
-95%CL		286,1564	-145,888	-52,3265	-10,3986	-262,411
+95%CL		375,5527	-24,845	157,3265	137,8486	-5,639
p-value		0,0000	0,014	0,2663	0,0801	0,043

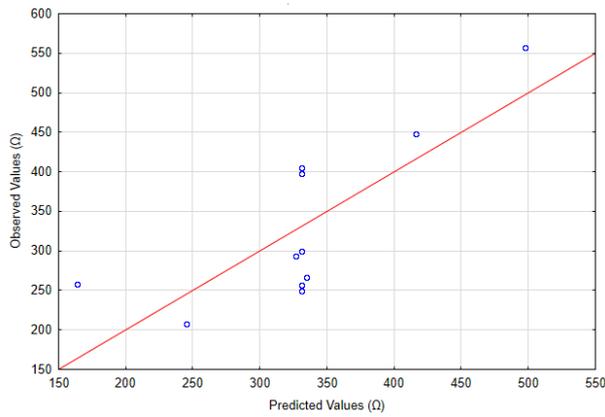
Excluindo a2

		Model: Rct = a0+a1*z1+a3*z1*z2+a6*z1^2*z2 (Dados)			
		Dep. var: Rct Loss: (OBS-PRED)**2			
		Final loss: 27536,035606 R= ,87100 Variance explained: 75,865%			
N=11		a0	a1	a3	a6
Estimate		330,8545	-85,367	63,7250	-81,525
Std.Err.		18,9106	25,605	31,3597	31,360
t(7)		17,4957	-3,334	2,0321	-2,600
-95%CL		286,1381	-145,913	-10,4289	-155,679
+95%CL		375,5710	-24,820	137,8789	-7,371
p-value		0,0000	0,013	0,0817	0,035

Excluindo a3

		Model: Rct = a0+a1*z1+a6*z1^2*z2 (Dados)		
		Dep. var: Rct Loss: (OBS-PRED)**2		
		Final loss: 43779,538106 R= ,78503 Variance explained: 61,627%		
N=11		a0	a1	a6
Estimate		330,8545	-85,367	-81,525
Std.Err.		22,3046	30,201	36,988
t(8)		14,8335	-2,827	-2,204
-95%CL		279,4201	-155,009	-166,819
+95%CL		382,2890	-15,724	3,769
p-value		0,0000	0,022	0,059

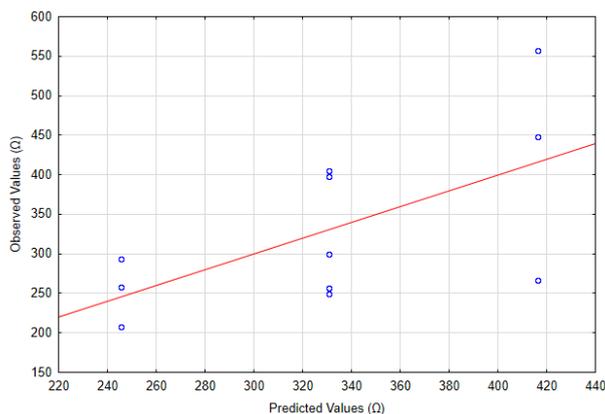
A relação entre os valores obtidos e preditos pela equação acima é encontrada no gráfico abaixo:



Excluindo a6

Model: Rct = a0+a1*z1 (Dados)		
Dep. var: Rct Loss: (OBS-PRED)**2		
Final loss: 70364,840606 R= ,61907 Variance explained: 38,325%		
N=11	a0	a1
Estimate	330,8545	-85,367
Std.Err.	26,6600	36,098
t(9)	12,4101	-2,365
-95%CL	270,5454	-167,026
+95%CL	391,1637	-3,708
p-value	0,0000	0,042

A relação entre os valores obtidos e preditos pela equação acima é encontrada no gráfico abaixo:



Observações:

- Os parâmetros “a3” e “a6” foram mantidos para gerar a superfície 3D, uma vez que o modelo mantendo esses parâmetros revelou ser o ajuste com menos parâmetros, mas com o maior número de parâmetros com significância estatística.
- Equação que melhor descreve R_{ct} : $R_{ct} = a_0 + a_1 * z_1 + a_3 * z_1 * z_2 + a_6 * z_1^2 * z_2$

I.7 Obtenção do modelo empírico para I_{pa}/I_{pc}

Model: $I_{pa}/I_{pc} = a_0 + a_1 z_1 + a_2 z_2 + a_3 z_1 z_2 + a_4 z_1^2 + a_5 z_2^2 + a_6 \dots$ (Dados)									
Dep. var: I_{pa}/I_{pc} Loss: (OBS-PRED)**2									
Final loss: ,000830041 R= ,97552 Variance explained: 95,165%									
N=11	a0	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7	a8
Estimate	1,09407	-0,05738	0,053965	0,020895	-0,015330	-0,009475	-0,06171	0,048800	-0,005300
Std.Err.	0,01176	0,01441	0,014405	0,010186	0,018597	0,018597	0,01764	0,017643	0,025634
t(2)	93,01886	-3,98329	3,746238	2,051328	-0,824330	-0,509494	-3,49750	2,766014	-0,206763
-95%CL	1,04346	-0,11936	-0,008015	-0,022932	-0,095347	-0,089492	-0,13762	-0,027110	-0,115596
+95%CL	1,14468	0,00460	0,115946	0,064722	0,064687	0,070542	0,01421	0,124710	0,104995
p-value	0,00012	0,05763	0,064443	0,176694	0,496415	0,661059	0,07292	0,109627	0,855335

Excluindo a8

Model: $I_{pa}/I_{pc} = a_0 + a_1 z_1 + a_2 z_2 + a_3 z_1 z_2 + a_4 z_1^2 + a_5 z_2^2 + a_6 \dots$ (Dados)								
Dep. var: I_{pa}/I_{pc} Loss: (OBS-PRED)**2								
Final loss: ,000847782 R= ,97499 Variance explained: 95,061%								
N=11	a0	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7
Estimate	1,0952	-0,05738	0,053965	0,020895	-0,01812	-0,01226	-0,06170	0,048800
Std.Err.	0,0086	0,01189	0,011887	0,008405	0,01056	0,01056	0,01456	0,014558
t(3)	126,9984	-4,82718	4,539881	2,485925	-1,71558	-1,16122	-4,23845	3,352016
-95%CL	1,0677	-0,09521	0,016136	-0,005854	-0,05173	-0,04588	-0,10804	0,002469
+95%CL	1,1226	-0,01955	0,091794	0,047644	0,01549	0,02135	-0,01537	0,095131
p-value	0,0000	0,01695	0,020010	0,088803	0,18475	0,32955	0,02404	0,043993

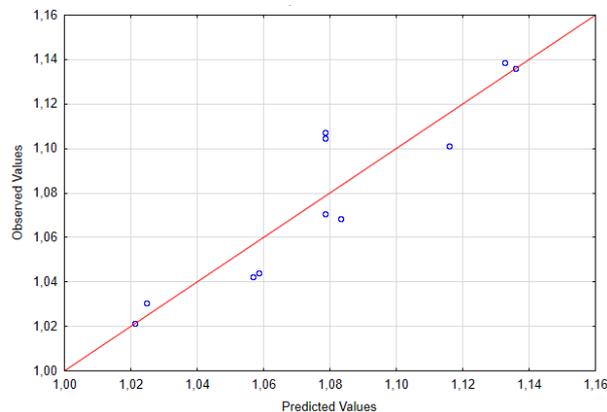
Excluindo a5

Model: $I_{pa}/I_{pc} = a_0 + a_1 z_1 + a_2 z_2 + a_3 z_1 z_2 + a_4 z_1^2 + a_6 z_1^2 z_2 \dots$ (Dados)							
Dep. var: I_{pa}/I_{pc} Loss: (OBS-PRED)**2							
Final loss: ,001228839 R= ,96354 Variance explained: 92,842%							
N=11	a0	a1	a2	a3	a4	a6	a7
Estimate	1,0903	-0,05738	0,053965	0,020895	-0,02139	-0,06171	0,048800
Std.Err.	0,0078	0,01239	0,012394	0,008764	0,01061	0,01518	0,015179
t(4)	139,0931	-4,62976	4,354213	2,384268	-2,01538	-4,06511	3,214931
-95%CL	1,0685	-0,09179	0,019554	-0,003437	-0,05086	-0,10385	0,006656
+95%CL	1,1120	-0,02297	0,088376	0,045227	0,00808	-0,01956	0,090944
p-value	0,0000	0,00981	0,012117	0,075637	0,11410	0,01528	0,032436

Excluindo a4

		Model: lpalpc = a0+a1*z1+a2*z2+a3*z1*z2+a6*z1^2*z2+a7*z1*z... (Dados)					
		Dep. var: lpalpc Loss: (OBS-PRED)**2					
		Final loss: ,002476654 R= ,92506 Variance explained: 85,573%					
N=11		a0	a1	a2	a3	a6	a7
Estimate		1,0786	-0,05738	0,053965	0,020895	-0,06171	0,048800
Std.Err.		0,0067	0,01574	0,015737	0,011128	0,01927	0,019274
t(5)		160,7364	-3,64609	3,429095	1,877693	-3,20142	2,531871
-95%CL		1,0614	-0,09783	0,013511	-0,007710	-0,11125	-0,000746
+95%CL		1,0959	-0,01693	0,094419	0,049500	-0,01216	0,098346
p-value		0,0000	0,01481	0,018654	0,119229	0,02396	0,052410

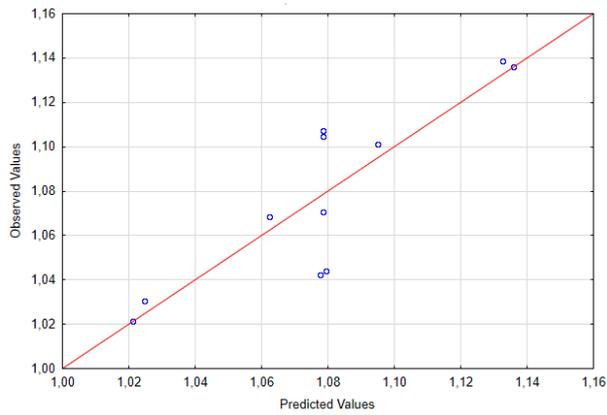
A relação entre os valores obtidos e preditos pela equação acima é encontrada no gráfico abaixo:



Excluindo a3

		Model: lpalpc = a0+a1*z1+a2*z2+a6*z1^2*z2+a7*z1*z2^2 (Dados)				
		Dep. var: lpalpc Loss: (OBS-PRED)**2				
		Final loss: ,004223058 R= ,86833 Variance explained: 75,399%				
N=11		a0	a1	a2	a6	a7
Estimate		1,0786	-0,05738	0,053965	-0,06170	0,048801
Std.Err.		0,0080	0,01876	0,018760	0,02298	0,022976
t(6)		134,8416	-3,05873	2,876656	-2,68566	2,124011
-95%CL		1,0590	-0,10328	0,008062	-0,11792	-0,007419
+95%CL		1,0982	-0,01148	0,099868	-0,00549	0,105020
p-value		0,0000	0,02226	0,028181	0,03626	0,077851

A relação entre os valores obtidos e preditos pela equação acima é encontrada no gráfico abaixo:

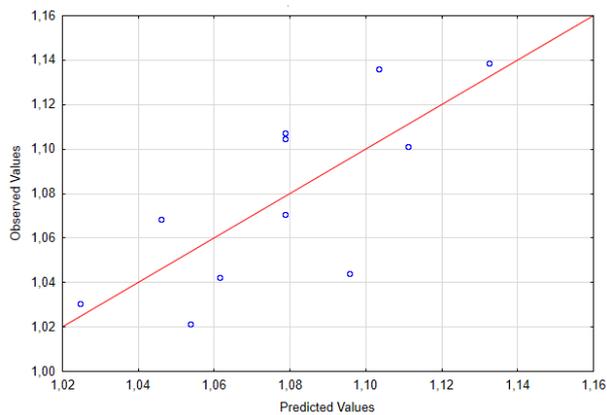


Excluindo a7

Model: $l_{palpc} = a_0 + a_1 \cdot z_1 + a_2 \cdot z_2 + a_6 \cdot z_1^2 \cdot z_2$ (Dados)
 Dep. var: l_{palpc} Loss: $(OBS - PRED)**2$
 Final loss: ,007398311 R= ,75434 Variance explained: 56,903%

N=11	a0	a1	a2	a6
Estimate	1,0786	-0,02485	0,053965	-0,06170
Std.Err.	0,0098	0,01327	0,022988	0,02815
t(7)	110,0385	-1,87209	2,347520	-2,19166
-95%CL	1,0554	-0,05623	-0,000393	-0,12828
+95%CL	1,1018	0,00654	0,108323	0,00487
p-value	0,0000	0,10336	0,051274	0,06452

A relação entre os valores obtidos e preditos pela equação acima é encontrada no gráfico abaixo:



Excluindo a1

		Model: $I_{pa}I_{pc} = a_0 + a_2 z_2 + a_6 z_1^2 z_2$ (Dados)		
		Dep. var: $I_{pa}I_{pc}$ Loss: (OBS-PRED)**2		
		Final loss: ,011102452 R= ,59435 Variance explained: 35,325%		
N=11		a0	a2	a6
Estimate		1,07861	0,053965	-0,06171
Std.Err.		0,01123	0,026342	0,03226
t(8)		96,02790	2,048626	-1,91261
-95%CL		1,05271	-0,006780	-0,13610
+95%CL		1,10451	0,114710	0,01269
p-value		0,00000	0,074667	0,09216

Excluindo a6

		Model: $I_{pa}I_{pc} = a_0 + a_2 z_2$ (Dados)	
		Dep. var: $I_{pa}I_{pc}$ Loss: (OBS-PRED)**2	
		Final loss: ,016179128 R= ,23983 Variance explained: 5,7519%	
N=11		a0	a2
Estimate		1,07861	0,012828
Std.Err.		0,01278	0,017309
t(9)		84,37341	0,741122
-95%CL		1,04969	-0,026328
+95%CL		1,10753	0,051985
p-value		0,00000	0,477510

Observações:

- Apenas os parâmetros “a5” e “a8” foram excluídos, uma vez que o modelo mantendo os outros parâmetros revelou ser o ajuste com menos parâmetros, mas com o maior número de parâmetros com significância estatística.
- Equação que melhor descreve I_{pa}/I_{pc} :

$$I_{pa}/I_{pc} = a_0 + a_1 z_1 + a_2 z_2 + a_3 z_1 z_2 + a_4 z_1^2 + a_6 z_1^2 z_2 + a_7 z_1 z_2^2$$

APÊNDICE J

Dados de CV e EIS para a avaliação da utilização de nanopartículas magnéticas sobre os eletrodos tratados e análise de variância para as variáveis I_{pa} (75 mV s^{-1}), I_{pa}/I_{pc} (75 mV s^{-1}), ΔE_p (75 mV s^{-1}) e R_{ct}

J.1 Dados de CV e EIS para a avaliação da utilização de nanopartículas magnéticas sobre os eletrodos tratados.

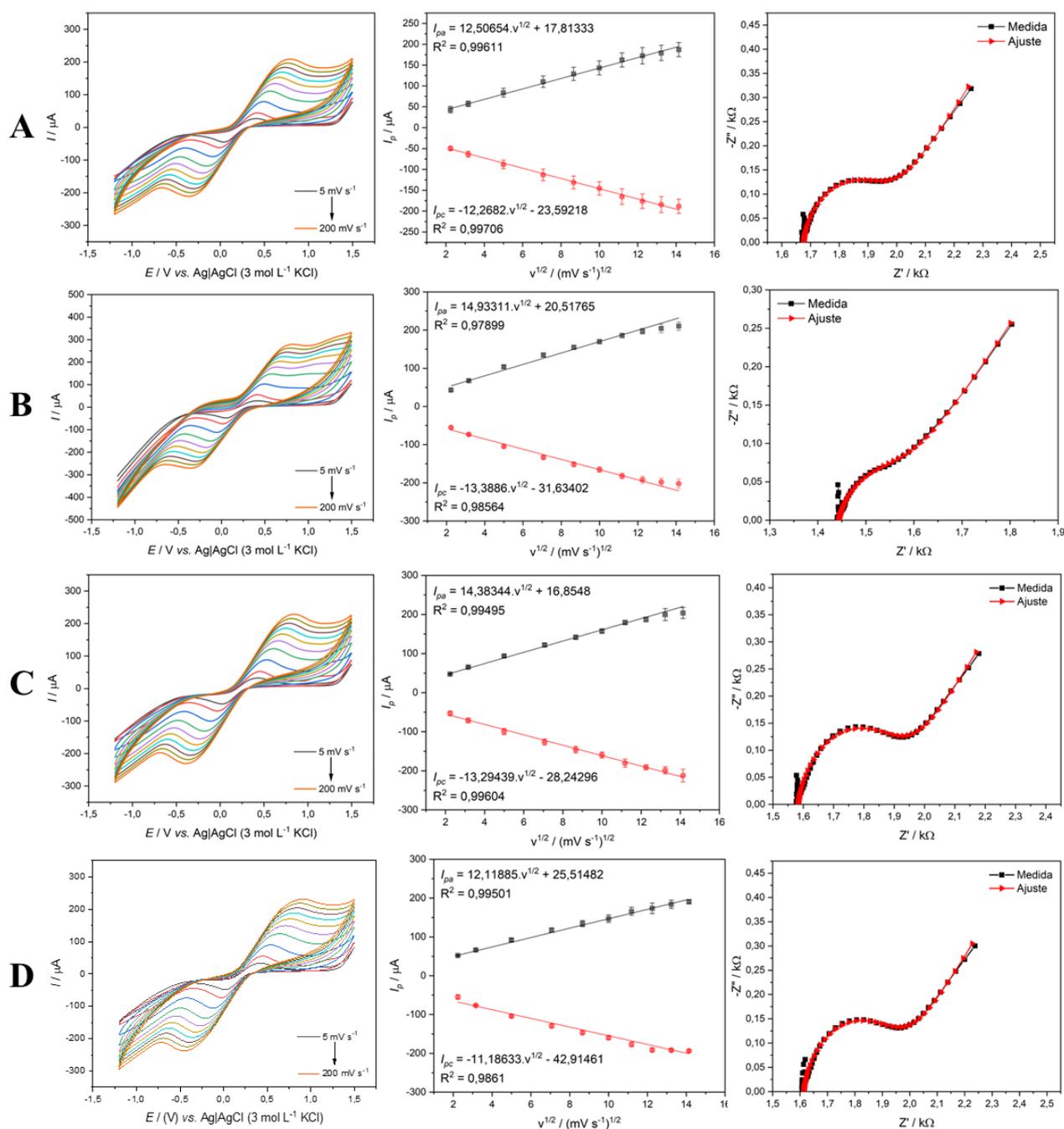


Figura J1. Voltamogramas cíclicos, I_p versus \sqrt{v} e gráficos de Nyquist dos eletrodos tratados em NaOH 3 mol L⁻¹ por 15 minutos sobre os quais foram depositados 20 µL de uma dispersão de nanopartículas magnéticas de 0,05 (A), 1 (B), 2 (C) e 10 mg mL⁻¹ (D). As medidas foram realizadas em solução de Fe(CN)₆^{3-/4-} 1:1 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹.

J.2 Análise de variância para as variáveis I_{pa} (75 mV s⁻¹), I_{pa}/I_{pc} (75 mV s⁻¹), ΔE_p (75 mV s⁻¹) e R_{ct} obtidas a partir dos dados de CV e EIS dos eletrodos com magnetita.

Tabela J1. Tabela de análise de variância para I_{pa} (75 mV s⁻¹), obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para I_{pa} (NaOH-magnetita) Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	290649,6	1	290649,6	3853,645	0,000000
Variável (Eletrodos)	1183,1	4	295,8	3,922	0,036248
Erro	754,2	10	75,4		

Tabela J2. Tabela de análise de variância para I_{pa}/I_{pc} (75 mV s⁻¹), obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para I_{pa}/I_{pc} (NaOH-magnetita) Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	14,23720	1	14,23720	15026,23	0,000000
Variável (Eletrodos)	0,01790	4	0,00448	4,72	0,021196
Erro	0,00947	10	0,00095		

Tabela J3. Tabela de análise de variância para ΔE_p (75 mV s⁻¹), obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para ΔE_p (NaOH-magnetita) Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	10,51858	1	10,51858	7126,732	0,000000
Variável (Eletrodos)	0,04601	4	0,01150	7,794	0,004043
Erro	0,01476	10	0,00148		

Tabela J4. Tabela de análise de variância para R_{ct} , obtida no *software Statistica 12*.

Efeito	Testes Univariados de Significância para R_{ct} (NaOH-magnetita)				
	Parametrização restrita por sigma Decomposição efetiva da hipótese				
	Soma dos Quadrados (SS)	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (MS)	Estatística F (F)	p-valor (p)
Intercepto	1216666	1	1216666	1026,488	0,000000
Variável (Eletrodos)	66840	4	16710	14,098	0,000407
Erro	11853	10	1185		

APÊNDICE K

Atividade catalítica da fosfatase ácida e ensaio cinético

Butmee *et al.* (2021) parecem ter desenvolvido o único biossensor eletroquímico para detecção de glifosato na literatura baseado na inibição da fosfatase ácida, utilizando fenilfosfato como substrato. No entanto, o tempo de incubação empregado pelos autores não é claramente especificado. Trabalhos como os de Sok e Fragoso (2019), que investigaram a detecção de glifosato baseada na inibição da atividade da tirosinase com uma concentração ótima de substrato de $1,4 \text{ mmol L}^{-1}$, e de Zambrano-Intriago *et al.* (2023), que utilizaram a inibição competitiva da atividade da peroxidase de raiz-forte (HRP) pelo glifosato, empregando hidroquinona como mediador redox e uma concentração de $0,075 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 , adotaram um tempo de incubação de 5 minutos.

Nos experimentos conduzidos por Butmee e colaboradores (2021), o tampão acetato foi utilizado ao longo dos ensaios. Embora sua faixa tamponante esteja entre pH 3,6 e 5,6, o pH foi ajustado para diversos valores, sendo o pH 7 escolhido. Ao considerar a diluição de amostras reais em tampões fora de sua região tamponante para a detecção do analito, mesmo pequenas quantidades de amostra poderiam levar a possíveis variações no pH da solução. Como a validação do biossensor é realizada no pH selecionado, variações no pH poderiam introduzir erros nos resultados obtidos. Além disso, a força iônica é outro fator que influencia a atividade enzimática, juntamente com temperatura e pH (DALE; WHITE, 1983). Embora a correção do pH sem considerar a força iônica possa não causar grandes variações, os ensaios para determinação do pH ótimo em tampões com diferentes forças iônicas poderiam ter sido realizados com a enzima apresentando diferentes atividades catalíticas não somente devido ao pH, mas também em função dessa variável.

No estudo de Butmee *et al.* (2021), a concentração de fenilfosfato, substrato utilizado para a fosfatase ácida, foi de 20 g L^{-1} , o que corresponde a aproximadamente $78,7 \text{ mmol L}^{-1}$. Nos testes iniciais com os biossensores desta dissertação, $20 \mu\text{L}$ de uma solução de fosfatase ácida a 5 mg L^{-1} foram depositados e ancorados por adsorção física sobre o eletrodo tratado, que foi seco a vácuo por 2 horas e armazenado em geladeira até o dia seguinte. Altas concentrações do substrato podem deslocar o inibidor da enzima, reduzindo ou mascarando seu efeito (ZAMBRANO-INTRIAGO *et al.*, 2023), por isso, optou-se por utilizar, nos testes iniciais, uma solução de fenilfosfato com concentração de 1 mmol L^{-1} , preparada no tampão utilizado. Além disso, somente para garantir a

presença suficiente do herbicida nos testes iniciais e verificar a sua inibição, foi utilizada uma concentração de glifosato de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, preparada juntamente com o substrato no mesmo tampão, bem acima do limite de concentração permitido pela legislação.

Considerando os desafios associados ao uso do tampão acetato, optou-se inicialmente pelo uso do tampão Britton-Robinson (BR), um tampão universal, em cinco valores de pH (de 4 a 8), com força iônica de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, preparado conforme a Tabela 10. Também foi testado o tampão PBS 1x (pH 7,0). No entanto, para um tempo de incubação de 5 minutos, a ausência de picos ou a não verificação da inibição foi evidenciada. Durante os experimentos, a célula eletroquímica de 25 mL utilizada foi preenchida com 20 mL do tampão contendo o substrato, garantindo que apenas a parte circular dos eletrodos, presos sempre na mesma posição, ficasse submersa e assegurasse que a área em contato com a solução fosse constante.

Diante dos resultados preliminares insatisfatórios, optou-se por investigar a atividade catalítica da fosfatase ácida utilizada, verificar o mecanismo de inibição pelo glifosato e explorar diferentes concentrações de substrato e tempos de incubação usando espectrofotometria UV-Vis, empregando uma placa de 96 poços, otimizando, assim, o uso de reagentes.

Embora o melhor pH para a atividade enzimática não seja necessariamente o mais adequado para a inibição pelo glifosato, para os testes em meio líquido, optou-se pelo uso de tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5,6, próximo ao pH 5,7, que é o valor ideal para a fosfatase ácida segundo o fabricante (Sigma-Aldrich, [s.d.]).

O volume das reações foi 200 μL , e a reação foi parada pela adição de 100 μL de NaOH 2 mol L^{-1} . Assim, inicialmente, curvas de absorção do tampão; da solução de NaOH; do tampão com substrato (1 mmol L^{-1}) e NaOH; do tampão com a enzima ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ – 20 μL de uma solução 5 mg mL^{-1} de enzima, mesma quantidade depositada sobre os eletrodos) e NaOH; do tampão com glifosato ($1 \mu\text{g mL}^{-1}$) e NaOH; do tampão com fenol (1 mmol L^{-1}), que é o produto gerado, e NaOH; do tampão com substrato, enzima e NaOH e, por fim, do tampão com substrato, enzima, glifosato e NaOH foram obtidos a fim de verificar onde ocorrem picos de absorção. Os resultados são apresentados no Apêndice I. Verificou-se que o tampão, o NaOH e o glifosato não absorvem luz UV-Vis. Além disso o término do pico do substrato não coincide com o ponto máximo de absorção pelo fenol. Verificou-se que a absorbância máxima do fenol acontece em 285 nm (Figura AK1), comprimento de onda utilizado para o tratamento dos dados.

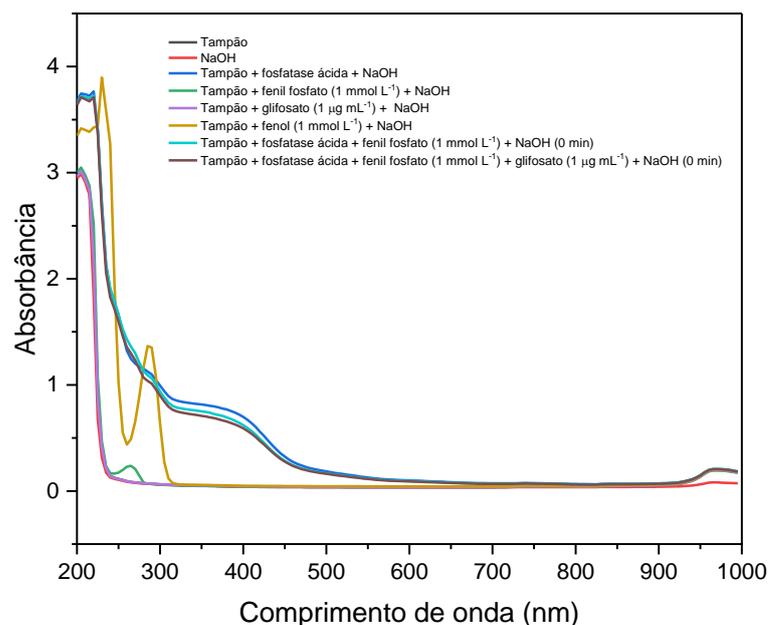


Figura K1. Curvas de absorção do tampão acetato, da solução de NaOH 2 mol L⁻¹, da fosfatase ácida, do fenilfosfato, do fenol e do glifosato, obtidas por espectroscopia UV-Vis.

A curva de cinética enzimática foi, então, produzida utilizando diferentes concentrações de substrato e parando a reação após 2 minutos, na taxa inicial de reação. As concentrações e volumes adicionados para os ensaios com e sem inibidor em cada poço estão descritos nas Tabelas 8 e 9. Após testes iniciais, os experimentos envolvendo tampão e enzima sem substrato, com ou sem glifosato, e com adição de NaOH foram escolhidos como branco para os ensaios com e sem o herbicida, respectivamente. Os dados coletados, presentes na Figura K2, foram ajustados à equação de Michaelis-Menten (Equação A1) (HARVEY, 2021) no *software Origin*.

$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{k_2[E]_0[S]}{K_m + [S]} = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \text{ (Equação K1)}$$

A principal equação que descreve a absorção de luz por uma substância é a lei de Lambert-Beer (Equação K2), que estabelece que a absorbância (A) é diretamente proporcional à concentração (C) da substância, ao comprimento do caminho da luz através da amostra (d) e à absorvidade molar (ϵ), uma constante característica da substância para um dado comprimento de onda (METTLER TOLEDO, [s.d.], ROCHA e TEIXEIRA, 2004):

$$A = \epsilon \cdot d \cdot C \text{ (Equação K2)}$$

Uma vez que a absorvância é diretamente proporcional à concentração pela lei de Lambert-Beer (Equação K2), a variação do produto gerado com o tempo (dC_{produto}/dt) é igual à variação da absorvância com o tempo (dA/dt). Assim, dC_{produto}/dt foi obtido a partir da absorvância em 285 nm subtraída do branco, dividida pelo tempo de 2 minutos.

Percebeu-se que em baixas concentrações de substrato, o espectrofotômetro utilizado não é capaz de detectar com precisão o produto gerado, gerando variações de absorvância negativos. Embora não haja sentido físico em concentrações negativas, os dados foram ajustados com (Equação K1) e sem esses valores (Equação K3). O acréscimo do parâmetro “b” à equação de Michaelis-Menten, mostrado na Equação K3, possibilita a utilização desses valores, simplesmente para a obtenção de um melhor ajuste.

$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} + b \text{ (Equação K3)}$$

Para os dados coletados sem a presença de glifosato, foram obtidos valores de V_{max} ($\text{mmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$) e K_M (mmol L^{-1}) de $0,28052 \pm 0,22221$ e $36,22308 \pm 30,69977$, respectivamente ($R^2 = 0,72234$), sem o parâmetro “b”. Com esse parâmetro, os valores encontrados para V_{max} , K_M e b ($\text{mmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$) foram $0,14986 \pm 0,01258$, $2,50959 \pm 0,66885$ e $-0,05186 \pm 0,0114$, nessa ordem ($R^2 = 0,93425$).

Com a presença de glifosato como inibidor, o ajuste diretamente pela equação de Michaelis-Menten (sem “b”) levou a valores de $0,12623 \pm 0,04966$ e $6,38404 \pm 4,49662$ para de V_{max} ($\text{mmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$) e K_M (mmol L^{-1}), respectivamente ($R^2 = 0,91244$). Com o parâmetro “b”, os valores obtidos foram $0,11992 \pm 0,01072$, $3,02476 \pm 0,80054$ e $-0,01846 \pm 0,00297$ para V_{max} , K_M e b ($\text{mmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$), na mesma sequência ($R^2 = 1$). Como percebido, “b” encontrado é sempre muito próximo de zero, o que é desejado devido à aproximação com a equação de Michaelis-Menten, e possibilitou um melhor ajuste das curvas, como mostrado na Figura K2 e verificado pelo valor de R^2 .

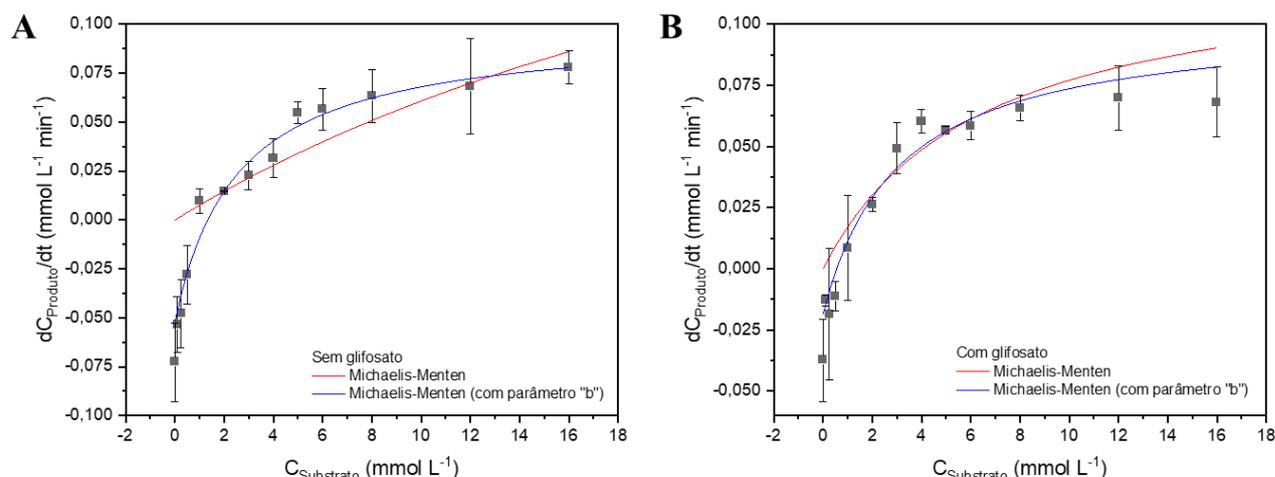


Figura K2. Ajuste dos dados obtidos com os ensaios de cinética enzimática da fosfatase ácida, utilizando fenilfosfato como substrato, com e sem a presença de glifosato.

Segundo o fabricante (SIGMA-ALDRICH, [s.d.]), a atividade catalítica da fosfatase ácida adquirida para o substrato *p*-nitrofenilfosfato é maior ou igual a $0,4 \text{ U mg}^{-1}$, sendo que uma unidade (U) hidrolisa $1,0 \text{ } \mu\text{mol}$ de *p*-nitrofenilfosfato por minuto em pH 4,8 e $37 \text{ } ^\circ\text{C}$. Para o cálculo da atividade catalítica específica da enzima para o substrato utilizado (fenilfosfato), o parâmetro “b” do ajuste do ensaio sem glifosato foi passado para o primeiro membro da Equação K3, sendo utilizado o valor de velocidade máxima obtido por $V_{max} - b$. Sabendo que o volume da reação foi $200 \text{ } \mu\text{L}$ e a massa de enzima utilizada foi $0,1 \text{ mg}$ ($20 \text{ } \mu\text{L}$ de uma solução de 5 mg mL^{-1} de enzima), a atividade catalítica específica para a fosfatase ácida ao quebrar o substrato fenilfosfato em pH 5,6 à temperatura ambiente foi $0,40344 \text{ U mg}^{-1}$, próxima daquela fornecida pelo fabricante.

Uma vez que os ajustes com o parâmetro “b” foram os melhores, V_{max} e K_m dos obtidos com esses ajustes foram comparados. Parece não haver inibição da enzima pelo glifosato no tempo de 2 min no tampão e pH estudados, já que, dentro dos erros associados a esses parâmetros no ajuste encontrado, os valores obtidos seriam idênticos. Assim, a concentração de fenilfosfato de 3 mmol L^{-1} , próxima ao valor de K_m encontrado para os ensaios na presença de glifosato $1 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ com a utilização do parâmetro “b” no ajuste, foi escolhida na tentativa de identificar um possível tempo de incubação interessante para que a inibição da enzima pelo herbicida fosse percebida.

Para as concentrações de substrato e inibidor citadas, sempre com a utilização da mesma concentração de enzima ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$), a reação enzimática com e sem glifosato foi parada ao longo de diferentes tempos. Os dados de absorbância ao longo do tempo

obtidos podem ser verificados na Figura K4. Como o intuito do ensaio era apenas verificar a inibição da fosfatase ácida pelo glifosato, a diluição de amostras que obtiveram absorvância maior do que 1 não foi realizada.

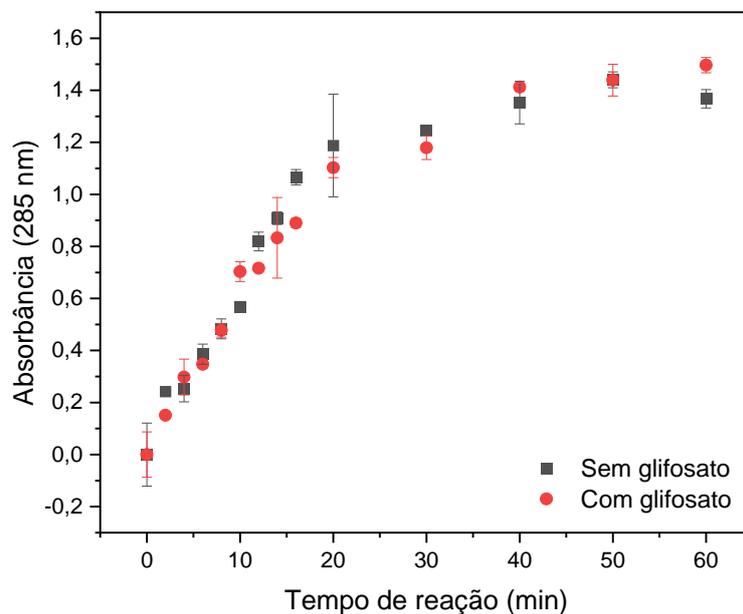


Figura K4. Acompanhamento da reação entre a enzima fosfatase ácida (5 mg mL^{-1}) e o fenilfosfato (3 mmol L^{-1}), com e sem a presença de glifosato ($1 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$).

Dentro do desvio padrão, parece novamente que não há inibição significativa da enzima pelo glifosato no pH testado em até 1 hora de reação. O valor de 16 minutos, no entanto, parecia ser um possível tempo de inibição interessante. Novos dados, entretanto, podem ser coletados para aumentar o número de experimentos em cada ponto e, assim, a confiabilidade nos resultados. Um novo experimento foi, então, proposto parando a reação em 16 minutos, utilizando a mesma concentração de enzima e inibidor, mas concentrações de substrato de 3 mmol L^{-1} , utilizado nos ensaios anteriores, e 80 mmol L^{-1} , valor próximo ao utilizado por Butmee *et al.* (2021). Dessa vez, tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5,6, utilizado nos ensaios discutidos até então, tampão acetato com pH corrigido para 7 com NaOH 2 mol L^{-1} , utilizado nos experimentos de Butmee *et al.* (2021), e tampão BR em pH 7 com força iônica de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foram testados. Os dados obtidos podem ser verificados na Figura K5.

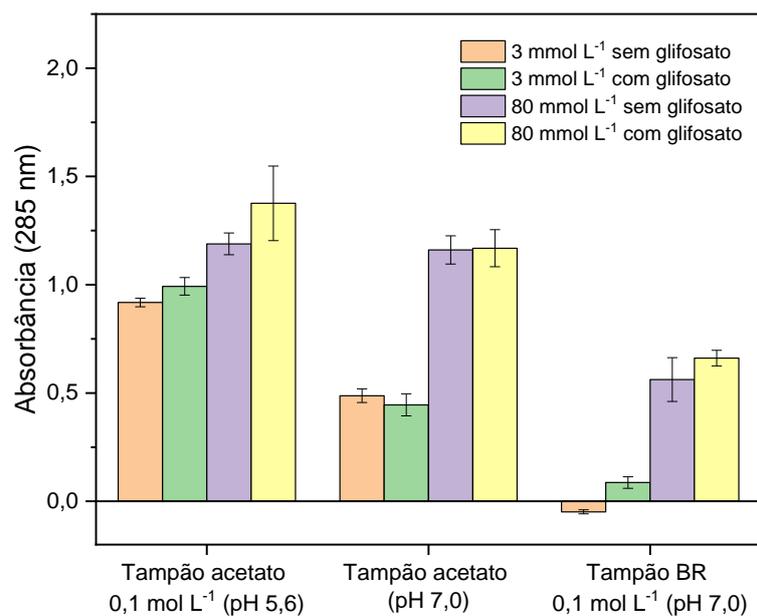


Figura K5. Absorbância do produto (fenol) da reação entre a fosfatase ácida (0,5 mg mL⁻¹) e o fenilfosfato nas concentrações de 3 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹, com e sem glifosato (1 µg mL⁻¹) em diferentes tampões e pHs.

Novamente, dentro do desvio padrão, não há diferença entre o sinal detectado com e sem a presença de glifosato para as concentrações de substrato, tampões e pH testados.

APÊNDICE L

Produções, apresentação de trabalhos, organização de eventos, participação em minicursos e participação em eventos durante o período de produção desta dissertação.






CERTIFICADO


Certificamos que o trabalho intitulado

A ENGENHARIA DE SUPERFÍCIES NO TRATAMENTO QUÍMICO DE ELETRODOS IMPRESSOS EM 3D.

Autoria de Raquel Ferreira Matos, Guilherme Sales da Rocha, Leonan dos Santos Rodrigues, Amanda Vilela Fonseca, Shanely da Silva Ribeiro, Igor Nunes Rodrigues, João Victor Nicolini, Helen Conceição Ferraz

foi apresentado na categoria Apresentação Pôster no XV CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA - COBEQ-IC, realizado entre os dias 22 e 25 de julho de 2024.





Profª Drª Eliane Pereira Cipolatti
 Coordenadora Geral do XV COBEQ-IC

Profª Drª Marisa Fernandes Mendes
 Coordenadora Geral do XV COBEQ-IC

Profª Drª Cristiane de Souza Siqueira Pereira
 Coordenadora Geral do XV COBEQ-IC

Certification by Galoá 




CERTIFICADO


Certificamos que o trabalho intitulado

INVESTIGAÇÃO DE PÓS-TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE DE ELETRODOS DE PLA/NEGRO DE FUMO IMPRESSOS EM 3D

Autoria de Haissa Medina de Jesus Santos, Natan Soares Matheus, Leonan dos Santos Rodrigues, Guilherme da Rocha, Helen Conceição Ferraz, João Victor Nicolini

foi apresentado na categoria Apresentação Pôster no XV CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA - COBEQ-IC, realizado entre os dias 22 e 25 de julho de 2024.





Profª Drª Eliane Pereira Cipolatti
 Coordenadora Geral do XV COBEQ-IC

Profª Drª Marisa Fernandes Mendes
 Coordenadora Geral do XV COBEQ-IC

Profª Drª Cristiane de Souza Siqueira Pereira
 Coordenadora Geral do XV COBEQ-IC

Certification by Galoá 



CERTIFICADO EQ POP

Certificamos que o trabalho **Como a Engenharia de Superfícies Melhora Eletrodos Produzidos por Impressão 3D com Tratamentos Químico** dos autores **Raquel Ferreira Matos, Guilherme Sales da Rocha, Leonan dos Santos Rodrigues, Amanda Vilela Fonseca, Shanely da Silva Ribeiro, Igor Nunes Rodrigues, João Victor Nicolini e Helen Conceição Ferraz** foi publicado na modalidade resumo nos anais do I Congresso de Popularização da Pesquisa Científica da Escola de Química realizado em 22 de agosto de 2024.



Carla Luciane Manske Camargo
 Prof.ª: **Carla Luciane Manske Camargo**
 Coordenadora de Extensão da Escola de Química

IX Jornada de  **CERTIFICADO**

19/08/24 A 22/08/24

Certificamos que **BRENDA SOUSA DE ALMEIDA** apresentou o trabalho: **INOVAÇÃO EM DISPOSITIVOS ELETROQUÍMICOS: ELETRODOS IMPRESSOS EM 3D COM NANOTUBOS DE CARBONO DE MÚLTIPLAS PAREDES (NTCPMs)**, de autoria de: **RAQUEL FERREIRA MATOS, BRENDA SOUSA DE ALMEIDA, GUILHERME SALES DA ROCHA, LEONAN DOS SANTOS RODRIGUES, GABRIELLE GOMES FERNANDES DA ROCHA, ANDRESA VIANA RAMOS, JOÃO VICTOR NICOLINI, HELEN CONCEIÇÃO FERRAZ** na IX Jornada de Nanotecnologia, realizada presencialmente, no Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano da Universidade Federal do Rio de Janeiro - IMA/UFRJ, no período de 19/08/2024 a 22/08/2024.

Rio de Janeiro, 03 de setembro de 2024

 Documento assinado digitalmente
 GISELE CRISTINA VALLE IULIANELLI
 CPF: 03101094-22 (RJ) e-mail: gisele@ima.ufrj.br
 Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Gisele Cristina Valle Iulianelli
 Coordenadora do Curso de Nanotecnologia - UFRJ



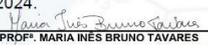


SEMANA DE POLÍMEROS PROFESSORA ELOISA MANO 18ª edição

CERTIFICADO

Certificamos que **Guilherme Sales da Rocha**, apresentou o trabalho intitulado **Desenvolvimento de Filamentos Condutores à Base de Grafite/PLA e Óleo de Ricino como plastificante para Manufatura Aditiva**, na forma de pôster, submetido por **Guilherme Sales da Rocha, Andresa Viana Ramos, Brenda Sousa De Almeida, Gabrielle Gomes Fernandes da Rocha, Leonan dos Santos Rodrigues, Raquel Ferreira Matos, Elton Jorge da Rocha Rodrigues, Juliana Telles de Barros, João Victor Nicolini e Helen Conceição Ferraz**, na 18ª Semana de Polímeros Professora Eloisa Mano, organizada pelo IMA/UFRJ, Rio de Janeiro, 21/11/2024 a 23/11/2024.


PROF. ALEXANDRE CARNEIRO SILVANO
COORDENADOR DE EXTENSÃO
IMA/UFRJ


PROF. MARIA INÊS BRUNO TAVARES
DIRETORA
IMA/UFRJ



1º ENSBEO
ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE
SENSORES E BIOCENSORES ELETROQUÍMICOS
Rio de Janeiro 2024

25/11 e 27/11

CERTIFICADO

Certificamos que

Leonan dos Santos Rodrigues

participou da **Comissão Organizadora** do

1º Encontro Brasileiro Sobre Sensores e Biossensores Eletroquímicos (ENSBE 2024), que ocorreu de 25 a 27 de novembro de 2024, na Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ.


Prof. João Victor Nicolini - UFRJ
Comissão organizadora


Helen C. Ferraz - UFRJ
Comissão organizadora

Organização:



Apoio:



Certification by Galicá



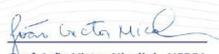
CERTIFICADO

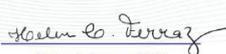
Certificamos que o trabalho intitulado
**COMPARAÇÃO ENTRE PÓS-TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE DE ELETRODOS DE CB/PLA
IMPRESSOS EM 3D PARA BIOCENSORES ELETROQUÍMICOS**

da autoria de **Leonan dos Santos Rodrigues, Guilherme Sales da Rocha, Raquel Ferreira Matos,
Andresa Viana Ramos, João Victor Nicolini, Helen Ferraz**

foi apresentado na forma de **Apresentação em Pôster**,

durante o **1º Encontro Brasileiro Sobre Sensores e
Biossensores Eletroquímicos (ENSBE 2024)**, que ocorreu de 25 a 27 de novembro de 2024, na
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ.


Prof. João Victor Nicolini - UFRJ
Comissão organizadora


Helen C. Ferraz - UFRJ
Comissão organizadora

Organização:



Apoio:



Certification by Galois



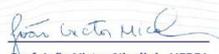
CERTIFICADO

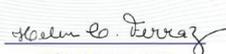
Certificamos que o trabalho intitulado
**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILAMENTOS CONDUTORES COM ANÁLISE DOS
PARÂMETROS ELETROANALÍTICOS USANDO UNSUPERVISED MACHINE LEARNING**

da autoria de **Guilherme Sales da Rocha, Brenda Sousa de Almeida, Gabrielle Gomes Fernandes
da Rocha, Raquel Ferreira Matos, Marcel Guimarães Martins, Andresa Viana Ramos, Leonan dos
Santos Rodrigues, Elton Jorge da Rocha Rodrigues, João Victor Nicolini, Helen Ferraz**

foi apresentado na forma de **Apresentação em Pôster**,

durante o **1º Encontro Brasileiro Sobre Sensores e
Biossensores Eletroquímicos (ENSBE 2024)**, que ocorreu de 25 a 27 de novembro de 2024, na
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ.


Prof. João Victor Nicolini - UFRJ
Comissão organizadora


Helen C. Ferraz - UFRJ
Comissão organizadora

Organização:



Apoio:



Certification by Galois



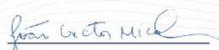
CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO

Certificamos que o trabalho intitulado
DESENVOLVIMENTO DE SENSOR ELETROQUÍMICO IMPRESSO EM 3D PARA A DETECÇÃO DE FIPRONIL

da autoria de **Raquel Ferreira Matos, Guilherme Sales da Rocha, Mariane Ribas Lourenço, Brenda Sousa de Almeida, Gabrielle Gomes Fernandes da Rocha, Leonan dos Santos Rodrigues, Andresa Viana Ramos, Elton Jorge da Rocha Rodrigues, Vinícius de Jesus Towsend, João Victor Nicolini, Helen Ferraz**

foi apresentado na forma de **Apresentação Oral,**

durante o **1º Encontro Brasileiro Sobre Sensores e Biossensores Eletroquímicos (ENSBE 2024)**, que ocorreu de 25 a 27 de novembro de 2024, na Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ.


Prof. João Victor Nicolini - UFRJ
Comissão organizadora


Helen C. Ferraz - UFRJ
Comissão organizadora

Organização:



Apoio:



Certification by Galoá



CERTIFICADO

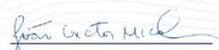
Certificamos que

Leonan dos Santos Rodrigues

participou do **Minicurso Interprise - Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS): Fundamentos e aplicações em Sensores**, ministrado por **Dr. Nyccolas de Souza**,

durante o **Encontro Brasileiro Sobre Sensores e Biossensores Eletroquímicos**, que ocorreu de 25 a 27 de novembro de 2024, na Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ.

carga horária de 2 horas


Prof. João Victor Nicolini - UFRJ
Comissão organizadora


Helen C. Ferraz - UFRJ
Comissão organizadora

Organização:



Apoio:



Certification by Galoá



CERTIFICADO

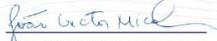
Certificamos que

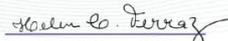
Leonan dos Santos Rodrigues

participou do **Minicurso Metrohm - Superando os desafios do desenvolvimento de um (bio)sensor**, ministrado por *Dra. María Begoña González García*,

durante o **Encontro Brasileiro Sobre Sensores e Biossensores Eletroquímicos**, que ocorreu de 25 a 27 de novembro de 2024, na Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ.

carga horária de 2 horas


Prof. João Victor Nicolini - UFRJ
Comissão organizadora


Helen C. Ferraz - UFRJ
Comissão organizadora

Organização:



Apoio:



Certification by Galois

