



Métodos de ativação de eletrodos impressos em 3D para aplicações eletroquímicas

Aluna: Naile Vacilotto Neumsteir; **Orientador:** Juliano Alves Bonacin

Instituto de Química (IQ)- Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

XXVIII Congresso de Iniciação Científica da Unicamp - 30 de novembro a 03 de dezembro de 2020

Programa de Bolsas de Iniciação Científica - PIBIC 2019/2020

1 Introdução

Sensores eletroquímicos são capazes de monitorar reações químicas na interface eletrodo/solução de uma cela eletroquímica, sendo os mais convencionais o de carbono vítreo (Glassy Carbon Electrode - GCE) e de metias como ouro e platina. Entretanto, estes eletrodos podem sofrer envenenamento e não apresentarem especificidade química dependendo da reação a ser monitorada¹, além de terem um alto custo de fabricação. Diante deste cenário, os eletrodos de grafeno impressos em 3D por modelagem por decomposição e fusão (Fused Deposition Modeling – FDM) surgem como uma alternativa aos eletrodos convencionais por possuírem baixo custo, grandes versatilidade e facilidade de produção com grande potencialidade para a produção em larga escala. Esses eletrodos também possuem a vantagem de poderem ser produzidos com diversos filamentos condutores e de serem facilmente modificados superficialmente para estudo de reações específicas. Por serem uma excelente alternativa, os eletrodos impressos em 3D estão sendo cada vez mais utilizados nos mais diversos processos eletroquímicos no meio industrial e acadêmico. A literatura relata resultados positivos da aplicação destes eletrodos na detecção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)², compostos fenólicos³, moléculas biologicamente ativas⁴, dopamina⁵ e outros analitos.

Entretanto, os eletrodos de grafeno podem ser ativados para melhorar sua performance eletroquímica, uma vez que os filamentos condutores são construídos por grafeno envolvido por um polímero termoplástico. Em 2019, o nosso grupo reportou a ativação de eletrodos de grafeno impressos em 3D a partir de processos eletroquímicos de oxidação e redução em certa faixa de potencial⁵. O processo consiste na oxidação da superfície do eletrodo, seguida da aplicação de potenciais negativos (-1,8V). Com isso, observa-se a geração de grupos funcionais oxigenados no grafeno durante a oxidação e a remoção desses grupos na redução. Esse processo, remove a camada de polímero da superfície e melhora significativamente a performance dos eletrodos. Em outro estudo, Browne e colaboradores⁶ reportaram a ativação de eletrodos de grafeno impressos em 3D através de um tratamento com dimetilformamida (DMF), a qual remove a uma quantidade considerável do polímero da superfície do eletrodo, expondo os sítios ativos do grafeno. A ativação a partir da imersão do eletrodo em agentes corrosivos como ácidos e bases fortes também são uma possibilidade. Ácidos fortes como o ácido nítrico pode

gerar grupos carboxílicos, os quais podem interagir com o analito. Wirth e colaboradores, reportaram um método de ativação de eletrodos no qual utilizaram hidróxido de sódio para ativação de eletrodos impressos em 3D⁷.

Diante do cenário promissor da utilização da impressão 3D na fabricação de sensores eletroquímicos, os métodos citados e outros foram testados neste projeto com o objetivo de encontrar o melhor método de ativação de eletrodos de grafeno. O material utilizado para a confecção dos eletrodos foi o filamento condutivo Black Magic®, que é constituído de grafeno e o polímero termoplástico ácido polilático (Polylactic Acid – PLA). A performance analítica dos eletrodos foi avaliada para a determinação voltamétrica de biomarcadores em meio biológico. Em pessoas saudáveis a concentração de dopamina é de aproximadamente 22 nmol.L⁻¹ no soro sanguíneo⁸, enquanto a de metionina varia de 13 a 50 μmol.L⁻¹ 9,10.

2 Materiais e Métodos

2.1 Soluções e Reagentes

- Tampão fosfato salino (Phosphate Buffer Saline - PBS) 0,1 mol.L⁻¹ (pH 6 e 7,4);
- Cloreto de hexaaminrutênio (III) (5 mmol.L⁻¹) preparado em KCl (0,1 mol.L⁻¹);
- Suspensão de alumina 0,30 μm;
- N, N-Dimetilformamida;
- Hidróxido de sódio (4 mol.L⁻¹);
- Ácido sulfúrico;
- Ácido Nítrico;
- Biomarcadores Dopamina (DA) e L-Metionina (L-Met).

2.2 Instrumentação

- Impressora 3D (3D GraberI3 Pro);
- Potenciostato/Galvanostato (Metrohm);
- Espectrômetro Raman Confocal T64000 (Jobin Yvon);
- Microscópio de varredura eletrônica JOEL JSM-J6360 LV;
- Eletrodo de calomelano saturado (Saturated Calomel Electrode - SCE);
- Contra eletrodo de platina;
- Eletrodos de trabalho de grafeno impressos em 3D (3D PLA-G);

2.3 Ativação dos Eletrodos

Os eletrodos, representados na Figura 1, foram impressos na impressora 3D com temperatura de extrusão de 200 °C e impressos a 70 °C. A ativação eletroquímica foi feita em tampão fosfato pH 7,4, com a remoção do oxigênio com nitrogênio como gás de purga por 15 minutos. Um potencial de +1,8 V foi aplicado por 900 s para a oxidação, seguida de redução feita por voltametria cíclica de 0,0 a -1,8 V em velocidade de varredura de 50 mV.s⁻¹. A ativação mecânica foi feita polindo o eletrodo em suspensão de alumina 0,30 μm durante diferentes períodos de tempo, de 1,0, 3,0, 5,0 e 10 minutos. A ativação por solvente foi feita em DMF, imergindo os eletrodos nos tempos de 30, 60 e 180 minutos. O processo foi repetido para as ativações ácidas (em ácidos sulfúrico e nítricos, separadamente) e básica (em hidróxido de sódio). Todas as ativações foram feitas em triplicatas. Um eletrodo ativado de cada método (mecânico, por solvente, ácidos e básico) foi submetido a ativação eletroquímica, para fim do estudo da combinação de métodos.

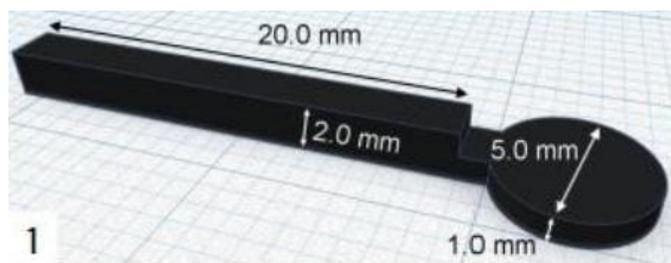


Fig. 1 Representação e dimensões do eletrodo 3D PLA-G.

2.4 Caracterização dos Eletrodos

Os eletrodos 3D PLA-G foram caracterizados morfologicamente e estruturalmente com o objetivo de investigar como as ativações modificaram a estrutura dos eletrodos, e a eletroquímica, com o objetivo de investigar como essas modificações estruturais influenciam nas propriedades eletroquímicas dos eletrodos.

A caracterização morfológica e estrutural foi feita por microscopia de varredura eletrônica (MVE) e por espectroscopia Raman confocal. A caracterização eletroquímica foi feita utilizando o potenciostato, eletrodo de referência SCE, contra eletrodo de platina e sonda eletroquímica de [Ru(NH₃)₆]Cl₃ (5 mmol.L⁻¹). A constante de transferência eletrônica K_{obs}^o foi determinada pelo método de Nicholson¹¹ (equação 1), na qual D é o coeficiente de difusão para eletrólito da sonda, n é o número de elétrons envolvidos no processo, F é a constante de Faraday, v é a velocidade de varredura, R é a constante dos gases, T é a temperatura e ΔEp é a separação dos picos do voltamograma. A área eletroativa pela equação de Randles-Sevcick¹² (equação 2), na qual Ip é corrente de pico, A é a área do eletrodo, D é o coeficiente de difusão para o eletrólito da sonda, n é o número de elétrons envolvido no processo e v é a velocidade varredura. Para tais determinações, foi necessária a varredura dos eletrodos por voltametria cíclica (CV) em diferentes velocidades de 5,0 a 200 mV/S. Foi feita também a espectroscopia eletrônica de impedância (Electrochemical Impedance Spectroscopy – ESI).

$$K_{obs}^o = [2.18(D\alpha nFv)/(RT)^{1/2}]exp[-(\alpha^2 nF/RT)]\Delta E_p \quad (1)$$

$$I_p = 2.69105ACD^{1/2}.n^{3/2}.v^{1/2} \quad (2)$$

2.5 Detecção de Dopamina

A determinação de dopamina foi feita em tampão fosfato salino com pH ajustado em 6,0. Diferentes técnicas eletroquímicas foram avaliadas: Voltametria cíclica (Cyclic Voltammetry - CV) de -0,2 a 0,6 V com velocidade de varredura de 50 mV.s⁻¹; voltametria de pulso diferencial (Differential Pulse Voltammetry - DPV) com amplitude de pulso de 25 mV, tempo de pulso de 25 ms e potencial de pulso de 5,0 mV; voltametria de onda quadrada (Square Wave Voltammetry - SWV) com amplitude de onda de 50 mV, frequência de 10 Hz e potencial de 0,8 mV.

2.6 Detecção de L-Metionina

A determinação de L-metionina foi feita em tampão fosfato salino (pH 7,4) empregando a técnica de SWV com amplitude de onda de 150 mV, frequência de 5,0 Hz e potencial de 8,0 mV.

3 Resultados e Discussão

3.1 Caracterização dos Eletrodos Impressos

A Figura 2 apresenta as imagens de MEV obtidas para o eletrodo sem tratamento (PLA-G) (A) em comparação aos eletrodos submetidos a ativação química e química + eletroquímica com DMF (B) e NaOH (C). É possível observar que o eletrodo não ativado apresenta uma superfície lisa e homogênea, com irregularidades mínimas se comparado aos eletrodos ativados com DMF e NaOH apresentados na Figura 2B-C, as quais apresentam alterações estruturais nítidas e a presença de nanofios de grafeno de aproximadamente 100 nm, muito provavelmente formados durante o processo de extrusão do filamento. Tanto o DMF, quando o NaOH, promoveram a remoção de parte da camada de PLA da superfície dos eletrodos, respectivamente, por dissolução e saponificação¹³, tornando os nanofios mais eletroativos. Pelas imagens podemos notar que o eletrodo tratado com NaOH tem maior exposição dos nanofios, indicando que a remoção do PLA foi mais efetiva do que com a utilização de DMF.

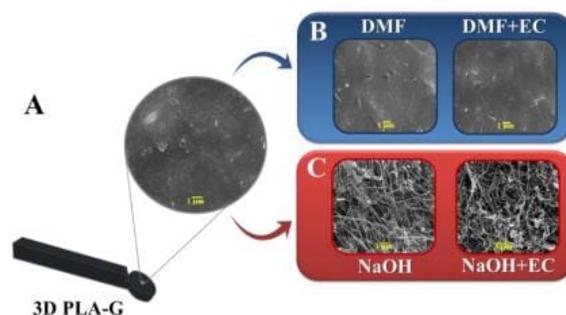


Fig. 2 Imagens da MEV obtidas para os eletrodos PLA-G (A), PLA-G_{DMF} (B) e PLA-G_{NaOH} (C).

A caracterização eletroquímica foi realizada por CV em diferentes velocidades de varredura, entre 5,0 e 200 mV.s⁻¹, na presença da sonda eletroquímica [Ru(NH₃)₆]Cl₃ (5,0 mmol.L⁻¹). A Tabela 1 também apresenta os valores obtidos para todos os parâmetros eletroquímicos estudados: constante de transferência eletrônica (K_{obs}^0), quantidade de planos de borda (θ_{borda}) e área eletroativa (A_e).

Tabela 1: Comparação dos parâmetros eletroquímicos e estruturais dos eletrodos antes e após os processos de ativação.

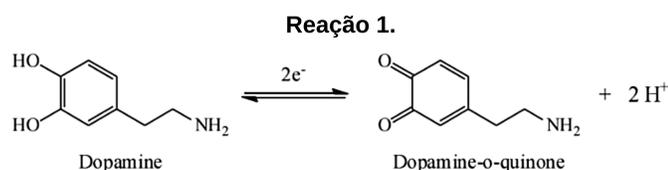
Eletrodo	I_p/I_G	$k_{obs}^0 (cm.s^{-1})$	$\theta_{borda}(\%)$	$A_e (cm^2)$
PLA-G	0,634	$2,73 \times 10^{-4}$	0,0683	0,0203
G _{EC}	0,668	$1,53 \times 10^{-3}$	0,382	0,0950
G _{MEC-1}	0,631	$1,20 \times 10^{-4}$	0,0349	0,200
G _{MEC-1+EQ}	0,730	$1,53 \times 10^{-4}$	0,0381	0,314
G _{DMF-10}	0,622	$3,85 \times 10^{-4}$	0,0963	0,178
G _{DMF-10+EQ}	0,889	$5,01 \times 10^{-4}$	0,125	1,11
G _{NaOH-30}	0,489	$9,34 \times 10^{-4}$	0,233	0,882
G _{NaOH-30+EQ}	0,852	$1,11 \times 10^{-3}$	0,276	3,19
G _{HNO3-60}	0,522	$1,53 \times 10^{-4}$	0,0383	0,204
G _{HNO3-60+EQ}	0,578	$2,50 \times 10^{-4}$	0,0625	0,667
G _{H2SO3-30}	0,523	$3,25 \times 10^{-4}$	0,0813	0,451
G _{H2SO3-30+EQ}	0,591	$6,76 \times 10^{-4}$	0,169	0,358

Pelos dados apresentados na Tabela 1 é possível notar que o eletrodo que obteve melhores resultados na caracterização foi o eletrodo PLA-G_{NaOH-30+EQ}. É possível notar que a ativação com NaOH promoveu o aumento da intensidade dos sinais de resposta para a sonda eletroquímica, uma vez que ela promove a ruptura das ligações éster do PLA de modo a criar grupos oxigenados e expor o grafeno.

Os excelentes resultados na caracterização eletroquímica para o eletrodo PLA-G_{NaOH-30+EQ} podem ser confirmados pela caracterização morfológica e estrutural, uma vez que este eletrodo apresentou razão de ID/IG 0,852 e edge de 0,276, o que indica que essa ativação, de fato, proporcionou um maior número de defeitos e que estes melhoram as propriedades eletroquímicas do eletrodo. Além disso, é possível observar nos dados da tabela que o eletrodo PLA-G_{DMF-10+EQ} também obteve valores bons se comparado aos demais eletrodos e que o eletrodo PLA-G_{EQ} apresentou o melhor valor para a constante de transferência eletrônica

3.2 Detecção de Dopamina

Durante o processo eletroquímico, a dopamina (DA) é reduzida a sua respectiva quinona, de acordo com a Reação 1, envolvendo 2 elétrons. A determinação foi feita em solução ajustada em pH 6, uma vez que nesta faixa de pH a dopamina fica em sua forma protonada de modo a interagir com os grupos oxigenados do PLA por meio de interações eletrostática e ligações de hidrogênio.



A Tabela 2 compara a performance analítica obtida para cada técnica estudada. É possível observar que o sensor obteve uma faixa de resposta linear ampla e com alta sensibilidade e baixos limites de detecção, o que confirma mais uma vez que a ativação por NaOH combinada com a ati-

vação eletroquímica foram eficientes. Para avaliar a repetibilidade e reprodutibilidade do eletrodo foram feitas dez medições consecutivas com o mesmo eletrodo no mesmo dia e outras dez medidas com diferentes eletrodos e dias obtendo, respectivamente, desvios padrões relativos (RSD) de 2,67% e 7,14%.

Tabela 2: Desempenho analítico obtido com o sensor PLA-G_{NaOH-30+EQ} para a detecção de DA por VC, DPV e SWV.

Técnica	LD ($\mu\text{mol/L}$)	Reta	Sensibilidade	Resposta linear ($\mu\text{mol/L}$)
VC	3,49	$I(\mu\text{A}) = 0,117C(\mu\text{mol/L}) + 4,02$	0,117	(a) 10 - 500 ($R^2=0,989$)
DPV	2,17	(a) $I(\mu\text{A}) = 0,210C(\mu\text{mol/L}) + 4,51$ (b) $I(\mu\text{A}) = 0,061C(\mu\text{mol/L}) + 19,5$	(a) 0,210 (b) 0,061	(a) 7 - 100 ($R^2=0,995$) (b) 100 - 1000 ($R^2=0,997$)
SWV	1,67	(a) $I(\mu\text{A}) = 2,21C(\mu\text{mol/L}) + 22,6$ (b) $I(\mu\text{A}) = 0,43C(\mu\text{mol/L}) + 247$	(a) 2,21 (b) 0,43	(a) 5 - 100 ($R^2=0,994$) (b) 100 - 1500 ($R^2=0,995$)

3.3 Detecção de L-metionina

O processo da detecção de L-metionina envolve 1 elétron e foi realizado por SWV, uma vez que essa foi a técnica que mostrou melhores resultados no estudo anterior. Na Tabela 3 podemos observar que houveram duas faixas de resposta linear, a primeira de $5,0 \times 10^{-6}$ a $2,3 \times 10^{-4}$ mol/L e a segunda de $2,3 \times 10^{-4}$ a $3,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. A baixa sensibilidade observada para a segunda região linear poderia ser explicada pela passivação da superfície do eletrodo, devido a adsorção e/ou interação de produtos da reação com a superfície. Para avaliar a repetibilidade e reprodutibilidade do sensor proposto foram feitas dez medições consecutivas com o mesmo eletrodo e outras dez com eletrodos diferentes obtendo, respectivamente, desvios padrões relativos de 3,83% e 9,31%.

Tabela 3: Desempenho analítico obtido com o sensor PLA-G_{NaOH-30+EQ} para a detecção de L-Met por SWV.

LD ($\mu\text{mol/L}$)	Reta	Sensibilidade ($\mu\text{mol/L}$)	Resposta linear (mol/L)
1,39	$I(\mu\text{A}) = (0,176 \pm 0,012)C(\mu\text{mol/L}) + (3,01 \pm 0,32)$	0,18	$5,0 \times 10^{-6} - 2,3 \times 10^{-4}$ ($R^2=0,9995$)
1,39	$I(\mu\text{A}) = (28,3 \pm 0,8)C(\text{mmol/L}) + (3,01 \pm 2,0)$	0,028	$2,3 \times 10^{-4} - 3,0 \times 10^{-3}$ ($R^2 = 0,9992$)

4 Conclusões

Neste projeto foram estudados diversos métodos de ativação de eletrodos de grafeno impressos em 3D (3D PLA-G) bem como seu desempenho e características analíticas, sobretudo a aplicação destes na detecção de biomarcadores em meios biológicos, como a dopamina e a L-metionina, investigadas neste estudo. O eletrodo que apresentou melhor performance eletroquímica foi o PLA-G_{NaOH-30+EQ}, ativado pela combinação dos tratamentos químico (NaOH) e eletroquímico. Esta combinação de métodos apresentou ótimos resultados para parâmetros como a área eletroativa e constante de transferência eletrônica, os quais foram confirmados pelas análises de caracterização dos eletrodos. Na detecção de dopamina todas as três técnicas eletroquímicas estudadas com a utilização do eletrodo proposto apresentaram ótimas respostas analíticas, principalmente utilizando a técnica pulsada de voltametria de onda quadrada. O artigo originado deste projeto apresenta de maneira completa o estudo de interferentes para este método, demonstrando a sua potencialidade para a diferenciação de sinal eletroquímico na presença de uma solução contendo dopamina, ácido ascórbico e ácido úrico. Em relação a determinação de L-metionina, o eletrodo também apresentou boa performance eletroquímica e respostas analíticas, com ótima repetibilidade e reprodutibilidade. Ambos os analitos foram detectados em amostras de soro humano fortificado em três níveis de concentração, sugerindo que o sensor proposto pode ser empregado para a detecção destes biomarcadores em meio biológico, sem efeitos de matriz.

5 BIBLIOGRAFIA

[1] F. B. Souza, M. **Eletrodos Quimicamente Modificados Aplicados À Eletroanálise: Uma Breve Abordagem.** Química Nova 1996, 2 (20),

191–195.

[2] Katic, V. **Synthesis and Application of Inorganic Materials in Electrochemical Sensing**, Universidade Estadual de Campinas, 2018.

[3] M. Cardoso, R.; M. H. Mendonça, D.; P. Silva, W.; N. T. Silva, M.; Nossol, E.; A. B. da Silva, Rodrigo; M. Richter, E.; A. A. Munõz, R. **3D Printing for Electroanalysis: From Multiuse Electrochemical Cells to Sensors**. *Analytica Chimica Acta* 2018, 1033, 49–57.

[4] R. Liyarita, B.; Abrosi, A.; Pumera, M. **3D Printed Electrodes for Sensing of Biologically Active Molecules**. *Electroanalysis* 2018, 30, 1319–1326.

[5] L. dos Santos, P.; Katic, V.; C. Loureiro, H.; F. Dos Santos, M.; P. dos Santos, D.; L. B. Formiga, A.; A. Bonacin, J. **Enhanced Performance of 3D Printed Graphene Electrodes after electrochemical pre-Treatment: Role of Exposed Graphene Sheets**. *Enhanc. Perform. 3D Print. Graphene Electrodes Electrochem. Pre-Treat. Role Expo. Graphene Sheets* 2019, 281, 837–848.

[6] P. Browne, M.; Novotný, F.; Zdeněk, S.; Pumera, M. **3D Printed Graphene Electrodes' Electrochemical Activation**. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2018, 10 (46), 40294–40301. [7]

[8] V. Ambade, M. Arora, P. Singh, B. L. Somani and D. Basannar, *Med. J. Armed Forces India*, 2009, 65, 216–220.

[9] L. Agüi, J. Manso, P. Yáñez-Sedeño, J.M. Pingarrón, **Colloidal-gold cysteamine-modified carbon paste electrodes as suitable electrode materials for the electrochemical determination of sulphur-containing compounds: Application to the determination of methionine**, *Talanta*, 64 (2004) 1041–1047.

[10] S.P. Stabler, C. Steegborn, M.C. Wahl, J. Oliveriusova, J.P. Kraus, R.H. Allen, C. Wagner, S.H. Mudd, **Elevated plasma total homocysteine in severe methionine adenosyltransferase I/III deficiency**, *Metab. Clin. Exp.*, 51 (2002) 981–988.

[11] R. S. Nicholson. **Theory and Application of Cyclic Voltammetry for Measurement of Electrode Reaction Kinetics**. *Analytical Chemistry* 1965, 11 (37), 1351–1355.

[12] A. J. Bard and L. R. Faulkner, **Electrochemical methods: fundamentals and applications**, Wiley, New York, 2nd ed., 2001.

[13] C.Y. Tham, A. Hamid, Z. Ain, Z. Ahmad, H. Ismail, **Surface modification of poly (lactic acid)(PLA) via alkaline hydrolysis degradation**, *Adv. Mater. Res.*, 970 (2014) 324–327.

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

[15] M. Metto, S. Eramias, B. Gelagay, A.P. Washe, **Voltammetric determination of uric acid in clinical serum samples using DMF modified screen printed carbon electrodes**, *Voltammetric determination of uric acid in clinical serum samples using DMF modified screen printed carbon electrodes*, 2019 (2019).

[16] S.D. Holmstrom, J.A. Cox, **Electrocatalysis at a conducting composite electrode doped with a ruthenium (II) metallodendrimer**, *Electrocatalysis at a conducting composite electrode doped with a ruthenium (II) metallodendrimer*, 72 (2000) 3191–3195.

[17] T. E. Mary Nancy, V. Anithakumary and B. E. Kumara Swamy, **Solar graphene modified glassy carbon electrode for the voltammetric resolution and detection of dopamine, ascorbic acid and uric acid**, *J. Electroanal. Chem.*, 2014, 720–721, 107–114.

[18] P. L. dos Santos, V. Katic, K. C. F. Toledo and J. A. Bonacin, **Photochemical one-pot synthesis of reduced graphene oxide/Prussian blue nanocomposite for simultaneous electrochemical detection of ascorbic acid, dopamine, and uric acid**, *Sens. Actuators B Chem.*, 2018, 255, 2437–2447.

[19] M. Murugavelu, B. Karthikeyan, **Synthesis, characterization of Ag-Au core-shell bimetal nanoparticles and its application for electrocatalytic oxidation/sensing of l-methionine**, *Mat. Sci. Eng. C-Mater.*, 70 (2017) 656–664.

[20] D. Zhang, C. Xu, S. Li, R. Zhang, H. Yan, H. Miao, Y. Fan, B. Yuan, **Electrochemically controlling oxygen functional groups in graphene oxide for the optimization in the electro-catalytic oxidation of dihydroxybenzene isomers and l-methionine**, *J. Electroanal. Chem.*, 717–718 (2014) 219–224.