



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

GIULIA SILVA DA SILVA

**Sensor Capacitivo Multidimensional e Aprendizado de Máquina para
Determinação *Sample-to-Answer* de Íons Metálicos**

CAMPINAS

2022

GIULIA SILVA DA SILVA

**Sensor Capacitivo Multidimensional e Aprendizado de Máquina para
Determinação *Sample-to-Answer* de Íons Metálicos**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Química na área de Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Renato Sousa Lima

O arquivo digital corresponde à versão final da Dissertação defendida pela aluna Giulia Silva da Silva e orientada pelo Prof. Dr. Renato Sousa Lima.

CAMPINAS

2022

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Química
Simone Luiz Alves - CRB 8/9094

Si38s Silva, Giulia Silva da, 1996-
Sensor capacitivo multidimensional e aprendizado de máquina para determinação *sample -to-answer* de íons metálicos / Giulia Silva da Silva. – Campinas, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Renato Sousa Lima.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Sensores capacitivos. 2. Multidimensional. 3. Aprendizado de máquina. I. Lima, Renato Sousa, 1987-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Multidimensional capacitive sensor and machine learning for sample-to-answer determination of metal ions

Palavras-chave em inglês:

Capacitive sensors

Multidimensional

Machine learning

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestra em Química na área de Química Analítica

Banca examinadora:

Renato Sousa Lima [Orientador]

Lauro Tatsuo Kubota

Paulo Augusto Raymundo Pereira

Data de defesa: 04-04-2022

Programa de Pós-Graduação: Química

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-1793-5876>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/7001544695936186>

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Renato Sousa Lima (Orientador)

Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota (IQ-Unicamp)

Dr. Paulo Augusto Raymundo Pereira (Universidade de São Paulo - Instituto de Química de São Carlos)

A Ata da defesa assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida pela aluna **Giulia Silva da Silva**, aprovada pela Comissão Julgadora em 4 de abril de 2022.

Dedicatória

Dedico essa conquista a toda minha família, meus pais, Milton e Fernanda, por me apoiarem e incentivarem a seguir meus sonhos, minhas irmãs, Eduarda e Luísa, por estarem sempre ao meu lado, e minha avó, Maria Edna por me confortar.

Agradecimentos

A meus pais, **Milton e Fernanda**. Agradeço por estarem sempre confiando em minhas escolhas e me apoiando, me fazendo acreditar na minha capacidade.

As minhas irmãs, **Eduarda e Luísa**. Agradeço pelos momentos de alegria e amor, sem os quais toda minha trajetória seria mais difícil.

As minhas **amigas**, por todos os momentos de descontração, mas também de muitos conselhos e motivação, me ajudando a me manter focada e saudável.

Agradeço aos professores do **IQ-Unicamp**, desde a graduação mostraram-se sempre dispostos a compartilhar seus conhecimentos na área assim como conselhos de carreira e vida.

Agradeço o meu orientador **Renato**, pela oportunidade de desenvolvimento, confiança, paciência e aprendizados compartilhados.

A toda equipe do **LMF**, **Angelo**, pela oportunidade e auxílio durante o desenvolvimento deste trabalho, e aos demais pela paciência para me ensinar e ajudar na realização dos experimentos.

Ao **Gabriel** e seu orientador **Adalberto Fazzio**, e **Laurenço** e seu orientador **Lauro Kubota**, por acreditarem no trabalho e aceitarem contribuir para o desenvolvimento da plataforma.

Ao **LNNano-CNPEM** e a **Petrobrás** por todo suporte e infraestrutura fornecidos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo” (Albert Einstein).

Resumo

Os sensores multidimensionais são plataformas desenvolvidas para análises de múltiplos analitos. Esses sensores são inspirados nos sistemas gustativos e olfativos humanos para a detecção, identificação e discriminação de misturas complexas, respondendo a uma composição global (seletividade global) em vez de uma composição química específica. O funcionamento desses sistemas é baseado em respostas com alta variância (sensibilidade cruzada), o que nos permite classificar amostras estruturalmente e/ou quimicamente semelhantes entre si. No entanto, para se obter essas características, muitas vezes há a necessidade de etapas de síntese e/ou fabricação de várias sondas e medições sucessivas para cada uma dessas unidades prejudicam a miniaturização, escalabilidade, custo, consumo de amostras, simplicidade operacional, precisão e tempo de análise do dispositivo. Neste projeto, descrevemos um sensor eletroquímico microfluídico multidimensional que permite a discriminação de íons metálicos a partir de uma única medida e eletrodo comercial pronto para uso. Os métodos também permitiram a quantificação simultânea da concentração individual desses íons em misturas através de ensaios impedimétricos universais, sem o uso de receptores específicos ou técnicas de separação. O eletrodo de detecção consiste em capilares de aço inoxidável que definiram o circuito microfluídico e agiram como capacitores de dupla camada elétrica. Os dispositivos foram fabricados por uma técnica rápida e sem uso de sala limpa. Os eletrodos garantiram respostas diferenciais devido às interações heterogêneas com amostras e à natureza diversificada das respostas de capacitância (alta variância). Além disso, abordamos uma estratégia eficaz para melhorar ainda mais a capacidade de reconhecimento do sensor através da adsorção diferencial em sondas de *bulk*. Um exemplo é o caso dos nanotubos de carbono de paredes múltiplas oxidados, que forneceram adsorções eletrostáticas diferenciais de íons, aumentando, assim, a variância das respostas de capacitância conforme comprovado por PCA. A abordagem foi aplicada com sucesso na identificação de amostras de água mineral, lago e petróleo de acordo com a presença de íons metálicos. Usando métodos de aprendizado de máquina supervisionados, ademais, o sensor garantiu a classificação e multideterminação reprodutível, sensível e precisa de dezenas de amostras de água do lago e petróleo enriquecidas com vários metais de acordo com os limites da Organização Mundial da Saúde (OMS) ou concentrações típicas desses íons. Esta abordagem, permitiu o desenvolvimento de uma plataforma *sample-to-answer* a partir do uso de um celular capaz de controlar um potenciostato portátil e realizar o tratamento de dados, nos fornecendo a concentração ou classificação da amostra em sua tela após poucos minutos.

Abstract

Multidimensional sensors are platforms developed for the analysis of multiple analytes. These sensors are inspired on human gustatory and olfactory systems for the detection, identification, and discrimination of complex mixtures, responding to a global composition rather than a specific chemical composition (global selectivity). These systems are based on high-variance responses (cross-sensitivity) that make it possible to classify samples with structure and/or chemical composition similar to each other. However, to obtain these characteristics, there is often a need for synthesis and/or manufacturing steps of several probes, and successive measurements for each of these units impair miniaturization, scalability, cost, sample consumption, operational simplicity, precision and time. device analysis. In this project, we describe a multidimensional microfluidic electrochemical sensor that allows the discrimination of metal ions from a single measurement and commercial probe. The method also provided the simultaneous quantification of the individual concentration of these ions in mixtures through universal impedimetric assays, without using specific receptors or separation techniques. The detection probe consists of stainless-steel capillaries, which defined the microfluidic circuit and acted as electrical double layer capacitors. The devices were prototyped using a green, fast, and cleanroom-free technique. The probes ensured differential responses due to their heterogeneous interactions with samples and the diversified nature of the capacitance responses (high variance). In addition, we address an effective strategy to further improve sensor recognition capability through differential adsorption on bulk probes. One example are the oxidized multi-walled carbon nanotubes, which provided differential electrostatic adsorptions of ions, thus increasing the variance of capacitance responses as evidenced by PCA. The approach has been successfully applied to identify mineral water, lake, and petroleum samples according to the presence of metal ions. Using supervised machine learning methods, the sensor further ensured reproducible, sensitive, and accurate classification and multi-determination of dozens of lake water and oil samples enriched with various metals according to limits established by the World Health Organization (WHO) or typical concentrations . This approach allowed the development of a sample-to-answer platform using a mobile phone capable of controlling a portable potentiostat and performing data processing and displaying the concentration or classification of the sample upon a few minutes.

Lista de ilustrações

Figura 1. Fabricação do dispositivo. **(A)** Molde do sensor. Peça de alumínio com furos paralelos fixada em uma lâmina de vidro usando suportes metálicos ajustáveis, em cada par de furo paralelo são inseridos capilares de 700 μm diâmetro interno e comprimento aproximado de 5 cm. **(B)** Montagem do dispositivo. **(1)** Peça desmoldada e cortada de modo a se obter dispositivo com 4 pares de capilares. **(2)** e **(3)** Inserção de capilares de aço inox paralelos, que formarão os eletrodos do nosso sensor.

Figura 2. Dispositivo e eletrodos. **(A)** Sensor com eletrodos em curto-circuito criando uma associação de capacitores (1,2) paralelos conforme destacado. As setas indicam o fluxo de amostra. **(B)** Imagens estereoscópicas exibindo a seção transversal de um capilar **(1)** e a região entre dois capilares em um canal de PDMS **(2)**.

Figura 3. Rotina analítica para análise das amostras de água tratadas com o-MWCNTs. As etapas são: incubação dos nanotubos na amostra **(1)**, centrifugação para a sedimentação de nanotubos **(2)** e coleta do sobrenadante para os ensaios impedimétricos usando o *chip* de capacitores de DCE **(3)**.

Figura 4. Rotina analítica para análise das amostras de água para estudo da sensibilidade cruzada. As etapas são: **(A)** incubação das sondas de *bulk* na amostra **(1)**, centrifugação para a sedimentação das sondas de *bulk* **(2)** e coleta do sobrenadante para os ensaios impedimétricos usando o *chip* de capacitores de DCE **(3)**. **(B)** incubação das sondas de *bulk* na amostra **(1)**, separação das sondas com auxílio de ímã **(2)** e coleta do sobrenadante para os ensaios impedimétricos usando o *chip* de capacitores de DCE **(3)**.

Figura 5. Foto da plataforma de análise com chip de 8 capacitores de DCE e medida de dois preparos de amostras simultâneas.

Figura 6. Estrutura da DCE. O circuito corresponde a eletrodos idealmente polarizáveis. IHP e OHP são os planos internos e externos de Helmholtz, respectivamente, enquanto C_H e C_D são as capacitâncias das camadas de Helmholtz e difusiva, respectivamente, que compõem C_{Sol} . R_s é a resistência elétrica da solução.

Figura 7. Princípio de detecção e interações diferenciais. **(A)** Gráficos de C_d vs. Potencial (a 100 Hz) para solução de KCl de 2,0 mmol L^{-1} registrados por cada um dos oito pares de capilares face a face (capacitores) (1 – 8). **(B)** Gráficos de C_d vs. frequência para KCl (2,0 mmol L^{-1}) obtidos pelos pares de capilares (C1-C8). Gráficos de PCA de **(C)** C_d vs. potencial e **(D)** C_d vs. frequência. Em **(C, D)**, os números indicam os capacitores (1–8).

Figura 8. Propriedades elétricas e topográficas das paredes internas dos capilares de aço inoxidável. **(A)** Mapas 2D dC/dZ e sua fusão em imagens topográficas 3D de quatro amostras (S1 - S4, 10 $\mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$). Resultante **(B)** dC/dZ dos quadrantes (Q1-Q4) das regiões testadas.

Figura 9. Propriedades topográficas das paredes internas dos capilares de aço inoxidável. R_{RMS} dos quadrantes (Q1-Q4) das regiões (S1-S4) testadas.

Figura 10. Potencial de carga zero para um capilar de aço inox. Gráfico de C_d vs. Potencial (a 100 Hz) para solução de KCl de 10,0 mmol L^{-1} ($R^2 = 0,88$).

Figura 11. Gráfico de Bode da solução de KCl de 10,0 mmol L^{-1} para o *chip* eletroquímico com 4 pares de capilares de aço inox.

Figura 12. Circuito equivalente modelado para o chip de 4 pares de capilares de aço inox com solução de KCl de 10,0 mmol L^{-1} . Os elementos do circuito são: $R_s = 953 \text{ Ohm}$; $\text{CPE} = 3,37 \mu\text{S.s}^N$ ($N=0,61$); $R_p = 21,5 \text{ Ohm}$; $R_d = 7,18 \mu\text{S.s}^{(1/2)}$.

Figura 13. Estudo da sensibilidade cruzada considerando amostras de água mineral e uso de o-MWCNTs como sondas de *bulk*. Gráficos de PCA de **(A)** C_d e **(B)** C_r para os sobrenadantes de marcas de água mineral (1-5) usando dados baseados em frequência e as sondas o-MWCNTs de 6, 12 e 24 h de oxidação conforme destacado.

Figura 14. Análise preliminar de amostras de água de petróleo. Gráficos de PCA baseados nos espectros de frequência, a partir dos dados da fase aquosa da extração líquido-líquido do petróleo sem a incubação da mesma com 12 h o-MWCNTs **(A)** e a partir dos dados relativos da fase aquosa da extração líquido-líquido do petróleo com a incubação da mesma com 12 h o-MWCNTs **(B)**. As misturas 'min' e 'max' significam soluções com Na^+ , K^+ , Ba^{2+} e Ca^{2+} em i) 15,0, 300,0, 125,0 e 2.500,0 mg L^{-1} e ii) 100,0, 900,0, 500,0 e 10.000,0 mg L^{-1} , respectivamente.

Figura 15. Resultados de aprendizado de máquina para classificação das amostras de água do lago dopadas com Ni^{2+} , Al^{3+} e Cu^{2+} usando sensor com 4 capacitores. **(A)** Gráficos de PCA e **(B)** LDA de espectros baseados em frequência usando valores de C_d para ambas as amostras brutas e seus sobrenadantes após a incubação com o-MWCNTs 12 h. **(C)** Importância relativa dos dados de C_d para a capacidade preditiva do modelo de RF. Mapa SISSO 2D de classificação **(D)** com apenas as amostras de treinamento e **(E)** também com as amostras de teste. As frequências associadas as capacitâncias indicadas nos gráficos são, respectivamente para as amostras e sobrenadantes: C1 e C6 = 10 Hz; C2 e C7 = 21,54 Hz; C3 e C8 = 46,42 Hz; C4 e C9 = 100 Hz; C5 e C10 = 464,16 Hz.

Figura 16. Resultados de aprendizado de máquina para a multideterminação das amostras de água do lago dopadas com Ni^{2+} , Al^{3+} e Cu^{2+} por RF usando sensor com 4 capacitores. **(A)** Curva de concentração dos valores preditos pelo modelo em função do valor verdadeiro (dopagem) e

(B) erros relacionados à multiregressão usando o modelo de RF para quantificar as concentrações totais e individuais dos íons estudados. (C) Dados de C_d para os sobrenadantes de uma mesma amostra usando o-MWCNTs 12 h de réplicas independentes ($n = 8$) para avaliar a reprodutibilidade da análise.

Figura 17. Estudo da sensibilidade cruzada para íons de interesse no petróleo de amostras em água ultrapura. (A) Exemplos de espectros dos íons Ba^{2+} , Ca^{2+} e Cl^- ; (B) Curvas dos íons em 1, 10 e 100 Hz, (C) Coeficientes angulares das curvas mostradas em B; (D) Tratamento de dados dos espectros de capacitância em função da frequência por PCA.

Figura 18. Principais resultados do estudo da sensibilidade cruzada para íons de interesse no petróleo. Tratamento de dados dos espectros de capacitância em função da frequência por PCA para (A) amostras em etanol 50%, (B) amostras tratadas com partículas magnéticas 600 ppm (C) nanopartículas de sílica e (D) o-MWCNTs 12 h.

Figura 19. Resultados de aprendizado de máquina não supervisionado e supervisionado para as amostras de água de petróleo dopadas com os íons Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^- , usando sensor com 4 capacitores. (A) Gráficos de PCA e (B) LDA obtidos a partir de espectros de capacitância em função da frequência. As cores de verde a rosa representam os 12 grupos de concentrações totais de forma crescente. (C) Importância relativa dos recursos de C_d (frequências) para a capacidade preditiva do modelo de RF. As frequências associadas as capacitâncias indicadas nos gráficos são: C1 = 1 Hz; C2 = 2,15 Hz; C3 = 4,64 Hz; C4 = 10 Hz; C5 = 21,54 Hz; C6 = 46,42 Hz; C7 = 100 Hz; C8 = 215,44 Hz; C9 = 464,16 Hz; C10 = 1000 Hz; C11 = 2154,4 Hz; C12 = 4641,6 Hz; C13 = 10000 Hz; C14 = Hz; C15 = 46416 Hz; C16 = 100000Hz.

Figura 20. Resultados de aprendizado de máquina supervisionado para as amostras de água de petróleo dopadas com os íons Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^- , usando sensor com 4 capacitores. (A) Mapa SISO 2D de classificação. (B) Curva de concentração relacionados à regressão de múltiplas saídas usando o modelo de RF e SISO para quantificar as concentrações totais e individuais Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^- .

Figura 21. Plataforma do tipo *sample-to-answer*. Diâmetro da moeda = 1,8 cm. As letras identificam A - *smartphone*, B - *chip* de capacitores de DCE e C - potenciostato caseiro e portátil.

Figura 22. Desenvolvimento de plataforma do tipo *sample-to-answer*. (A) Curvas de paridade foram obtidas em comparação com o potenciostato da Metrohm Autolab AG PGSTAT302N (Herisau, Suíça) nas frequências 10 Hz, 100 Hz e 1000 Hz. (B) Fotos da tela do aplicativo quando realizado (1) medida de impedância, (2) classificação da amostra e (3) multideterminação dos íons Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^- presentes na amostra.

Lista de tabelas

Tabela 1. Frequências usadas no espectro de impedância em função da frequência

Tabela 2. Potenciais usados no espectro de impedância em função do potencial

Tabela 3. Soluções para avaliação da sensibilidade cruzada para os íons Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^{-}

Lista de abreviaturas e símbolos

| | |
|------------------------|---|
| °C | Graus celsius |
| μm | Micrometro |
| 2D | Bidimensional |
| AC | Corrente Alternada |
| AFM | Microscopia de força atômica (<i>atomic force microscopy</i>) |
| AM | Aprendizado de Máquina |
| C | Capacitor |
| C_a | Capacitância da amostra |
| C_d | Capacitância diferencial |
| C_D | Capacitância da camada difusiva |
| C_H | Capacitância das camadas de Helmholtz |
| C_M | Capacitância metálica |
| CPE | Constante de elemento de fase (<i>constant phase element</i>) |
| C_r | Capacitância relativa |
| C_s | Capacitância do sobrenadante |
| C_{Sol} | Capacitância da solução |
| C_T | Concentração total |
| d.i. | Diâmetro interno |
| DC | Corrente direta |
| DCE | Dupla camada elétrica |
| EDS | Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (<i>energy dispersive X-ray spectroscopy</i>) |
| F | Faraday |
| h | Hora |
| HCA | Análise de agrupamento hierárquico (<i>hierarchical clustering analysis</i>) |
| Hz | Hertz |
| IC | Cromatografia de íons (<i>ion chromatography</i>) |

| | |
|----------------------|---|
| ICP -OES | Espectrometria de emissão óptica de plasma indutivamente acoplado (<i>inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i>) |
| IHP | Plano interno de Helmholtz (<i>inner Helmholtz plane</i>) |
| L | Litro |
| LDA | Análise de discriminante linear (<i>linear discriminant analysis</i>) |
| M | Mol |
| m/m | Massa/massa |
| MEV | Microscopia Eletrônica de Varredura |
| min | Minuto |
| ML | <i>Machine Learning</i> |
| OHP | Plano externo de Helmholtz (<i>outer Helmholtz plane</i>) |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| o-MWCNT | Nanotubos de carbono de paredes múltiplas oxidados |
| PC1 | Componente principal 1 |
| PC2 | Componente principal 2 |
| PCA | Análise de Componentes Principais (<i>principal component analysis</i>) |
| PCZ | Potencial de Carga Zero |
| PDMS | Polidimetilsiloxano |
| PLS | Mínimos quadrados parciais (<i>partial least squares</i>) |
| ppm | Partes por milhão |
| PSR | <i>Polymerization and Scaffold Removal</i> |
| R² | Coefficiente de determinação |
| Rd | Resistência contra a difusão de espécies |
| RF | Florestas aleatórias (<i>random forests</i>) |
| Rp | Resistência a polarização |
| rpm | Rotações por minuto |
| RRMS | Raiz da rugosidade quadrada média |
| Rs | Resistência elétrica da solução |
| s | Segundos |
| S | Siemens |

| | |
|----------------|--|
| SEM-EDS | Microscopia eletrônica de varredura (<i>scanning electron microscopy - energy dispersive X-ray spectroscopy</i>) |
| SISSO | <i>Sure Independence Screening and Sparsifying Operator</i> |
| u.a. | Unidade arbitrária |
| V | Volts |
| XRD | Espectroscopia de difração de raios-X (<i>X-ray powder diffraction</i>) |

Sumário

| | |
|---|-----------|
| 1. Introdução..... | 18 |
| 1.1. Métodos de monitoramento de íons em água..... | 18 |
| 1.2. Sensor multidimensional eletroquímico | 19 |
| 2. Parte experimental..... | 22 |
| 2.1. Fabricação do dispositivo e eletrodos | 22 |
| 2.2. Medidas de capacitância..... | 23 |
| 2.3. Medida de potencial de carga zero e circuito equivalente | 24 |
| 2.4. Análises de amostras de água..... | 25 |
| 2.5. Sensibilidade cruzada para íons de interesse no petróleo | 25 |
| 2.6. Análises de amostras de petróleo..... | 26 |
| 2.7. Tratamento estatístico | 29 |
| 2.8. Plataforma <i>sample-to-answer</i> | 29 |
| 3. Resultados e discussão | 31 |
| 3.1 Espectros de capacitância diversificados | 31 |
| 3.2 Interações diferenciais entre eletrodo e amostra..... | 32 |
| 3.3 Caracterização da superfície dos eletrodos..... | 33 |
| 3.4 Medida de potencial de carga zero e circuito equivalente | 35 |
| 3.5 Sensibilidade cruzada para as amostras de água mineral | 37 |
| 3.6 Análise preliminar de amostras de água de petróleo | 39 |
| 3.7 Análise de amostras de água de lago..... | 40 |
| 3.8 Sensibilidade cruzada para íons de interesse no petróleo | 42 |
| 3.9 Análise de amostras de água de petróleo | 44 |
| 3.10 Desenvolvimento de plataforma <i>sample-to-answer</i> | 47 |
| 4. Conclusões e perspectivas futuras | 49 |
| 5. Referências bibliográficas | 51 |
| 6. Anexos | 56 |

1. Introdução

1.1 Métodos de monitoramento de íons em água

A presença de metais em água em concentrações acima dos limites estabelecidos por estudos toxicológicos pode trazer sérios problemas à saúde humana e ao meio ambiente. Por exemplo, alguns são agentes cancerígenos, teratogênicos ou mutagênicos e podem perturbar o crescimento de organismos vivos como algas, crustáceos e peixes. A origem desses íons pode ser natural, a partir da dissolução de rochas ou outras reações espontâneas, ou resultado da ação humana, como descartes incorretos e acidentes industriais. Esses últimos têm gerado cada vez mais poluição dos recursos hídricos por íons metálicos, afetando a qualidade da água e gerando o desenvolvimento de doenças relacionadas. [1-3] Desta forma, são necessários esforços contínuos para desenvolvimento de métodos de monitoramento sensíveis, robustos, rápidos, econômicos e simples para garantir a qualidade e segurança dos recursos hídricos.

Um outro problema gerado pelos íons metálicos é a formação de incrustações em tubulações ou equipamentos na indústria de petróleo e gás. Estes íons são introduzidos nos processos pelas águas de formação e injeção [4-7]. Os sais mais relevantes são os de baixa solubilidade como carbonatos e sulfatos dos cátions Na^+ , K^+ , Ba^{2+} , Sr^{2+} e Ca^{2+} . Os carbonatos são naturalmente encontrados em reservatórios *offshore* de rochas sedimentares, sofrem precipitação devido a alterações na temperatura, pressão e/ou pH da água da formação. Os sulfatos, por sua vez, presentes naturalmente na água do mar, é comumente utilizada como água de injeção pressurizada para promover a extração do petróleo. As interações entre as águas de formação e injeção levam a formação de sais de sulfato de baixa solubilidade [7-9]. Adicionalmente, é importante considerar a composição da água produzida, isto é, fase aquosa do petróleo, pois esta é formada pela água de formação ou uma mistura das outras [10], tornando-se assim mais uma fonte para a formação dos sais citados.

A incrustação é um desafio crítico, pois leva ao entupimento e corrosão das tubulações de processamento de óleo e gás, com consequentes danos ao meio ambiente, segurança do trabalho e custo operacional [6,7,10,12]. Mais especificamente, essa incrustação pode resultar em falhas de equipamento, queda de rendimento e aumento na resistência à transferência de calor, gerando perda de energia [12]. Em casos drásticos, é necessária a paralisação da planta para limpeza do sistema. O entupimento da tubulação também põe em risco a vida dos operadores e a segurança ambiental devido à maior emissão de dióxido de carbono (perda de energia) e possível derramamento de óleo [6,13]. Nesse sentido, o

monitoramento da composição iônica das águas de formação, injeção e produção é de suma relevância. A indústria de petróleo e gás pode se beneficiar desta informação para garantir precisamente a dosagem ideal de compostos anti-incrustantes (inibidores químicos) que são adicionados rotineiramente aos fluxos ou reservatórios de água [10], evitando gastos excessivos no tratamento e pós-tratamento do petróleo.

Tendo em vista a relevância das questões abordadas acima, diversos métodos de monitoramento de íons em água foram desenvolvidos, buscando-se fornecer respostas precisas, de baixo custo e rápidas. Em amostras de água são empregadas técnicas desde as mais clássicas como titulação até mais complexas como cromatografia, variando conforme o analito e a complexidade da matriz. Mais especificamente, na indústria do petróleo e gás, em geral, são usados métodos baseados na detecção de cátions e ânions que compõem a fase aquosa de amostras de petróleo bruto, geralmente precedida por extração líquido-líquido. Após a transferência desses íons do óleo para um receptor aquoso, a análise pode ser feita por técnicas instrumentais como espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) ou cromatografia de íons (IC) [14,15]. Embora esses métodos mostrem capacidade de determinação para múltiplos elementos e robustez, eles precisam de equipamentos de bancada caros e complexos, juntamente com etapas experimentais adicionais para reduzir interferências químicas e efeito de matriz originado da falta de amostras de óleo padronizadas para simular os diferentes tipos de óleo existentes [9,14].

1.2 Sensor multidimensional eletroquímico

Os sensores multidimensionais representam uma alternativa promissora para o monitoramento de íons, uma vez que possibilitam análises multivariadas sem o uso de receptores específicos ou etapas de separação que são estratégias tipicamente usadas para obter ensaios seletivos. Esses dispositivos vêm sendo empregados para a análise de íons metálicos em biofluidos, água potável e amostras ambientais diversas [16-20]. Também conhecidos como línguas eletrônicas, os sensores multidimensionais são capazes de discriminar misturas complexas através do uso de eletrodos não seletivos que respondem a todas ou a uma classe de espécies (seletividade global) com sensibilidades diferentes para cada um dos constituintes da amostra (sensibilidade cruzada) [21-24]. Assim, são produzidos padrões de resposta únicos (como ‘impressões digitais’) os quais levam à classificação e quantificação de amostras e analitos, respectivamente, mediante o uso de métodos computacionais de tratamento de dados que incluem técnicas supervisionadas e não supervisionadas como algoritmos de aprendizado de máquina (AM).

Para o aumento da capacidade de discriminação dos sensores multidimensionais, uma estratégia usual é a elevação da sensibilidade cruzada através do uso de diferentes eletrodos sensíveis, por exemplo, três ou mais eletrodos (geralmente, o mesmo material condutor modificado com espécies distintas). Porém, esse procedimento pode prejudicar a miniaturização, escalabilidade, custo, consumo de amostras, simplicidade de operação, precisão e tempo de análise, uma vez que requer a fabricação/síntese de diversos eletrodos diferentes e a realização de medidas sucessivas para cada uma desses eletrodos. Visando superar esses desafios, nosso grupo tem desenvolvido desde 2017 sensores microfluídicos capazes de garantir ensaios discriminatórios a partir de uma única medida de impedância e eletrodo pronto para uso [25-27]. A impressão digital consiste em espectros de capacitância equivalente (*vs.* frequência) gerados a partir de um conjunto de pares de eletrodos em curto-circuito que atuam como capacitores em paralelo. Cada espectro possui alta sensibilidade cruzada, ou seja uma alta diversificação química. Isso é devido a 4 razões principais o sinal capacitivo (i) é uma função da razão carga/raio, e de outras propriedades intrínsecas ao íon de cada espécie e, ao mesmo tempo, (ii) contempla as contribuições de cada par de eletrodos ('capacitores geométricos'), que dispensa a necessidade de fazer análises sucessivas para cada um dos capacitores individuais [27–29]. Além disso, (iii) os valores de capacitância são governados por parâmetros diferenciais em função da frequência e potencial aplicados e (iv) as interações entre eletrodo e amostra são também diferenciais devido a propriedades de superfície heterogêneas dos eletrodos.

Neste projeto, o sensor foi baseado em capilares de aço inoxidável (eletrodos) inseridos reversivelmente em dispositivos microfluídicos de polidimetilsiloxano (PDMS) [25] fabricados pela técnica de polimerização e remoção de andaime (*polymerization and scaffold removal*, PSR) [25-27]. Esse sensor multidimensional capacitivo de resposta única e eletrodos comerciais foi aplicado no monitoramento de íons em amostras ambientais e de petróleo, apresentando baixo consumo de amostras e análises simples e rápidas. Ademais, o método PSR elimina o uso de 'sala limpa' e de solventes e é escalonável [27-35], ao passo que os capilares de aço inoxidável são amplamente disponíveis e de baixo custo. As respostas obtidas pelo sensor compreenderam mudanças na capacitância diferencial (C_d) da dupla-camada elétrica (DCE) em função do potencial e/ou frequência. Adicionalmente, as áreas heterogêneas dos capilares levaram a um aumento da sensibilidade cruzada (interações eletrodo/amostra diferenciais), favorecendo as classificações. A C_d equivalente utilizada como padrão de resposta foi obtida por 4 capacitores em paralelo. Essa resposta multidimensional é obtida a partir de uma única varredura, independentemente do número de capacitores.

Além do sensor, descrevemos uma estratégia para melhorar a sua repetibilidade e capacidade de reconhecimento através do uso de sondas de *bulk* que consistiram em nanotubos de carbono de paredes múltiplas oxidados (o-MWCNT). Na prática, o aumento da sensibilidade cruzada ocorreu devido ao fato das interações eletrostáticas sonda-íon dependerem da razão carga/raio dessas espécies. Após a interação com a amostra, apenas o sobrenadante foi coletado e introduzido no dispositivo para detecção. As mudanças relativas em C_d em relação à amostra bruta foram usadas, nesse caso, como impressões digitais para processamento de dados usando modelos de aprendizagem supervisionados e não supervisionados.

Como prova de conceito, nossa plataforma foi aplicada com sucesso em amostras reais de água mineral, e dopadas de água de lago (Ni^{2+} , Al^{3+} e Cu^{2+}) e fase aquosa de petróleo bruto (Ba^{2+} , Ca^{2+} e Cl^-). A convergência entre o sensor microfluídico multidimensional com único tipo de eletrodo pronto para uso para gerar padrões de resposta semelhantes a impressões digitais e modelos de AM permitiu a determinação precisa de múltiplos íons (multideterminação), dispensando o uso de sensores seletivos ou etapas de separação como eletroforese e cromatografia. Além disso, os algoritmos obtidos pelas técnicas de AM supervisionadas, florestas aleatórias (RF) e *sure independence screening and sparsifying operator* (SISSO), foram inseridos em um aplicativo de *smartphone* gerando uma plataforma do tipo *sample-to-answer*. Para essas medidas foi usado um potenciostato caseiro e portátil, controlado pelo *smartphone* por meio de conexão sem fio *Bluetooth*. Esses recursos conferem ao sensor a capacidade de análises *in-situ* por operadores não especializados.

2. Parte experimental

2.1. Fabricação do dispositivo e eletrodos

Dispositivos microfluídicos compostos de uma única peça de PDMS foram fabricados por meio do método PSR, que envolve um procedimento rápido, sem necessidade de sala limpa e escalonável conforme mostra a **Figura 1** [28]. Primeiramente, um molde retangular com 2 peças de alumínio foi fabricado contendo oito furos em cada uma das duas paredes paralelas. Em cada par de furos, foi inserido um capilar de aço inoxidável (*scaffold*), conforme indicado na **Figura 1A**. Para preparar o PDMS, o monômero e o agente de cura (Sylgard® 184 da Dow Corning, Midland, MI) foram misturados na proporção 10:1 m/m e, em seguida, foram degaseificados sob vácuo por 20 min. Os canais foram obtidos utilizando capilares de aço inoxidável com diâmetro de 700 μm como moldes e foram montados em uma peça de alumínio fixada em uma lâmina de vidro usando suportes metálicos ajustáveis. A cura do PDMS foi conduzida a 90 °C em um forno de laboratório convencional (Blue M, Blue Island, IL) por 1 h. Depois de realizada a cura e desmolde a peça pode ser cortada de modo a se obter chips de diferentes tamanhos. Em cada entrada foram inseridos 2 capilares de aço inoxidável, um de cada lado, com auxílio de uma lupa, de modo a se obter uma separação de aproximadamente 200 μm no meio de cada canal, conforme mostrado nas **Figuras 1B**. Esse procedimento não prejudicou a reprodutibilidade das medidas [35].

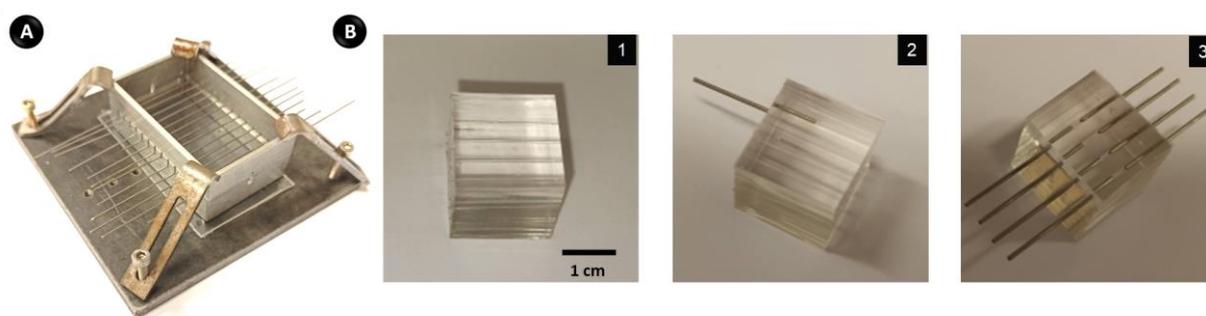


Figura 1. Fabricação do dispositivo. **(A)** Molde do sensor. Peça de alumínio com furos paralelos fixada em uma lâmina de vidro usando suportes metálicos ajustáveis, em cada par de furo paralelo são inseridos capilares de 700 μm diâmetro interno e comprimento aproximado de 5 cm. **(B)** Montagem do dispositivo. **(1)** Peça desmoldada e cortada de modo a se obter dispositivo com 4 pares de capilares. **(2)** e **(3)** Inserção de capilares de aço inox paralelos, que formarão os eletrodos do nosso sensor.

Foram fabricados dois tamanhos de dispositivos, apresentando no total de 4 a 8 pares de capilares de aço inoxidável (Treficap, São Paulo, Brasil) com 800 e 545 μm de diâmetros total e interno (d.i.), respectivamente, que definiram o circuito microfluídico. Esses capilares foram empregados como eletrodos sensíveis para medidas capacitivas. Pares dos eletrodos foram curto-circuitados com peças de cobre para obter uma associação de 4 e 8 capacitores em paralelo, conforme apresentado na **Figura 2A**.

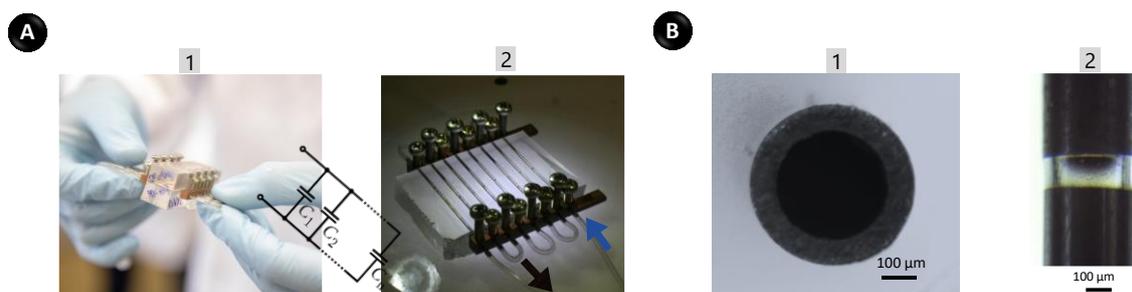


Figura 2. Dispositivo e eletrodos. (A) Sensor com eletrodos em curto-circuito criando uma associação de capacitores (1,2) paralelos conforme destacado. As setas indicam o fluxo de amostra. (B) Imagens estereoscópicas exibindo a seção transversal de um capilar (1) e a região entre dois capilares em um canal de PDMS (2).

Em seguida, tubos de cloreto polivinílico (700 μm de d.i.) conectaram os capilares de aço uns aos outros para completar o circuito microfluídico. Uma peça do tipo *luer-lock* foi usada para conectar as seringas contendo a amostra ao sistema. A heterogeneidade das superfícies internas dos capilares foi examinada por meio de microscopia de força atômica (AFM, NX10 Park Systems, Santa Clara, CA), microscopia eletrônica de varredura (MEV, FEI Quanta 650 Thermo Scientific, Ashford, UK), espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS, FEI Quanta 650) e difração de raios-X (XRD, D8 Advance Eco diffractometer (Bruker Billerica, MA)).

2.3. Oxidação dos nanotubos de carbono de parede múltipla.

Uma das estratégias usadas para melhorar a repetibilidade e capacidade de reconhecimento do nosso dispositivo é através do uso de sondas de *bulk*. Em nossos experimentos buscamos avaliar por PCA três tempos de oxidação dos nanotubos de carbono de paredes múltiplas oxidados (o-MWCNT). Essa avaliação nos ajuda a entender se de fato as interações eletrostáticas entre sonda e íon melhoram a capacidade do método e a influência da carga superficial dessas sondas dependendo de seu tempo de oxidação.

Para a oxidação dos nanotubos de carbono de paredes múltiplas (CNT Co.; Incheon, Coreia do Sul) inicialmente os MWCNTs foram dispersos em $9,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ a uma proporção de 5: 1 (m / V) por 5 min em banho de ultrassom. Depois, as dispersões foram agitadas magneticamente a $150 \text{ }^\circ\text{C}$ em um sistema de refluxo para diferentes tempos (6, 12 e 24 h) gerando as amostras com diferentes níveis de oxidação.

2.2. Medidas de capacitância

Foram feitas medidas de impedância utilizando os *chips* microfluídicos preenchidos com as amostras e conectando os eletrodos (capilares de aço inox) nas peças de cobre, obtendo assim a capacitância equivalente dos capacitores em paralelo. As análises de impedância foram feitas, a princípio, no potenciostato da Metrohm Autolab AG PGSTAT302N (Herisau, Suíça) aplicando tensão AC de 25 mV, tempo de integração de 2 s, frequências de 10^0 a 10^6 Hz e tensões CC de $-1,0$ a $+1,0$ V à temperatura ambiente, conforme indicado nas Tabelas 1 e 2. Considerando o uso das sondas de *bulk*, além das capacitâncias da amostra (C_a) e do sobrenadante (C_s), foi analisado o uso dos padrões de resposta obtidos com as capacitâncias relativas ($C_r = (C_a - C_s)/C_s$) em função da frequência ou potencial. A obtenção do sobrenadante será descrito no item 2.5. As capacitâncias dos pares de eletrodos foram calculadas a partir da impedância imaginária considerando os eletrodos como idealmente polarizáveis (sem reação faradaica) [36-37].

Tabela 1. Frequências usadas no espectro de impedância em função da frequência

| C | Frequência (Hz) | C | Frequência (Hz) |
|----|-----------------|-----|-----------------|
| C1 | 1,00 | C9 | 464,16 |
| C2 | 2,15 | C10 | 1000,00 |
| C3 | 4,64 | C11 | 2154,40 |
| C4 | 10,00 | C12 | 4641,60 |
| C5 | 21,54 | C13 | 10000,00 |
| C6 | 46,42 | C14 | 21544,00 |
| C7 | 100,00 | C15 | 46416,00 |
| C8 | 215,44 | C16 | 100000,00 |

Tabela 2. Potenciais usados no espectro de impedância em função do potencial

| P | Potencial (V) | P | Potencial (V) |
|----|---------------|-----|---------------|
| P1 | -0,50000 | P9 | 0,07143 |
| P2 | -0,42857 | P10 | 0,14285 |
| P3 | -0,35714 | P11 | 0,21429 |
| P4 | -0,28571 | P12 | 0,28571 |
| P5 | -0,21429 | P13 | 0,35714 |
| P6 | -0,14285 | P14 | 0,42857 |
| P7 | -0,07143 | P15 | 0,50000 |
| P8 | 0,00000 | | |

2.3. Medida de potencial de carga zero e circuito equivalente

A medida de potencial de carga zero (PZC, *potential of zero charge*) do capilar de aço inox foi feita submergindo e preenchendo o mesmo em uma solução de KCl 10mM, conectado-o ao eletrodo de medida. Foi usado o eletrodo de Ag/AgCl e platina como eletrodo de referência e contra eletrodo, respectivamente. A varredura de potencial foi feita com o mesmo potenciostato aplicando tensões AC de $-1,0$ a $+1,0$ V à temperatura ambiente.

O circuito equivalente foi modulado pelo software NOVA para uma medida de KCl 10mM no *chip* de 4 pares de capilares de aço inox, a partir dos dados de espectro de potencial e frequência explicados na seção anterior.

2.4. Análises de amostras de água

A princípio, o *chip* foi aplicado no reconhecimento de cinco marcas de água mineral para determinar a sonda de *bulk* que possibilitasse a melhor sensibilidade cruzada. O estudo da sensibilidade cruzada consistiu em avaliar o aumento da capacidade de discriminação do sensor frente ao uso de o-MWCNT oxidados por diferentes tempos (6, 12 e 24 h) como sondas de *bulk*. Além disso, diferentes concentrações, tempos de incubação e centrifugação para separar o sobrenadante foram avaliados. Como mostra a **Figura 3**, 200 μ L de dispersão com o-MWCNTs 500,0 ppm em água deionizada foram adicionados a 800 μ L da amostra. As dispersões foram agitadas a 450,0 rpm durante 10 min (tempo de incubação) e, em seguida, centrifugadas a 12.000,0 rpm 30 min para separação das partículas. Depois, os sobrenadantes foram coletados e introduzidos no microdispositivo usando seringas de plástico. Os padrões de resposta foram

obtidos com as capacitâncias relativas, C_r , em função da frequência ou potencial. A limpeza do circuito microfluídico foi realizada com água deionizada também através de uma seringa de plástico. O sistema ideal foi usado para promover a classificação e multideterminação de amostras de água de lago (Campinas-SP, Brasil) dopadas com os íons Ni^{2+} , Al^{3+} e Cu^{2+} , escolhidos devido a disponibilidade no laboratório e risco para a saúde reconhecidos. Um total de 90 amostras foi dividido em 3 grupos (A a C) de acordo com os limites de segurança da Organização Mundial de Saúde (OMS) conforme mostrado no **Anexo A**.

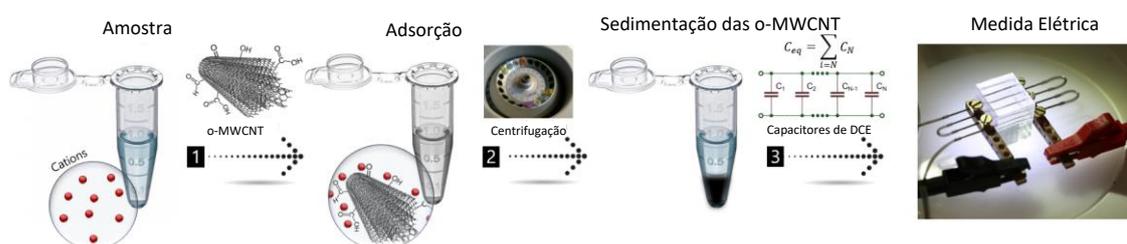


Figura 3. Rotina analítica para análise das amostras de água tratadas com o-MWCNTs. As etapas são: incubação dos nanotubos na amostra **(1)**, centrifugação para a sedimentação de nanotubos **(2)** e coleta do sobrenadante para os ensaios impedimétricos usando o *chip* de capacitores de DCE **(3)**.

2.5. Sensibilidade cruzada para íons de interesse no petróleo

Devido à maior complexidade da matriz do petróleo, foi feito um estudo buscando otimizar a sensibilidade cruzada para os íons de interesse a partir do uso de diferentes sondas de *bulk* (o-MWCNTs, partículas magnéticas e nanopartículas de sílica), solvente (água e etanol 50%) e matriz de dados. Inicialmente foi feita a obtenção de espectros de capacitância em função do potencial e frequência para soluções de íons em água ultrapura e etanol 50%, conforme exposto na **Tabela 3**. Os íons para este estudo foram escolhidos devido a sua relevância no monitoramento de incrustações e salinidade [7-9]. Para cada amostra, foi feita uma solução de um sal específico, ou seja, sem misturas. O tratamento de dados por PCA foi realizado a partir dos dados de capacitância.

Tabela 3 – Soluções para avaliação da sensibilidade cruzada para os íons Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^-

| Soluções | Ca^{2+} (ppm) | Ba^{2+} (ppm) | Cl^- (ppm) |
|----------|------------------------|------------------------|---------------------|
| 1 | 100 | 0,1 | 20 |
| 2 | 250 | 50 | 190 |
| 3 | 400 | 100 | 360 |
| 4 | 550 | 150 | 530 |
| 5 | 700 | 200 | 700 |

Em relação aos diferentes solventes, as soluções foram preparadas conforme apresentadas na **Tabela 3** em água milli Q e em solução de etanol 50%. Nessa etapa só foram feitos espectros de frequência conforme descrito na seção 2.2. Neste teste, foram usados os dados de capacitância das amostras em água, etanol 50% e ambos juntos para o tratamento por PCA.

As soluções preparadas em água milli Q também foram tratadas com sondas de *bulk*. Para o preparo das soluções com partículas foram utilizados volumes de partículas misturados com volumes das soluções apresentadas. Devido ao efeito de diluição causada pela adição do volume da suspensão de partículas, foram feitas análises das soluções em água ultrapura diluídas na mesma proporção com água para comparação. Foram empregadas partículas magnéticas nas concentrações de 600 e 100 ppm. Em um eppendorf foram adicionados 500 uL de solução de amostra (**Tabela 3**) e 500 uL de uma solução de partículas (600 ppm ou 1000 ppm). Após a adição a solução foi incubada a 25°C, 450 rpm, por 30 min. Neste procedimento feitos espectros de frequência e potencial. O procedimento está ilustrado na **Figura 4B**.

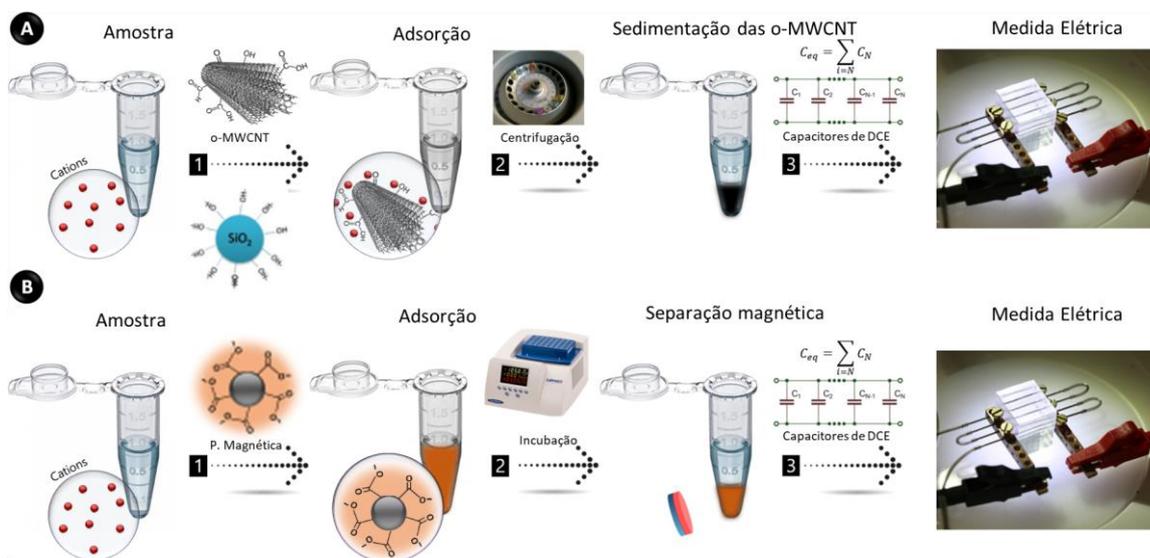


Figura 4. Rotina analítica para análise das amostras de água para estudo da sensibilidade cruzada. As etapas são: (A) incubação das sondas de *bulk* na amostra (1), centrifugação para a sedimentação das sondas de *bulk* (2) e coleta do sobrenadante para os ensaios impedimétricos usando o *chip* de capacitores de DCE (3). (B) incubação das sondas de *bulk* na amostra (1), separação das sondas com auxílio de ímã (2) e coleta do sobrenadante para os ensaios impedimétricos usando o *chip* de capacitores de DCE (3).

Outra sonda de *bulk* avaliada foi o nanotubo de carbono de parede múltipla oxidada por 24 h. Foram adicionados em um eppendorf 800 uL de solução de amostra (**Tabela 3**) e 200 uL da solução de nanopartículas ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$). Após a adição a solução foi incubada a 25°C , 450 rpm, por 30 min. A separação foi feita por centrifugação 12 krpm por 30 min. O sobrenadante foi recolhido para as medidas espectros de frequência e potencial. Um procedimento similar foi empregado para as nanopartículas de sílica, no qual foram adicionados em um eppendorf 500 uL de solução de amostra (**Tabela 3**) e 500 uL da solução de nanopartículas (600ppm). Após a adição a solução foi incubada a 25°C , 450 rpm, por 30 min. A separação foi feita por centrifugação 12 krpm por 15 min. O sobrenadante foi recolhido para as medidas espectros de frequência e potencial.

A geometria do chip também foi testada, comparando o *chip* de 4 pares de capacitores com um de 8, o qual possibilita a inserção de uma mesma amostra de preparos diferentes simultaneamente para análise. Conforme mostrado na **Figura 5** abaixo.

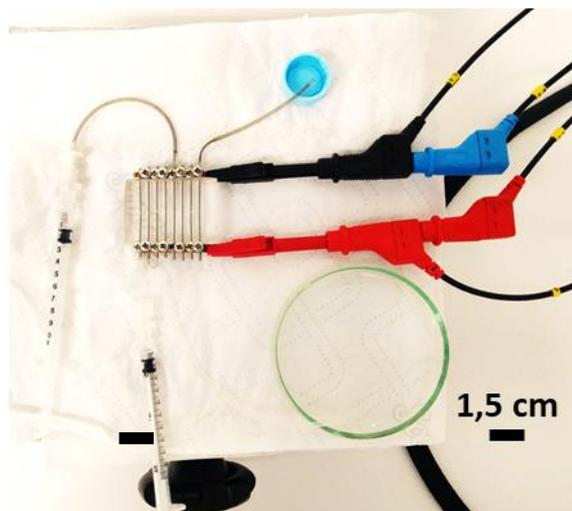


Figura 5. Foto da plataforma de análise com chip de 8 capacitores de DCE e medida de dois preparos de amostras simultâneas.

2.6. Análises de amostras de petróleo

O sensor foi também aplicado na análise de amostras aquosas obtidas a partir de uma amostra de petróleo de origem da camada do pré-sal, uma reserva descoberta em águas profundas no ano de 2006, fornecida pela Petrobras. Nesse caso, foi necessário o preparo da amostra a partir da extração por solvente dos íons presentes na fase aquosa do petróleo bruto para água deionizada (fase receptora/extratora). A extração foi realizada por meio de um método desenvolvido no grupo (dados não mostrados), que consiste em um *chip* microfluídico capaz de tolerar as vazões necessárias (dezenas de mL min^{-1}) para geração de fluxos um regime de turbulência para a realização de extrações ultrarrápidas e de alta eficiência [30,32]. O produto da mistura obtido pelo *chip* microfluídico, foi posto em repouso por 24 h e centrifugado a 5000 rpm por 10 min permitindo a separação das fases. Essa fase aquosa extraída do petróleo foi dopada com Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^- em concentrações típicas daquelas encontradas em poços petrolíferos brasileiros [11]. Foram preparadas 72 amostras as quais contemplaram 12 faixas de concentração total dos íons (considerando a soma das concentrações de Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^-). Para cada concentração total, foram preparadas 6 amostras contendo quantidades relativas distintas desses 3 íons como apresentadas no **Anexo B**. As amostras foram introduzidas no *chip* eletroquímico usando seringas de plástico.

2.7. Tratamento estatístico

O software MATLAB R2017b foi usado para processamento dos dados obtidos pelas técnicas não supervisionada de PCA e análise de agrupamento hierárquico (HCA) para

avaliar as características do conjunto de dados. Os dados foram também tratados por AM para avaliar o potencial efetivo da plataforma desenvolvida para fins de classificação e multideterminação dos íons. Realizamos tarefas de aprendizagem usando a biblioteca Python de algoritmos para classificação de padrões, os quais incluem aos métodos de análise de discriminante linear (LDA), o modelo conjunto de florestas aleatórias (RF) e o SISSO (*sure independence screening and sparsifying operator*). As multideterminações foram realizadas por meio de regressões baseadas em SISSO, mínimos quadrados parciais (PLS) e RF.

2.8. Plataforma *sample-to-answer*

Um dispositivo portátil de monitoramento de impedância controlado por *smartphone* foi usado para realizar análises do tipo *sample-to-answer*. Ademais, as funções obtidas pelos tratamentos de AM foram inseridas no aplicativo de controle do dispositivo, sendo possível assim, com base na nossa biblioteca de amostras analisadas, realizar a classificação e predição quantitativa de forma simples e em menos de 5 minutos diretamente na tela do *smartphone*. Trabalho realizado em colaboração com o aluno de doutorado Lourenço Vidotto.

3. Resultados e discussão

3.1. Espectros de capacitância diversificados

A variação de C_d com o potencial em interfaces eletrodo/eletrólito pode ser explicada pelo estreitamento da DCE, gerando um aumento não linear da densidade de carga como previsto pelo modelo de Gouy-Chapman [38,39]. Os espectros de C_d vs. potencial exibem múltiplas propriedades devido ao arranjo de íons na DCE para garantir o equilíbrio elétrico da interface. Enquanto os cátions são altamente solvatados e são adsorvidos de forma inespecífica nos potenciais negativos, os ânions com uma camada de hidratação mais pobre geralmente sofrem adsorções específicas em potenciais positivos conforme mostrado na **Figura 6** [39].

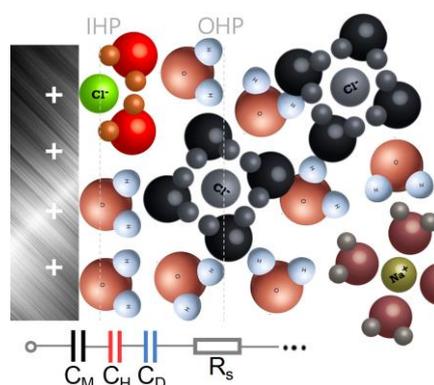


Figura 6. Estrutura da DCE. O circuito corresponde a eletrodos idealmente polarizáveis. IHP e OHP são os planos internos e externos de Helmholtz, respectivamente, enquanto C_H e C_D são as capacitâncias das camadas de Helmholtz e difusiva, respectivamente, que compõem C_{Sol} . R_s é a resistência elétrica da solução.

Íons que sofrem adsorções inespecíficas apresentam atrações eletrostáticas de longo alcance (dependem da carga de íons) e o equilíbrio de carga é fornecido, por exemplo, pelo excesso de cátions e deficiência de ânions para eletrodos carregados negativamente. Já as adsorções específicas envolvem interações de curto alcance (dependem da carga de íons e da natureza) e levam ao excesso de ambos os íons na DCE para garantir a eletroneutralidade, o que se deve ao fenômeno de adsorção superequivalente. As interações inespecíficas são mais fracas do que as específicas e normalmente levam a mudanças menores de C_d .

As capacitâncias da solução (C_{Sol}) em função do potencial são diversificadas uma vez que dependem dos níveis de adsorção específica e não específica. Isso porque, as interações específicas dos íons entre si e entre o eletrodo variam com o potencial aplicado e definem a distribuição de carga na DCE. Já as várias propriedades relacionadas aos espectros de C_d vs.

frequência são observadas em três regiões [26]. Em frequências inferiores a 10^2 Hz, C_d é governado pelo carregamento de íons na DCE na solução (C_{Sol}), enquanto o material do eletrodo é o parâmetro que governa o sinal capacitivo, ou seja, a capacitância metálica (C_M) entre 10^2 e 10^4 Hz. C_{Sol} e C_M compõem a capacitância da DCE (**Figura 6**). Por outro lado, a capacitância geométrica governa a C_d em frequências mais altas.

3.2. Interações diferenciais entre eletrodo e amostra

Além dos valores de capacitância (em função da frequência e potencial aplicados) serem governados por parâmetros diferentes como citado acima, há uma outra razão que contribui para a sensibilidade cruzada e, assim, para a capacidade de discriminação do sensor. Esse parâmetro diz respeito ao fato das interações entre eletrodo e amostra serem também diversificadas como foi confirmada pelas medidas a uma solução de KCl $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$. As respostas de C_d vs. potencial (em 100 Hz) e C_d vs. frequência geradas individualmente por 8 pares de capilares de aço ($n = 5$) foram diferentes entre si como mostram as **Figuras 7A,B**. Além disso, a precisão intra-ensaio foi satisfatória uma vez que os intervalos de confiança ($\alpha = 0,05$) variaram de 41,6 pF a 4,3 nF. Em relação aos espectros de C_d em função do potencial, os potenciais de carga zero (PCZ) ficaram todos em torno de 0,0 V, indicando que as adsorções específicas de ânions nos potenciais positivos foram fracas (os PCZs tornam-se mais negativos com a intensificação da adsorção específica de ânions de acordo com o efeito Esin-Markof) [38].

Os gráficos de PCA nas **Figuras 7C,D** mostraram uma maior separação dos dados baseados em frequência quando comparados aos obtidos em função do potencial. Uma indicação desse aprimoramento é o aumento na dimensionalidade do PCA, ou seja, no PC2, que significa uma distribuição maior da variância de C_d em mais dimensões. As maiores variações nas impressões digitais baseadas em potencial foram observadas em torno dos PCZs. Estes dados indicam a ocorrência de dados de C_{Sol} diversificados devido aos vários arranjos de íons em tensões positivas e negativas como discutido acima. Em relação aos espectros baseados em frequência, as maiores variações de C_d ocorreram entre 10^2 e 10^6 Hz, o que sugerem o caráter diversificado de C_M (10^2 a 10^4 Hz) e da capacitância geométrica (10^4 a 10^6 Hz). Essas flutuações estão relacionadas provavelmente a uma alta heterogeneidade na área das paredes internas dos capilares de aço como confirmado por medidas de AFM (**seção 3.3**). Além disso, vale ressaltar que os valores de C_d equivalente (medidos com os eletrodos em curto-circuito, ou seja, pela associação dos capacitores em paralelo) foram similares ao somatório das capacitâncias obtidas pelos pares individuais de capacitores. Logo, podemos afirmar que, de

fato, a resposta única registrada pelo nosso sensor apresenta diversificação química conforme discutido anteriormente.

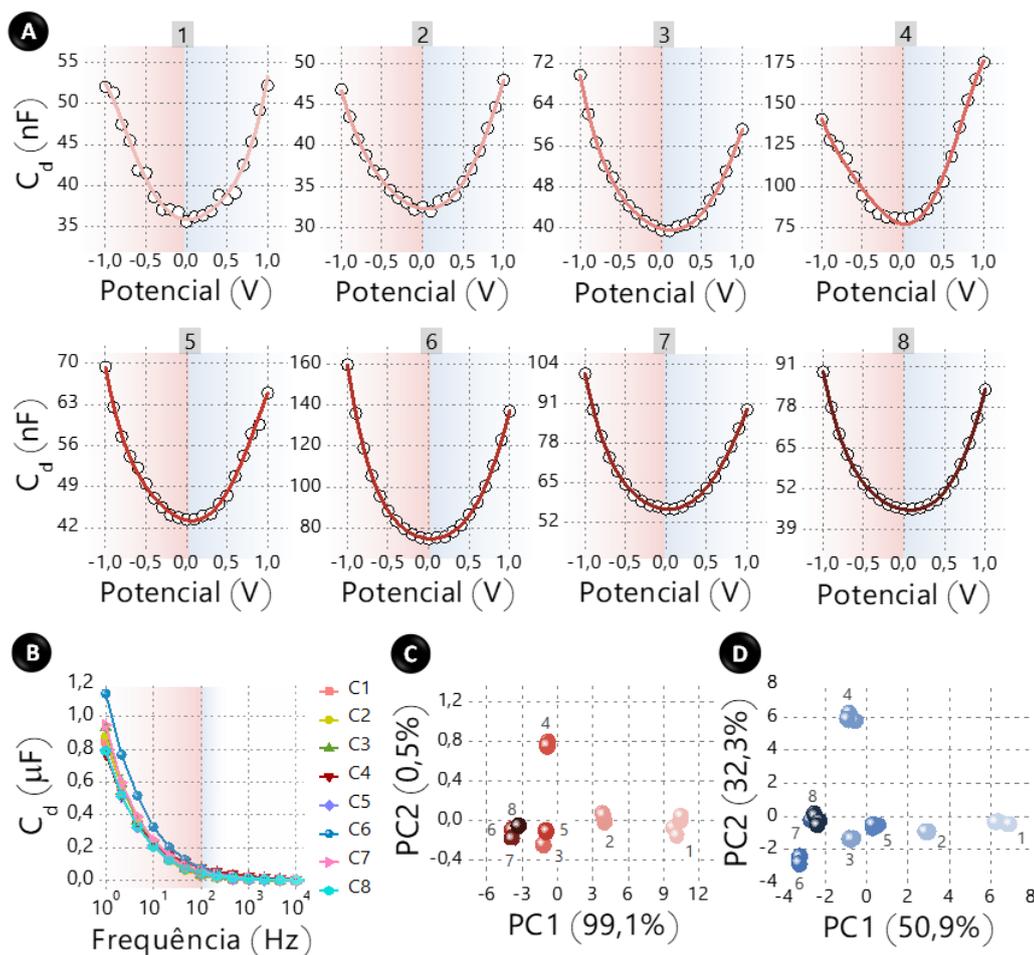


Figura 7. Princípio de detecção e interações diferenciais. **(A)** Gráficos de C_d vs. Potencial (a 100 Hz) para solução de KCl de $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ registrados por cada um dos oito pares de capilares face a face (capacitores) (1 – 8). **(B)** Gráficos de C_d vs. frequência para KCl ($2,0 \text{ mmol L}^{-1}$) obtidos pelos pares de capilares (C1-C8). Gráficos de PCA de **(C)** C_d vs. potencial e **(D)** C_d vs. frequência. Em **(C, D)**, os números indicam os capacitores (1–8).

3.3. Caracterização da superfície dos eletrodos

A natureza diferencial da C_M , conforme discutido acima, foi confirmada a partir de gradientes de capacitância (dC/dZ) registrados por AFM. Os mapas 2D de dC/dZ foram unificados em imagens topográficas 3D, obtidos para cinco áreas de $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$, como mostrado nas **Figuras 8A,B**. Conforme é possível notar, dC/dZ variou de 0,28 a 0,44 u.a., enquanto seu valor global e desvio padrão para as cinco áreas examinadas foram 0,33 e 0,05

u.a ($n = 20$), respectivamente. Com base nesses resultados, o carregamento da DCE é diferente ao longo da superfície capilar, implicando em uma distribuição de carga heterogênea e, desta forma, um C_M diferencial.

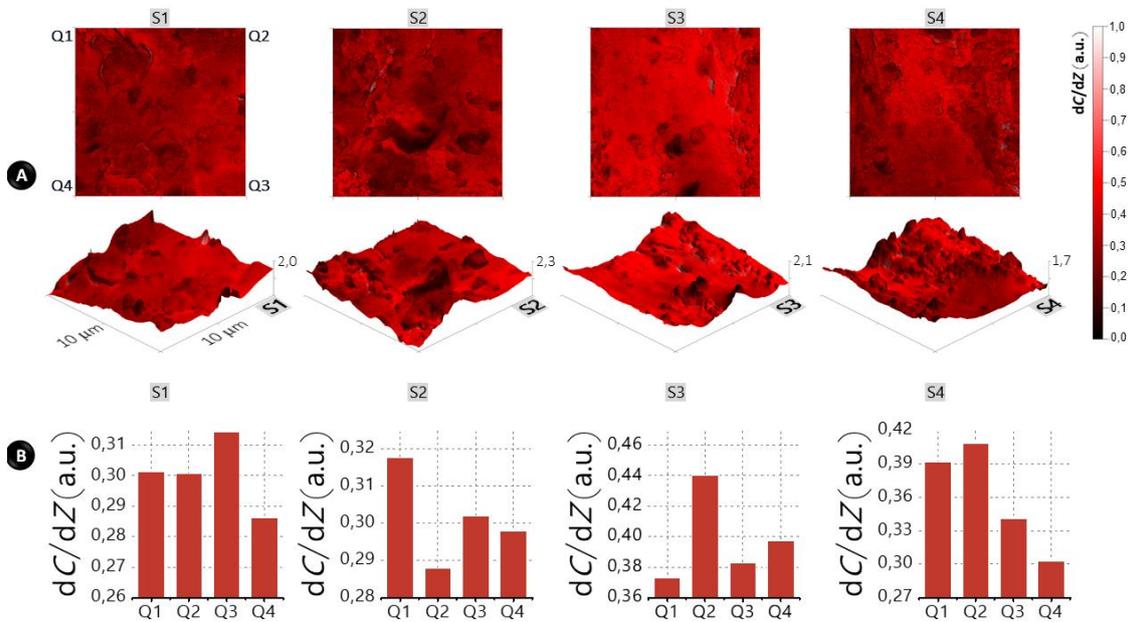


Figura 8. Propriedades elétricas e topográficas das paredes internas dos capilares de aço inoxidável. (A) Mapas 2D dC/dZ e sua fusão em imagens topográficas 3D de quatro amostras (S1 - S4, $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$). Resultante (B) dC/dZ dos quadrantes (Q1-Q4) das regiões testadas.

A diversificação de C_d se deve a propriedades de superfície heterogêneas dos capilares de aço inoxidável. Desta maneira, as técnicas de AFM, SEM-EDS e XRD foram usadas para avaliar a topografia, composição química e estrutura cristalina das paredes internas dos capilares de aço, respectivamente. Composição e estrutura distintas levam a variações em C_M e C_{Sol} por causarem alterações na função trabalho do eletrodo, ao passo que discrepâncias na área afetam C_d devido a mudanças na densidade de carga e nas adsorções na DCE [38-39]. A partir de imagens 3D de AFM, os valores de raiz da rugosidade quadrada média (R_{RMS}) indicam uma alta heterogeneidade dentro de uma mesma região de $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ e globalmente no que diz respeito as quatro amostras investigadas como mostra a **Figura 9**. Os valores mínimo e máximo de R_{RMS} foram, respectivamente, 155,1 e 631,7 nm. Já a R_{RMS} global foi igual a 341,6 nm com um desvio padrão de 116,3 nm ($n = 20$), mostrando a alta heterogeneidade da rugosidade das paredes internas dos capilares.

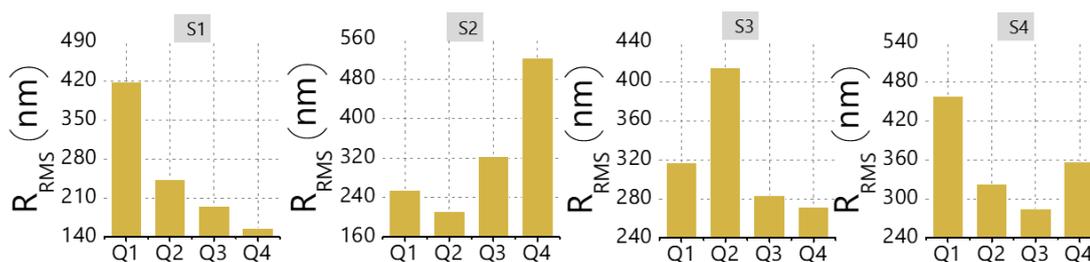


Figura 9. Propriedades topográficas das paredes internas dos capilares de aço inoxidável. R_{RMS} dos quadrantes (Q1-Q4) das regiões (S1-S4) testadas.

Em contraste com a topografia, as análises de SEM-EDS revelaram uma baixa heterogeneidade de composição. A composição relativa média foi: 77,2% de Fe, 28,8% de Cr, 12,0% de Ni, 16,7% de O e 7,4% de C. No que diz respeito às medições de XRD, não houve alterações consideráveis na nitidez dos picos de difração, o que implica em uma estrutura cristalina homogênea. Desta forma, a diversificação química de C_d é provavelmente devido à rugosidade heterogênea das paredes internas dos capilares de aço inoxidável.

3.4. Medida de potencial de carga zero e circuito equivalente

Os eletrodos de aço inox também foram avaliados pela medida do PZC. Conforme indicado na **Figura 10**, o espectro de potencial pode ser dividido em três regiões de acordo com as interações entre os eletrodos e os íons sob os diferentes potenciais aplicados. Na região 1, $-1,0$ V a $-0,6$ V, em contraposição com a equação de eletrocapilaridade, [38] vê-se a diminuição da capacitância com o aumento do potencial negativo aplicado, o que se deve presumivelmente a perturbações associadas a reações de evolução de hidrogênio. Em relação à região 2, $-0,6$ V a $+0,4$ V, como esperado, por outro lado, temos a diminuição da capacitância em função da redução do potencial (rumo a valores próximos a zero). Esse resultado é devido ao alargamento da espessura da DCE e à diminuição da concentração superficial de excesso dos íons nessa região. Em um sistema em que não há a adsorção de íons, o PZC é igual a $0,0$ V. No entanto, verificamos o deslocamento do PZC para $+0,4$ V, indicando a incidência de adsorção específica de cátions sobre o eletrodo. Nesse caso, é necessária a aplicação de um potencial positivo adicional para remoção dos cátions adsorvidos especificamente mediante repulsão eletrostática. Já na região 3, $+0,4$ V a $+1,0$ V, vemos o aumento da capacitância com o potencial aplicado pelas razões opostas àquelas discutidas anteriormente para a região 2 (aqui, estreitamento da espessura da DCE e aumento da concentração superficial de excesso dos íons).

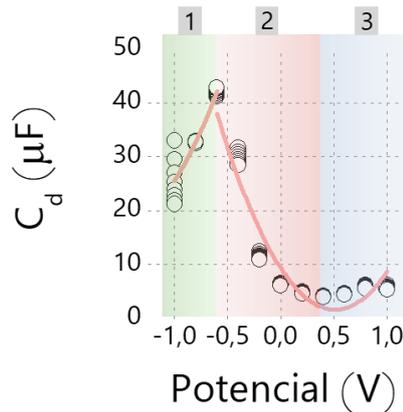


Figura 10. Potencial de carga zero para um capilar de aço inox. Gráfico de C_d vs. Potencial (a 100 Hz) para solução de KCl de $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,88$).

O chip também pode ser avaliado pelo gráfico de Bode, conforme apresentado na **Figura 11**. Neste Gráfico, podemos verificar a variação do ângulo de fase. Na região de frequências baixas a médias, o ângulo de fase é de aproximadamente 40 graus, o que indica contribuições importantes dos elementos capacitivos (impedância real) e resistivos (impedância imaginária) para a impedância complexa. No entanto, conforme são aplicadas frequências mais altas, o ângulo de fase diminui até valores próximos de zero, indicando que a impedância complexa passa a ser governada apenas por processos resistivos, representados pela impedância real. Isso ocorre porque, nessas frequências, não há a polarização dos íons pelo campo ac e, logo, não é observado o carregamento capacitivo da DCE [38].

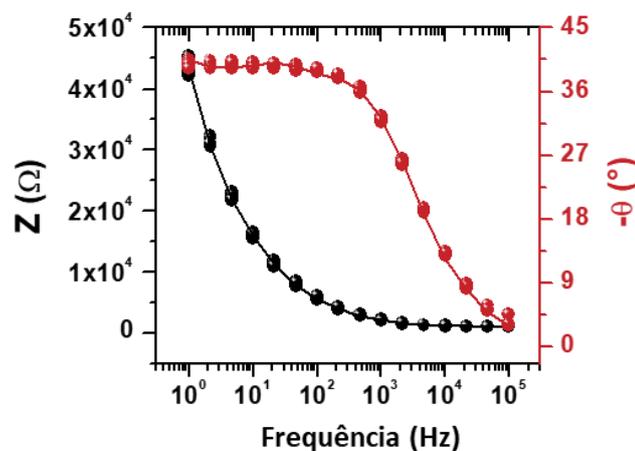


Figura 11. Gráfico de Bode da solução de KCl de $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ para o *chip* eletroquímico com 4 pares de capilares de aço inox.

Como última caracterização do *chip* eletroquímico, foi feito o modelamento de um circuito equivalente com desvio quadrado de 0,12989 mostrado na **Figura 12**. Esse tipo de circuito descreve um sistema de eletrodos polarizáveis reais, no qual os elementos são: R_s = resistência da solução [40], CPE = constante de elemento de fase (*constant phase element*); R_p = resistência a polarização; R_d = resistência contra a difusão de espécies. Este último é o coeficiente associado ao processo de transporte difusional limitado devido ao transporte de massa na interface do eletrodo. Desta forma, ao observarmos o circuito, vemos que as respostas impedimétricas da interface são obtidas a partir das alterações que as frequências ou potenciais aplicados fazem na dupla camada elétrica, ademais os valores dos elementos R_s e CPE variam com a composição química das amostras, gerando desta forma, os padrões de resposta específicos.

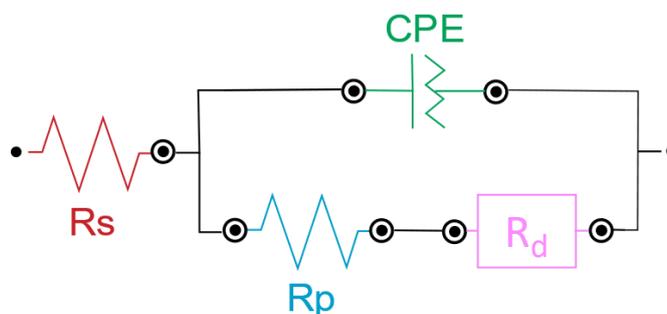


Figura 12. Circuito equivalente modelado para o chip de 4 pares de capilares de aço inox com solução de KCl de $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Os elementos do circuito são: $R_s = 953 \text{ Ohm}$; $\text{CPE} = 3,37 \mu\text{S}\cdot\text{s}^N$ ($N=0,61$); $R_p = 21,5 \text{ Ohm}$; $R_d = 7,18 \mu\text{S}\cdot\text{s}^{(1/2)}$.

3.5. Sensibilidade cruzada para as amostras de água mineral

Para aumentamos ainda mais o desempenho do nosso sensor, o-MWCNTs foram empregados como sondas de *bulk*. A variância da capacitância aumentou devido às interações eletrostáticas entre cátions e o-MWCNTs. Esses materiais apresentaram carga negativa em sua superfície devido aos grupos oxigenados gerados após oxidação. A presença desses grupos aumentou com o tempo de oxidação (6, 12 e 24 h) e com isso a carga superficial. As amostras de o-MWCNT com diferentes tempos de oxidação foram testadas para selecionar a sonda ideal através da avaliação da discriminação de 5 amostras de diferentes marcas de água mineral. Usando o sensor sem o auxílio de o-MWCNTs, essas amostras não puderam ser diferenciadas entre si. Por outro lado, o uso dos o-MWCNTs permitiu essa discriminação como exibido nos PCAs das **Figuras 13A,B**. Após o tempo de incubação com as diferentes sondas (6, 12 e 24 h

de oxidação), apenas o sobrenadante foi coletado para obter os dados de C_d . Os gráficos de PCA foram obtidos a partir desses valores de C_d (para sobrenadante) e também de C_r (ver seção 2.2).

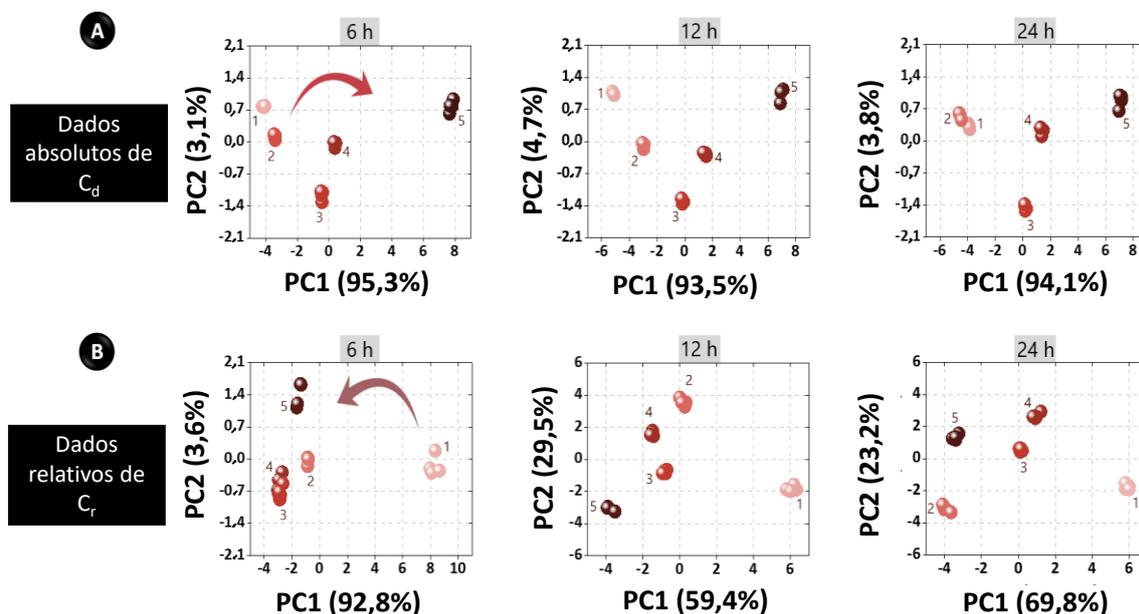


Figura 13. Estudo da sensibilidade cruzada considerando amostras de água mineral e uso de o-MWCNTs como sondas de *bulk*. Gráficos de PCA de (A) C_d e (B) C_r para os sobrenadantes de marcas de água mineral (1-5) usando dados baseados em frequência e as sondas o-MWCNTs de 6, 12 e 24 h de oxidação conforme destacado.

Por garantirem maior capacidade de discriminação, ambos os padrões de resposta considerados foram aqueles baseados na frequência. O aumento na dimensionalidade do PCA, ou seja, no PC2, foi especialmente notado para C_r usando o-MWCNTs 12 e 24 h. Esse resultado está de acordo com o aumento das cargas negativas dos nanotubos com o tempo de oxidação, o que leva, conseqüentemente, a uma elevação das interações eletrostáticas com os íons, assim a diferença entre as razões carga/raio dos íons se torna mais significativa aumentando a sensibilidade cruzada do dispositivo. A proximidade dos dados para cada amostra de água mineral mostrou mais uma vez a alta reprodutibilidade da análise. Além disso, essa rotina analítica engloba respostas relativas, o que é vantajoso para a reprodutibilidade uma vez que as análises impedimétricas são sensíveis aos efeitos da matriz como força iônica e viscosidade. Com base nesses resultados, para as demais aplicações foi feita apenas o uso dos o-MWCNTs oxidados por 12 h como sondas de *bulk* por gerarem uma boa sensibilidade e requererem menor tempo de preparo em relação aos nanotubos oxidados por 24 h.

3.6. Análise preliminar de amostras de água de petróleo

Nessa primeira análise de amostras de petróleo, buscamos avaliar a capacidade de reconhecimento do método para este tipo de amostra, para tal também consideramos o uso dos o-MWCNTs oxidados por 12 h como sondas de *bulk* buscando o aumento da sensibilidade cruzada e assim sensibilidade do método, conforme descrito na seção anterior. Primeiro, uma amostra de petróleo bruto foi submetida a extração líquido-líquido (LLE) usando vários receptores aquosos enriquecidos com Na^+ , K^+ , Ba^{2+} e Ca^{2+} em concentrações que são encontradas na água de formação do offshore brasileiro poços [43]. As diferentes soluções e misturas foram preparadas como mostrado na **Figura 14**, e após as extrações, a fase aquosa foi analisada no nosso dispositivo. Os dados de capacitância foram tratados por PCA (ver **Figura 14**) e mostram uma baixa capacidade de discriminação do sensor quando foram analisadas as amostras sem a interação com a sonda de *bulk* (**Figura 14A**). No entanto, quando usado o sinal relativo, ou seja, considerando os dados de capacitância das amostras tratadas com sondas de *bulk*, vemos que foi possível a discriminação das amostras, refletindo um aumento na variância dos dados como esperado (**Figura 14B**).

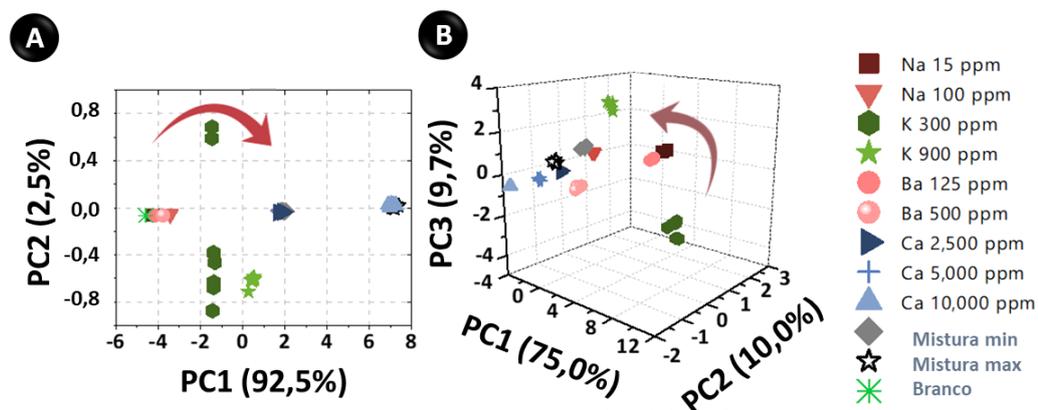


Figura 14. Análise preliminar de amostras de água de petróleo. Gráficos de PCA baseados nos espectros de frequência, a partir dos dados da fase aquosa da extração líquido-líquido do petróleo sem a incubação da mesma com 12 h o-MWCNTs (**A**) e a partir dos dados relativos da fase aquosa da extração líquido-líquido do petróleo com a incubação da mesma com 12 h o-MWCNTs (**B**). As misturas 'min' e 'max' significam soluções com Na^+ , K^+ , Ba^{2+} e Ca^{2+} em i) 15,0, 300,0, 125,0 e 2.500,0 mg L^{-1} e ii) 100,0, 900,0, 500,0 e 10.000,0 mg L^{-1} , respectivamente.

3.7. Análise de amostras de água de lago

Além de garantir o reconhecimento das marcas comerciais de água mineral, o sensor e a nanossonda de bulk o-MWCNT 12 h foram usados na identificação de amostras de água do lago dopadas com misturas de três íons metálicos, Ni^{2+} , Cu^{2+} e Al^{3+} . Foi obtido um total de 90 amostras enriquecidas divididas em 3 grupos (A a C) de acordo com os limites de segurança da OMS. O grupo A compreendeu amostras com concentração total de íons metálicos abaixo do limite global de segurança ($2,33 \text{ mg L}^{-1}$), enquanto aquelas nos grupos B e C apresentaram concentrações crescentes acima desse limite (**Anexo A**). Conforme descrito na seção anterior, as impressões digitais consistiram nos dados de espectro de capacitância em função da frequência referentes as amostras e aos respectivos sobrenadantes resultantes após incubação com o-MWCNTs oxidados por 12 h.

A separação entre os grupos de amostra foi razoável, como mostrado no gráfico de PCA da **Figura 15A**. Porém, algumas amostras dos grupos A e B ainda se apresentaram sobrepostas. Assim, devido à necessidade de uma maior capacidade de discriminação, os métodos de aprendizagem supervisionada foram usados buscando-se classificar e realizar previsões quantitativas. Primeiro, usamos o método LDA buscando uma alternativa para separar explicitamente os grupos como mostrado na **Figura 15B**. No entanto, é evidente a necessidade de outros modelos mais complexos para uma separação de classes efetiva. Para tal, os dados foram divididos em etapas de treinamento, validação cruzada e teste de forma aleatória (tarefa de aprendizagem). Usamos uma proporção de 80/20 para dividir as amostras em treinamento / teste. Considerando esses 80% do conjunto de treinamento, que abrangeu os 3 grupos, o desempenho dos modelos foi testado por meio de uma validação cruzada aleatória de 4 etapas, usando divisões aleatórias na proporção 75/25 em amostras de treinamento/validação. Uma das informações úteis fornecidas pelo classificador RF é a importância relativa das frequências analisadas nos espectros para a classificação como mostra a **Figura 15C**. As capacitâncias em 10,00 e 21,54 Hz para ambas as amostras e sobrenadantes foram as mais importantes para discriminar os grupos, reforçando a importância do uso das sondas de *bulk*. Ademais, uma vez que C_d é governado pelo carregamento de íons na DCE na solução (C_{Sol}) nessa região de frequência como discutido anteriormente [26], temos uma contribuição crucial da composição salina das amostras para a classificação.

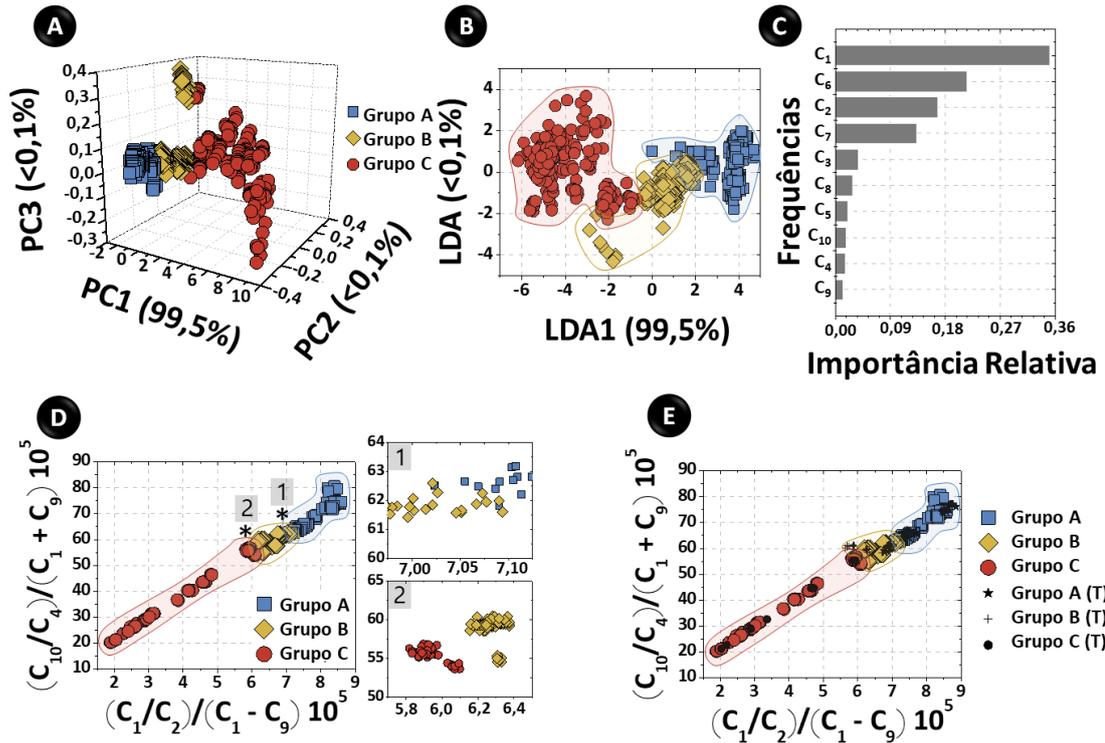


Figura 15. Resultados de aprendizado de máquina para classificação das amostras de água do lago dopadas com Ni^{2+} , Al^{3+} e Cu^{2+} usando sensor com 4 capacitores. **(A)** Gráficos de PCA e **(B)** LDA de espectros baseados em frequência usando valores de C_d para ambas as amostras brutas e seus sobrenadantes após a incubação com o-MWCNTs 12 h. **(C)** Importância relativa dos dados de C_d para a capacidade preditiva do modelo de RF. Mapa SISSO 2D de classificação **(D)** com apenas as amostras de treinamento e **(E)** também com as amostras de teste. As frequências associadas as capacitâncias indicadas nos gráficos são, respectivamente para as amostras e sobrenadantes: C_1 e $C_6 = 10$ Hz; C_2 e $C_7 = 21,54$ Hz; C_3 e $C_8 = 46,42$ Hz; C_4 e $C_9 = 100$ Hz; C_5 e $C_{10} = 464,16$ Hz.

Em seguida, o modelo RF foi aplicado com sucesso no restante das amostras de teste, atingindo 100,0% de acurácia de classificação. Este resultado revela a capacidade do sensor em classificar as amostras de acordo com as faixas de concentração estudadas. Outra abordagem supervisionada investigada foi o SISSO por possibilitar a classificação em um gráfico bidimensional a partir de equações matemáticas simples mediante redução na quantidade dos dados de entrada. Usando a rotina de validação cruzada, o modelo SISSO selecionou apenas 5 de dados C_d . O mapa 2D resultante, esses dados e a equação matemática obtida são exibidos nas **Figuras 15D,E**. Tal modelo é vantajoso, por exemplo, para o desenvolvimento de métodos mais simples e com baixa necessidade de memória de processamento, ideal para tarefas em celulares e aplicativos *Android*. Notavelmente, o sensor

também levou à quantificação simultânea individual e total dos íons por meio dos testes impedimétricos universais, tratando os valores de C_d por meio de regressão de múltiplas saídas usando algoritmo de RF. O modelo foi otimizado por meio da validação cruzada aleatória. Como mostrado nas **Figuras 16A, B**, a curva de regressão mostrou alta correlação ($R^2 > 0,99$) e precisão no conjunto de teste (20%). Esses dados indicam o potencial do sensor para determinações específicas sem o auxílio de métodos preparo de amostra como o uso de técnicas de separação (por exemplo, cromatografia e eletroforese) ou desenvolvimento de sensores específicos, mas com o auxílio de algoritmos simples de AM.

Finalmente, 4 repetições independentes ($n = 8$) utilizando o-MWCNTs 12 h e sensor com 4 capacitores foram realizadas para investigar a reprodutibilidade da análise. O monitoramento dos valores de C_d para os sobrenadantes em frequências distintas revelaram uma alta reprodutibilidade conforme ilustrado na **Figura 16C**.

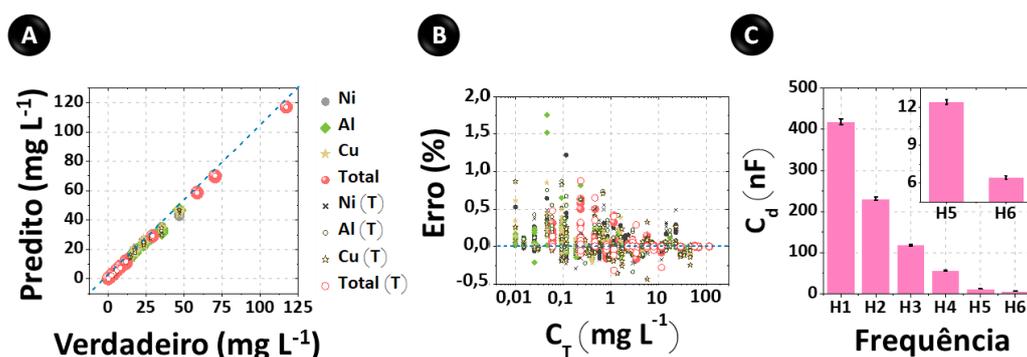


Figura 16. Resultados de aprendizado de máquina para a multideterminação das amostras de água do lago dopadas com Ni^{2+} , Al^{3+} e Cu^{2+} por RF usando sensor com 4 capacitores. **(A)** Curva de concentração dos valores preditos pelo modelo em função do valor verdadeiro (dopagem) e **(B)** erros relacionados à multiregressão usando o modelo de RF para quantificar as concentrações totais e individuais dos íons estudados. **(C)** Dados de C_d para os sobrenadantes de uma mesma amostra usando o-MWCNTs 12 h de réplicas independentes ($n = 8$) para avaliar a reprodutibilidade da análise.

3.8. Sensibilidade cruzada para íons de interesse no petróleo

A habilidade de discriminar as amostras foi avaliada inicialmente pela obtenção de espectros de capacitância em função do potencial e frequência para amostras de íons na água. Para cada amostra, foi feita uma solução de um sal específico, ou seja, sem misturas. O processamento de dados pelo PCA foi realizado a partir dos dados de capacitância. O resultado mostrado na **Figura 17** mostra que os íons em água ultrapura podem ser discriminados usando

apenas os espectros de frequência, apresentando diferentes sensibilidades em cada uma das frequências analisadas, conforme indicado na **Figura 17B e C**. Na **Figura 17D** é mostrado o PCA obtido a partir dos mesmos dados, evidenciando a capacidade de discriminação das amostras.

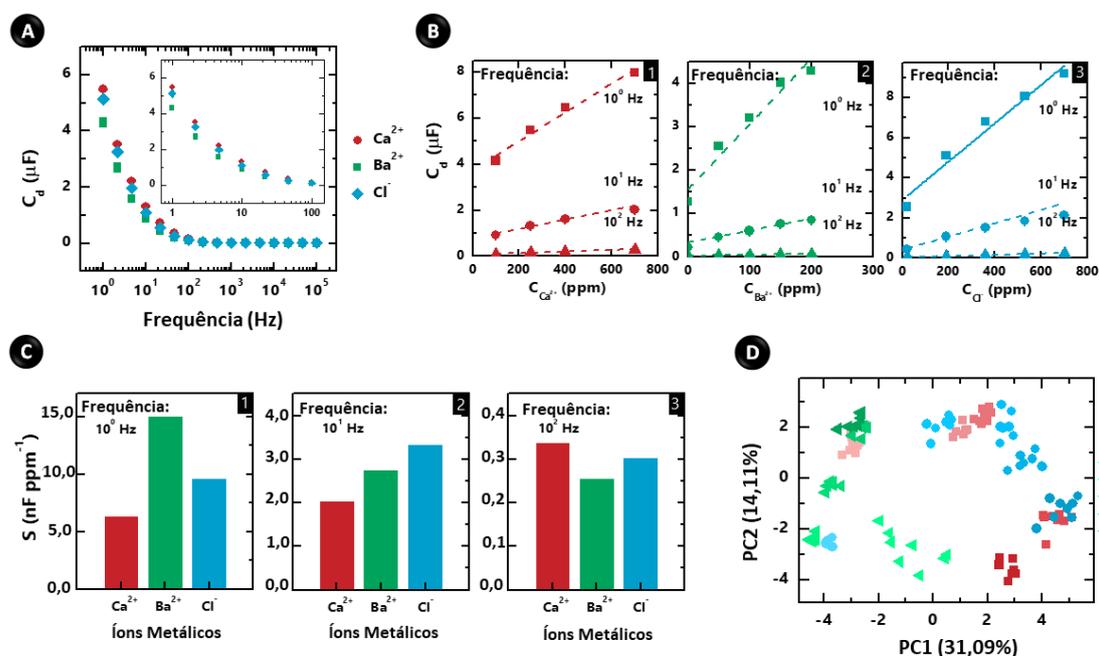


Figura 17. Estudo da sensibilidade cruzada para íons de interesse no petróleo de amostras em água ultrapura. **(A)** Exemplos de espectros dos íons Ba^{2+} , Ca^{2+} e Cl^- ; **(B)** Curvas dos íons em 1, 10 e 100 Hz, **(C)** Coeficientes angulares das curvas mostradas em B; **(D)** Tratamento de dados dos espectros de capacitância em função da frequência por PCA.

Análises similares foram feitas com os dados obtidos a partir dos procedimentos descritos na **seção 2.5**, e comparados para se determinar os possíveis caminhos para possibilitar a classificação e discriminação das amostras da fase aquosa do petróleo dopadas. Na **Figura 18** são mostrados os melhores PCAs obtidos para os procedimentos testados, considerando como parâmetros a separação das amostras e porcentagem explicada. Assim, tendo em vista estes resultados e simplicidade experimental, realizamos os experimentos para classificação e multideterminação inicialmente com a análise das amostras em água, sem qualquer adição de sonda de *bulk* ou alteração do solvente ou injeção simultânea. Caso não fosse possível a multideterminação por este procedimento, as outras possibilidades indicadas a partir deste estudo de sensibilidade cruzada poderiam ser testadas. Portanto, os resultados acima discutidos nos fornecem evidências da capacidade do sensor para a discriminação dos íons de interesse,

sendo assim, um indício positivo para a análise dos mesmos em amostras de petróleo conforme discutido a seguir.

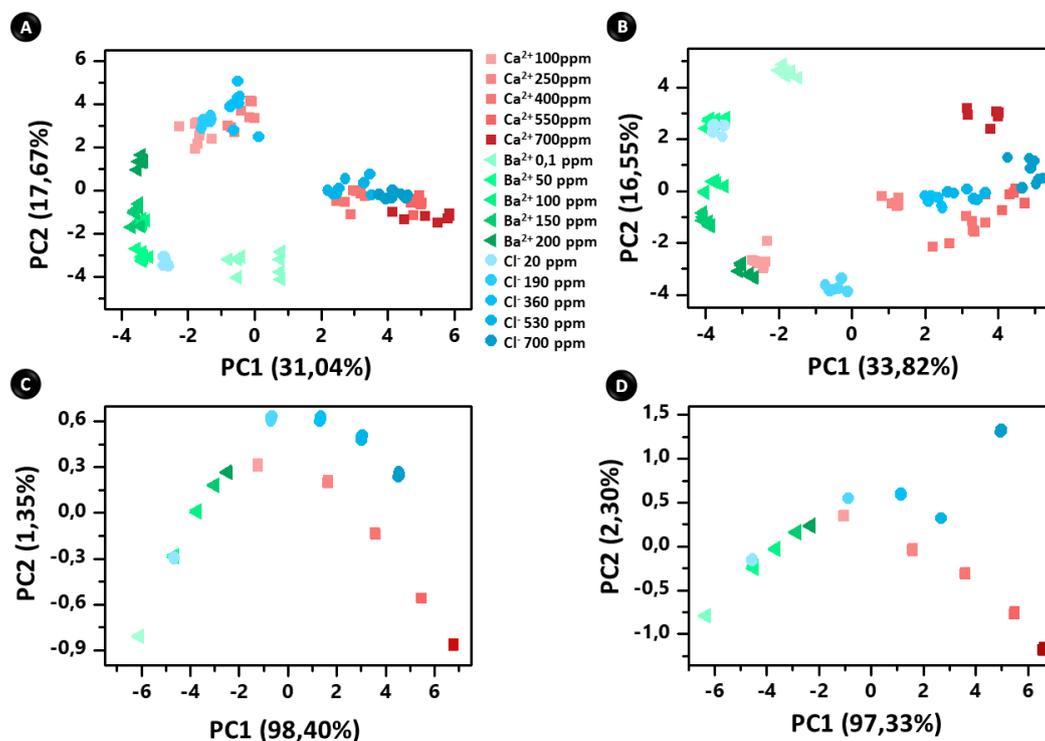


Figura 18. Principais resultados do estudo da sensibilidade cruzada para íons de interesse no petróleo. Tratamento de dados dos espectros de capacitância em função da frequência por PCA para (A) amostras em etanol 50%, (B) amostras tratadas com partículas magnéticas 600 ppm (C) nanopartículas de sílica e (D) o-MWCNTs 12 h.

3.9. Análise de amostras de água de petróleo

O sensor foi usado na classificação e multideterminação de amostras de água de petróleo dopada com misturas de três íons, Ba^{2+} , Ca^{2+} e Cl^{-} . Foi obtido um total de 72 amostras, divididas em 12 grupos de acordo com a concentração total dos íons. As impressões digitais consistiram nos dados de espectro de capacitância em função da frequência referentes as amostras de água de petróleo.

A separação entre os grupos de concentração total das amostras (12) foi adequada, conforme mostrado nos gráficos de PCA da **Figura 19A**. Este mapa exibiu boa dimensionalidade já que o segundo componente, PC2, explicou 5,49% da variância dos dados. Particularmente, algumas amostras dos grupos de maior concentração (em rosa) apresentaram baixa separação e estavam sobrepostas em algumas regiões.

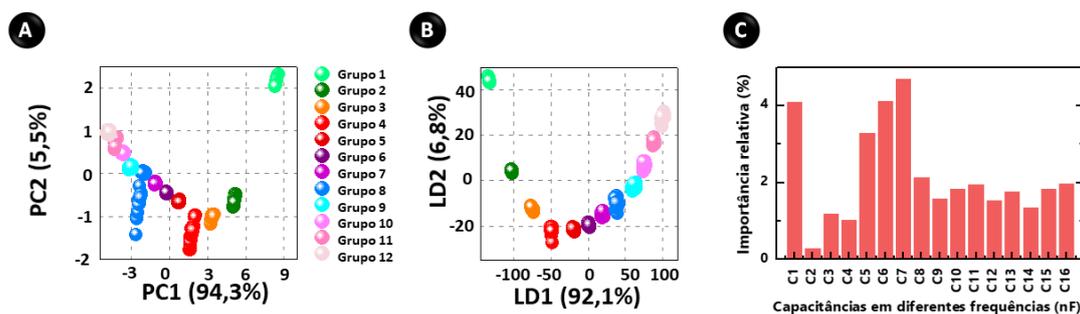


Figura 19. Resultados de aprendizado de máquina não supervisionado e supervisionado para as amostras de água de petróleo dopadas com os íons Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^- , usando sensor com 4 capacitores. **(A)** Gráficos de PCA e **(B)** LDA obtidos a partir de espectros de capacitância em função da frequência. As cores de verde a rosa representam os 12 grupos de concentrações totais de forma crescente. **(C)** Importância relativa dos recursos de C_d (frequências) para a capacidade preditiva do modelo de RF. As frequências associadas as capacitâncias indicadas nos gráficos são: C1 = 1 Hz; C2 = 2,15 Hz; C3 = 4,64 Hz; C4 = 10 Hz; C5 = 21,54 Hz; C6 = 46,42 Hz; C7 = 100 Hz; C8 = 215,44 Hz; C9 = 464,16 Hz; C10 = 1000 Hz; C11 = 2154,4 Hz; C12 = 4641,6 Hz; C13 = 10000 Hz; C14 = Hz; C15 = 46416 Hz; C16 = 100000Hz.

Desta forma, métodos de aprendizagem supervisionada foram utilizados para realizar a classificação total dos grupos e realizar previsões quantitativas com melhor desempenho. Primeiramente, usamos o LDA para separar explicitamente os grupos, conforme mostrado na **Figura 19B**. No entanto, é evidente que os modelos de aprendizado de máquina que suportam complexidade adicional ainda são necessários para uma separação de classes aprimorada. Dividindo os dados em grupos de treinamento, validação e teste de uma forma aleatória (tarefa de aprendizagem). O procedimento é o mesmo descrito para as amostras de água do lago, os dados foram divididos na proporção 80/20 entre treinamento / teste. A construção do modelo foi feita por meio de uma validação cruzada usando os dados de treinamento divididos na proporção 75/25 entre treinamento / validação. Uma informação útil fornecida pelo classificador de RF é a importância das frequências das medidas de espectro de capacitância para a classificação, conforme ilustrado na **Figura 19C**. As frequências com maior importância são 1 Hz, 21,5 Hz, 46,4 Hz e 100 Hz. Em seguida, o modelo de RF foi aplicado com sucesso nas demais amostras de teste, atingindo 100,0% de acurácia de classificação. Este resultado revela a habilidade do sensor em classificar amostras de acordo com as faixas de concentração dos íons estudados. Outra abordagem supervisionada estudada foi o SISO com

a intenção de garantir ensaios discriminatórios dos grupos a partir de um modelo matemático linear e simples, resultado apresentado na **Figura 20A**.

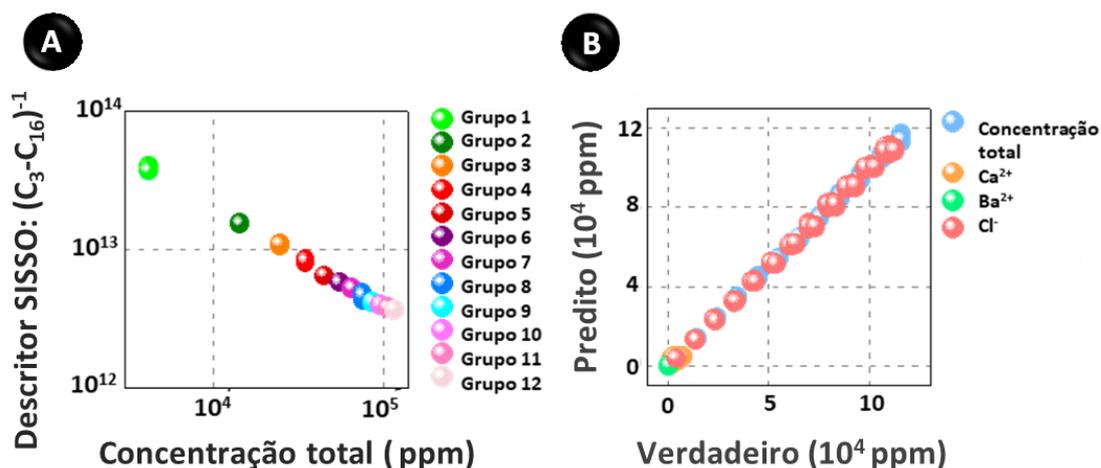


Figura 20. Resultados de aprendizado de máquina supervisionado para as amostras de água de petróleo dopadas com os íons Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^- , usando sensor com 4 capacitores. **(A)** Mapa SISSO 2D de classificação. **(B)** Curva de concentração relacionados à regressão de múltiplas saídas usando o modelo de RF e SISSO para quantificar as concentrações totais e individuais Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^- .

O modelo SISSO ajustado selecionou apenas 2 dados de C_d (em frequências distintas) que foram associados ao carregamento iônico da solução na dupla-camada elétrica e do material do eletrodo. O mapa 2D e a equação matemática resultante são mostrados na **Figura 20A**. A acurácia da classificação nas amostras de validação e teste foi de 100,0% e 100,0%, respectivamente. Além de garantir alto desempenho de classificação, o SISSO diminuiu significativamente o tamanho dos dados. Este recurso é vantajoso, por exemplo, para o desenvolvimento de métodos do tipo *sample-to-answer* por meio da realização de tarefas de classificação em smartphones, uma vez que as equações modeladas podem ser facilmente executadas em aplicativos *Android*. O SISSO também levou a uma relação de dados unidimensional e linear em toda a faixa de concentração, tornando mais fácil discriminar amostras desconhecidas.

Regressões baseadas nos modelos SISSO e PLS foram feitas para prever diretamente a concentração dos íons. Conforme mostrado na Figura 20B, uma alta correlação em toda a faixa de concentração de íons metálicos foi obtida, com R^2 para a concentrações total igual a 0,9996

e para as concentrações de Ca^{2+} , Ba^{2+} e Cl^- igual a 0,6167, 0,8716 e 0,9980, respectivamente. De acordo com esses dados, podemos concluir que o sensor possui potencial para determinações de espécies individuais sem o auxílio de métodos de separação ou sensores químicos específicos, mas com o auxílio de algoritmos de aprendizado de máquina simples. Íons diferentes podem ser monitorados desde que esses sejam contemplados nas amostras de treinamento para construção dos descritores.

3.10. Desenvolvimento de plataforma *sample-to-answer*

Os algoritmos obtidos pelas técnicas de AM supervisionadas para as amostras de petróleo foram inseridos em um aplicativo de *smartphone* gerando uma plataforma do tipo *sample-to-answer*. Para essas medidas foi usado um potenciostato caseiro e portátil controlado pelo *smartphone* por meio de conexão sem fio *Bluetooth* como podemos observar na **Figura 21**.

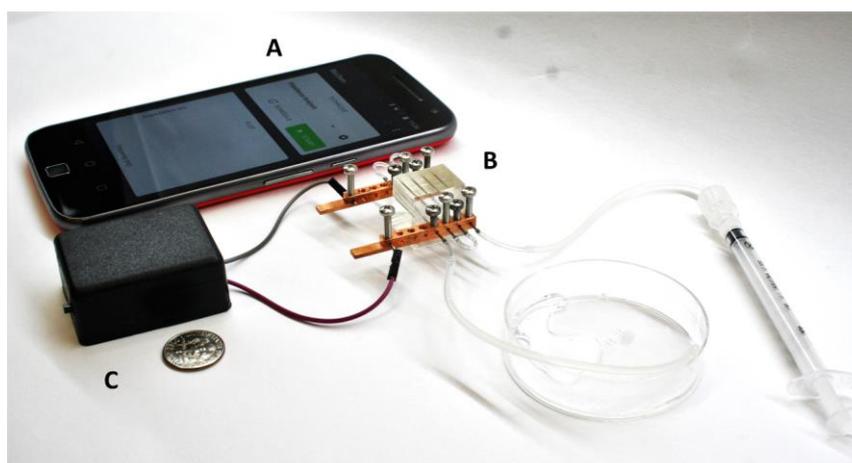


Figura 21. Plataforma do tipo *sample-to-answer*. Diâmetro da moeda = 1,8 cm. As letras identificam **A** - *smartphone*, **B** - *chip* de capacitores de DCE e **C** - potenciostato caseiro e portátil.

Na **Figura 22A** são mostrados os gráficos de paridade de soluções Ca^{2+} em água ultrapura entre o potenciostato caseiro e o potenciostato de bancada da Metrohm Autolab AG PGSTAT302N (Herisau, Suíça), nas frequências 10 Hz, 100 Hz e 1000 Hz, indicando que o dispositivo é adequado para análise pois apresentou linearidade. Nas **Figuras 22B, 1, 2 e 3** são exemplificados os resultados mostrados na tela do aplicativo. Na **Figura 22B 1** é mostrado um exemplo de medida de impedância. Na **Figura 22B 2** é mostrada a análise de classificação de uma amostra do grupo 2 conforme, de acordo com as concentrações no **Anexo B**. Desta forma, na tela é possível identificar o grupo e as faixas de concentração para cada uma das amostras e

íons. Na **Figura 22B 3** é mostrada a análise de multideterminação de uma amostra do grupo 4 conforme, de acordo com as concentrações no **Anexo B**. Na tela é possível identificar o grupo e a concentração para cada uma das amostras e íons.

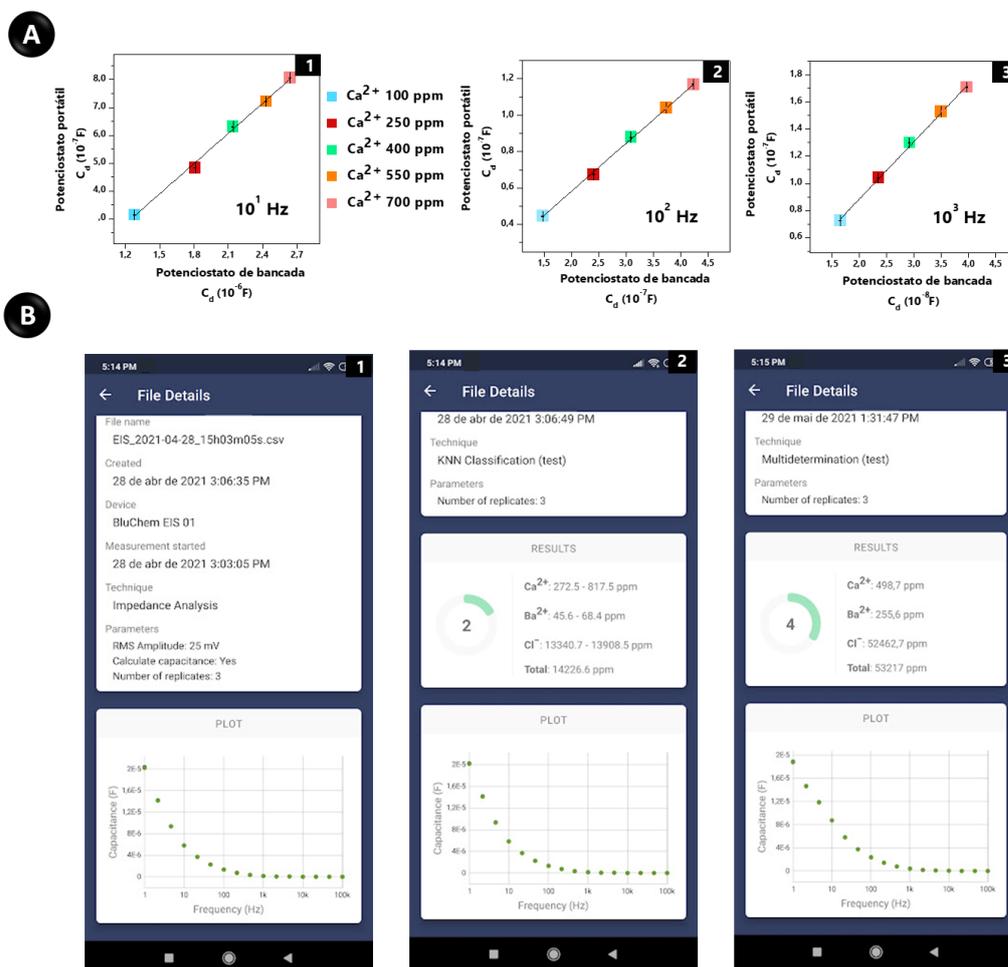


Figura 22. Desenvolvimento de plataforma do tipo *sample-to-answer*. **(A)** Curvas de paridade foram obtidas em comparação com o potenciostato da Metrohm Autolab AG PGSTAT302N (Herisau, Suíça) nas frequências 10 Hz, 100 Hz e 1000 Hz. **(B)** Fotos da tela do aplicativo quando realizado **(1)** medida de impedância, **(2)** classificação da amostra e **(3)** multideterminação dos íons Ca²⁺, Ba²⁺ e Cl⁻ presentes na amostra.

4. Conclusões

Dispositivos microfluídicos com baixo consumo de amostras e reagentes foram fabricados por um método escalonável, livre de sala limpa e simples, enquanto capilares de aço inoxidável comuns e comerciais foram usados como eletrodos de detecção do sensor. Uma associação de capacitores de dupla camada em paralelo gerou respostas multidimensionais devido ao caráter multicanal das respostas de capacitância e interações eletrodo/eletrólito heterogêneas. Desta forma, foram realizadas medidas impedimétricas usando dispositivo constituído de pares de eletrodos polarizáveis, os quais atuaram como capacitores de dupla-camada elétrica. Esses eletrodos prontos para uso geraram dados multidimensionais a partir de respostas únicas de impedância. Ademais, propomos uma estratégia promissora para aumentar ainda mais a repetibilidade e a capacidade de reconhecimento do dispositivo capacitivo usando sonda de *bulk* e diferentes solventes. Isto corre devido ao aumento da diversificação dos sinais de capacitância em função da adsorção diferenciada dos íons e interações entre solvente/íons solventes/sondas, cuja extensão depende da sua razão carga/raio. Particularmente, o uso de nanotubos de carbono oxidados como sondas de *bulk* mostrou-se essencial para a classificação de íons em amostras de petróleo.

Considerando a suma importância do monitoramento simples, barato e rápido de íons, estudamos o desenvolvimento de uma plataforma *point-of-use* (ideal para análises *in-situ* por operadores não especializados) para a classificação e multideterminação de diferentes íons simultaneamente em águas (Ni^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+}) e petróleo (Ba^{2+} e Ca^{2+} e Cl^- ; íons causadores de incrustações). Para isso, usamos tratamento estatístico dos dados por métodos de AM, sem a necessidade do uso de técnicas de separação. As equações obtidas a partir da biblioteca de amostras de treinamento foram inseridas em um aplicativo permitindo o desenvolvimento de uma plataforma *sample-to-answer*, no qual foi utilizado um smartphone para controle do dispositivo portátil de impedância, obtenção e tratamento dos dados e apresentação do resultado final em sua tela (classificação e quantificação).

Os resultados mostrados indicam a capacidade do sistema para aplicações futuras em amostras ambientais e petroquímicas. Esses resultados foram publicados no artigo “*Ordinary microfluidic electrodes combined with bulk nanoprobe produce multidimensional electric double-layer capacitances towards metal ion recognition*” [25]. A plataforma vem sendo aplicada com sucesso em um projeto com fomento da Petrobras para o monitoramento dos íons causadores de incrustações. Após a análise de centenas de amostras de petróleo, o dispositivo aqui apresentado tem exibido maior poder de classificação comparado a *chips*

baseados em eletrodos interdigitados de Au [25]. Por fim, em cenários reais, vale destacar a importância em usar um amplo conjunto de amostras reais como treinamento para o modelamento de descritores com alto poder de predição. Nesses casos, como observado recentemente em nosso grupo em amostras vinculadas ao projeto com a Petrobras, há um aumento considerável na acurácia dos dados de concentração preditor pelos algoritmos de AM. Amostras de petróleo, sejam de um mesmo poço ao longo do tempo ou extraídas de poços diferentes, possuem uma alta variação da sua composição físico-química. Assim, ao considerarmos essas variações na obtenção dos algoritmos supervisionados, esses se tornam mais robustos uma vez que passam a contemplar as variações na matriz da amostra.

5. Referências bibliográficas

- [1] WHO, World Health Organization, Guidelines for drinking water quality, fourth edition (2011).
- [2] Y. Li, Y. Chen, H. Yu, L. Tian, Z. Wang, Portable and Smart Devices for Monitoring Heavy Metal Ions Integrated with Nanomaterials, *Trends Anal. Chem.* 98 (2018) 190–200.
- [3] S. Li, C. Zhang, S. Wang, Q. Liu, H. Feng, X. Ma, J. Guo, Electrochemical Microfluidics Techniques for Heavy Metal Ion Detection, *Analyst* 143 (2018) 4230–4246.
- [4] J. S. Daher, Avaliação de incrustação de sais inorgânicos em Reser-vatórios consolidados através da simulação Numérica, Dissertação (Mestrado em Engenharia de Reservatório e de Exploração), Univer-sidade Estadual do Norte Fluminense, Macaé, RJ (2003).
- [5] R. G. Santos, W. Loh, A. C. Bannwart, O. V. Trevisan, An overview of heavy oil properties and its recovery and transportation methods, *Braz. J. Chem. Eng.* 31 (2014) 571-590.
- [6] T. C. Ho, A study of crude oil fouling propensity, *Int. Journal of Heat and Mass Transfer* 95 (2016) 62-68.
- [7] M. I. P. Reis, F. C. da Silva, G. A. Romeiro, A. A. Rocha, V. F. Ferreira, Deposição Mineral em Superfícies: Problemas e Oportunidades na Indústria do Petróleo, *Rev. Virtual Quim.* 3 (2011) 2-13.
- [8] J. M. Morais, Petróleo em águas profundas: Uma história tecnoló-gica da PETROBRAS na exploração e produção offshore, Ipea: Pe-trobras, Brasília- DF, Brasil (2013).
- [9] P. A. Mello, J. S. Pereira, M. F. Mesko, J. S. Barin, & E. M. Flores, Sample preparation methods for subsequent determination of metals and non-metals in crude oil-a review, *Analytica chimica acta*, 746(2012) 15–36.
- [10] B. B. Castro, Avaliação da corrosão em operações de remoção de incrustações carbonáticas, Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Materiais, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (2015).
- [11] H. M. F. Teixeira, C. Duyck, F. F. do Rosário, M. C. M. Bezerra, A. A. Rocha, T. C. O. da Fonseca, T. D. Saint'Pierre, N. Miekeley, Extraction of petroleum emulsified water and characterization of major ions for the evaluation of its origin, *Fuel* 209 (2017) 315-321.
- [12] Hydrocarbon Publishing Co., Refinery Energy Management: Latest Technologies and Strategies to Enhance Operational Economics, (2012) 5-21.

- [13] E. M. Ishiyama, A.V. Heins, W.R. Paterson, L. Spinelli, D. I. Wilson, Scheduling cleaning in a crude oil preheat train subject to foul-ing: Incorporating desalter control, *Applied Thermal Engineering* 30 (2010) 1852-1862.
- [14] M. El-Said, M. Ramzi, T. Abdel-Moghny, Analysis of oilfield waters by ion chromatography to determine the composition of scale deposition, *Desalination* 249 (2009) 748–756.
- [15] T. A. Maryutina, A. R. Timerbaev, Metal speciation analysis of petroleum: Myth or reality?, *Analytica Chimica Acta* 991 (2017) 1-8.
- [16] H. Xu, W. Wu, Y. Chen, T. Qiu, L.-J. Fan, Construction of Response Patterns for Metal Cations by Using a Fluorescent Conjugated Polymer Sensor Array from Parallel Combinatorial Synthesis, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 6 (2014) 5041–5049.
- [17] F. Pu, X. Ran, J. Ren, X. Qu, Artificial Tongue Based on Metal–biomolecule Coordination Polymer Nanoparticles, *Chem. Commun.* 52 (2016) 3410–3413.
- [18] L. Zhang, X. Huang, Y. Cao, Y. Xin, L. Ding, Fluorescent Binary Ensemble Based on Pyrene Derivative and Sodium Dodecyl Sulfate Assemblies as a Chemical Tongue for Discriminating Metal Ions and Brand Water, *ACS Sens.* 2 (2017) 1821–1830.
- [19] X. Zhou, J. Nie, B. Du, Functionalized Ionic Microgel Sensor Array for Colorimetric Detection and Discrimination of Metal Ions, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9 (2017) 20913–20921.
- [20] S.-F. Xue, Z.-H. Chen, X.-Y. Han, Z.-Y. Lin, Q.-X. Wang, M. Zhang, G. Shi, DNA Encountering Terbium (III): A Smart “Chemical Nose/Tongue” for Large-Scale Time-Gated Luminescent and Lifetime-Based Sensing, *Anal. Chem.* 90 (2018) 3443–3451.
- [21] K.J. Albert, N.S. Lewis, C.L. Schauer, G.A. Sotzing, S.E. Stitzel, T.P. Vaid, D.R. Walt, Cross-Reactive Chemical Sensor Arrays, *Chem. Rev.* 100 (2000) 2595–2626.
- [22] L. Lvova, D. Kirsanov, C. Di Natale, A. Legin, *Multisensor Systems for Chemical Analysis: Materials and Sensors*, Pan Stanford Publishing, Singapore (2014).
- [23] M.L. Rodriguez-Mendez, *Electronic Noses and Tongues in Food Science*, Academic Press (2016).
- [24] T. Wasilewski, D. Migoń, J. Gębicki, W. Kamysz, Critical review of electronic nose and tongue instruments prospects in pharmaceutical analysis, *Anal. Chim. Acta* 10770 (2019) 14–29.
- [25] G. S. da Silva, L. P.de Oliveira, G. F. Costa, G. F. Giordano, C. Y. N. Nicoliche, A. A. da Silva, L. U. Khan, G. H. da Silva, A. L. Gobbi, J. V.Silveira, A. G. S. Filho, G. R. Schleder, A. Fazzio, D. S. T. Martinez, R. S. Lima, Ordinary microfluidic electrodes combined with bulk

nanoprobe produce multidimensional electric double-layer capacitances towards metal ion recognition, *Sensors and Actuators B: Chemical* 305 (2020) 12748.

[26] C.Y.N. Nicoliche, G.F. Costa, A.L. Gobbi, F.M. Shimizu, R.S. Lima, Pencil Graphite Core for Pattern Recognition Applications, *Chem. Commun.* 55 (2019) 4623–4626.

[27] B. Roy, T.S. Roy, S.A. Rahaman, K. Das, S.A. Bandyopadhyay, Mi-nimalist Approach for Distinguishing Individual Lanthanide Ions Using Multivariate Pattern Analysis, *ACS Sens.* 3 (2018) 2166–2174.

[28] F.M. Shimizu, F.R. Todao, A.L. Gobbi, O.N. Oliveira, Jr., C.D. Garcia, R.S. Lima, Functionalization-Free Microfluidic Electronic Tongue Based on a Single Response, *ACS Sens.* 2 (2017) 1027–1034.

[29] F.M. Shimizu, A.M. Pasqualetti, F.R. Todão, J.F.A. de Oliveira, L.C.S. Vieira, S.P.C. Gonçalves, G.H. da Silva, M.B. Cardoso, A.L. Gobbi, D.S.T. Martinez, O.N. Oliveira, Jr., R.S. Lima, Monitoring The Surface Chemistry Of Functionalized Nanomaterials with a Microfluidic Electronic Tongue, *ACS Sens.* 3 (2018) 716–726.

[30] C.L. Camargo, L.S. Shiroma, G.F. Giordano, A.L. Gobbi, L.C.S. Vieira, R.S. Lima, Turbulence in Microfluidics: Cleanroom-Free, Fast, Solventless, And Bondless Fabrication and Application in High Throughput Liquid-Liquid Extraction, *Anal. Chim. Acta* 940 (2016) 73–83.

[31] C.A. Teixeira, G.F. Giordano, M.B. Beltrame, L.C.S. Vieira, A.L. Gobbi, R.S. Lima, Renewable Solid Electrodes in Microfluidics: Recovering the Electrochemical Activity without Treating the Surface, *Anal. Chem.* 88 (2016) 11199–11206.

[32] G.F. Giordano, C.L. Camargo, L.C.S. Vieira, M.A. d'Ávila, B.C. Couto, R.M. de Carvalho, A.L. Gobbi, R.S. Lima, Turbulence-Assisted High-Throughput Liquid–Liquid Extraction in Microfluidics and Ni(OH)₂ Nanoparticles for Electrochemical Determination of Monoethylene Glycol Traces in Natural Gas Condensate, *Energy Fuels* 32 (2018) 6577–6583.

[33] D.H. Martucci, F.R. Todão, F.M. Shimizu, T.M. Fukudome, S.F. Schwarz, E. Carrilho, A.L. Gobbi, O.N. Oliveira, Jr., R.S. Lima, Auxiliary Electrode Oxidation for Naked-Eye Electrochemical Determinations in Microfluidics: Towards On-The-Spot Applications, *Electrochim. Acta* 292 (2018) 125–135.

[34] G.F. Giordano, L.C.S. Vieira, A.L. Gobbi, L.T. Kubota, R.S. Lima, Gravity-Assisted Distillation on a Chip: Fabrication, Characterization, and Applications, *Anal. Chim. Acta* 1033 (2018) 128–136.

[35] R.A.G. de Oliveira, C.Y.N. Nicoliche, A.M. Pasqualetti, F.M. Shimizu, I.R. Ribeiro, M.E. Melendez, A.L. Carvalho, A.L. Gobbi, R.C. Faria, R.S. Lima, Low-Cost and Rapid-

Production Microfluidic Electrochemical Double-Layer Capacitors for Fast and Sensitive Breast Cancer Diagnosis, *Anal. Chem.* 90 (2018) 12377–12384.

[36] V. Lockett, R. Sedev, J. Ralston, M. Horne, T. Rodopoulos, Differential Capacitance of The Electrical Double Layer in Imidazolium-Based Ionic Liquids: Influence of Potential, Cation Size, and Temperature, *J. Phys. Chem. C* 112 (2008) 7486–7495.

[37] H. Ji, X. Zhao, Z. Qiao, J. Jung, Y. Zhu, Y. Lu, L.L. Zang, A.H. MacDonald, R.S. Ruoff, Capacitance of Carbon-Based Electrical Double-Layer Capacitors, *Nat. Commun.* 5 (2014) 3317.

[38] A.L. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed., John Wiley & Sons, New York (2001) 368–534.

[39] J.O'M. Bockris, A.K.N. Reddy, M. Gamboa-Aldeco, *Modern Electrochemistry: Fundamentals of Electrode Processes* 2A, Vol. 2, 2nd ed., Kluwer Academic Publishers, New York (2002) 806–919.

[40] S.R. Mahmoodi, P. Xie, D.P. Zachis, E.J. Peterson, R.S. Graham, C.R.W. Kaiser, H.H. Lim, M. Javanmard, Single-step label-free nanowell immunoassay accurately quantifies serum stress hormones within minutes, *Sci. Adv.* 7 (2021); eabf4401

[41] N.F. Andrade, D.S.T. Martinez, A.J. Paula, J.V. Silveira, O.L. Alves, A.G. Souza Filho, Temperature Effects on the Nitric Acid Oxidation of Industrial Grade Multiwalled Carbon Nanotubes, *J. Nanopart. Res.* 15 (2013) 1761.

[42] M.S. Dresselhaus, A. Jorio, A.G. Souza Filho, R. Saito, Defect Characterization in Graphene and Carbon Nanotubes Using Raman Spectroscopy, *Phil. Trans. R. Soc. A* 368 (2010) 5355–5377.

[43] A.R.P. da Motta, C.P. Borges, A. Kiperstok, K.P. Esquerre, P.M. Araujo, L.P.N. Branco, Tratamento de Água Produzida de Petróleo para Remoção de Óleo por Processos de Separação por Membranas: Revisão, *Eng. Sanit. Ambient.* 18 (2013) 15–26.

[44] C.M. da Rosa, R.K. Menger, M.T. Gomes, C. Oliveira, Comportamento de Reagentes Inibidores de Incrustação Aplicados na Perfuração de Poços de Petróleo, *Matéria* 20 (2015) 514–522.

[45] N. Idros, D. Chu, Triple-Indicator-Based Multidimensional Colorimetric Sensing Platform for Heavy Metal Ion Detections, *ACS Sens.* 3 (2018) 1756–1764.

[46] WHO, World Health Organization, Aluminum in drinking-water: Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality (2010).

[47] WHO, World Health Organization, Nickel in drinking-water: Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality (2005).

- [48] WHO, World Health Organization, Copper in drinking-water: Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality (2004).
- [49] G.R. Schleder, A.C.M. Padilha, C.M. Acosta, M. Costa, A. Fazzio, From DFT to machine learning: recent approaches to materials science—a review, *J. Phys.: Mater.* 2 (2019) 032001.
- [50] G.R. Schleder, C.M. Acosta, A. Fazzio, Exploring Two-Dimensional Materials Thermodynamic Stability via Machine Learning, *ACS Appl. Mater. Interfaces* (2019) DOI: 10.1021/acsami.9b14530.
- [51] G.F. Giordano, M.B.R. Vicentini, R.C. Murer, F. Augusto, M.F. Ferrão, G.A. Helfer, A.B. da Costa, A.L. Gobbi, L.W. Hantao, R.S. Lima, Point-of-use electroanalytical platform based on homemade potentiostat and smartphone for multivariate data processing, *Electrochim. Acta* 219 (2016) 170–177.
- [52] K. Yamada, H. Shibata, K. Suzuki, D. Citterio, Toward practical application of paper-based microfluidics for medical diagnostics: state-of-the-art and challenges, *Lab Chip* 17 (2017) 1206–1249.
- [53] D.S.T. Martinez, A.F. Faria, E. Berni, A.G. Souza-Filho, G. Almeida, A. Caloto-Oliveira, M.J. Grossman, L.R. Durrant, G.A. Umbuzeiro, O.L. Alves, Exploring the use of biosurfactants from *Bacillus subtilis* in bionanotechnology: A potential dispersing agent for carbon nanotube ecotoxicological studies, *Process Biochem.* 49 (2014) 1162–1168.
- [54] G.H. da Silva, Z. Clemente, L.U. Khan, F. Coa, L.L.R. Neto, H.W.P. Carvalho, V.L. Castro, D.S.T. Martinez, R.T.R. Monteiro, Toxicity assessment of TiO₂-MWCNT nanohybrid material with enhanced photocatalytic activity on *Danio rerio* (Zebrafish) embryos, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 165 (2018) 136–143.

6. Anexos

A. Amostras dopadas de água do lago

| | | ppm | | | |
|--------------------|-----|------------------|------------------|------------------|--------------------|
| | | Ni ²⁺ | Al ³⁺ | Cu ²⁺ | Concentração Total |
| Grupo A | A1 | 0,03 | 0,015 | 0,015 | 0,06 |
| | A2 | 0,015 | 0,015 | 0,03 | |
| | A3 | 0,015 | 0,03 | 0,015 | |
| | A4 | 0,025 | 0,025 | 0,01 | |
| | A5 | 0,01 | 0,025 | 0,025 | |
| | A6 | 0,025 | 0,01 | 0,025 | |
| | A7 | 0,117 | 0,0585 | 0,0585 | 0,234 |
| | A8 | 0,0585 | 0,117 | 0,0585 | |
| | A9 | 0,0585 | 0,0585 | 0,117 | |
| | A10 | 0,094 | 0,094 | 0,046 | |
| | A11 | 0,094 | 0,046 | 0,094 | |
| | A12 | 0,046 | 0,094 | 0,094 | |
| | A13 | 0,234 | 0,117 | 0,117 | 0,468 |
| | A14 | 0,117 | 0,234 | 0,117 | |
| | A15 | 0,117 | 0,117 | 0,234 | |
| | A16 | 0,187 | 0,187 | 0,094 | |
| | A17 | 0,187 | 0,094 | 0,187 | |
| | A18 | 0,094 | 0,187 | 0,187 | |
| | A19 | 0,409 | 0,205 | 0,205 | 0,819 |
| | A20 | 0,205 | 0,205 | 0,409 | |
| | A21 | 0,205 | 0,409 | 0,205 | |
| | A22 | 0,356 | 0,356 | 0,107 | |
| | A23 | 0,356 | 0,107 | 0,356 | |
| | A24 | 0,107 | 0,356 | 0,356 | |
| | A25 | 0,586 | 0,292 | 0,292 | 1,170 |
| | A26 | 0,292 | 0,292 | 0,586 | |

| | | | | | |
|------------|-----|-------|-------|-------|-------|
| | A27 | 0,292 | 0,586 | 0,292 | |
| | A28 | 0,468 | 0,468 | 0,234 | |
| | A29 | 0,468 | 0,234 | 0,468 | |
| | A30 | 0,234 | 0,468 | 0,468 | |
| Grupo B | B1 | 1,15 | 0,575 | 0,575 | 2,300 |
| | B2 | 0,575 | 1,15 | 0,575 | |
| | B3 | 0,575 | 0,575 | 1,15 | |
| | B4 | 0,92 | 0,92 | 0,46 | |
| | B5 | 0,46 | 0,92 | 0,92 | |
| | B6 | 0,92 | 0,46 | 0,92 | |
| | B7 | 1,437 | 0,719 | 0,719 | 2,875 |
| | B8 | 0,719 | 1,437 | 0,719 | |
| | B9 | 0,719 | 0,719 | 1,437 | |
| | B10 | 1,15 | 1,15 | 0,575 | |
| | B11 | 1,15 | 0,575 | 1,15 | |
| | B12 | 0,575 | 1,15 | 1,15 | |
| | B13 | 1,725 | 0,862 | 0,862 | 3,45 |
| | B14 | 0,862 | 0,862 | 1,725 | |
| | B15 | 0,862 | 1,725 | 0,862 | |
| | B16 | 1,38 | 1,38 | 0,69 | |
| | B17 | 1,38 | 0,69 | 1,38 | |
| | B18 | 0,69 | 1,38 | 1,38 | |
| | B19 | 2,876 | 1,437 | 1,437 | 5,75 |
| | B20 | 1,437 | 2,876 | 1,437 | |
| | B21 | 1,437 | 1,437 | 2,876 | |
| | B22 | 2,3 | 2,3 | 1,15 | |
| | B23 | 2,3 | 1,15 | 2,3 | |
| | B24 | 1,15 | 2,3 | 2,3 | |
| | B25 | 4,026 | 2,012 | 2,012 | 8,05 |
| | B26 | 2,012 | 4,026 | 2,012 | |
| | B27 | 2,012 | 2,012 | 4,026 | |
| | B28 | 3,22 | 3,22 | 1,61 | |
| | B29 | 3,22 | 1,61 | 3,22 | |

| | B30 | 1,61 | 3,22 | 3,22 | |
|----------------|-----|--------|--------|--------|-------|
| Grupo B | C1 | 5,85 | 2,925 | 2,925 | 11,7 |
| | C2 | 2,925 | 5,85 | 2,925 | |
| | C3 | 2,925 | 2,925 | 5,85 | |
| | C4 | 4,68 | 4,68 | 2,34 | |
| | C5 | 4,68 | 2,34 | 4,68 | |
| | C6 | 2,34 | 4,68 | 4,68 | |
| | C7 | 14,626 | 7,312 | 7,312 | 29,25 |
| | C8 | 7,312 | 14,626 | 7,312 | |
| | C9 | 7,312 | 7,312 | 14,626 | |
| | C10 | 11,7 | 11,7 | 5,85 | |
| | C11 | 11,7 | 5,85 | 11,7 | |
| | C12 | 5,85 | 11,7 | 11,7 | |
| | C13 | 29,25 | 14,625 | 14,625 | 58,5 |
| | C14 | 14,625 | 29,25 | 14,625 | |
| | C15 | 14,625 | 14,625 | 29,25 | |
| | C16 | 23,4 | 23,4 | 11,7 | |
| | C17 | 23,4 | 11,7 | 23,4 | |
| | C18 | 11,7 | 23,4 | 23,4 | |
| | C19 | 35,1 | 17,55 | 17,55 | 70,2 |
| | C20 | 17,55 | 35,1 | 17,55 | |
| | C21 | 17,55 | 17,55 | 35,1 | |
| | C22 | 28,08 | 28,08 | 14,04 | |
| | C23 | 28,08 | 14,04 | 28,08 | |
| | C24 | 14,04 | 28,08 | 28,08 | |
| | C25 | 58,5 | 29,25 | 29,25 | 117 |
| | C26 | 29,25 | 58,5 | 29,25 | |
| | C27 | 29,25 | 29,25 | 58,5 | |
| | C28 | 46,8 | 46,8 | 23,4 | |
| | C29 | 46,8 | 23,4 | 46,8 | |
| | C30 | 23,4 | 46,8 | 46,8 | |

B. Amostras dopadas de petróleo

| Concentração Total (ppm) | TESTES | ppm | | |
|--------------------------|--------|------------------|------------------|-----------------|
| | | Ca ²⁺ | Ba ²⁺ | Cl ⁻ |
| 4100,1 | C1A1 | 100,0 | 0,1 | 4000,0 |
| | C1A2 | 100,0 | 10,0 | 3990,1 |
| | C1A3 | 150,0 | 0,1 | 3950,0 |
| | C1A4 | 150,0 | 10,0 | 3940,1 |
| | C1A5 | 50,0 | 0,1 | 4050,0 |
| | C1A6 | 50,0 | 10,0 | 4040,1 |
| 14226,6 | C1A7 | 545,0 | 45,6 | 13636,0 |
| | C1A8 | 545,0 | 68,4 | 13613,2 |
| | C1A9 | 817,5 | 45,6 | 13363,5 |
| | C1A10 | 817,5 | 68,4 | 13340,7 |
| | C1A11 | 272,5 | 45,6 | 13908,5 |
| | C1A12 | 272,5 | 68,4 | 13885,7 |
| 24398,0 | C1A13 | 1035,0 | 91,0 | 23272,0 |
| | C1A14 | 1035,0 | 136,5 | 23226,5 |
| | C1A15 | 1552,5 | 91,0 | 22754,5 |
| | C1A16 | 1552,5 | 136,5 | 22709,0 |
| | C1A17 | 517,5 | 91,0 | 23789,5 |
| | C1A18 | 517,5 | 136,5 | 23744,0 |
| 34569,5 | C1A19 | 1525,0 | 136,5 | 32908,0 |
| | C1A20 | 1525,0 | 204,8 | 32839,8 |
| | C1A21 | 2287,5 | 136,5 | 32145,5 |
| | C1A22 | 2287,5 | 204,8 | 32077,3 |
| | C1A23 | 762,5 | 136,5 | 33670,5 |
| | C1A24 | 762,5 | 204,8 | 33602,3 |
| 44740,9 | C2A1 | 2015,0 | 181,9 | 42544,0 |
| | C2A2 | 2015,0 | 272,9 | 42453,1 |
| | C2A3 | 3022,5 | 181,9 | 41536,5 |
| | C2A4 | 3022,5 | 272,9 | 41445,6 |

| | | | | |
|---------|-------|--------|-------|---------|
| | C2A5 | 1007,5 | 181,9 | 43551,5 |
| | C2A6 | 1007,5 | 272,9 | 43460,6 |
| 54912,4 | C2A7 | 2505,0 | 227,4 | 52180,0 |
| | C2A8 | 2505,0 | 341,1 | 52066,3 |
| | C2A9 | 3757,5 | 227,4 | 50927,5 |
| | C2A10 | 3757,5 | 341,1 | 50813,8 |
| | C2A11 | 1252,5 | 227,4 | 53432,5 |
| | C2A12 | 1252,5 | 341,1 | 53318,8 |
| 65083,8 | C2A13 | 2995,0 | 272,8 | 61816,0 |
| | C2A14 | 2995,0 | 409,2 | 61679,6 |
| | C2A15 | 4492,5 | 272,8 | 60318,5 |
| | C2A16 | 4492,5 | 409,2 | 60182,1 |
| | C2A17 | 1497,5 | 272,8 | 63313,5 |
| | C2A18 | 1497,5 | 409,2 | 63177,1 |
| 75255,3 | C2A19 | 3485,0 | 318,3 | 71452,0 |
| | C2A20 | 3485,0 | 477,5 | 71292,9 |
| | C2A21 | 5227,5 | 318,3 | 69709,5 |
| | C2A22 | 5227,5 | 477,5 | 69550,4 |
| | C2A23 | 1742,5 | 318,3 | 73194,5 |
| | C2A24 | 1742,5 | 477,5 | 73035,4 |
| 85426,7 | C3A1 | 3976,0 | 363,7 | 81088,0 |
| | C3A2 | 3976,0 | 545,6 | 80905,2 |
| | C3A3 | 5964,0 | 363,7 | 79099,0 |
| | C3A4 | 5964,0 | 545,6 | 78917,2 |
| | C3A5 | 1988,0 | 363,7 | 83075,0 |
| | C3A6 | 1988,0 | 545,6 | 82893,2 |
| 95598,2 | C3A7 | 4465,0 | 409,2 | 90724,0 |
| | C3A8 | 4465,0 | 613,8 | 90519,4 |
| | C3A9 | 6697,5 | 409,2 | 88491,5 |
| | C3A10 | 6697,5 | 613,8 | 88286,9 |

| | | | | |
|-----------------|--------------|---------------|--------------|-----------------|
| | C3A11 | 2232,5 | 409,2 | 92956,5 |
| | C3A12 | 2232,5 | 613,8 | 92751,9 |
| 105769,6 | C3A13 | 4955,0 | 454,6 | 100360,0 |
| | C3A14 | 4955,0 | 681,9 | 100132,7 |
| | C3A15 | 7432,5 | 454,6 | 97882,5 |
| | C3A16 | 7432,5 | 681,9 | 97655,2 |
| | C3A17 | 2477,5 | 454,6 | 102837,5 |
| | C3A18 | 2477,5 | 681,9 | 102610,2 |
| 115500,0 | C3A19 | 5000,0 | 500,0 | 110000,0 |
| | C3A20 | 5000,0 | 750,0 | 109750,0 |
| | C3A21 | 7500,0 | 500,0 | 107500,0 |
| | C3A22 | 7500,0 | 750,0 | 107250,0 |
| | C3A23 | 2500,0 | 500,0 | 112500,0 |
| | C3A24 | 2500,0 | 750,0 | 112250,0 |