



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

**ELETRODO IMPRESSO DE CARBONO EM SUBSTRATO DE CERA DE ABELHA
MODIFICADO COM MATERIAL CARBONÁCEO@QUITOSANA PARA A DETECÇÃO
DE ACETAMINOFENO**

Fernando Colombo Gallina

Dourados – MS
2023

Fernando Colombo Gallina

**ELETRODO IMPRESSO DE CARBONO EM SUBSTRATO DE CERA DE ABELHA
MODIFICADO COM MATERIAL CARBONÁCEO@QUITOSANA PARA A DETECÇÃO
DE ACETAMINOFENO**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado
ao curso de Biotecnologia da Universidade Federal
da Grande Dourados, como requisito para a
obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Willyam Róger Padilha Barros

Fernando Colombo Gallina

**ELETRODO IMPRESSO DE CARBONO EM SUBSTRATO DE CERA DE ABELHA
MODIFICADO COM MATERIAL CARBONÁCEO@QUITOSANA PARA A
DETECÇÃO DE ACETAMINOFENO**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela
Banca Examinadora como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia,
da Universidade Federal da Grande Dourados.

Aprovado em: 22/11/2023

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **WILLIAM ROGER PADILHA BARROS**
Data: 22/11/2023 15:50:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Willyam Róger Padilha Barros
(Orientador / Presidente)

Documento assinado digitalmente
 **CLAUDIO TEODORO DE CARVALHO**
Data: 22/11/2023 14:43:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Cláudio Teodoro de Carvalho
Membro

Documento assinado digitalmente
 **THALLES PEDROSA LISBOA**
Data: 22/11/2023 13:42:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Thalles Pedrosa Lisboa Membro

Resumo

Neste trabalho foi estudado o desenvolvimento de uma plataforma eletroquímica sensível, utilizada como sensor impresso em substrato de cera de abelha para a detecção de acetaminofeno (AC). O sensor foi desenvolvido com uma tinta composta por grafite em pó e verniz vitral solubilizados em acetona. A modificação do eletrodo de trabalho foi realizada com uma dispersão de carbon black (Vulcan XC72R) em quitosana. A caracterização química do eletrodo não modificado foi realizada por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). Para a caracterização eletroquímica dos eletrodos foram realizadas medidas por voltametria cíclica e cronoamperometria. Estes estudos foram conduzidos em eletrólito suporte $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ $\text{Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ e conduzidos no intervalo de potencial de $-0,7$ a $+0,8 \text{ V vs grafite}$. Para a detecção eletroquímica de AC, o eletrodo modificado apresentou melhora significativa nas respostas de corrente obtidos por voltametria de pulso diferencial (VPD) em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato em pH 6,5. O estudo de pH foi conduzido por VPD na faixa de 3,5 a 9,5 em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato. A faixa de concentração de AC estudada foi de $0,050$ a $4,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ apresentando $R^2 = 0,992$ e limite de detecção de $0,013 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. O estudo de recuperação de AC foi realizado em amostras de água de rio, urina masculina e saliva, sendo obtido uma média de porcentagem de recuperação de 103%, mostrando que o método de detecção do analito apresenta elevada exatidão. O sensor demonstrou estabilidade, além de se mostrar reprodutível, uma vez que as respostas de correntes não foram afetadas significativamente quando o substrato de cera de abelha foi reutilizado na produção de novos eletrodos impressos. Dessa forma, a plataforma eletroquímica baseada em Vulcan@quitosana é uma opção de sensor eletroquímico de baixo custo e de fácil utilização na detecção de AC em diferentes tipos de amostras.

Palavras-chave: plataforma eletroquímica, Vulcan XC72R, acetaminofeno, cera de abelha

Abstract

In this work was studied the development of a sensible electrochemical platform, used as screen printed electrode on beewax substrate for Acetaminophen (AC) detection. The sensor was developed with graphite ink and varnish glass solubilized in acetone. The working electrode modification was made with a dispersion of carbon black (Vulcan XC72R) on chitosan. The chemical characterization was carried out by Fourier Transformed Infrared Spectroscopy. The sensors' electrochemical characterization were made by cyclic voltammetry and chronoamperometry. These studies were conducted on support electrolyte $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl with 1 mmol L^{-1} $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ on a potential interval from $-0,7$ to $+0,8$ V vs graphite. AC electrochemical detection showed significant improvement in current response on the modified electrode by differential pulse voltammetry (DPV) at $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ phosphate buffer pH 6,5. Study on effect of pH on electrochemical behavior was carried out by DPV from 3,5 to 9,5 pH at $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ phosphate buffer. Concentration range studied was $0,050$ to $4,5 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ obtaining $R^2 = 0,992$ and $\text{LOD} = 0,013 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. AC recovery study was conducted on real samples of river water, male urine and saliva, and a mean recovery rate of 103% were obtained, showing that the method of analyte detection presented high accuracy. The sensor demonstrated high stability along with reproducibility once current responses were not affected by beeswax substrate reutilization for new electrode's production. This way, the electrochemical platform based on Vulcan@Chitosan is a low cost and easy application option for AC detection on different samples.

Keywords: electrochemical platform, Vulcan XC72R, acetaminophen, beewax

1. Introdução

O acetaminofeno (AC), também conhecido como paracetamol ou *N-acetyl-p-aminophenol*, foi sintetizado pela primeira vez em 1877, e se tornou um dos analgésicos mais utilizados no mundo após 1980, no tratamento de febre e dor, com propriedades antipiréticas. O mecanismo de ação do AC não é completamente conhecido, sendo comparado aos anti-inflamatórios não esteroidais (AINE) por inibir a via da ciclooxigenase (COX), inibindo também a biossíntese de prostaglandinas (PG) no sistema nervoso central, diminuindo a dor e febre [1,2].

Essa inibição ocorre, mais especificamente, nas enzimas COXs 1 e 2, que catalisam a biossíntese de prostaglandina, prevenindo a conversão do ácido araquidônico em prostaglandina. As COXs possuem dois sítios funcionais, um para as ciclooxigenases e outro para peroxidases, que convertem o ácido araquidônico em PG. Isso pode explicar a baixa potência do AC quando comparado aos AINEs considerando doses terapêuticas de 1 a 1,5 g, já que o mesmo funciona como um inibidor não-competitivo no sítio para a peroxidase, enquanto outros inibidores de COXs competem com o ácido araquidônico ou causam inibição alostérica (quando não é regulada por ligações covalentes e alteram a estrutura da enzima, modificando sua atividade) por meio de interações com o sítio de ligação do ácido araquidônico. Outro fator que contribui para uma menor ação do AC é o seu caráter de agente redutor fenólico, que prejudica a transferência de elétrons intramolecular necessária para a remoção de um hidrogênio do ácido araquidônico durante a biossíntese da PG [3, 4].

Outro mecanismo de ação proposto é a conversão do AC em *N-arachidonoylphenolamine* (AM404) pela hidrolase de amida de ácidos graxos, que inibe a reabsorção de anandamida e atua nos receptores TRPV1 (presentes no cérebro e espinha dorsal), com função de modulação da sensação de dor, portanto, diminuindo a dor, o que explica o efeito prolongado do AC no sistema central [5, 6].

Outro fator importante que deve ser considerado na utilização do AC, é o seu caráter dose dependente, entretanto, em altas doses apresenta toxicidade e causa danos ao fígado, apresentando sintomas como dores abdominais, náuseas e vômitos até encefalopatia hepática [7].

Além disso, considerando o uso excessivo de AC, este é um contaminante comumente encontrado em diferentes matrizes aquáticas, portanto, a sua detecção e quantificação se faz necessária, e para isso existem diversos métodos analíticos utilizados para a determinação, tais como cromatografia líquida de alta performance (CLAE),

cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-MS), eletroforese capilar de alta performance, quimiluminescência, espectrofotometria ultravioleta, infravermelho e Raman. Entretanto, essas técnicas são limitadas pelo alto custo (com exceção do UV-vis), baixa portabilidade e operações complexas [1,8,9-11], e como forma de contornar tais desvantagens, as técnicas eletroquímicas, principalmente voltametria, aliadas a sensores eletroquímicos, se apresentam como ótimas alternativas para a detecção de compostos de diferentes classes. Os sensores eletroquímicos se destacam devido ao seu baixo custo, simplicidade, curto período de análise e alta sensibilidade, sendo o material utilizado para a produção dos eletrodos de trabalho, referência e auxiliar de extrema importância para o bom desempenho eletroquímico das técnicas voltamétricas [12-17].

Uma alternativa promissora para a produção desses sensores eletroquímicos são os eletrodos impressos, que devido a simplicidade das etapas, baixo custo, podem ser produzidos em larga escala, com fácil manuseio de fabricação/utilização e alta versatilidade. Estes dispositivos possibilitam a utilização de diferentes substratos visando maior sustentabilidade e reprodutibilidade, tais como biopolímeros, como por exemplo filmes de gelatina, filmes de amido e cera de abelha. A cera de abelha em particular, demonstra elevada capacidade de reutilização além de seu caráter sustentável, tendo subprodutos não tóxicos [18-20].

Os sensores eletroquímicos impressos também podem ser baseados em diferentes materiais, como por exemplo o carbono, altamente condutivo. Os sensores impressos permitem também a realização da análise utilizando micro volumes, possibilitando análise *in-situ*, além da capacidade de realizar modificações com diversos materiais, como, nanomateriais bimetálicos, nanopartículas porosas, metais, enzimas e polímeros condutores, visando uma maior sensibilidade na detecção do analito [21-23].

Dentre os diversos tipos de materiais, o “*carbon black*” (negro de fumo) do tipo Vulcan XC72R (Vulcan), se apresenta como excelente modificador de eletrodos impressos, uma vez que possui superfície quimicamente inerte e rugosa, alta sorção, alta condutividade e ótimas propriedades eletrocatalíticas, melhorando a resposta eletroquímica dos eletrodos [24- 29]. Por outro lado, quando misturados em solução aquosa, podem sofrer dispersão, o que muitas das vezes, diminui a atividade eletrocatalítica. Nesse sentido, o uso de polímeros que são favorecidos por ligações cruzadas, atuam para evitar a dispersão de materiais carbonáceos, como por exemplo a quitosana (Chi), um biopolímero atóxico, biodegradável e biocompatível.

As vantagens que a Chi apresenta como um modificador para sensores eletroquímicos é devido a sua hidrofilicidade, capacidade de formar filmes e produzir dispersões homogêneas junto de materiais condutivos, como o Vulcan, mantendo as propriedades condutivas do carbono juntamente com as propriedades catalíticas do biopolímero [30-32].

Dessa forma, neste estudo foi desenvolvido um eletrodo de baixo custo impresso por serigrafia em cera de abelha *Apis mellifera* baseado em tinta de grafite modificado com Vulcan@Chi, sendo denominado de SPWE (Screen Printed Wax Electrode)/Vulcan@Chi para a detecção e quantificação de AC em amostras de água, urina e saliva.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Desenvolvimento de eletrodo impresso em cera de abelha baseado em tinta de grafite/verniz vitral modificado com Vulcan@Chi para a detecção de AC em amostras de urina, saliva e água.

2.2 Objetivos específicos

- i. Estudo da caracterização química e eletroquímica do SPWE;
- ii. Estudo da proporção de verniz vitral e grafite em pó para otimização da tinta condutora;
- iii. Estudo da estabilidade eletrocatalítica do SPWE, ou seja, reprodutibilidade e repetibilidade;
- iv. Estudo da reutilização da cera de abelha para a construção de diferentes SPWE;
- v. Avaliação do comportamento eletroquímico do AC;
- vi. Estudo da recuperação do AC em amostras de urina, saliva e água.

3. Parte Experimental

3.1 Reagentes, soluções e amostras

O AC foi adquirido pela Sigma Aldrich (Barueri / SP) e a solução estoque foi preparada numa concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, dissolvida em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato (PBS - phosphate buffered saline), que é também o eletrólito suporte utilizado, e foram diluídas em água ultrapura (Millipore Milli-Q $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$). Os pHs das soluções foram ajustados utilizando soluções de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ hidróxido de sódio (NaOH) e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ácido clorídrico (HCl).

Para o preparo do SPWE, foram utilizados grafite em pó (Sigma Aldrich), verniz vitral (Acrilex – São Bernardo do Campo / SP) e acetona (LS Chemicals – Ribeirão Preto/SP) para a dissolução da tinta de grafite. A cera de abelha, obtida por meio de produtores da região de Dourados – MS, utilizada como substrato foi derretida em meio aquoso em placas de Petri com controle de temperatura de 100 °C. Para a caracterização eletroquímica foram utilizados cloreto de potássio (KCl) (ProQuimios – Rio de Janeiro / RJ), ferricianeto de potássio ($K_3[Fe(CN)_6]$) (Sigma Aldrich) e ferrocianeto de potássio ($K_4[Fe(CN)_6]$) (Sigma Aldrich).

3.2 Construção e modificação do SPWE

Inicialmente o preparo da tinta de grafite foi realizado numa proporção 50% grafite em pó e 50% verniz vitral (m/m) com a adição de ~1mL de acetona até a completa homogeneização da tinta. Em seguida foi realizada a deposição da tinta com auxílio de um pincel sobre a cera de abelha, e após a secagem da tinta em temperatura ambiente foi realizado o isolamento das áreas dos eletrodos por meio de um adesivo impermeável. A configuração do SPWE é mostrada na Fig. 1, sendo composto por um eletrodo de trabalho, contra eletrodo e eletrodo de pseudo referência, sendo estes de grafite.

Foram produzidas também, tintas em outras duas proporções de grafite em pó e verniz vitral, tais como, 60%:40% e 70%:30% (m/m). Além desta etapa de preparação, estudou-se ainda o número de camadas de tinta depositadas no SPWE, variando de 2 a 4.

Para a modificação do SPWE, foi preparada uma suspensão de Vulcan@Chi, na qual foram adicionados 12,5 mg de Vulcan (Cabot Corporation) em 5 mL de água ultrapura contendo 0,5% (m/v) Chi em ácido acético 1% (V/V) (Sciavicco – Sabará / MG). A solução foi colocada em banho ultrassônico por 40 min., e após, foi realizada a deposição de 10 µL da solução Vulcan@Chi no eletrodo de trabalho para ser formada a microcamada. Destaca-se que antes da deposição da microcamada, a solução é colocada em banho ultrassônico por 15 min. para melhor homogeneização. As medidas eletroquímicas foram realizadas após a secagem completa da microcamada em temperatura ambiente. Para efeito de comparação da modificação do SPWE, foi realizado teste utilizando o carbono Printex 6L@quitosana (CP6L@Chi), sendo a solução de CP6L@Chi realizada da mesma forma que a descrita anteriormente. Além das soluções de carbono em água, estudou-se também a dispersão dos materiais carbonáceos em dimetilformamida (DMF).

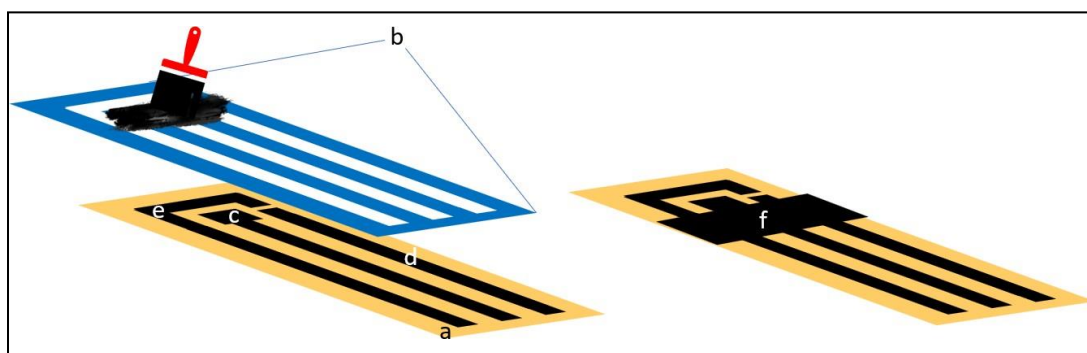


Figura 1. Ilustração da produção do SPWE baseado em tinta de grafite. (a) substrato; (b) design da área condutora de tinta de grafite; (c) eletrodo de trabalho; (d) eletrodo de pseudo referência; (e) contra-eletrodo e (f) adesivo isolante de vedação.

3.3 Caracterização química e eletroquímica do SPWE

O estudo da caracterização química do SPWE foi realizado por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) em um espectrômetro modelo Jasco 4100, na faixa de espectro entre 400 e 4.000 cm^{-1} para identificação dos grupos funcionais presentes na matriz de carbono.

Para a realização da caracterização eletroquímica do SPWE, foram realizadas medidas utilizando voltametria cíclica (VC) em 1,0 mmol L^{-1} $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em 0,1 mol L^{-1} KCl. Utilizou-se o potenciostato/galvanostato PGSTAT 302N Autolab (Metrohm). A faixa de potencial estudada foi de -0,7 a +0,8V vs *grafite* e velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} , sendo realizados também estudos com diferentes velocidades de varredura (5 a 100 mV s^{-1}). Os estudos de reprodutibilidade e estabilidade eletroquímica foram conduzidos com 7 SPWE em um dia e em 6 dias com um único eletrodo, respectivamente.

3.4 Detecção eletroquímica de AC em SPWE/Vulcan@Chi

Para os estudos de detecção do AC (200 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foram realizadas medidas por voltametria de pulso diferencial (VPD) em uma faixa de potencial de -0,3 a +1,0V em eletrólito suporte 0,1 mol L^{-1} PBS. Os parâmetros otimizados da VPD para a detecção do AC foram: step de 0,004 V, modulação de amplitude de 0,05 V, tempo de modulação de 0,06 s e tempo de intervalo de 0,5 s. Todos os parâmetros estudados e otimizados para a detecção de AC realizados por VPD são mostrados na Tabela 1.

Foram realizados também estudos de estabilidade e reprodutibilidade da plataforma SPWE/Vulcan@Chi nos parâmetros otimizados.

O estudo de otimização do pH foi realizado nos parâmetros otimizados em 0,1 mol L⁻¹ PBS na faixa de pH de 3,5 a 9,5. A curva analítica foi realizada numa faixa de concentração de AC de 0,05 a 4,5 µmol L⁻¹ na plataforma SPWE/Vulcan@Chi. O estudo de recuperação foi realizado em amostras reais de saliva, urina e água de rio diluídas em 0,1 mol L⁻¹ PBS numa proporção de 1:10 (v/v) com concentração final de 1,0 e 2,5 µmol L⁻¹. Realizaram-se também o estudo de reprodutibilidade (intraday) e estabilidade (interday) eletroquímica do SPWE/Vulcan@Chi para a detecção de AC nas condições otimizadas de trabalho.

Tabela 1. Parâmetros de otimização determinados por VPD para a detecção de AC.

Parâmetros (DPV)	Intervalos estudados	Parâmetros otimizados
Potencial (V)		-0,3 - +1,0
Step (V)	0,001 - 0,009	0,004
Amplitude (V)	0,01 - 0,09	0,05
Tempo de modulação (s)	0,01 - 0,09	0,06
Intervalo de tempo (s)	0,1 - 0,9	0,5

4. Resultados e discussão

4.1 Caracterização química do SPWE/Vulcan@Chi

O estudo dos grupos funcionais presentes no material foram investigados por FTIR. As bandas em 1019 (A) e 1018 cm^{-1} (B) correspondem ao estiramento da ligação $\text{N}=\text{O}_{\text{ads}}$ [33] presentes no carbono. As bandas de 1.390 (A) e 1.403 cm^{-1} (B) correspondem ao estiramento de $\text{S}=\text{O}$, 1608 (A) e 1.548-1.681 cm^{-1} (B) correspondem ao estiramento de $\text{C}=\text{C}$ [34], 713 (A) e 708 cm^{-1} (B) correspondem à deformação $\text{C}=\text{C}$. As bandas observadas em 3.474 e 3.482 são devido ao estirimento $\text{O}-\text{H}$, assim como as bandas em 3.474 (A) e 3.482 (B) cm^{-1} .

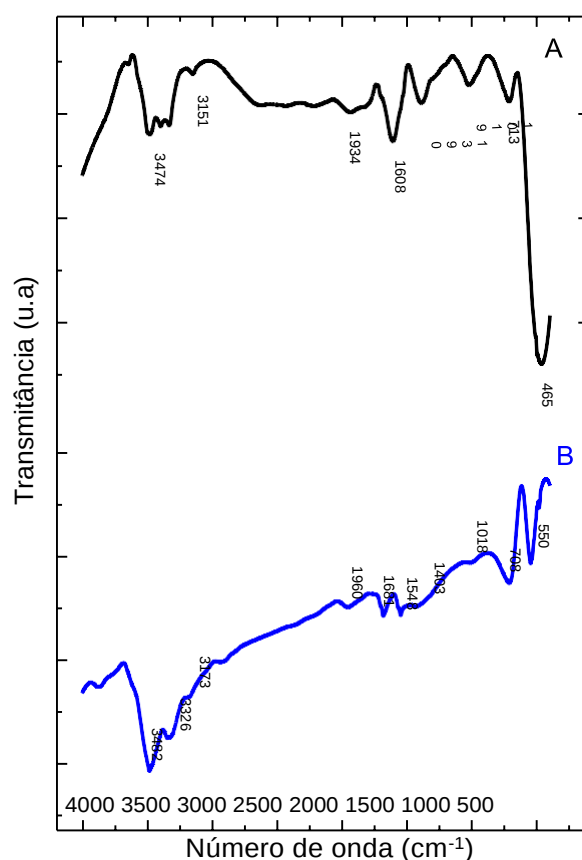


Figura 2. Espectros no FTIR de Vulcan@Chi (A) e Vulcan (B).

4.2 Caracterização eletroquímica do SPWE

A caracterização eletroquímica foi iniciada pelo estudo ciclovoltamétrico da variação do número de camadas na superfície da cera de abelha fundida (2 a 4) numa proporção de tinta 50%:50% (grafite:verniz) (m/m). A Fig. 3 mostra os voltamogramas cíclicos para diferentes camadas (2c = duas camadas; 3c= 3 camadas e 4c= 4 camadas) na Tabela 1, são apresentados os parâmetros de

reversibilidade, calculados por meio da equação de Randles-Sevick (Eq. 1) para determinar o efeito da área eletroativa (área real) da superfície do eletrodo [9].

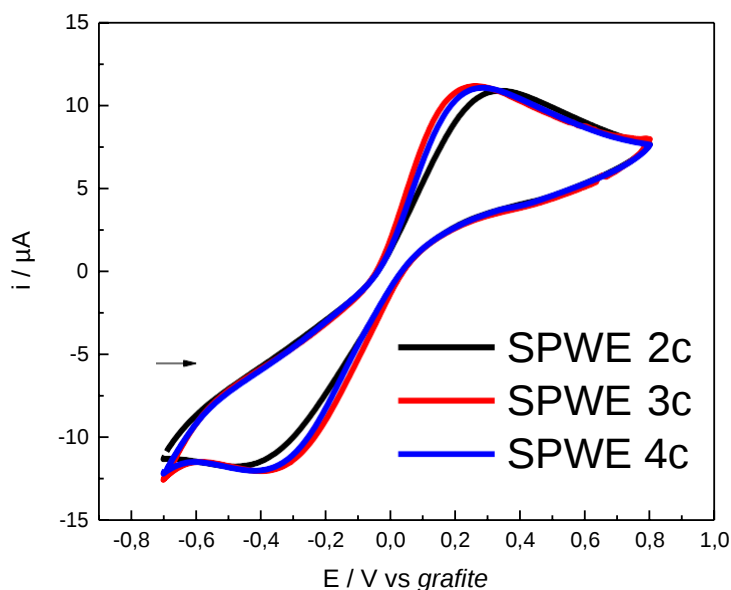


Figura 3. Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ do estudo comparativo do número de camadas de tinta de grafite em uma proporção de (50% / 50%) (m/m).

$$I_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2} \quad (1)$$

sendo:

I_p = corrente de pico anódica;

n = número de elétrons transferidos;

A = área eletroativa do eletrodo impresso (cm^2)

D = coeficiente de difusão do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$); C = concentração do par redox (mol L^{-1});

V = velocidade de varredura (V s^{-1})

Os valores obtidos da constante heterogênea de transferência de elétrons (K^0) foram calculados pela equação de Nicholson (Eq. 2) e Lavagnini (Eq. 3) [35, 36] para valores de ΔE_p menores que 200 mV, para ΔE_p maiores que 200 mV, foi utilizada a equação de Klinger e Kochi (Eq. 4) [37].

$$\Psi = K^0 [\pi D n v F / (R T)]^{-1/2} \quad (2)$$

$$\Psi = (-0,6288 + 0,0021 \times \Delta E_p) / (1 - 0,017 \times \Delta E_p) \quad (3)$$

$$K^0 = 2,18 [(D \beta n F v) / (R T)]^{1/2} \times \exp [(-\beta^2 n F \Delta E_p) / (R T)] \quad (4)$$

sendo:

ψ parâmetro cinético;

K^0 é constante de transferência de elétrons heterogênea;

π igual a 3,1415;

n: número de elétrons transferidos;

ΔE_p : variação de potencial de pico;

D: coeficiente de difusão do $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em 0,1 mol L⁻¹ KCl (cm² s⁻¹);

v: velocidade de varredura (V s⁻¹);

F: constante de Faraday (96.485 C mol⁻¹); T:

temperatura (Kelvin);

R: constante dos gases J mol⁻¹ K⁻¹

Tabela 2. Parâmetros de reversibilidade referentes ao número de camada de tinta de grafite no SPWE.

SPWE (50%/50%)	Área real (mm ²)	^a %real	^b I _{pa} /I _{pc}	^c ΔE_p (mV)	^d E _{1/2} (mV)	K ⁰ (cm s ⁻¹)
2 c	Totalmente irreversível	-	-	-	-	-
3 c	6,7	31,4	0,9	656,3	-66,4	1,3E ⁻⁰²
4 c	6,6	31,1	0,9	706,6	-71,5	8,3E ⁻⁰³

^a%real = (A_{real}/A_{geométrica}) × 100; ^b: razão entre corrente anódica e catódica; ^c: variação de potencial; ^d: potencial de meia onda.

De acordo com os valores mostrados na Tabela 2, nota-se uma melhora nos parâmetros de reversibilidade para o SPWE com 3 camadas de tinta, além da diminuição de custo em relação a produção de um eletrodo com 4 camadas, e por apresentar menor valor de ΔE_p , sendo o SPWE com 3 camadas escolhido para o prosseguimento dos estudos.

Após a determinação dos resultados eletroquímicos apresentados nas diferentes camadas, foi realizado o estudo de proporção da tinta, onde variou-se a proporção de 50% grafite em pó:50% verniz vitral (m/v), para 60%:40% e 70%:30%, e os resultados obtidos são demonstrados na Fig. 4 e Tabela 3.

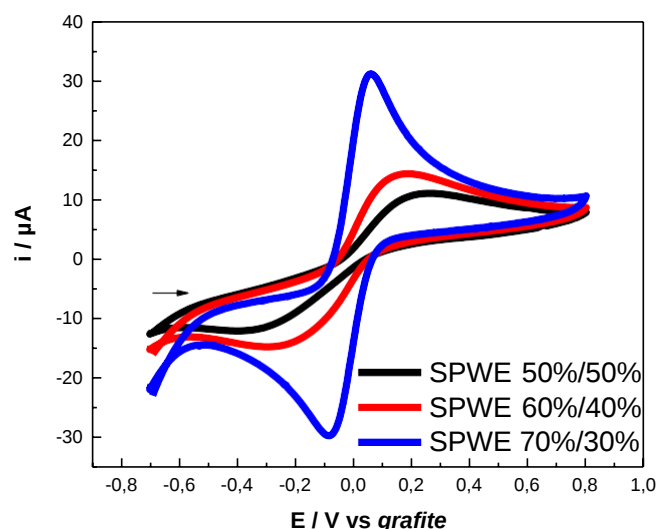


Figura 4. Voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ do estudo da variação da proporção de grafite em pó e verniz vitral na composição da tinta de grafite (50%:50%; 60%:40%; 70%:30%) (m/m).

Tabela 3. Parâmetros de reversibilidade para o estudo da variação da proporção de grafite em pó e verniz vitral.

SPWE_3c	Área real (mm^2)	$^a\% \text{real}$	$^b I_{pa}/I_{pc}$	$^c \Delta E_p$ (mV)	$^d E_{1/2}$ (mV)	K^0 (cm s^{-1})
50%	6,72	31,41	0,92	656,3	-66,45	$1,31\text{E}^{-02}$
60%	8,70	40,66	0,98	480,04	-53,86	$2,93\text{E}^{-02}$
70%	19,42	90,76	1,04	139,3	-11,06	$1,68\text{E}^{-03}$

$^a\% \text{real} = (A_{\text{real}}/A_{\text{geométrica}}) \times 100$; b : razão entre corrente anódica e catódica; c : variação de potencial; d : potencial de meia onda; 3c= SPWE com 3 camadas.

Nota-se, pelos valores apresentados na Tabela 3, e o perfil voltamétrico apresentado na Fig. 4, que a tinta composta com uma proporção de 70% grafite em pó e 30% de verniz vitral apresenta elevada eficiência significativa no desempenho eletrocatalítico do SPWE, com um aumento da área real do eletrodo de 2,23 vezes, além da considerável diminuição no valor de ΔE_p e aumento da reversibilidade. O valor de K^0 foi menor, entretanto, todos os outros parâmetros de reversibilidade apresentaram melhora na proporção 70%:30%. Assim, os demais estudos foram realizados em eletrodos compostos com 3 camadas de tinta e em uma proporção de 70% grafite em pó:30% verniz vitral. Destaca-se que, como as reações eletroquímicas ocorrem na superfície do eletrodo de trabalho [38], essa melhora significativa da resposta eletroquímica pode ser atribuída às propriedades condutivas do grafite [39], assim como também a obtenção de uma camada mais homogênea e menos dispersa.

Foi realizado também o estudo cinético em $1,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{KCl}$ variando a velocidade de varredura, de 5 mV s^{-1} a 100 mV s^{-1} , conforme mostra a Fig. 5.

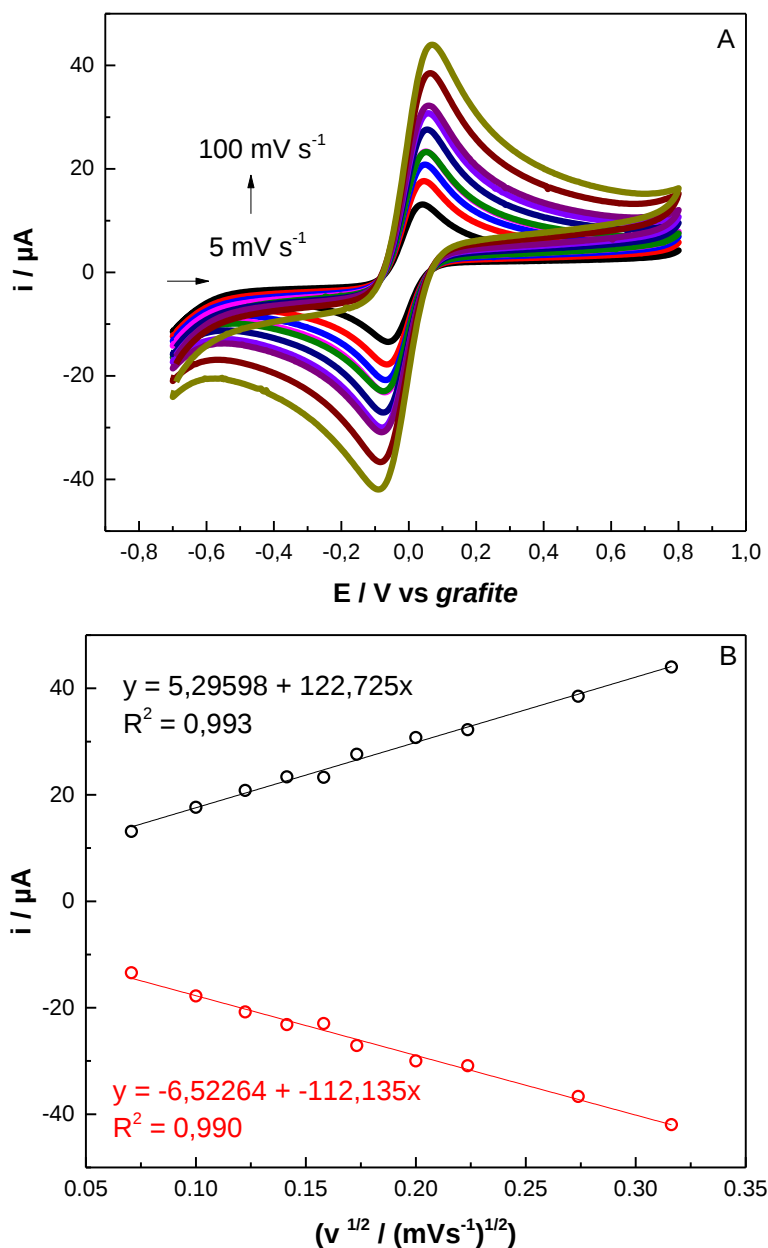


Figura 5. (A) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura (5 a 100 mV s^{-1}) realizados em solução de $1,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{KCl}$ para o SPWE composto de 3 camadas de tinta e proporção de 70% / 30% (grafite/verniz) e (B) relação linear dos picos anódico e catódico da corrente (μA) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.

Nota-se, pela Fig. 5A, que conforme ocorre o aumento da velocidade de varredura, ocorre também um aumento nos valores de corrente, tanto anódicas quanto catódicas, onde comprovado pela Fig. 5B, observa-se elevada linearidade no comportamento dos valores de corrente em relação a raiz quadrada das velocidades de varredura, apresentando

$R^2 = 0,993$ e $0,990$ para as correntes catódicas e anódicas, respectivamente, indicando um processo controlado por difusão [40].

Realizou-se ainda o estudo da estabilidade eletroquímica do SPWE por voltametria cíclica num total de 100 ciclos a uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Os resultados obtidos são mostrados na Fig. 6, onde a resposta de corrente obtida para o par redox em $\sim 0,0 \text{ V}$ sofreu uma oscilação de $\sim 10\%$. Este resultado indica que a aderência da tinta de grafite na superfície do SPWE é efetiva, mesmo havendo uma redução nos valores de corrente, devido ao efeito adsorptivo da sonda $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ no material carbonáceo, após repetidas medidas.

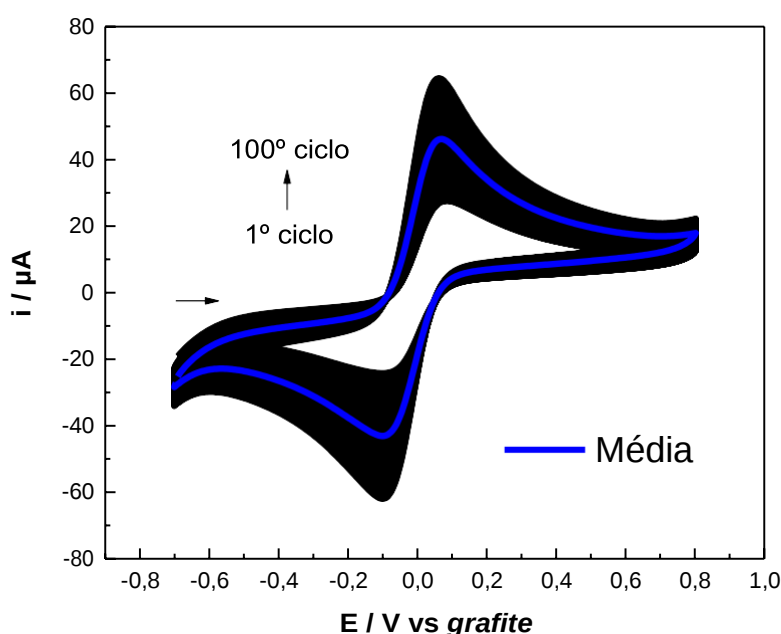


Figura 6. Voltamogramas cíclicos do estudo da estabilidade eletroquímica do SPWE em $1,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{KCl}$ após 100 ciclos. Em azul, o valor médio dos 100 ciclos voltamétricos.

Foi realizado também o estudo cronoamperométrico ($E = +0,06 \text{ V}$) por um período de 4,6 h, a fim de verificar novamente, a estabilidade do SPWE, conforme demonstrado na Fig. 7, sendo evidenciado na Fig. 7A, a ausência de oscilação da corrente durante o experimento. A Fig. 7B mostra que o perfil ciclo voltamétrico do SPWE para o par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ não apresenta queda nos valores de corrente após a realização da cronoamperometria, o que demonstra a estabilidade eletroquímica do SPWE.

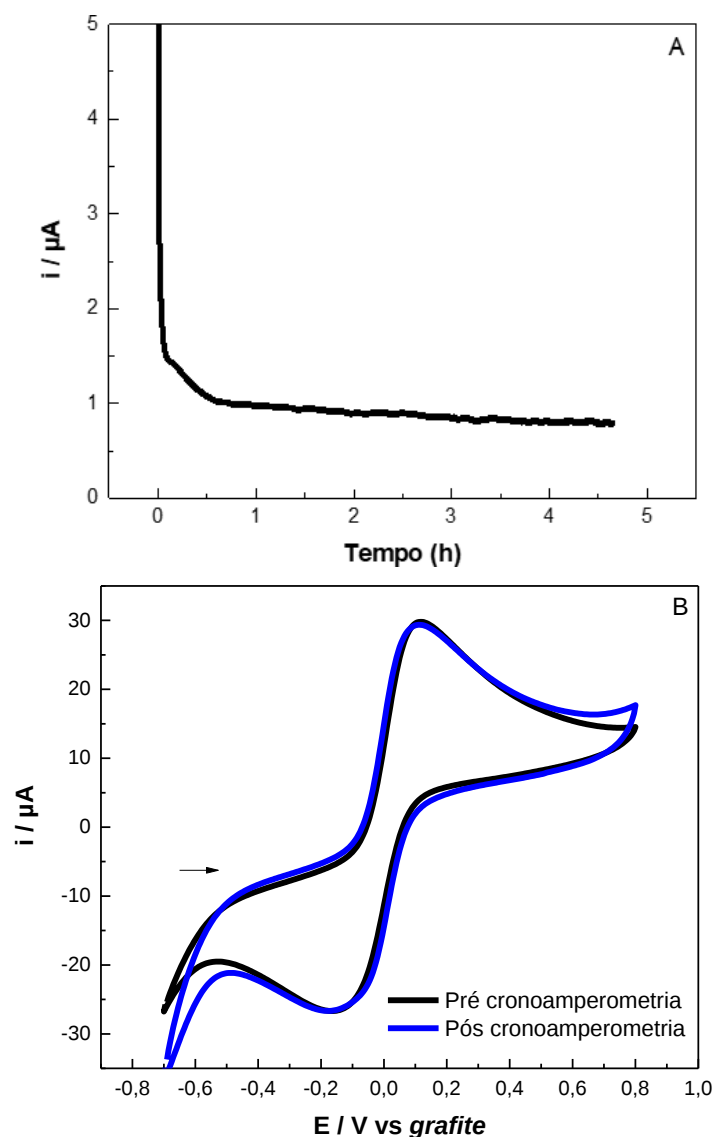


Figura 7. (A) Perfil cronoamperométrico e (B) voltamogramas cíclicos antes e depois da cronoamperometria do SPWE em $1,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$.

Ainda visando estudar a reprodutibilidade do eletrodo e também sua estabilidade, foram realizados testes com 7 eletrodos diferentes (testados em um dia) e, com o mesmo eletrodo testado durante 7 dias. Os resultados obtidos (Fig. 8A) apresentam uma leve diminuição do valor de corrente catódica e anódica após 6 dias consecutivos de experimentos, demonstrando uma boa estabilidade do SPWE. O teste utilizando 7 eletrodos diferentes em um mesmo dia (Fig. 8B) apresentou uma média de corrente catódica e anódica de $+32,06 \mu\text{A}$ e $-27,28 \mu\text{A}$ com um desvio padrão de $\pm 3,16$ e $\pm 2,82$ respectivamente, apresentando uma boa reprodutibilidade entre todos os eletrodos de mesma configuração.

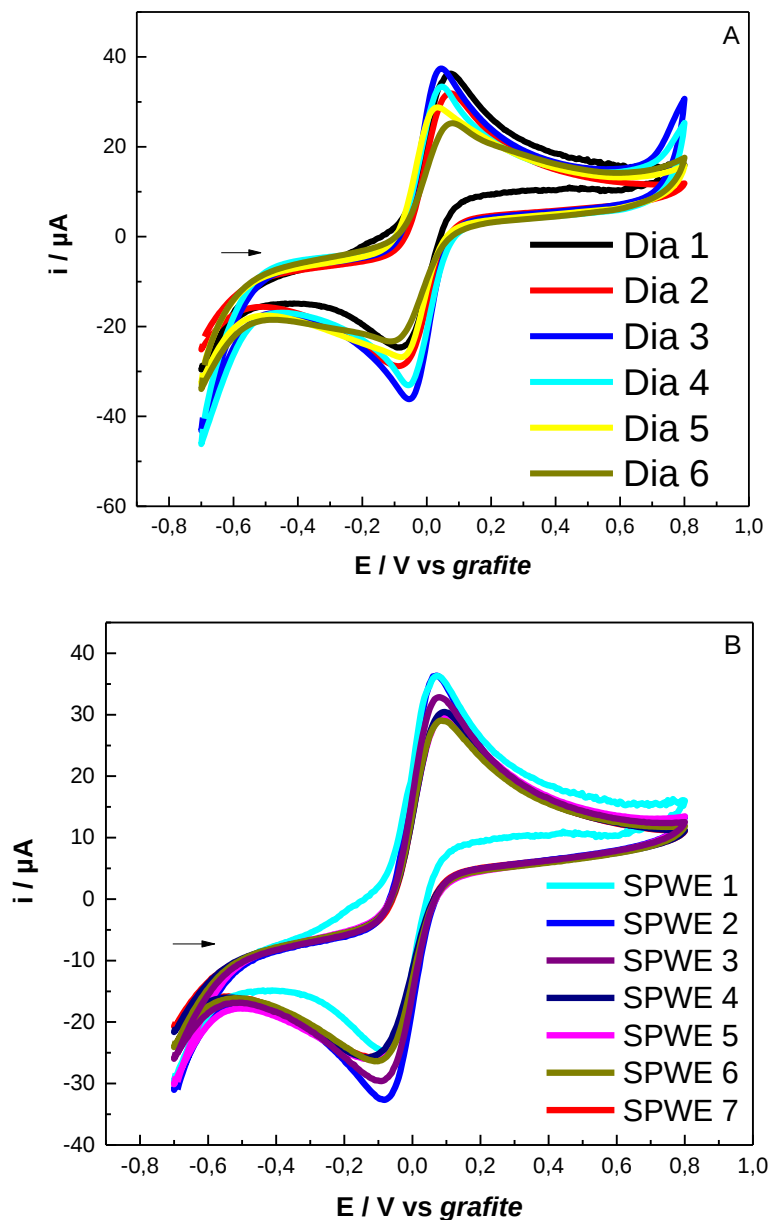


Figura 8. Voltamogramas cíclicos do estudo da (A) estabilidade e (B) reprodutibilidade eletroquímica do SPWE em $1,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$.

Pelo caráter hidrofóbico da cera de abelha [19], e a possibilidade da sua fusão em água, foi avaliada a capacidade de reutilização da mesma cera para a construção de eletrodos de mesma configuração, visando diminuição de custo e menor descarte de produtos. Nesse sentido, foi realizado um estudo em que, com a mesma cera, foram realizados 3 ciclos de derretimento, em que cada ciclo corresponde a produção de 3 eletrodos. A Fig. 9 mostra a média de corrente para cada ciclo.

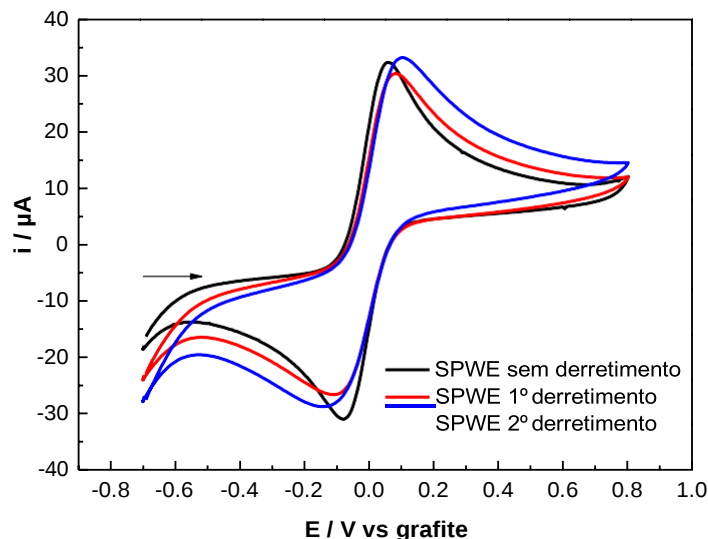


Figura 9. Voltamogramas cíclicos em $\text{Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ do estudo de sucessivos derretimentos da mesma cera para a produção de SPWE (os perfis eletroquímicos apresentados no voltamograma correspondem a média de 3 eletrodos).

Como demonstrado na Fig. 9, os sucessivos derretimentos utilizando o mesmo substrato não causaram grandes efeitos de oscilações na resposta de corrente do SPWE para o par redox $\text{Fe(CN)}_6^{3-/4-}$, indicando a possibilidade da reutilização da cera de abelha a cada ciclo de derretimento para a produção de eletrodos impressos.

4.3 Estudo da detecção de AC em SPWE/Vulcan@Chi

Com o objetivo de aumentar a eficiência e sensibilidade eletroquímica frente a detecção do AC, foram realizadas diferentes modificações do SPWE, sendo, Vulcan@Chi, Carbono Printex 6L (CP6L)@Chi, Vulcan_{DMF} e CP6L_{DMF}. O estudo de detecção foi realizado por VPD, e inicialmente a concentração de AC foi fixada em $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ PBS}$ (pH 6,5). Os perfis voltamétricos da VPD são mostrados na Fig. 10.

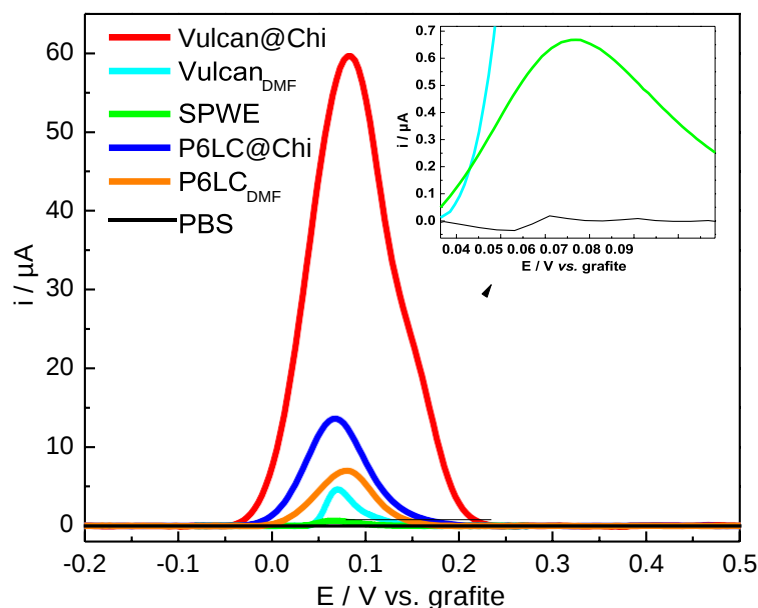


Figura 10. Voltamogramas de pulso diferencial da detecção de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ AC em 0,1 mol L^{-1} PBS (pH 6,5) utilizando diferentes plataformas baseadas em SPWE.

O SPWE/Vulcan@Chi apresentou uma melhora significativa na resposta de corrente da detecção do AC quando comparado às outras modificações, principalmente ao SPWE não modificado. O aumento na eficiência eletroquímica é devido à melhor dispersão de Vulcan com quitosana em solução aquosa, o que facilita também a deposição da microcamada na superfície do eletrodo de trabalho, tornando-a mais homogênea. Destaca-se que ocorre maior interação entre as propriedades condutivas do Vulcan e as propriedades catalíticas e de formação de filmes da quitosana, fazendo com que haja mais estabilidade da superfície do sensor [24-32], aumentando a resposta de corrente para o AC, sendo, portanto, a modificação escolhida para o prosseguimento do estudo.

4.4 Estudo da influência de pH

A otimização do pH do analito em eletrólito suporte é uma etapa importante para o desenvolvimento de eletrodos impressos utilizados como sensores eletroquímicos, exercendo função crucial nas reações eletroquímicas na superfície do eletrodo, o que influencia diretamente no processo de oxidação da molécula do composto. Nesse sentido, foi realizado o estudo de pH em uma faixa de 3,5 a 9,5 em uma concentração de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AC ($\text{pK}_a \sim 9$ a 9,5) em 0,1 mol L^{-1} PBS. A Fig. 11 mostra os voltamogramas de pulso diferencial e a relação de pH *versus* corrente e potencial. Os perfis voltamétricos apresentados estão nas condições otimizadas.

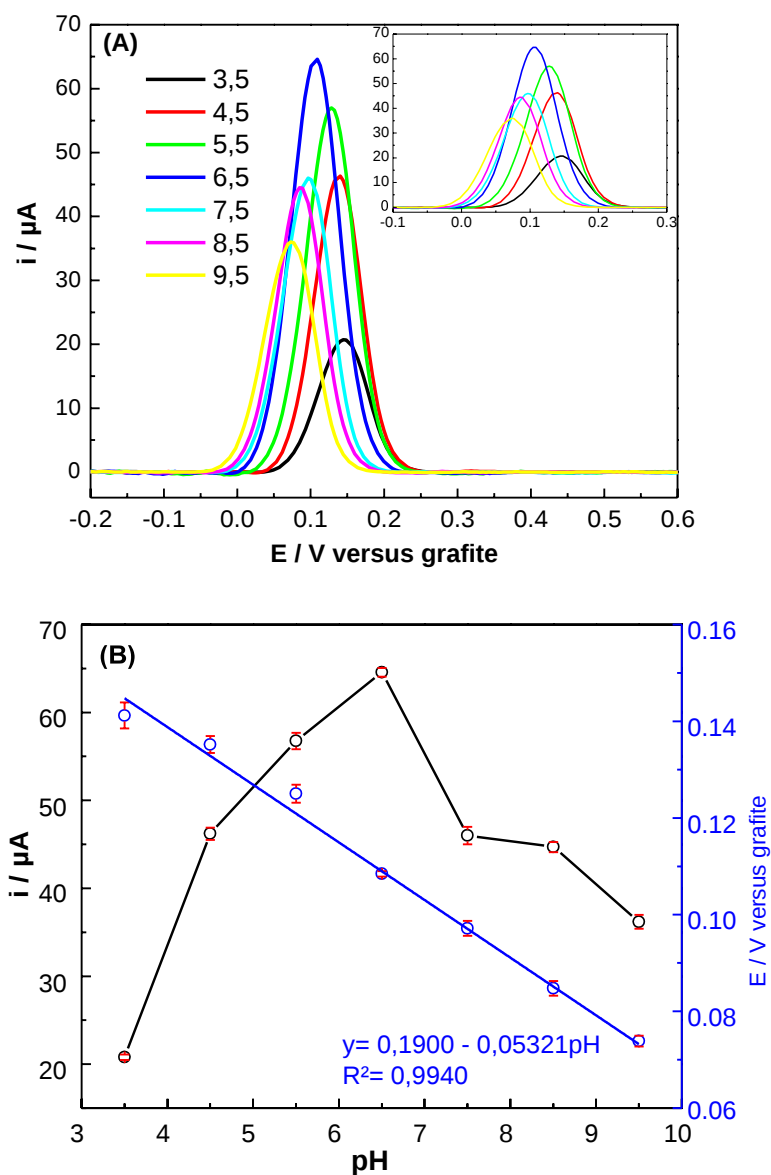
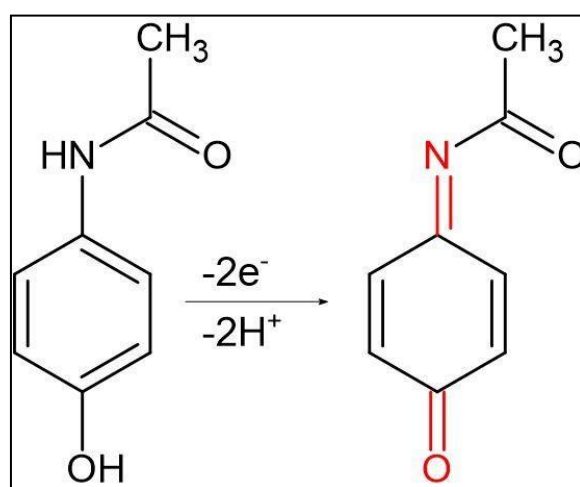


Figura 11. (A) Voltamogramas de pulso diferencial em função do pH para a detecção de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AC (B) relação linear do potencial (V) em função do pH (linha vermelha) e relação dos valores de corrente (μA) em função do pH (curva em preto).

Observa-se na Fig. 11A que, conforme o valor de pH aumenta, o potencial de oxidação do AC é deslocado para a região catódica, demonstrando a relação linear entre os dois valores, o que resulta em $R^2=0,994$. Considerando a equação da reta obtida ($i=0,190-0,053\text{pH}$), observa-se que o valor de *slope* de 0,053 é próximo ao valor de 0,00592 dado pela Eq. de Nernst, indicando que o mecanismo de oxidação da molécula do AC ocorre pelo mesmo número de prótons e elétrons, conforme representado pelo Esquema 1.

Neste caso, o número de prótons e elétrons é equivalente a 2, e a oxidação do AC resulta no composto N-(4-oxociclohexa-2,5-dien-1-ilideno) acetamida [10]. Em $\text{pH} \geq 6,5$,

a espécie oxidada (II) é estável na forma desprotonada e em pH ácido é rapidamente protonada, sendo esta menos estável, porém apresenta atividade eletroquímica ativa[41]. O maior pico de corrente ocorreu em pH 6,5 sendo 64,57 μA em +0,108 V. O potencial de oxidação do AC frente ao SPWE/Vulcan@Chi pode ser deslocado para menores valores (considerando estudos relatados na literatura ($\sim +0,3\text{V}$ a $+0,6\text{V}$)) [42- 48], e isto possivelmente é devido à modificação com material carbonáceo estabilizado com um estabilizante do tipo *cross link*, como é o caso da quitosana. Destaca-se ainda que possíveis deslocamentos de potenciais, também poderão ser evidenciados com a aplicação do eletrodo de pseudo referência de grafite, utilizado neste trabalho.



Esquema 1. Mecanismo de oxidação do AC na superfície do SPWE/Vulcan@Chi.

4.5 Estudo da detecção de AC em SPWE/Vulcan@Chi

Para avaliar o efeito da variação de concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$) de AC em função da resposta de corrente (μA), foi realizada a curva analítica na faixa de 0,05 - 4,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n= 3$), e os resultados obtidos estão representados na Fig. 12.

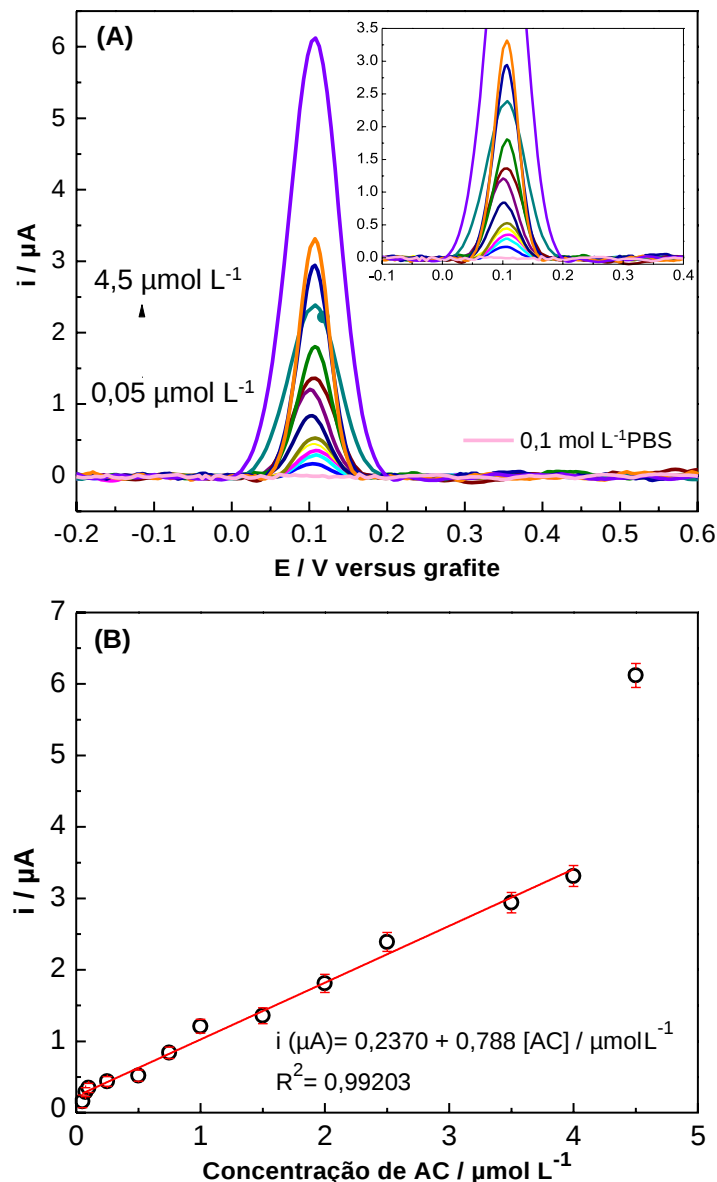


Figura 12. (A) Voltamograma de pulso diferencial representando os picos de oxidação de AC para diferentes concentrações em 0,1 mol L⁻¹ PBS (pH 6,5) e (B) Linearização da resposta em corrente (μA) em função da concentração de AC (μmol L⁻¹).

Observa-se na Fig. 12B, uma relação linear entre o aumento da concentração de 0,05 até 4,0 μmol L⁻¹ de AC e aumento dos valores obtidos de corrente, sendo obtido valor de R² de 0,99203 originado da equação da reta obtida (Eq. 5)

$$i_p(\mu A) = 0,2370 + 0,788 [AC] / \mu mol L^{-1} \quad (5)$$

O limite de detecção (LD) foi calculado conforme Eq. 6, sendo obtido o valor de 0,0130 μmol L⁻¹, demonstrando elevada sensibilidade do SPWE/Vulcan@Chi frente a detecção do AC, em comparação a outros estudos reportados na literatura [49-51].

$$LD = \frac{3s}{a} \quad (6),$$

sendo,

s= desvio padrão do branco (0,1 mol L⁻¹ PBS (pH 6,5))

a= coeficiente angular da reta

A detecção de AC em amostras de água de rio, saliva e urina masculina foi aplicada utilizando o método de adição de padrão. Os experimentos de recuperação (n= 3) foram realizados com a adição de alíquotas de uma solução padrão de 1,0 e 2,5 μmol L⁻¹ de AC às amostras previamente diluídas em 0,1 mol L⁻¹ PBS (pH 6,5). Os testes foram realizados por VPD nos parâmetros otimizados e os resultados estão demonstrados na Tabela 4.

Tabela 4. Estudo de recuperação de AC em amostras de água de rio, saliva e urina masculina por VPD para SPWE/Vulcan@Chi.

Amostra		Concentração adicionada (μmol L ⁻¹)	Concentração encontrada (μmol L ⁻¹)	i (μA) obtida	*Recuperação (%)	DPR (%)
Água de rio	—	1,0	1,22	1,13	113,3	1,12
		2,5	2,59	2,28	104,0	0,58
Saliva	—	1,0	0,97	1,00	97,0	3,00
		2,5	2,36	2,1	95,0	2,58
Urina masculina	—	1,0	1,22	1,14	114,6	1,70
		2,5	2,30	2,05	92,0	1,27

* Recuperação= ([encontrada] / [adicionada]) × 100

Os valores de recuperação do AC apresentados na Tabela 4 variam de 92 a 113,3% sendo valores satisfatórios do ponto de vista analítico, além de apresentarem baixos valores de DPR. Estes dados indicam que o dispositivo SPWE/Vulcan@Chi apresenta elevada exatidão como um sensor eletroquímico para a determinação do AC em diferentes tipos de amostras.

4.6 Reprodutibilidade e estabilidade do SPWE/Vulcan@Chi para detecção de AC

Visando verificar a reprodutibilidade e a estabilidade do SPWE/Vulcan@Chi na detecção de AC, foram realizados testes de reprodutibilidade (intraday) utilizando 7 dispositivos SPWE/Vulcan@Chi de mesma composição (Fig. 13A) e de estabilidade

(interday) sendo realizada a mesma medida por 7 dias seguidos utilizando o mesmo eletrodo (Fig. 13B).

Para os testes de intraday, obteve-se um valor médio de corrente de $\sim 51,22 \mu\text{A}$ e um desvio padrão de $\pm 2,2$. Para os dados obtidos nos testes de interday, houve pequenas oscilações de corrente (média de $55,10 \mu\text{A}$) com desvio padrão de $\pm 4,65$. Estes dados indicam que o SPWE/Vulcan@Chi quando aplicado para a detecção de AC (nas condições eletroquímicas otimizadas) apresenta elevada reprodutibilidade e estabilidade eletroanalítica, sugerindo que este dispositivo também pode ser aplicado para a determinação e quantificação de diferentes espécies.

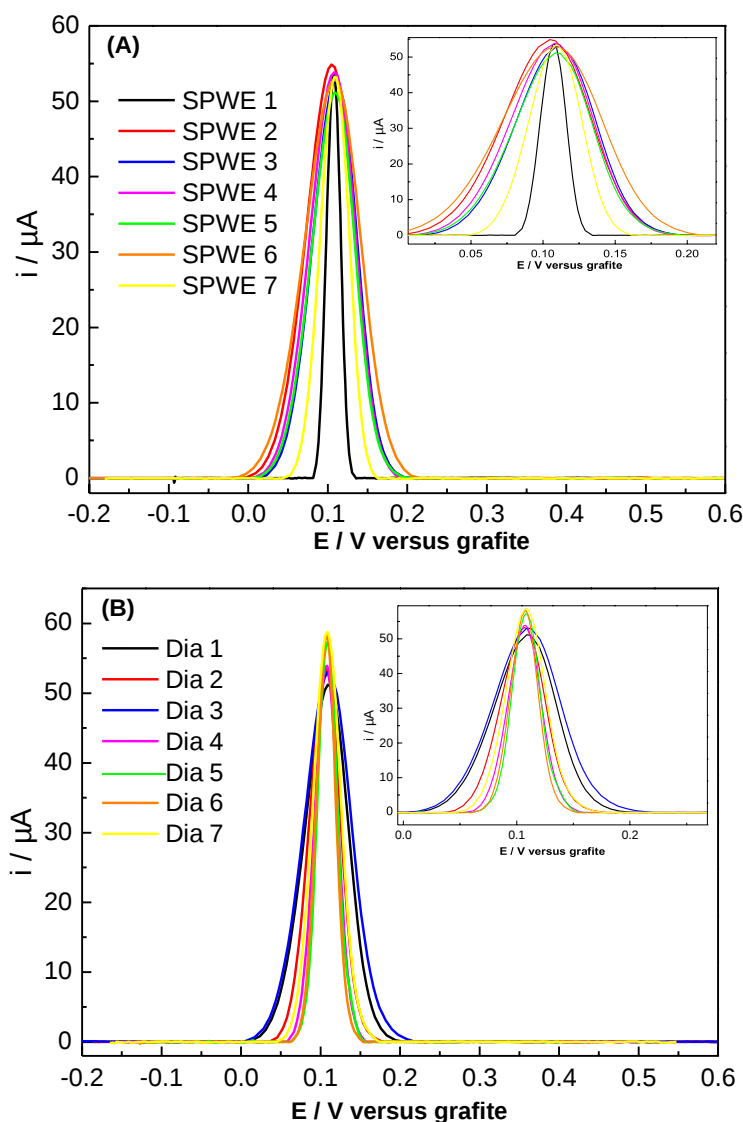


Figura 12. (A) Estudo de reprodutibilidade (intraday) utilizando sete dispositivos de SPWE/Vulcan@Chi diferentes e (B) estabilidade (interday) por sete dias seguidos para a detecção de $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ AC em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 6,5).

5. Conclusão

O SPWE com 3 camadas de grafite e de composição de 70% de grafite em pó e 30% de verniz vitral (m/m) apresentou a melhor resposta eletroquímica para o par redox de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ dentre as variações avaliadas. O SPWE apresentou pequena oscilação de corrente quando utilizado sete dispositivos, assim como também na aplicação de um único dispositivo em 6 dias diferentes. A modificação do SPWE com Vulcan@Chi demonstrou maior sensibilidade na detecção de AC em pH 6,5 quando comparado ao SPWE modificado com CPL6. O estudo de detecção do AC apresentou um LD de 0,013 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em uma ampla faixa linear, com uma média de recuperação de 102,65% em diferentes tipos de amostras. A partir dos dados obtidos com este estudo, pode-se dizer que o dispositivo SPWE/Vulcan@Chi apresenta elevada estabilidade eletroquímica e reprodutibilidade. Destaca-se também que, as características da cera de abelha possibilitam a sua reutilização de forma sucessiva, permitindo a esta plataforma modificada com material carbonáceo ser um ótimo sensor eletroquímico de baixo custo, fácil utilização, com aplicabilidade *in situ* para a detecção e determinação de AC.

6. Referências

- [1] Shetti, N. P., Malode, S. J., Nayak, D. S., Reddy, K. R., Reddy, Ch. V., Ravindranadh, K. Silica gel-modified electrode as an electrochemical sensor for the detection of acetaminophen. **Microchemical Journal**, 150, 104206, 2019.
- [2] Gerriets V, Anderson J, Nappe TM. Acetaminophen. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2022. PMID: 29493991.
- [3] SPENCE, J. D.; GROSSER, T.; FITZGERALD, G. A. Acetaminophen, Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, and Hypertension. **Hypertension**, 79, 1922, 2022.
- [4] OHASHI, N.; KOHNO, T. Analgesic Effect of Acetaminophen: A Review of Known and Novel Mechanisms of Action. **Frontiers in Pharmacology**, 11, 30, 2020.
- [5] MCCRAE, J. C. et al. Long-term adverse effects of paracetamol - a review. **British Journal of Clinical Pharmacology**, 84, 2218, 2018.
- [6] FREO, U. et al. Paracetamol: A Review of Guideline Recommendations. **Journal of Clinical Medicine**, 10, 3420, 2021.
- [7] MCGILL, M. R.; HINSON, J. A. The development and hepatotoxicity of acetaminophen: reviewing over a century of progress. **Drug Metabolism Reviews**, 52, 472, 2020.
- [8] ZHANG, Y. et al. ZIF-67-derived highly dispersed Co₃O₄ nanoparticles@hollow carbon chamfer cube-reduced graphene oxide for electrochemical detection of dopamine, acetaminophen and xanthine. **Journal of Alloys and Compounds**, 936, 168, 2023.
- [9] DURAISAMY, M. et al. Novel ruthenium-doped vanadium carbide/polymeric nanohybrid sensor for acetaminophen drug detection in human blood. **International Journal of Biological Macromolecules**, 244, 125329, 2023.
- [10] WU, P. et al. Self-assembled multilayer Nb₂C MXene/MnFe₂O₄ electrochemical sensor with Schottky junctions for the detection of acetaminophen and dopamine. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 667, 131377, 2023.
- [11] WANG, S. et al. A graphene oxide/Zn-metal organic framework electrochemical sensor for acetaminophen detection. **Surfaces and Interfaces**, 39, 102910, 2023.
- [12] ALLWIN RICHARD, Y. et al. Sensitive detection of acetaminophen in body fluids, pharmaceuticals and herbal medicines at un-doped mesoporous carbon nitride film electrode. **Microchemical Journal**, 184, 108175, 2023.
- [13] ZIAIE, N.; SHABANI-NOOSHABADI, M. Application of the C–C₃N₄/Li₂CoMn₃O₈//IL nanocomposite for design a sensitive electrochemical sensor in order to detection of cetirizine, acetaminophen and phenylephrine in biological and pharmaceuticals samples. **Environmental Research**, 216, 114667, 2023.

- [14] NIGOVIĆ, B. et al. Selective sensor for simultaneous determination of mesalazine and folic acid using chitosan coated carbon nanotubes functionalized with amino groups. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 851, 113450, 2019.
- [15] PRAKASH, S. et al. Copper nanoparticles entrapped in SWCNT-PPy nanocomposite on Pt electrode as NO_x electrochemical sensor. **Talanta**, 85, 964, 2011.
- [16] SOPAJ, F. et al. Preparation of an efficient and selective voltammetric sensor based on screen printed carbon ink electrode modified with TiO₂ nanoparticles for Azithromycin quantification. **Results in Chemistry**, 6, 101123, 2023.
- [17] ALBANA VESELI; LUBOMÍR ŠVORC; FLAMUR SOPAJ. Additional Studies on the Electrochemical Behaviour of Three Macrolides on Pt and Carbon Based Electrodes. **Electroanalysis**, 33, 219, 2021.
- [18] PADGURSKAS, J. et al. Tribological study of beeswax-thickened biogrease and its modification with carbon nanoparticles. **Tribology International**, 184, 108465, 2023.
- [19] DA S. M. FOREZI, L. et al. Aqui tem Química: Parte V: Ceras Naturais. **Revista Virtual de Química**, 14, 877, 2022.
- [20] KELÍŠKOVÁ, P. et al. Recent advances in the use of screen-printed electrodes in drug analysis: A review. **Current Opinion in Electrochemistry**, 42, 101408, 2023.
- [21] DOMÍNGUEZ-RENEDO, O. et al. Current state of electrochemical sensors in wine analysis for early diagnosis. **Trends in Analytical Chemistry**, 168, 117349, 2023.
- [22] YANG, F. et al. Electrochemical enzyme sensor based on gold-biomass carbon composite modified electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, 18, 100364, 2023.
- [23] SILVA, F. W. L. et al. High sensitivity, low-cost, and disposability: A novel screen-printed electrode developed for direct electrochemical detection of the antibiotic ceftriaxone. **Talanta**, 266, 125075, 2024.
- [24] ALBERTO, E. et al. Voltammetric determination of sulfamethoxazole using commercial screen-printed carbon electrodes. **Microchemical Journal**, 193, 109125, 2023.
- [25] LUÍS, P. et al. Synergistic combination of carbon conductive and flexural additives for flexible screen-printed supercapacitor electrodes. **Carbon Trends**, 12, 100287, 2023.
- [26] SUPRUN, E. V. et al. Direct Electrochemistry of Heme Proteins on Electrodes Modified with Didodecyldimethyl Ammonium Bromide and Carbon Black. **Electroanalysis**, 24, 1923, 2012.
- [27] ARDUINI, F. et al. Carbon Black-Modified Screen-Printed Electrodes as Electroanalytical Tools. **Electroanalysis**, 24, 743, 2012.

- [28] TALARICO, D. et al. Carbon black as successful screen-printed electrode modifier for phenolic compound detection. **Electrochemistry Communications**, 60, 78, 2015.
- [29] AMBAYE, A. D. et al. Screen-printed electrode system based on carbon black/copper-organic framework hybrid nanocomposites for the electrochemical detection of nitrite. **Materials Today Communications**, 35, 105567, 2023.
- [30] SILVA, S. B. da, BATISTA, G. L. e SANTIN, C. K. Chitosan for Sensors and Electrochemical Applications. In: BROEK, L. A. M. Van den, BOERIU, C. G. Chitin and Chitosan: Properties and Applications. Nova Jersey: John Wiley and Sons Ltd, 2019, p. 462-476.
- [31] LI, F. et al. Three-dimensional hierarchical porous carbon coupled with chitosan based electrochemical sensor for sensitive determination of niclosamide. **Food Chemistry**, 366, 130563, 2022.
- [32] ANNU; RAJA, A. N. Recent development in chitosan-based electrochemical sensors and its sensing application. **International Journal of Biological Macromolecules**, 164, 4231, 2020.
- [33] ASSUMPÇÃO, M. H. M. T. et al. A comparative study of the electrogeneration of hydrogen peroxide using Vulcan and Printex carbon supports. **Carbon**, 49, 2842, 2011.
- [34] ALAWADHI, H. et al. A composite of graphitic carbon nitride and Vulcan carbon as an effective catalyst support for Ni in direct urea fuel cells. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, 116, 160, 2020.
- [35] NICHOLSON, R. S. Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics. **Analytical Chemistry**, 37, 1351, 1965.
- [36] LAVAGNINI, R. A., MAGNO, F. An extended method for the practical evaluation of the standart rate constant from cyclic voltammetric data. **Electroanalysis**, 16, 505, 2004.
- [37] KLINGLER, R. J.; KOCHI, J. K. Electron-transfer kinetics from cyclic voltammetry. Quantitative description of electrochemical reversibility. **The Journal of Physical Chemistry**, 85, 1731, 1981.
- [38] HADI BEITOLLAHI et al. Electrochemical detection of carmoisine in the presence of tartrazine on the surface of screen-printed graphite electrode modified with nickel-cobalt layered double hydroxide ultrathin nanosheets. **Chemosphere**, 337, 139369, 2023.
- [39] BUDKO, O. et al. Effect of grain composition of natural graphites on electrical conductivity of graphite-based composite materials. **Materials Today: Proceedings**, 50, 538, 2022.
- [40] Bard, A. J., Faulkner, L. R. (2001). Electrochemical methods: fundamentals and applications. New York, Wiley.

- [41] DELOLO F. G. et al. A new electrochemical sensor containing a film of chitosan-supported ruthenium: Detection and quantification of sildenafil citrate and acetaminophen. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 25, 559, 2014.
- [42] ZHANG, Y. et al. Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen and isoniazid using MXene modified screen-printed electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, 130, 321, 2019.
- [43] MA, L.-L. et al. Fabrication, Characterization and Performance Evaluation of Screen-printed Carbon Electrodes: Determination of Acetaminophen in Tylenol. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 49, e21187, 2021.
- [44] KHAIRY, M.; MAHMOUD, B. G.; BANKS, C. E. Simultaneous determination of codeine and its co-formulated drugs acetaminophen and caffeine by utilising cerium oxide nanoparticles modified screen-printed electrodes. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 259, 142, 2018.
- [45] WEI, Z. et al. Simultaneous Determination of Acetaminophen and Tyrosine Using Screen-printed Electrochemical Sensor Based on MWCNTs-doped Poly(glycine)/Poly(acrylic acid) Conducting Polymers. **International Journal of Electrochemical Science**, 14, 6748, 2019.
- [46] ADHIKARI, B.-R.; GOVINDHAN, M.; CHEN, A. Sensitive Detection of Acetaminophen with Graphene-Based Electrochemical Sensor. **Electrochimica Acta**, 162, 198, 2015.
- [47] CHEN, X. et al. A high performance electrochemical sensor for acetaminophen based on single-walled carbon nanotube–graphene nanosheet hybrid films. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 161, 648, 2012.
- [48] KUMAR, S.; TANG, C.; CHEN, S.-M. Electroanalytical determination of acetaminophen using nano-TiO₂/polymer coated electrode in the presence of dopamine. **Talanta**, 76, 997, 2008.
- [49] ZHANG, X., WANG, K. P., ZHANG, L. N., ZHANG Y. C., and SHEN, L. Shen, Phosphorus-doped graphene-based electrochemical sensor for sensitive detection of acetaminophen. **Analytical Chimica Acta**, 1036, 26, 2018.
- [50] R.-S. Juang, C.-T. Hsieh, T.-A. Lin, Y.-C. Shao, and Y. A. Gandomi. Reduced graphene oxide decorated with poly(diallyldimethylammonium chloride) for sensitive detection of acetaminophen in water and human urine samples. **Colloids Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, 677, 132426, 2023.
- [51] YANG, H. et al. Fabrication of electrochemical sensor for acetaminophen based on levodopa polymer and multi-walled carbon nanotubes complex. **International Journal of Electrochemical Science**, 12, 11089, 2017.