



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
INSTITUTO DE QUÍMICA



LABORATÓRIO DE FILMES POLIMÉRICOS E NANOTECNOLOGIA

JOÃO AFONSO DA SILVA NETO

**DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO IMPRESSO UTILIZANDO TINTA
CONDUTIVA E DEPOSIÇÃO POR SPUTTERING**

Uberlândia

2019

JOÃO AFONSO DA SILVA NETO

**DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO IMPRESSO UTILIZANDO TINTA
CONDUTIVA E DEPOSIÇÃO POR SPUTTERING**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia como exigência para obtenção do Título de Mestre em Química.

Áreas de Concentrações: Ciência dos Materiais; Química do Estado Sólido; Eletroquímica Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. João Marcos Madurro

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Graci Brito Madurro

Uberlândia

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S586d
2019 Silva Neto, João Afonso da, 1993-
Desenvolvimento de eletrodo impresso utilizando tinta condutiva e deposição por sputtering [recurso eletrônico] / João Afonso da Silva Neto. - 2019.

Orientador: João Marcos Madurro.
Coorientadora: Ana Graci Brito Madurro.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2020.3007>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Química. 2. Ciência dos materiais. 3. Eletrodos. 4. Eletroquímica.
5. Química do estado sólido. I. Madurro, João Marcos, 1961-, (Orient.).
II. Madurro, Ana Graci Brito, 1967-, (Coorient.). III. Universidade
Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. IV.
Título.

CDU: 54



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 296/PPQUI.

DATA: 26/02/2019

DISCENTE: João Afonso da Silva Neto

MATRÍCULA: 11712QMI004

TÍTULO DO TRABALHO: Construção e avaliação eletroquímica de eletrodos impressos de baixo custo.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Eletroquímica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Polímeros e nanocompósitos aplicados no desenvolvimento de biossensores para detecção de dengue

Às quatorze horas do dia vinte e seis de fevereiro de dois mil e dezenove, no(a) Auditório Prof. Dr. Manuel Gonzalo Hernández-Terrones, piso superior do Bloco 5I no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelo Prof. Dr. Edmar Isaías de Melo, Universidade Federal de Uberlândia, Prof^a Dra. Livia Flório Sgobbi, Universidade Federal de Goiás e Prof. Dr. João Marcos Madurro, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas no Regulamento do Programa PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e A provou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

"DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO IMPRESSO UTILIZANDO JUNTA CONDUTIVA E DEPOSIÇÃO POR SPUTTERING"

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 17 horas e 10 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Edmar Isaías de Melo

Prof^a Dra. Livia Flório Sgobbi

Prof. Dr. João Marcos Madurro

AGRADECIMENTOS

- Ao meu pai Esteli Gonçalves, em especial a minha mãe Vera Lucia Candida da Silva, por ter acreditar sempre nos meus sonhos, desde a época de CPMG-RV, viagens esportivas, pre-vestibular, vestibular, graduação, mestrado. Não posso deixar de citar também aquela que sempre me motivou e torceu por mim e que com certeza esta feliz por ver aonde eu já fui capaz e chegar, a minha irmã Giovanna da Silva Gonçalves *In memoriam*.
- Agradeço ao amigo de longa data que tenho desde a época de Jardim II, Hevêncio. Aos irmãos da Rep. Dos MLK, Toin, Eucrids, Gabros., Ney, e todos os agregados que nunca param aluguel: Gurila, Byew, Grilo, Migué, Cidgay, Poty, Titi, muitos destes que considero muito mais do que amigo, se mostraram verdadeiros irmãos
- Agradeço a Jéssica, ela sabe o porquê.
- Agradeço a todos os colegas de laboratório pelo convívio de sempre.
- Agradeço aos irmãos/amigos de longa data que a Química me deu.
- À Universidade Federal de Uberlândia, ao Instituto de Química e aos órgãos de fomento: CAPES, pelo apoio financeiro e pela disponibilidade de bolsas.

*“O trauma que eu carrego
Pra não ser mais um preto fudido”*

Racionais MC's

RESUMO

Este trabalho trata do desenvolvimento de uma metodologia para construção de eletrodos impressos, utilizando adesivos vinílicos como moldes para a construção de eletrodos. Utilizando esta metodologia inovadora foram construídos eletrodos impressos (EI), e eletrodos construídos por sputtering (SPT). Para os EI, foi utilizada tinta condutiva de carbono na preparação dos eletrodos de trabalho e contra-eletrodo, bem como tinta condutiva de prata na preparação do eletrodo de referência, resultando no eletrodo EI-Ag (eletrodo impresso cujo eletrodo de referência é de prata). Foi construído um segundo EI partindo do EI-Ag, o EI-Ag/AgCl (eletrodo impresso cujo eletrodo de referência é de prata/cloreto de prata). Utilizando o mesmo design de adesivo da construção dos eletrodos acima, foram construídos eletrodos chamados nesse trabalho de SPT-Au-Ag, os quais possuem as trilhas do eletrodo de trabalho e contra-eletrodo de ouro, produzidas por sputtering. A morfologia dos eletrodos foi analisada por estereomicroscopia, microscopia eletrônica de varredura e microscopia de força atômica. Os três tipos de eletrodos desenvolvidos neste trabalho foram comparados frente um eletrodo comercial da Dropsens DS110. Os perfis eletroquímicos foram avaliados e comparados por voltametria cíclica, utilizando os diagnósticos de reversibilidade, sendo utilizada a sonda catiônica ferrocianeto e ferricianeto de potássio. Sendo ainda avaliada a repetibilidade para os valores de corrente para a mesma sonda, bem como os valores de densidade de corrente. Utilizando o eletrodo SPT-Au-Ag, foram realizados testes iniciais visando a construção de um biossensor utilizando MicroRNA-184, sendo este de grande relevância para o diagnóstico e/ou monitoramento de patologias carcinogênicas.

Palavra-chave: eletrodo impresso, eletrodo de ouro, eletrodo de referência, biossensor, miRNA184.

ABSTRACT

This work deals with the development of a methodology for the construction of printed electrodes, using vinyl adhesives as mold for the construction of electrodes. Using this innovative methodology was constructed printed electrodes (EI), and electrodes constructed by sputtering (SPT). For the EI, carbon conductive paint was used in the preparation of the working electrodes and counter electrode, a silver conductive ink was used in the preparation of the reference electrode, resulting in the electrode EI-Ag (printed electrode whose reference is silver) . A second EI was constructed starting from the EI-Ag, the EI-Ag / AgCl (printed electrode whose reference electrode is silver / silver chloride). Using the same adhesive design used for the construction of the above electrodes, the so-called SPT-Au-Ag electrodes were constructed, this one has the work electrode and counter electrode made in gold, which were constructed by sputtering. The morphology of the electrodes was analyzed by stereomicroscopy, scanning electron microscopy and atomic force microscopy. The three electrodes developed in this work were compared to a commercial electrode of Dropsens DS110. The electrochemical profiles were evaluated and compared by cyclic voltammetry, using the reversibility diagnostics, using the cationic probe ferrocyanide and ferricyanide. It is still evaluating the repeatability for the current values for the same probe as well as the current density values. Using the SPT-Au-Ag electrode, initial tests were performed aiming the construction of a MicroRNA-184 biosensor, and this is of great relevance for the diagnosis and / or monitoring of carcinogenic pathologies.

Keyword: printed electrode, gold electrode, reference electrode, biosensor, miRNA184.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama representativo da construção do primeiro glicosímetro impresso.....	1
Figura 2: ExacTech, primeiro biossensor comercial impresso	2
Figura 3: Sequência de construção de eletrodos impresso pela técnica de screen printing.	3
Figura 4: Imagens de diversos eletrodos impressos comerciais, Dropsens (A), BVT (B), Itaulsens(C).....	4
Figura 5: Diferentes arranjos e designs para eletrodos impressos	6
Figura 6: Representação real de um eletrodo padrão de hidrogênio (EPH).....	7
Figura 7: Esquema representativo de um eletrodo de prata/cloreto de prata (à esquerda) e eletrodo de prata/cloreto de prata construído no Lafip-UFU	8
Figura 8: Eletrodo de pseudo-referência e de referência para eletrodos impressos	10
Figura 9: Esquema de um biossensor, mostrando a organização dos seus componentes	11
Figura 10: Diferentes classificações para os tipos de biossensores	12
Figura 11: Rampa de programação de potencial no sentido anódico (A), voltamograma típico para processos redox reversíveis (B).....	14
Figura 12: Voltamograma cíclico típico com guias para obtenção dos parâmetros.....	15
Figura 13: Representação gráfica da programação da voltametria de pulso diferencial (A), Voltamograma de pulso diferencial, com a corrente elétrica em função do potencial (B).	16
Figura 14: Aplicação do pulso E_1 para o carregamento da dupla camada elétrica e pulso E_2 coma reação de interesse (A), decaimento da corrente em função do tempo (B), representação do $t^{1/2}$ segundo a equação de Cottrell.....	17
Figura 15: <i>Design</i> do eletrodo.....	22
Figura 16: Fluxograma de construção do EI-Ag.....	23
Figura 17: Esquema montado para a construção do EI-Ag/AgCl.....	24
Figura 18: Fluxograma de construção dos SPT-Au-Ag.....	25
Figura 19: Eletrodo SPT-Au-Ag dentro da metalizadora antes e depois de aplicar sputtering	26
Figura 20: Imagens do microscópio eletrônico de varredura utilizado (à esquerda), metalizadora (à direita).....	27
Figura 21: Hitachi modelo 5100N utilizado nas análises de AFM	27
Figura 22: Potenciostato Autolab PGSTAT302N (A), conector Dropsens (B).....	28
Figura 23: Imagens do desenho das trilhas para preparação dos eletrodos impressos.	30

Figura 24: Eletrodos impressos EI com e sem adesivo isolante e eletrodos construídos por <i>sputtering</i> sem adesivo isolante.....	31
Figura 25: Cronoamperogramas para eletrodeposição de AgCl sobre a tinta de prata, em diferentes EI-Ag/AgCl.....	32
Figura 26: Imagens de estereomicroscopia para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag, ambos com mesma ampliação (4X). O eletrodo em formato de disco ao centro é o eletrodo de trabalho, a direita dela temos o eletrodo de referência e acima temos o contra-eletrodo.....	33
Figura 27: Microscopia eletrônica de varredura da área do eletrodo de trabalho, preparados neste trabalho (EI) e o eletrodo comercial (DS110) (coluna da esquerda). Na primeira linha temos 500X de ampliação, na segunda 1.000X e na terceira 10.000X.	34
Figura 28: Imagens por microscopia eletrônica de varredura da área dos eletrodos de referência para EI-Ag _(s) , EI-Ag/AgCl _(s) e do eletrodo comercial (DS110), colunas em sequência da esquerda para a direita. Na primeira linha temos ampliações de 1000X, na segunda 10000X, e na terceira 20000X.....	36
Figura 29: Imagens por microscopia de força atômica do eletrodo de trabalho DS110 (a), eletrodo de referência DS110 (b), eletrodo de trabalho EI (c), eletrodo de referência EI-Ag _(s) (d), eletrodo de referência EI-Ag/AgCl (e).	37
Figura 30: Janela potencial de eletrodos de platina, mercúrio e carbono em vários eletrólitos de suporte.....	39
Figura 31: Último ciclo de potencial do eletrodo EI-Ag em HClO ₄ 5,0 mmol.L ⁻¹ , de -0,6 V até +1,2V	40
Figura 32: Sequência adotada de pré-tratamento eletroquímico para um EI-Ag em HClO ₄ 0,5 mmol.L ⁻¹	41
Figura 33: Último ciclo de potencial em HClO ₄ 5mMol.L ⁻¹ a 50mV.s ⁻¹ , para EI-Ag voltamograma (A), e EI-Ag/AgCl)voltamograma (B)	42
Figura 34: Voltamogramas cíclicos em solução de KCl (0,1 mol.L ⁻¹) contendo K ₃ [Fe(CN) ₆] e K ₄ [Fe(CN) ₆] (5 mmol.L ⁻¹), em diferentes velocidades de varredura, para eletrodo EI/Ag.....	43
Figura 35: Variação do ΔE _p em função de incrementos de velocidade de varredura em solução de KCl (0,1 mol.L ⁻¹) contendo K ₃ [Fe(CN) ₆] e K ₄ [Fe(CN) ₆] (5 mmol.L ⁻¹), para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag.....	44
Figura 36: I _p vs. v ^{1/2} para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl (0,1 mol.L ⁻¹) contendo K ₃ [Fe(CN) ₆] e K ₄ [Fe(CN) ₆] (5 mmol.L ⁻¹).	48

Figura 37: Último ciclo de potencial a $300 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) contendo $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ($5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$).	50
Figura 38: Voltamograma de pulso diferencial para sonda (DEP1S)+brometo de etídio e sonda-alvo (DEP1S-MicroRNA-184)+brometo de etídio utilizando o eletrodo SPT-Au-Ag .	51
Figura 39: Histograma representativo dos valores de corrente de sonda e alvo com desvio padrão para detecção de MicroRNA-184.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Algumas composições de eletrodos impressos comerciais	3
Tabela 2: Valores de potencial dos eletrodos de referências vs. EPH.....	6
Tabela 3: Sistemas de transdução e técnicas de detecção utilizadas	12
Tabela 4: Reagentes e grau de pureza	18
Tabela 5: Valores de área dos eletrodos tipo EI e SPT	36
Tabela 6: Valores de rugosidade média (Ra) e rugosidade média quadrática (Rq) para os diferentes eletrodos analisados	37
Tabela 7: Valores de ΔE_p e desvio padrão para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em diferentes velocidades de varredura em solução de KCl (0,1 mol.L ⁻¹) contendo K ₃ [Fe(CN) ₆] e K ₄ [Fe(CN) ₆] (5 mmol.L ⁻¹).....	44
Tabela 8: Valores de E_{pc} para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl (0,1 mol.L ⁻¹) contendo K ₃ [Fe(CN) ₆] e K ₄ [Fe(CN) ₆] (5 mmol.L ⁻¹).....	45
Tabela 9: Valores de $ I_{pa}/I_{pc} $ para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag.....	46
Tabela 10: Valores de correlação ao quadrado de I_p vs $V^{1/2}$ para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl (0,1 mol.L ⁻¹) contendo K ₃ [Fe(CN) ₆] e K ₄ [Fe(CN) ₆] (5 mmol.L ⁻¹).....	47
Tabela 11: Valores de densidade de corrente anódica I_{pa} para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl (0,1 mol.L ⁻¹) contendo K ₃ [Fe(CN) ₆] e K ₄ [Fe(CN) ₆] (5 mmol.L ⁻¹).....	48
Tabela 12: Valores de densidade de corrente catódica I_{pc} para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl (0,1 mol.L ⁻¹) contendo K ₃ [Fe(CN) ₆] e K ₄ [Fe(CN) ₆] (5 mmol.L ⁻¹).....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

SPEs – *screen printed electrodes*

SPT - *sputtering*

UV – ultravioleta

PVC - Policloreto de vinila

EPH – Eletrodo Padrão de Hidrogênio

IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*

SPR – Ressonância Plasmônica de Superfície

AFM – *Atomic Force Microscopy*

Ipa – Intensidade de pico anódico

Ipc - Intensidade de pico catódico

P.A-ACS - Para Análise - *American Chemical Society*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Eletrodo Impresso.....	1
1.2 Eletrodos em Eletroquímica	4
1.3 Biossensores	9
2 OBJETIVOS GERAIS	17
2.1 Objetivos Específicos	17
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	18
3.1 Materiais utilizados	18
3.2 Metodologia de construção dos eletrodos impressos	19
3.3 Análises morfológicas dos eletrodos impressos	25
3.4 Testes Eletroquímicos	27
3.6 Aplicação de eletrodos impressos em biossensores	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 Construção dos Eletrodos	29
4.2 Preparação do eletrodo de referência Ag/AgCl no eletrodo impresso	30
4.3 Análise Morfológica dos eletrodos.....	31
4.4 Avaliação do perfil eletroquímico	37
4.5 Aplicação de eletrodos impressos em biossensores	48
5 CONCLUSÕES	52
6 PERSPECTIVAS FUTURAS	53
7 REFERÊNCIA	54
8 ANEXOS	61

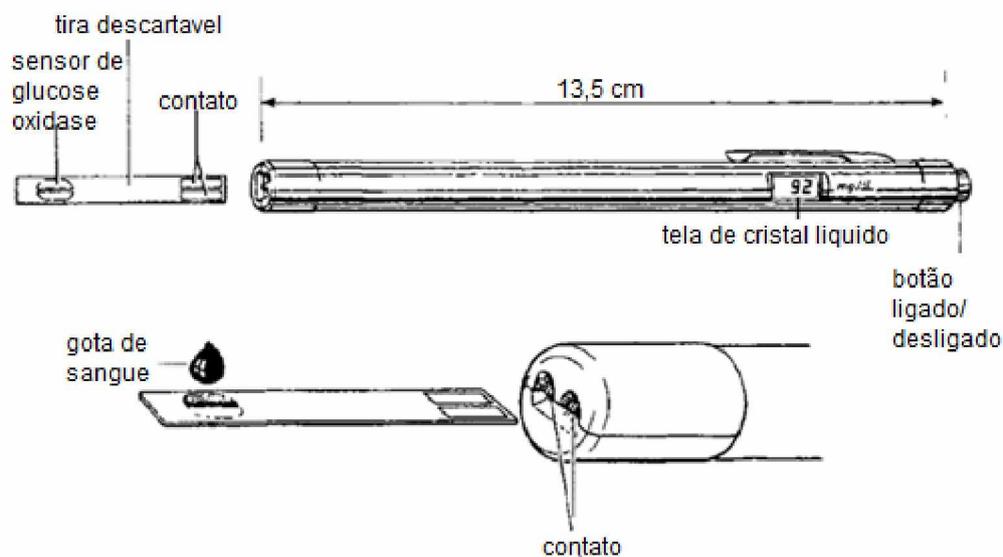
INTRODUÇÃO

1.1 ELETRODOS IMPRESSOS

1.1.1 Contexto histórico

A utilização da técnica de *screen-printing*, em tradução literal impressão em tela, ou também conhecida como *silk screen*, é uma tecnologia relativamente moderna para construção de eletrodos. O primeiro relato encontrado da utilização dessa técnica para construção de sensores, foi feito na patente de Higgins em 1987^[1]. Hoje, o documento pertence a empresa Genetics International. Baseado nesta patente, foi desenvolvido um sensor comercial na forma de uma caneta, relatada na publicação intitulada “Pen-sized digital 30 second blood glucose meter”, em tradução livre, “Glicosímetro sanguíneo de 30 segundos do tamanho de uma caneta”. Abaixo temos a imagem do esboço deste dispositivo. ^{[2][3][4]}

Figura 1: Diagrama representativo da construção do primeiro glicosímetro impresso



Fonte: modificado^[2]

Posteriormente este dispositivo foi aprimorado e lançado comercialmente como ExacTech, sendo esse o primeiro biossensor comercial impresso para a detecção de glicose no sangue. Trata-se de uma fita glicosimétrica depositada sobre um substrato de acetato de celulose ou poliuretano. O dispositivo possui duas trilhas de material condutor, sendo uma delas de carbono, que atua como eletrodo de trabalho, na qual tem incorporada uma camada de um mediador de elétrons com a enzima glicose desidrogenase-GDH. A outra trilha é

composta por uma mistura de Ag/AgCl, a qual funciona simultaneamente como contra-eletrodo e eletrodo de referência. Na Figura 2 temos sua representação. [4]

Figura 2: ExacTech, primeiro biossensor comercial impresso

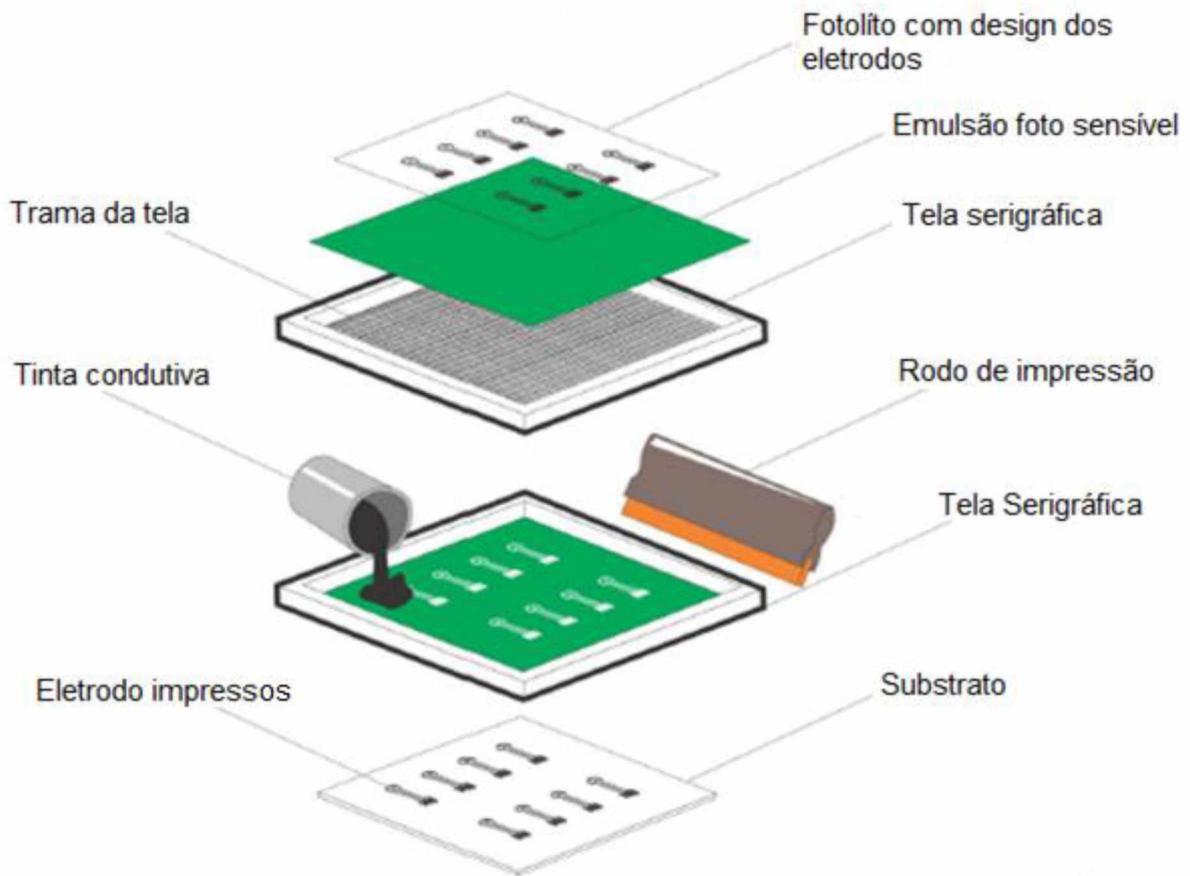


Fonte: [5]

1.1.2 Construção de eletrodos impressos

Para a construção de eletrodos impressos (*screen printed electrodes*, EIs), primeiramente se faz necessário o preparo da tela de impressão. Ela pode ser preparada baseando-se na revelação fotográfica, utilizando luz UV, como revelador. O princípio consiste em aplicar uma emulsão fotossensível sobre toda a trama da tela e utilizar um fotolito para delimitação das áreas em que não serão cobertas pelo revelador, áreas essas que são as de interesse, e então utilizar luz UV pra promover a revelação. Com a tela de impressão pronta e já revelada, aplica-se sobre a tela a tinta condutiva de interesse sobre o substrato a ser impresso, utilizando um rodo de impressão. Deste modo, a tinta irá permear apenas sobre os locais da trama que não foram revelados. Após um tratamento térmico, tem-se como resultado os eletrodos impressos. Na maioria dos casos se faz necessária a utilização de várias telas, pois os eletrodos impressos são compostos de várias partes que requerem composições de tintas diferentes. São elas eletrodo de trabalho, contra-eletrodo, eletrodo de referência e isolamento para os contatos elétricos. O processo é representado na Figura 3.

Figura 3: Sequência de construção de eletrodos impresso pela técnica de screen printing.

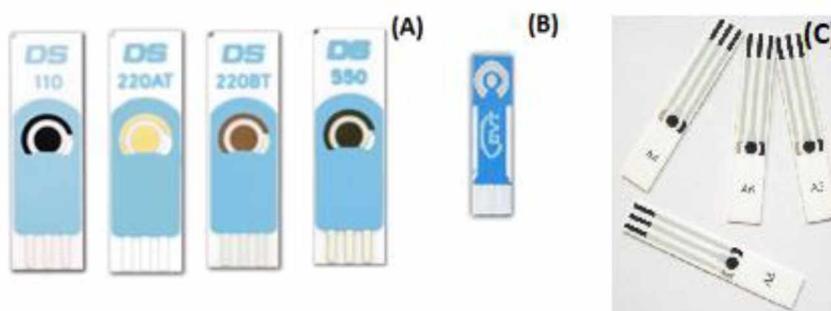


Fonte: [4]

A tecnologia de construção dos eletrodos impressos já é bem estabelecida para fabricação de sensores eletroquímicos, tendo alta seletividade e sensibilidade, sendo utilizada com sucesso em diferentes substratos, sejam eles flexíveis ou não. [7][8] O desenvolvimento de eletrodos impressos tem entre seus objetivos, a portabilidade, visando realização de análises *in-situ*, ou seja, no local de demanda e descentralização das análises, drástica redução do volume de amostra necessário para análise e, conseqüentemente, redução do custo das análises. [9][10][11]

Existem diversas empresas que fabricam esses dispositivos. Porém, todas elas são estrangeiras e o processo de compra depende de importação, empresas como: BST, BVT, ItalSens, Micrux Technologies, Rusens e Dropsens. Na Figura 4, temos a representação de alguns eletrodos impressos comerciais.

Figura 4: Imagens de diversos eletrodos impressos comerciais, Dropsens (A), BVT (B), Itaulsens(C)



Fonte: Adaptado [12] [13] [14]

Com relação a versatilidade desses dispositivos, como pode ser observado na Tabela 1, existem diversas possibilidades de combinações para os eletrodos impressos.

Tabela 1: Algumas composições de eletrodos impressos comerciais

Composição eletrodo de trabalho	Composição contra eletrodo	Composição eletrodo de referência
Carbono	Platina	Prata
Ouro	Carbono	Prata/Cloreto de prata
Platina	Ouro	Prata coberta com cloreto de prata
Prata	Prata	Platina
Liga de ouro e platina	Prata/Cloreto de prata	Ouro
	Liga de ouro e platina	

Fonte: [15][16]

A versatilidade desses dispositivos não se mantém apenas com relação a composição de seus eletrodos, mas também pela variação da área dos eletrodos, bem como da quantidade de eletrodos de trabalho. É possível comprar um eletrodo impresso sem nenhuma modificação, ou já funcionalizado. Dentre as possibilidades de funcionalização temos: sal de mercúrio; glicose oxidase; azul da prússia; acetilcolinesterase, entre diversas outras possíveis. A funcionalização irá depender da aplicação do eletrodo impresso. [17][18]

1.2 Eletrodos em Eletroquímica

1.2.1 Eletrodo de trabalho

Para fins eletroquímicos, um eletrodo é um condutor elétrico em contato com um condutor iônico. O condutor elétrico pode ser um metal ou um semiconductor. Já o condutor iônico, geralmente é uma solução eletrolítica. Os eletrodos utilizados em experimentos voltamétricos normalmente são de metais sólidos ou líquidos ^{[19][20][21]}, ou de materiais carbonáceos, ^[22] sendo raramente utilizados óxidos metálicos ou polímeros. ^[23] O pré-requisito fundamental para um eletrodo, além do fato de ser condutor, é que ele não deve reagir com o solvente ou o eletrólito. De modo a atender esse requisito, é necessário conhecer a faixa de potencial em que o eletrodo pode ser polarizado, chamado de janela de estabilidade de potencial, a qual é a faixa de potencial em que o eletrodo pode ser polarizado sem que ocorra variação na corrente proveniente de processos faradaicos, ou seja, os valores de corrente obtidos são provenientes apenas do carregamento da dupla camada elétrica.

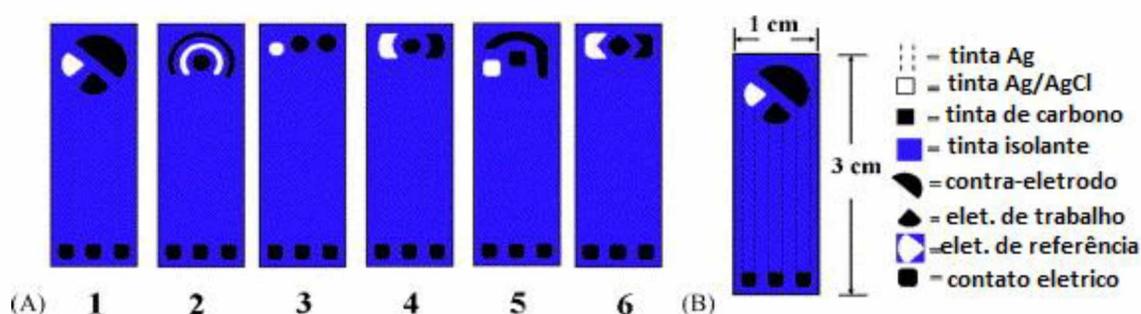
A janela de estabilidade de potencial para um eletrodo é uma propriedade intrínseca e depende da natureza do eletrodo. Como exemplo, a geração de hidrogênio em eletrodos de mercúrio ocorre em potenciais mais negativos, o que o caracteriza como um bom eletrodo para potenciais catódicos, sendo que o mercúrio é facilmente oxidado em potenciais mais positivos. Em contrapartida, eletrodos de ouro e de platina são bastante utilizados em valores de potenciais anódicos. Eletrodos de ouro tendem a formar uma camada de oxido durante a varredura anódica, porém este óxido é totalmente reduzido durante a varredura catódica. ^[24]

Os eletrodos do tipo pasta de carbono consistem basicamente da mistura de dois tipos de componente principais, sendo eles o material carbonáceo em si e o aglutinante. Dentre os materiais carbonáceos mais utilizados temos o grafite em flocos, microesfera de grafite, negro de acetileno, negro de fumo, nanotubo de carbono e grafeno, entre outros. ^{[25][26]} A porção carbonácea da pasta de carbono, tem como função promover a condutividade elétrica ao sistema. Os componentes carbonáceos que possuem organização cristalina, como grafite em flocos e grafeno, promovem um maior favorecimento da passagem de corrente elétrica. Dentre os aglutinantes utilizados, comumente temos Nujol, Uvasol, parafinas e resinas em geral. Os aglutinantes têm como função manter os componentes carbonáceos unidos. ^[26]

1.2.2 Geometria dos eletrodos

Na literatura, a forma mais comum de eletrodo de trabalho é esférica [21], mas é possível obter microeletrodos e eletrodos impressos com diversas geometrias e tamanhos diferentes, simplesmente adaptando a matriz utilizada para sua confecção. A forma mais comum é aquela em que possui três eletrodos, sendo eletrodo de trabalho, contra eletrodo e eletrodo de referência no mesmo substrato. [27] A Figura 5 mostra a representação de alguns *designs* possíveis.

Figura 5: Diferentes arranjos e designs para eletrodos impressos



Fonte: Adaptado [28]

Com relação a geometria, o eletrodo de trabalho deve ser pequeno o suficiente para que ocorra uma uniforme e completa polarização das espécies eletroativas na interface do eletrodo. O eletrodo de referência deve ser colocado o mais próximo possível do eletrodo de trabalho, visando minimizar o efeito de resistência. O contra eletrodo deve ser maior proporcionalmente que todos ou outros, pois este deve permitir a transferência de corrente no circuito. [28]

1.2.3 Eletrodos de referência

Para fins de comparação em medidas eletroanalíticas, é possível aplicar um potencial constante ao eletrodo de trabalho, utilizando um eletrodo de referência como parâmetro para controle deste potencial. O eletrodo padrão de hidrogênio (EPH) é o eletrodo padrão para a comparação dos potenciais, o qual é composto de um fio de platina dentro de um tubo preenchido com gás hidrogênio sob pressão de 1 atm, o qual fica mergulhado em uma solução de ácido sulfúrico $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ à 25°C . [29] [30] [31] A Figura 6 mostra um eletrodo padrão de hidrogênio.

Figura 6: Representação real de um eletrodo padrão de hidrogênio (EPH)



Fonte: [32]

A utilização do eletrodo padrão de hidrogênio (EPH) não é viável para fins práticos, devido a sua dificuldade de construção. Deste modo, outros eletrodos são utilizados em medidas eletroquímicas. O tipo de eletrodo de referência mais amplamente utilizados são os de segunda geração, sendo que o EPH é de primeira geração. Esta classe de eletrodos consiste em um metal atuando como eletrodo em equilíbrio de solubilidade com um sal deste mesmo metal, em uma solução eletrolítica, cuja concentração do ânion do sal do metal é fixa. [21] Existem vários exemplos de eletrodos de referência comumente utilizados. [29][33][34][35] A Tabela 2 apresenta vários eletrodos representações, bem como o seu valor de potencial versus o EPH.

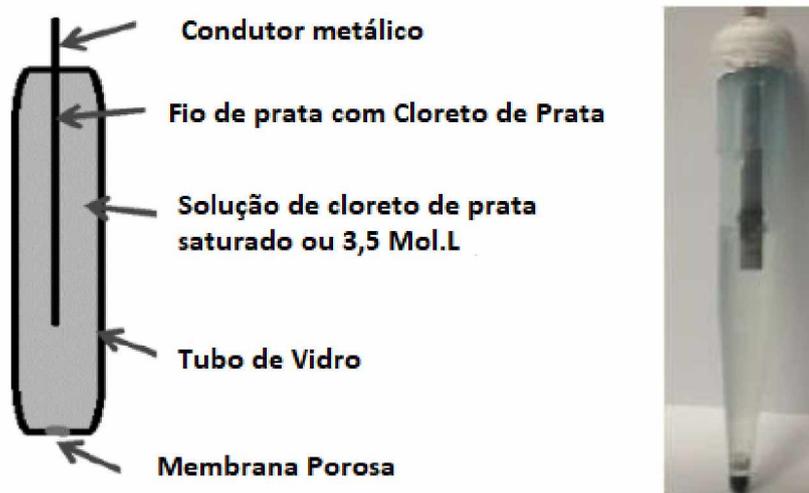
Tabela 2: Valores de potencial dos eletrodos de referências vs. EPH.

Eletrodo	Sal em equilíbrio	Potencial a 25°C vs. EPH (V)
Hg/Hg ₂ Cl ₂	KCl (0,1 mol.L ⁻¹)	0,338
	KCl (1,0 mol.L ⁻¹)	0,280
	KCl (3,5 mol.L ⁻¹)	0,250
	KCl (saturado)	0,244
Hg/HgO	NaOH (0,1 mol.L ⁻¹)	0,165
	NaOH (1,0 mol.L ⁻¹)	0,140
Ag/AgCl	KCl (0,1 mol.L ⁻¹)	0,288
	KCl (3,0 mol.L ⁻¹)	0,210
	KCl (3,5 mol.L ⁻¹)	0,205
	KCl (Saturado)	0,197

Fonte: [29][33][34][35]

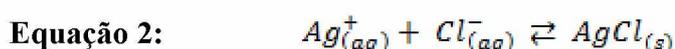
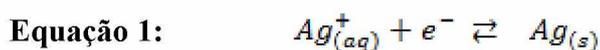
O eletrodo de referência $Ag/AgCl_{(s)}$ é mais frequentemente utilizado em medidas eletroquímicas, devido a sua fácil construção e apresentar potenciais reprodutíveis. O eletrodo é construído utilizando um fio de prata, com cloreto de prata adsorvido eletroliticamente. Este eletrodo fica imerso em uma solução de KCl 3 mol.L^{-1} ou saturado. Para permitir a troca iônica, como este eletrodo fica armazenado em um tubo fechado, é utilizada uma membrana porosa para contato com a solução.^{[21][29][36]} Uma solução de cloreto de potássio (KCl), geralmente é utilizada como eletrólito devido seus íons possuírem alta mobilidade e número de transporte semelhantes. A Figura 7 mostra uma representação de eletrodo de prata/cloreto de prata de prata.

Figura 7: Esquema representativo de um eletrodo de prata/cloreto de prata (à esquerda) e eletrodo de prata/cloreto de prata construído no Lafip-UFU



Fonte: ^[36]

O funcionamento deste eletrodo baseia-se em duas reações reversíveis e simultâneas na superfície do eletrodo em contato com a solução, mostrado nas equações 1 e 2. ^{[36][37]}



A equação de Nernst para estas reações é representada a seguir.

Equação 3:
$$E = E^\theta + \frac{RT}{nF} \ln \frac{\alpha_{AgCl}}{\alpha_{Ag} \alpha_{Cl^-}}$$

Para a equação de Nernst, E^θ é o potencial padrão (V), R é a constante universal dos gases ($8.314 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$), T é temperatura absoluta (K), n é o número de elétrons envolvidos na reação, F é a constante de Faraday ($96.485 \text{ C.mol}^{-1}$) e a é a atividade.

Apesar da solidez e robustez dos eletrodos de referência sólidos, existem casos em que o uso desse tipo de eletrodo não é adequado, como no caso de análises agrícolas, em que a porosidade do vidro ou membrana utilizada pode vir a dificultar as análises pois, além da necessidade de utilização de vários eletrodos para monitorar uma área, o preço de monitoramento por área se torna demasiadamente caro. Deste modo, os eletrodos de referência do tipo impressos surgem como alternativa para preencher essa lacuna, pois seu uso é seguro e de baixo custo relativo, facilitando a produção em larga escala. [36] Não é difícil encontrar na literatura trabalhos utilizando eletrodos de baixo custo, mas o que é mesmo de baixo ou alto custo depende bastante da aplicabilidade que se dá para o eletrodo. Por exemplo, a quantidade de eletrodos necessários para monitorar uma estação industrial de água é relativamente baixa, e o preço de algumas centenas de euros por eletrodo é aceitável, visto o custo benefício. Porém, quando se trata de sensores a serem utilizados em larga escala, por exemplo, para o ambiente agrícola, visto a quantidade de eletrodos necessária por área, o custo é impactante. [36][37]

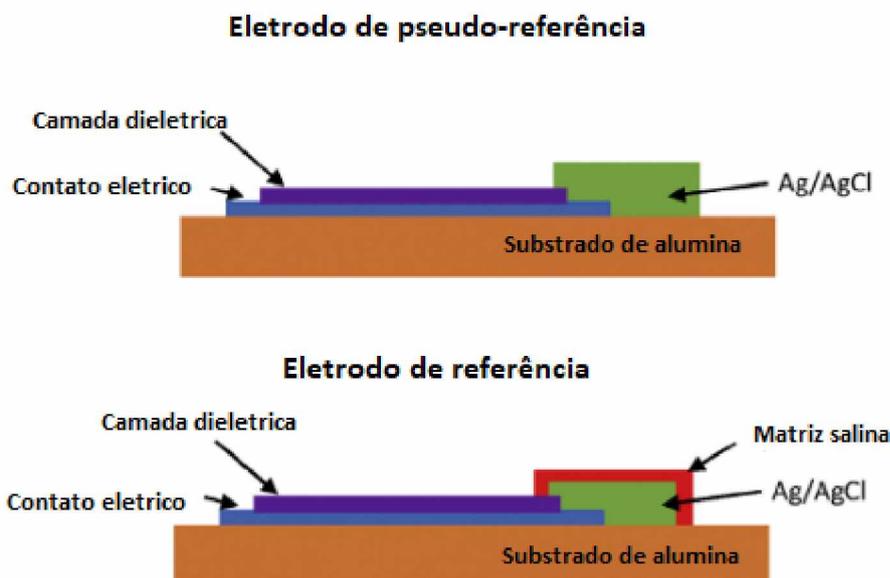
Por definição, um eletrodo de referência impresso consiste em 3 camadas. A primeira, responsável pela transferência de elétrons do eletrodo para o circuito elétrico. A segunda camada, responsável pela interação íon-elétron, descrita nas equações 1 e 2. A camada mais externa é o sal, no caso KCl, responsável por manter constante a concentração de íons cloreto próximo ao eletrodo. [36][37]

1.2.4 Eletrodo de pseudo-referência

Eletrodos de pseudo-referência, ou eletrodos de quase-referência, são usados na literatura para representar o mesmo eletrodo, sendo terminologias sinônimas. A diferença entre um eletrodo de referência e um eletrodo de pseudo-referência é a ausência dos componentes que ajudam a manter o equilíbrio termodinâmico, como por exemplo a ausência de matriz salina, KCl. [36] Este tipo de eletrodo é não polarizável, sendo que o potencial medido é independente do eletrólito da célula. A prata metálica, ou qualquer outro metal, atua como eletrodo de pseudo-referência, substituindo um eletrodo de referência. Porém os processos eletroquímicos que possibilitam seu uso não são bem descritos na literatura. [21][38]

A Figura 8 mostra a representação de um eletrodo de pseudo-referência e de um eletrodo de referência.

Figura 8: Eletrodo de pseudo-referência e de referência para eletrodos impressos

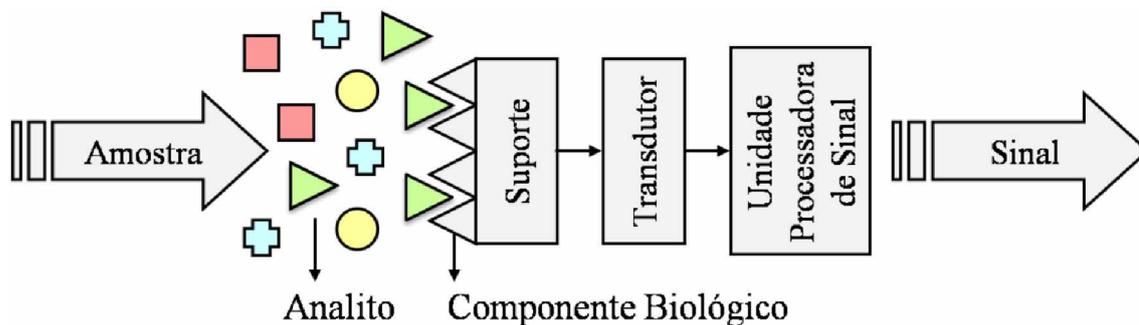


Fonte: [36]

1.3 Biossensores

Segundo o compêndio de terminologias químicas da IUPAC, um biossensor é um dispositivo que utiliza reações bioquímicas específicas, mediadas por enzimas, imunossistemas, tecidos, organelas ou células inteiras e ou isoladas, para detecção de compostos químicos geralmente por sinais elétricos, térmicos ou ópticos [37]. Sensores biológicos, também chamados de biossensores, são pequenos dispositivos analíticos que utilizam reações biológicas para detecção de analitos-alvo, tendo uma camada de reconhecimento biológico imobilizada sobre um transdutor, [39] e neste ocorre a transformação de um sinal físico-químico em um sinal elétrico ou digital mensurável. [40][41] A interação entre esta camada de reconhecimento biológico, que é o receptor, e o analito, ocorre de forma adsortiva, ou absorptiva. [42] É por consequência da interação entre eles que temos o biorechecimento do analito pelo receptor, a geração do sinal e a transdução em um sinal mensurável, conforme mostrado na Figura 9, sendo que o objetivo de um biossensor é produzir um sinal elétrico que seja correlativo à concentração do analito. [43]

Figura 9: Esquema de um biossensor, mostrando a organização dos seus componentes



Fonte: Adaptado [43]

Quando comparado as técnicas analíticas convencionais como gravimetria, titulometria, espectroscopias de massa e Raman, interferometria, fotometria e refratometria [44], os biossensores destacam, uma vez que o dispositivo não necessita de instalações ou mão de obra especializada. [45]

Os biossensores se mostram como alternativa muito promissora em diversas áreas, por exemplo: na detecção de doenças infecciosas em aeronaves, antes mesmo do desembarque de passageiros [46]; na detecção de células vegetativas e esporos de estirpes de *Bacillus* [47]; na construção de sensores baseados em células para a detecção e avaliação da citotoxicidade de patógenos [48], na detecção de esporos do *Bacillus glogibii* [49]; na detecção *in situ* e em tempo real de *Bacillus anthracis* [50]; na detecção e tratamento do câncer [51][52]; no monitoramento da glicose no sangue por um método não invasivo, sem realizar furos na pele para retirada sangue [53], na detecção de baixos níveis de albumina na urina [54], dentre outras.

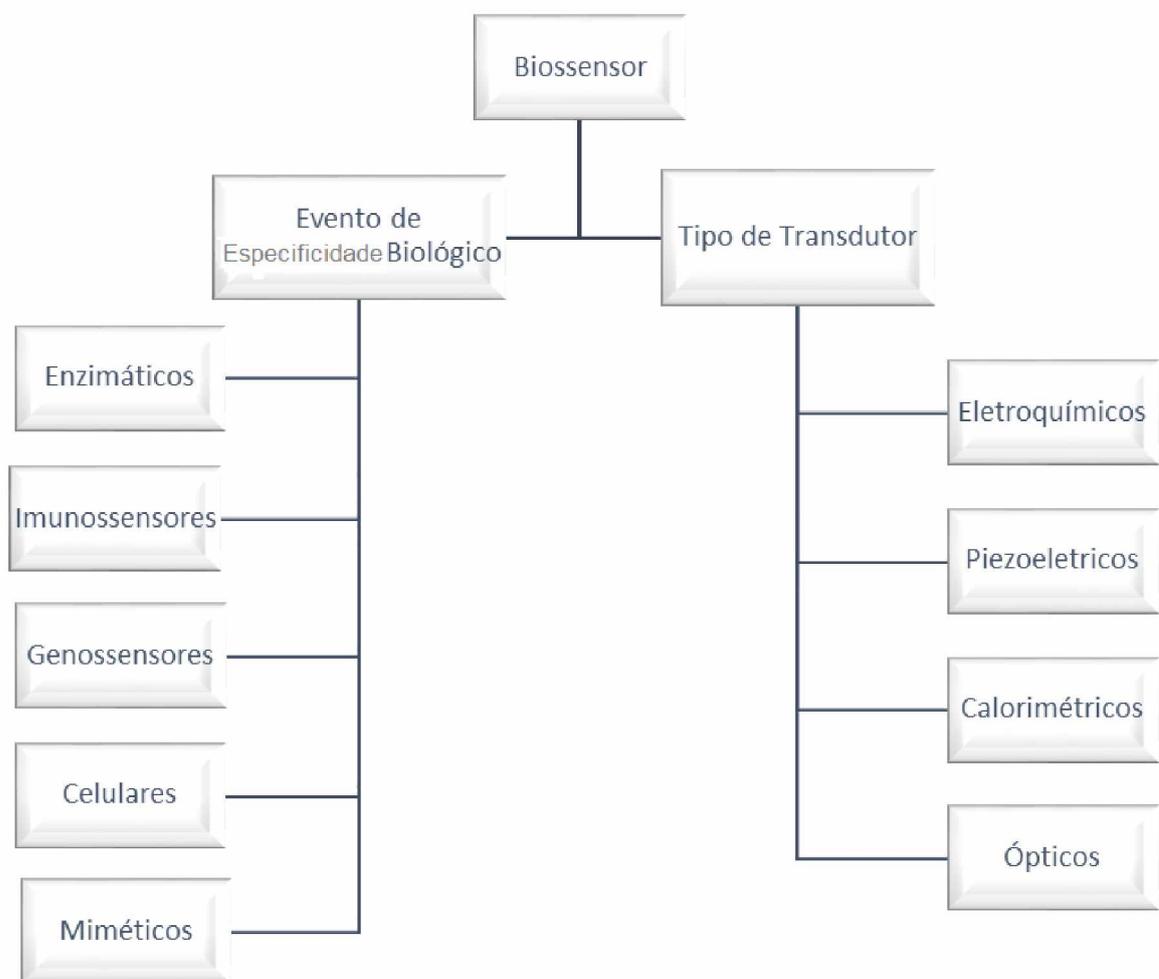
Durante avaliação de um biossensor, devem ser observados os seguintes parâmetros:

- Repetibilidade: avaliação da consistência dos resultados, quando realizados de forma independente;
- Sensibilidade: faixa capaz de identificar corretamente um analito frente variações de incrementos;
- Especificidade: avaliação de possíveis interferentes e falsos positivos;
- *Shelf life*: avaliação da estabilidade em função do tempo, para determinação do tempo de prateleira possível para um biossensor;
- Tempo de análise;
- Custo: sistemas de baixo custo tem uma maior visibilidade para o mercado;
- Portabilidade: para descentralização das análises de laboratórios, via dispositivos *point of care* com interface facilitada para análises in-situ.

1.3.1 Classificação dos biossensores

Podemos classificar os biossensores de acordo com dois parâmetros, sendo eles de acordo com o mecanismo que confere especificidade biológica, ou pelos métodos de transdução de sinal, sendo este último o mais utilizado, como mostrado na Figura 10.

Figura 10: Diferentes classificações para os tipos de biossensores



Fonte: Adaptado [55]

Sabemos que o transdutor é o componente do biossensor em que ocorre o recebimento dos sinais físico-químicos e conversão em um sinal que pode ser mensurado como, por exemplo, massa, carga elétrica, calor ou luz. [56][57][58] A Tabela 3 apresenta a relação entre os sistemas de transdução e as técnicas utilizadas.

Tabela 3: Sistemas de transdução e técnicas de detecção utilizadas

Sistemas de transdução	Técnicas
Eletroquímico	Voltametria
	Amperometria
	Potenciometria
	Impedância
Elétrico	Condutividade
Óptico	Luminescência
	Interferometria
	Elipsometria
	Fluorescência
	Índice de refração
	Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR)
Térmico	Calorimetria
	Termístores
Piezoelétrico	Microbalança de cristal de quartzo
	Ondas acústicas de superfície
Mecânico	Microscopia de Força Atômica (AFM)

Fonte: Adaptado^[39]

Os biossensores eletroquímicos, são caracterizados por utilizar biorreceptores imobilizado na superfície do eletrodo, tendo como vantagem seu baixo custo, alta sensibilidade e estabilidade.^[43] A avaliação deste tipo de biossensor é dada pela diferença de resposta eletroquímica obtida entre o eletrodo e o biorreceptor, que é a sonda, e uma resposta eletroquímica diferente quando temos o eletrodo ligado a sonda com o analito de interesse, que é o alvo. Essa diferenciação de sinal é proporcional a concentração do analito de interesse e o sinal eletroquímico observado, oriundo dos processos faradaicos que ocorrem devido a transferência de elétrons na interface eletrodo-solução.^[59]

Estes dispositivos eletroquímicos são dependentes das propriedades elétricas, tais como: potencial, corrente, impedância e resistência elétrica. A partir dessas propriedades, são utilizadas diferentes técnicas, tais como: voltametria, potenciometria, amperometria e condutometria. [60][61]

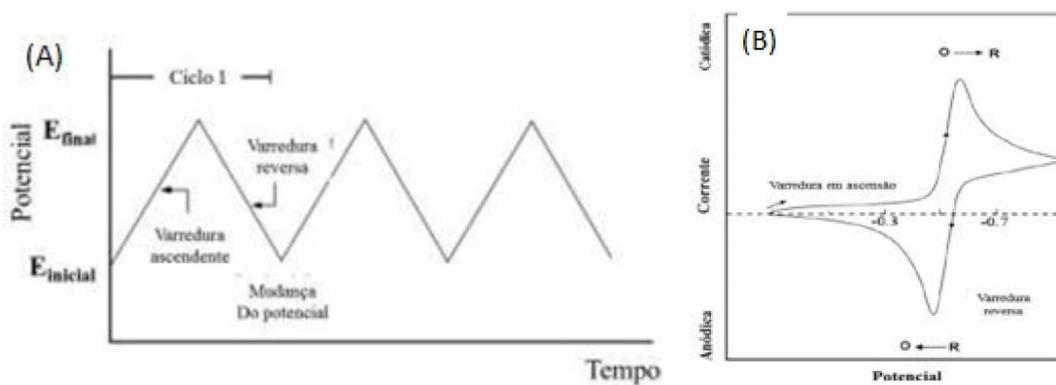
1.4 Técnicas Eletroquímicas

1.4.1 Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica é uma das técnicas mais amplamente utilizadas para obtenção de dados acerca de reações eletroquímicas. A capacidade dessa técnica está em fornecer rapidamente informações relevantes sobre a cinética da reação de transferência de elétrons e sobre a termodinâmica dos processos redox, além de fornecer uma rápida localização dos valores de potenciais redox. [62] Por esses motivos, a voltametria cíclica é sempre o experimento de entrada para um estudo eletroquímico. [24] [63]

A voltametria cíclica consiste na aplicação de uma variação linear do potencial, até atingir um potencial máximo, onde se inicia a varredura inversa, variando linearmente o potencial no sentido oposto, até alcançar um potencial mínimo programado, finalizando assim um ciclo. [59] A variação desses incrementos de potencial é a mesma para ambas as polarizações, e o número de excitação repetido várias vezes. Essa programação pode ser tanto no sentido positivo, iniciando com uma polarização anódica, quanto no sentido negativo, iniciando com uma polarização catódica. Como resposta, um voltamograma é obtido, relacionando o potencial (E) em função da corrente (i), como mostrado na Figura 11.

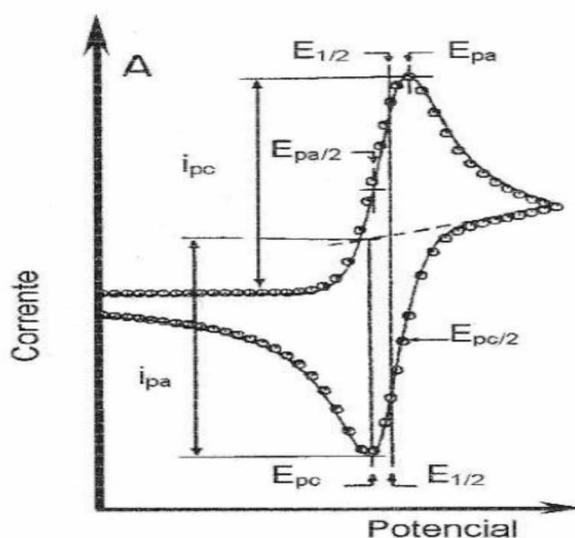
Figura 11: Rampa de programação de potencial no sentido anódico (A), voltamograma típico para processos redox reversíveis (B).



Fonte: Adaptado [62]

A metodologia para obtenção dos principais parâmetros em um voltamograma cíclico é mostrada na Figura 12. São eles: valores de potenciais anódicos e catódicos (E_{pa} e E_{pc}), valores de corrente de pico anódico e catódico (i_{pa} e i_{pc}) e potencial de meia onda ($E_{p/2}$). Com relação a velocidade de varredura, a maioria dos trabalhos utiliza velocidades entre 20 e 200 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$.^[29]

Figura 12: Voltamograma cíclico típico com guias para obtenção dos parâmetros.

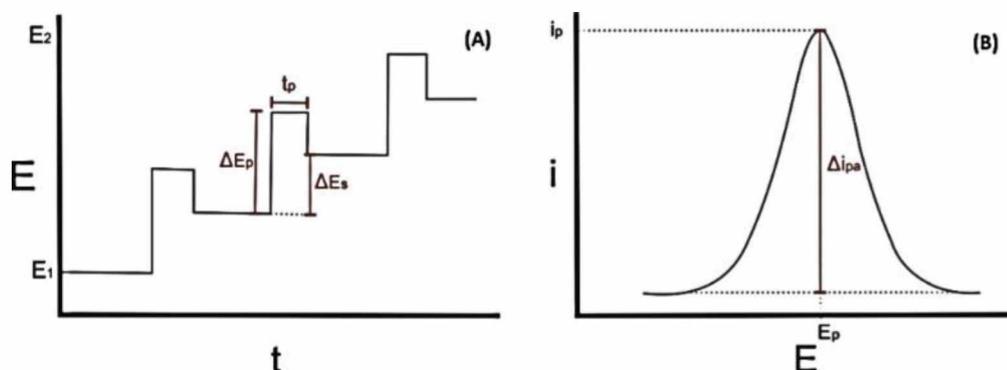


Fonte: ^[21]

1.4.2 Voltametria de pulso diferencial

A voltametria de pulso diferencial representou um grande avanço nas técnicas voltamétricas. Sendo esta técnica proposta por Barker no começo de 1958 ^[65], sua melhoria se deu devido a melhoria instrumental na minimização da corrente capacitiva, que é proveniente do carregamento da dupla camada elétrica e o aumento da corrente faradaica, oriunda dos processos redox. Essa melhoria permitiu a diminuição do limite de detecção para a ordem de 10^{-7} a $10^{-8} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. ^[66] A técnica consiste na sobreposição de pulsos com amplitude fixa à uma rampa de potencial crescente, sendo essa programação representada na Figura 13(A). A obtenção do voltamograma se dá pela obtenção de dois valores de correntes, o primeiro 16,7 ms antes da aplicação do pulso, e o segundo 16,7 ms antes do fim do pulso. A diferença de corrente é então registrada em função do aumento linear do potencial de excitação, figura 13(B).

Figura 13: Representação gráfica da programação da voltametria de pulso diferencial (A), Voltamograma de pulso diferencial, com a corrente elétrica em função do potencial (B).



Fonte: [61]

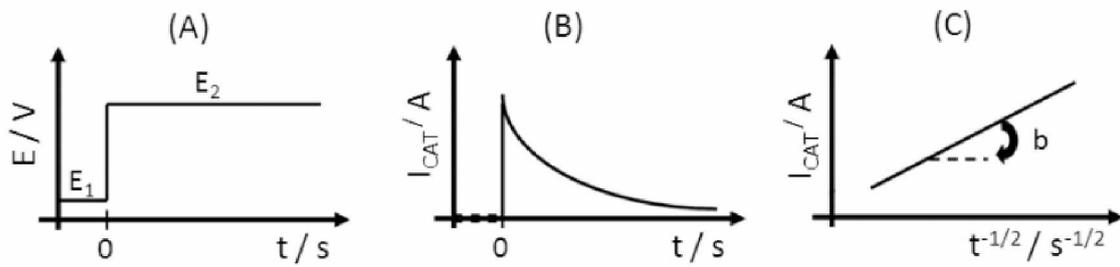
1.4.3 Cronoamperometria

A Cronoamperometria é uma técnica eletroquímica usada quando se deseja avaliar os processos de adsorção e difusão em um sistema. A técnica consiste na imposição de um potencial constante no eletrodo e a avaliação da corrente que flui na interface do eletrodo de trabalho em função do tempo. [67] Geralmente, antes de iniciar o experimento, o eletrodo é mantido em um potencial onde não ocorre reação com as espécies eletroativas. Este potencial tem apenas a função do carregamento da dupla camada elétrica. Em sequência é aplicado um potencial constante, sendo o início do processo a aplicação deste segundo pulso definido como t_0 . Para reações controladas por difusão, o decaimento da corrente ocorre em uma proporção $t^{1/2}$, obedecendo a equação de Cottrell, equação 4. [68] [69] Estes processos são apresentados na Figura 14.

Equação 4:
$$i = \frac{nFAc_j^0\sqrt{D_j}}{\sqrt{\pi t}}$$

Para a equação de Cottrell, i é a corrente (A), n é o número de elétrons, F é a constante de Faraday ($96485 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$), A é a área do eletrodo; c_j^0 é a concentração inicial do analito j ($\text{mol}\cdot\text{cm}^{-3}$), D_j coeficiente de difusão das espécies j ($\text{cm}^2\cdot\text{s}$) e t é o tempo (s).

Figura 14: Aplicação do pulso E_1 para o carregamento da dupla camada elétrica e pulso E_2 como reação de interesse (A), decaimento da corrente em função do tempo (B), representação do $t^{1/2}$ segundo a equação de Cottrell.



Fonte: Adaptado [68]

2 OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia para a construção de eletrodos do tipo Eletrodo impresso (EI) e construído por sputtering (SPT) e, avaliar o seu desempenho eletroquímico frente a um eletrodo comercial.

2.1 Objetivos Específicos

- Realizar a síntese dos flocos de prata, visando a elaboração da tinta condutiva de prata a ser utilizada nos eletrodos de referência;
- Realizar a síntese da tinta condutiva de carbono, visando a sua utilização nas trilhas do eletrodo de trabalho e contra eletrodo do tipo Eletrodo impresso (EI) e construído por sputtering (SPT)
- Desenvolvimento e o otimização do *design* a ser utilizado nos eletrodos do tipo Eletrodo impresso (EI) e construído por sputtering (SPT);
- Modificação do EI-Ag para EI-Ag/AgCl utilizando cronoamperometria em $\text{HCl}_{(aq)}$;
- Análises morfológicas das trilhas dos EIs e DS110 por MEV, AFM e estereoscopia;
- Determinação da janela de estabilidade de potencial Eletrodo impresso (EI);
- Análises eletroquímicas visando aplicar os testes de reversibilidade por voltametria cíclica;
- Comparação dos eletrodos com relação a repetibilidade da densidade de corrente;
- Utilização do SPT-Au-Ag na detecção de miRNA-184.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Materiais utilizados

A lista de reagentes e grau de pureza são descritos na tabela 4, bem como a lista de soluções preparadas para todos experimentos.

Tabela 4: Reagentes e grau de pureza.

Reagentes	Pureza	Marca
NH ₄ OH	28,0%	Isofar
Hidrazina	64,0%	Dinâmica
AgNO ₃	P.A. ACS	Quemix
Isopropanol	P.A. ACS	Quimex
Acetona	P.A. ACS	Synth
Acetato de butilglicol	>98,0%	Dinâmica
Resina Vinisol H	P.A.	Mexichem S/A
Metil isobutil cetona	99,0%	Vetec
Grafite em flocos (325 mesh)	>99,9%	Sigma Aldrich
Negro de fumo	-	Arinos
KCl	99,89%	Neon
HClO ₄	P.A.	Reagen
HCl	P.A.	Vetec
K ₃ [Fe(CN) ₆]	>99,5%	Acros Organics
K ₄ [Fe(CN) ₆]	>99,5%	Fluka Analytical

Todas as soluções utilizadas foram preparadas com água deionizada em sistema Master System (Gehaka), com condutância de $0,05 \pm 0,01 \mu\text{S}$. As massas dos reagentes foram pesadas em uma balança Shimadzu AY220.

3.2 Metodologia de construção dos eletrodos impressos

3.2.1 Preparação dos flocos de prata

Para a preparação do floco da prata, primeiramente é necessário o preparo da prata metalizada. A prata metalizada pode ser preparada a partir da redução de sais de prata solúveis.^[4] Solução de nitrato de prata foi utilizada na presença de hidróxido de amônio e solução de hidrazina como agente redutor. A reação é representada na equação 5.

Equação 5:



Em um reator de cerâmica revestido de etileno clorotrifluoretileno ECTFE, de 10L foram adicionados 240 mL de água deionizada, 55 mL de NH_4OH 28% e 112,8 mL de hidrazina $3,0 \text{ mol.L}^{-1}$. Após a adição dos reagentes, o reator foi preenchido com 8,3 L de água deionizada, e agitado a 350 RPM com um dispersor tipo *cowless* por 10 min. Foi preparada uma solução com 200 g de nitrato de prata em 530 mL de água deionizada ($2,22 \text{ mol.L}^{-1}$) e, após homogeneização, esta solução foi borrifada no reator com o dispersor *cowless* ligado ao longo de 30 min. Este processo deve ser vagaroso para evitar a formação de aglomerados de flocos de prata. A solução resultante foi filtrada a vácuo e colocada em dessecador *overnight*. O pó resultante foi seco em estufa a 45°C por 24h, e obtido uma massa de 105,0919 g. Foi adicionado 0,9% de estearato de prata em massa em relação a massa do pó de prata (0,9456 g). Água deionizada (aproximadamente $2/3$ do volume total do moinho de bolas) foram adicionados em um moinho de bolas e o processo de moagem foi mantido por 40h. Após a moagem, a suspensão foi filtrada e o sólido foi colocado em papel de filtro e fechado. Este foi adicionado a um extrator *soxhlet* acoplado com um condensador com 300 mL e tratado em solução 1:1 isopropanol/acetona. Este procedimento é necessário para retirada do estearato de prata, utilizado como lubrificante orgânico durante o processo de moagem. O floco de prata foi seco em estufa a 45°C por 24 h, sendo obtida a massa final de 99,3599 g.

3.2.2 Preparação da tinta de prata^[4]

O procedimento utilizado foi realizado segundo Paula^[4]. Foi pesado em um béquer de 100 mL, 10,11 g de floco de prata e adicionados 1,9 mL de acetato de butilglicol. Foram preparados 10 mL de solução $20\% \text{ mV}^{-1}$ de resina vinisol H em metil isobutil cetona, aquecida e agitada a 50°C até sua completa solubilização. Em um béquer foi pesada uma

alíquota de 1,022 g da solução contendo a resina visinol e adicionado todo o volume da solução contendo os flocos de prata. A mistura foi mantida em agitação constante e aquecimento até a homogeneização da tinta. Posteriormente a tinta de prata foi colocada em tubos eppendorf para posterior utilização, sendo armazenada na geladeira.

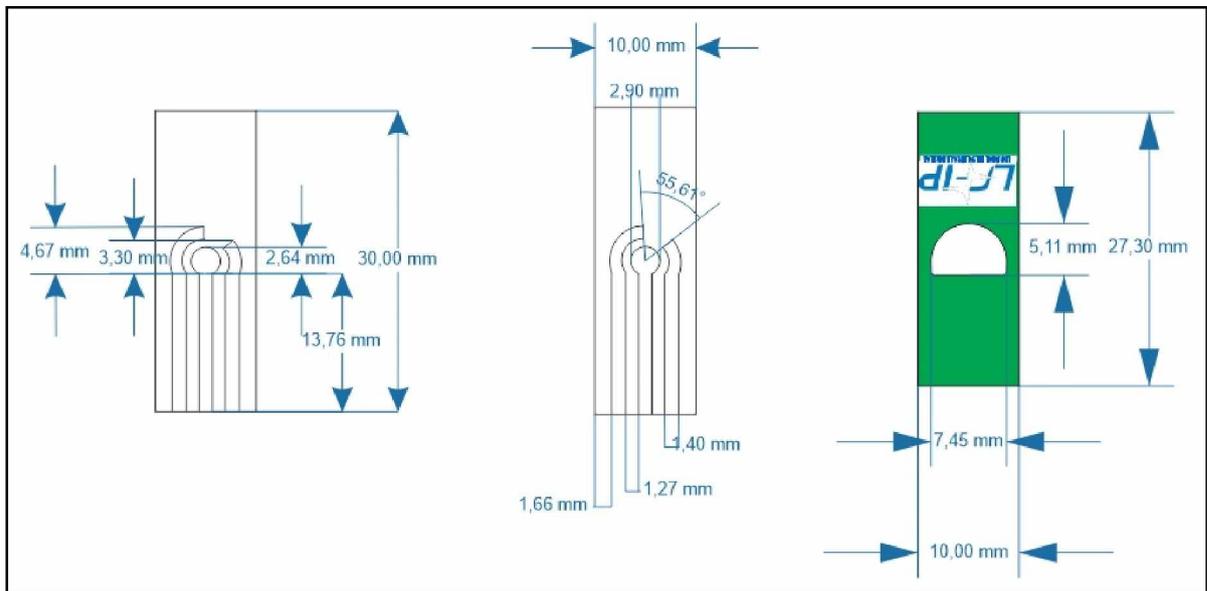
3.2.3 Preparação da tinta de carbono

Foram solubilizados 1,575 g de resina vinisol H em 11,2 mL de metil isobutil cetona, e aquecido a 50 °C sob agitação constante. Após completa solubilização, foram adicionados 7,35 g de grafite em flocos (325 mesh), 1,575 g de negro de fumo, e 9,0 mL de acetato de butilglicol. Em seguida, foi mantida a agitação a 50 °C até completa homogeneização da tinta. A tinta de grafite foi armazenada sob refrigeração. [42]

3.2.4 Desenvolvimento do *design* do molde de adesivo

O *design* para o eletrodo impresso foi efetuado em Corel Draw 2018® e, a partir desse, foram produzidos os recortes dos moldes dos eletrodos, os quais foram feitos em uma plotter Roland 540i, com agulha Roland® de 45°. O recorte foi feito em adesivo vinílico, com dimensões de 210 mm por 297 mm (dimensões de uma folha A4). Essas dimensões comportam os recortes necessários para construção de 63 eletrodos, como mostrado no anexo 1. Na figura 15 é mostrado o *design* do eletrodo impresso utilizado para os estudos.

Figura 15: *Design* do eletrodo



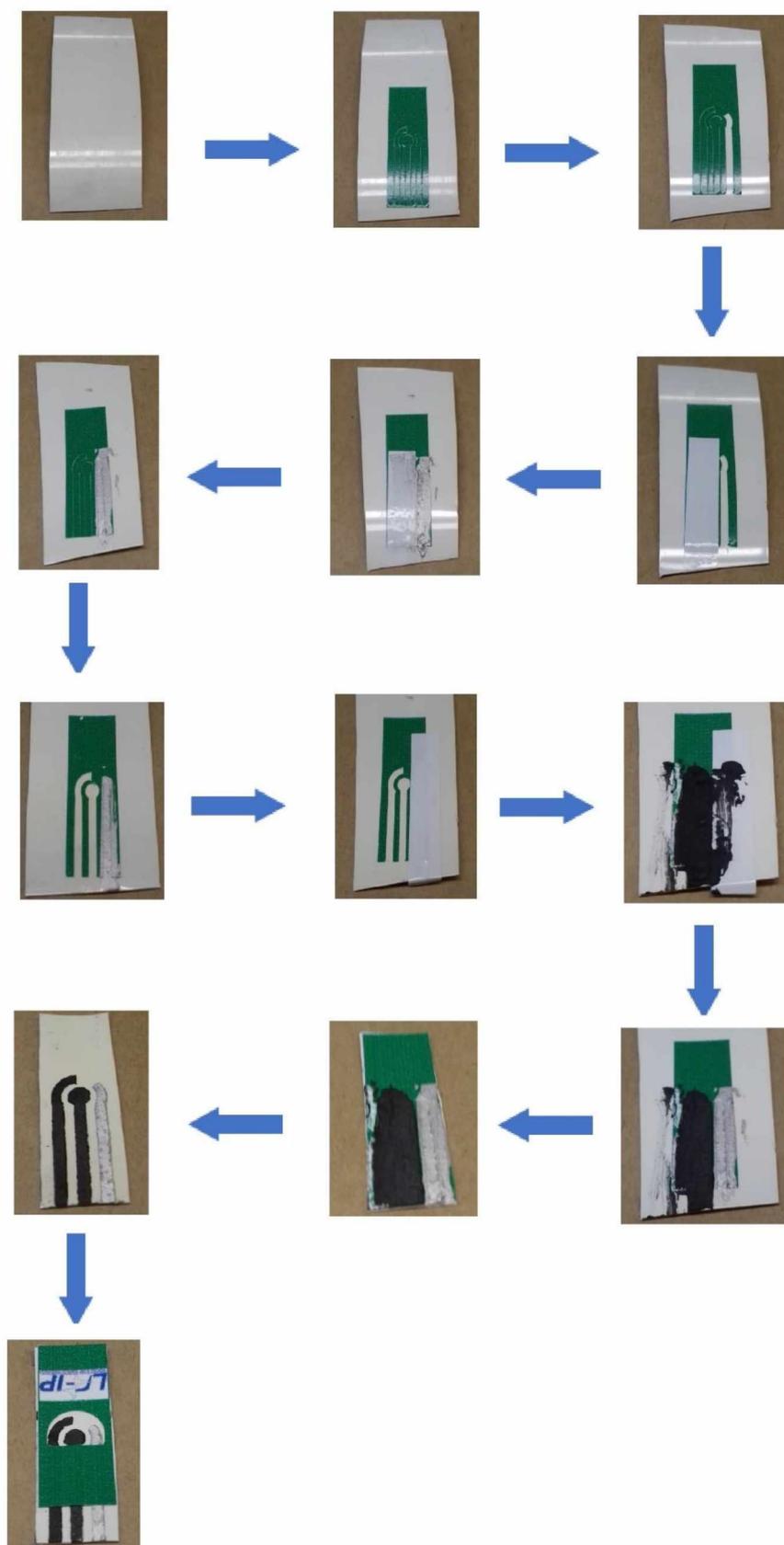
Fonte: O autor

3.2.5 Construção do eletrodo impresso EI-Ag

Os eletrodos impressos foram construídos utilizando como substrato uma chapa de PVC de 0,5 mm de espessura. A primeira etapa consiste da colagem do adesivo vinílico sobre a chapa de PVC. A trilha referente ao eletrodo de referência é destacada e, com um adesivo auxiliar, a trilha do contra eletrodo e de trabalho são cobertas. A tinta de prata é aplicada com uma espátula retilínea na posição do eletrodo de referência. Após o eletrodo é levado à 55 °C por 25 min para cura da tinta de prata. Em sequência as trilhas que protegiam as áreas do eletrodo de trabalho e contra eletrodo são retiradas e a área do eletrodo de referência é protegida com um adesivo. A tinta de carbono é aplicada nas áreas do eletrodo de trabalho e contra eletrodo, utilizando uma espátula, e o eletrodo é levado ao forno a 55 °C por 25 min para cura da tinta de carbono. Após a cura, os eletrodos são recortados e os adesivos são retirados.

Em sequência, o adesivo isolante é colado. Chamaremos a esse eletrodo de EI/Ag, pois se trata de um eletrodo impresso com tinta de prata como eletrodo de referência. O procedimento é representado na figura 16.

Figura 16: Fluxograma de construção do EI-Ag



Fonte: O autor

3.2.6 Construção do EI-Ag/AgCl

Partindo do EI/Ag, foi construído um segundo tipo de eletrodo impresso, com outro tipo de eletrodo de referência, o EI/Ag(AgCl). Para a construção foi utilizada a técnica de cronoamperometria, em potencial de +0,7 V (vs. $\text{Ag}_{(s)}/\text{AgCl}_{(aq)}/\text{Cl}_{(aq)}^-$), durante 180s.^[59] Foi utilizado como eletrodo de trabalho a trilha do eletrodo de referência do EI/Ag_(s), como eletrodo auxiliar foi utilizado um fio de platina em espiral (área geométrica de 232,5 mm²) e como eletrodo de referência $\text{Ag}_{(s)}/\text{AgCl}_{(aq)}/\text{Cl}_{(aq)}^-$ (comercial). Os eletrodos foram mergulhados em um béquer contendo solução de $\text{HCl}_{(aq)}$ 0,1 mol.L⁻¹, conforme mostrado na figura 17.

Figura 17: Esquema montado para a construção do EI-Ag/AgCl

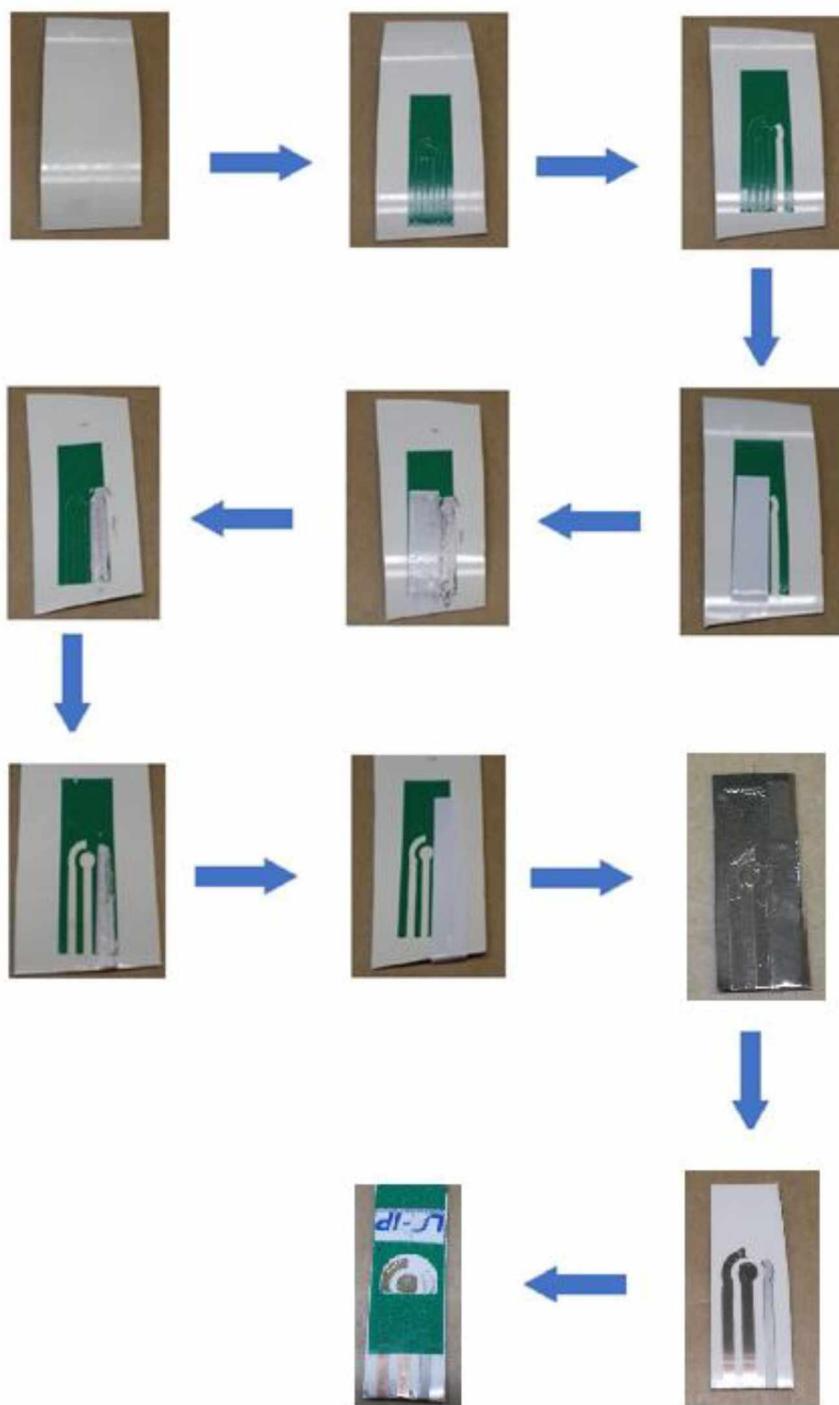


Fonte: O autor

3.2.7 Construção do eletrodo SPT-Au-Ag

Os eletrodos SPT-Au-Ag foram construídos utilizando o mesmo *design* mostrado no item 3.2.4, que foi o mesmo usado para os outros eletrodos já mostrados. Os passos iniciais para a construção foi o mesmo adotado para o Ei-Ag, diferenciando após a aplicação da tinta de prata no eletrodo de referência. Para o procedimento anterior, o passo seguinte seria a aplicação da tinta de carbono, já para o SPT-Au-Ag, o passo seguinte passa pela utilização de uma metalizadora, sendo aplicados 20mA durante 240 s , utilizando a técnica de sputtering para deposição de ouro sobre o eletrodo. A figura 18 apresenta o procedimento de construção, e a figura 19 mostra os eletrodos antes e depois da metalização.

Figura 18: Fluxograma de construção dos SPT-Au-Ag



Fonte: O autor

Figura 19: Eletrodo SPT-Au-Ag dentro da metalizadora antes e depois de aplicar sputtering



Fonte: O autor

3.3 Análises morfológicas dos eletrodos impressos

Os eletrodos impressos foram analisados por estereoscopia e microscopia eletrônica de varredura (MEV). As imagens estereoscópicas das superfícies foram obtidas em um estereomicroscópio trinocular, marca Optron, modelo TIM2T. Para realizar as análises por MEV, os eletrodos impressos foram colocados em um metalizador Quorum, modelo Q150ES, sendo aplicado 20 mA durante 90 segundos para eletrodeposição do ouro, que tem por finalidade melhorar as imagens obtidas. Após a metalização, os eletrodos foram analisados em um microscópio eletrônico de varredura, da Oxford Instruments, modelo Vega 3 LMU, com uma tensão de aceleração de 8,00 kV Os microscópios utilizados e a metalizadora são mostrados na figura 18.

Figura 20: Imagens do microscópio eletrônico de varredura utilizado (à esquerda), metalizadora (à direita).



Fonte: O autor

As morfologias dos eletrodos impressos foram também analisadas por microscopia de força atômica. As imagens foram obtidas utilizando um equipamento da Hitachi modelo 5100N, no modo não contato, com um cantilever de ouro modelo NGS10. Foram obtidas imagens para uma área de 10 nm x 10 nm, além dos valores de rugosidade média (Ra) e rugosidade média quadrática (Rq). A seguir temos a imagem do AFM utilizado.

Figura 21: Hitachi modelo 5100N utilizado nas análises de AFM

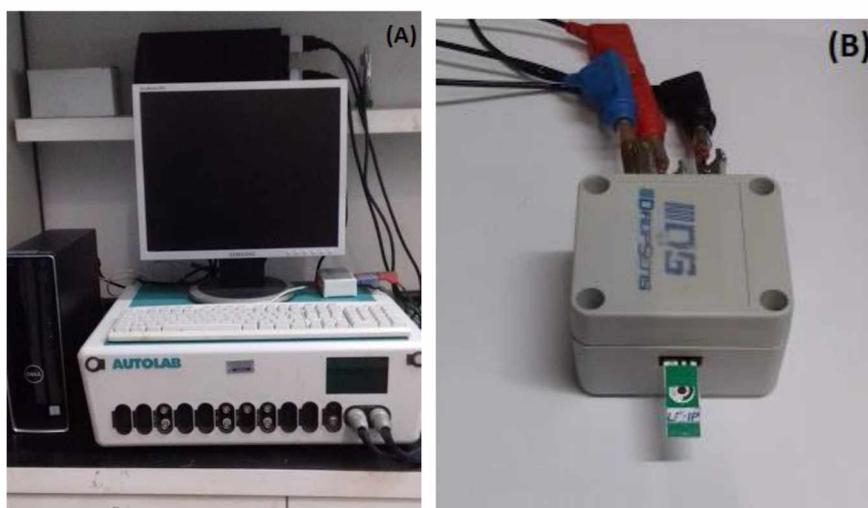


Fonte: [70]

3.4 Testes Eletroquímicos

Os testes eletroquímicos foram realizados em um potenciostato Autolab modelo PGSTAT302N, sendo utilizado o software NOVA 2.1.3 para controle dos parâmetros e obtenção dos dados experimentais. Foram necessários 75 μL de solução para cobertura dos eletrodos. Os eletrodos impressos foram conectados ao potenciostato por meio de um conector da Dropsens. A figura 20 mostra o potenciostato e o conector utilizados.

Figura 22: Potenciostato Autolab PGSTAT302N (A), conector Dropsens (B).



Fonte: O autor

O condicionamento dos eletrodos foi realizado via polimento eletroquímico em solução de ácido perclórico, iniciando em altas velocidades ($1000 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$) de varredura e diminuindo a velocidade ($50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$), à medida que a resposta do eletrodo de trabalho tende a estabilizar. Para comparação entre os eletrodos, foi registrado o último ciclo do voltamograma a $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ após a estabilização, sendo utilizados os eletrodos com a área eletroativa semelhante.

Após o condicionamento dos eletrodos (EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag), foram efetuados testes para análise de reversibilidade utilizando voltametria cíclica em solução de KCl $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ contendo ferrocianeto de potássio $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ($5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) e ferricianeto de potássio $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Foram obtidos voltamogramas em diferentes velocidades de varredura (5, 10, 25, 50, 100, 200, 250 e $300 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$), sendo avaliados 7 dispositivos para cada tipo de eletrodo.

3.5 Aplicação de eletrodos impressos em biossensores

Utilizando o SPT-Au-Ag, foi testada sua aplicabilidade na detecção do microRNA-184. Estes testes foram realizados para o eletrodo sem nenhuma funcionalização. Para isso, foram gotejados 4 μ L da sonda de DNA DEP1S a 2 μ mol.L⁻¹, sob a área do eletrodo de trabalho, tendo ficado em contato por 40 min, a temperatura ambiente. A sonda DEP1S é específica para detecção do miRNA-184 e sua imobilização no eletrodo foi conduzida por quimissorção, uma vez que esta sonda possui modificação com grupamento tiol na extremidade 5', o qual interage com a superfície do ouro, garantindo ótima imobilização e orientação da mesma. Foi realizada uma lavagem em tampão fosfato sob agitação, para retirada do excesso de sonda não imobilizada.

Os eletrodos foram separados em dois grupos, um para realização da detecção utilizando os eletrodos contendo apenas a sonda, e um segundo grupo para adição do alvo e detecção do sinal referente a interação sonda-alvo. No primeiro grupo, para a detecção da sonda, foram adicionados 5 μ L de brometo de etídio a 1 mmol.L⁻¹ e deixado por 10 min em temperatura ambiente, no escuro. Após isto, a superfície do eletrodo foi lavada por imersão em água deionizada sob agitação, para retirada do excesso de brometo de etídio. Por fim, para a detecção do brometo de etídio remanescente, foi realizada uma voltametria de pulso diferencial em um intervalo de potencial de +0,2 à +0,8V a 30mV.s⁻¹. Sendo este experimento realizado em triplicata, utilizando 3 eletrodos diferentes.

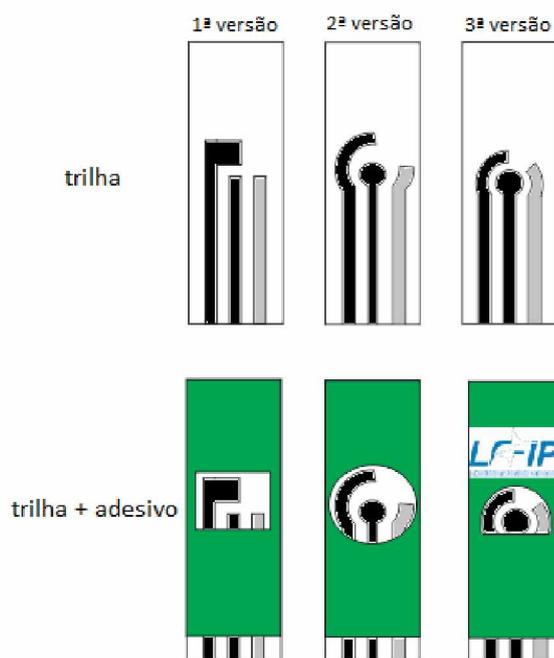
Para o segundo grupo, foram adicionados 10 μ L de alvo microRNA 184 (miRNA-184) 10 μ mol.L⁻¹, e colocado em contato com o eletrodo contendo a sonda a 55°C por 20 minutos. Em seguida, a superfície do eletrodo foi lavada por imersão em tampão fosfato. Após a interação sonda-alvo, foram adicionados 5 μ L de brometo de etídio 1,0 mmol.L⁻¹, deixado no escuro por 10 min e repetida a lavagem em água deionizada, para retirada do excesso de brometo de etídio. Para a detecção, foi efetuada uma voltametria de pulso diferencial nos mesmos parâmetros utilizado para o eletrodo contendo apenas a sonda, +0,2 a +0,8V, 30 mV.s⁻¹. Este experimento também foi realizado em triplicata para 3 SPT-Au-Ag diferentes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Construção dos Eletrodos

A tinta de prata, descrita por Paula ^[4], se mostrou adequada para utilização na preparação dos eletrodos impressos, apresentando excelente condutividade elétrica e facilidade em sua utilização para impressão nos eletrodos impressos baseados em adesivos vinílicos como moldes. A tinta de carbono, descrita por Silva^[42] necessitou de modificações em sua metodologia de síntese para adequação aos eletrodos impressos propostos neste trabalho, sendo necessário aumentar a porcentagem de solventes, visando melhoria na qualidade da impressão, pois esta tratava-se de uma pasta de carbono e, para impressão, a tinta deve ser menos viscosa. Em sequência, o desenho a ser utilizado no eletrodo foi otimizado, o qual está representado na Figura 21.

Figura 23: Imagens do desenho das trilhas para preparação dos eletrodos impressos.



Fonte: O autor

As duas primeiras versões de trilhas não mostraram boa reprodutibilidade em sua construção, sendo proposta a terceira versão que mostrou ser uma alternativa eficiente para delimitação das áreas dos eletrodos, tendo ainda como melhoria a aproximação das trilhas, diminuindo o sobrepotencial a ser aplicado. Sendo esta versão, representada na Figura 24,

utilizada para todos os testes. Os valores das áreas dos eletrodos de trabalho, auxiliar e referência estão descritos na Tabela 5. Em relação aos eletrodos baseados em discos de grafite, esta metodologia de preparação de eletrodos apresenta maior facilidade e praticidade de construção, sendo possível construir cerca de 40 eletrodos em 4 horas. Comparando o tempo gasto para a construção dos eletrodos de disco de grafite utilizados pelo grupo, onde todo processo demora cerca de 3 dias para preparação, em média, de 15 a 20 eletrodos. ^{[39][59]}

Figura 24: Eletrodos impressos EI com e sem adesivo isolante e eletrodos construídos por *sputtering* sem adesivo isolante.



Fonte: O autor

Tabela 5: Valores de área geométrica dos eletrodos do tipo EI e SPT

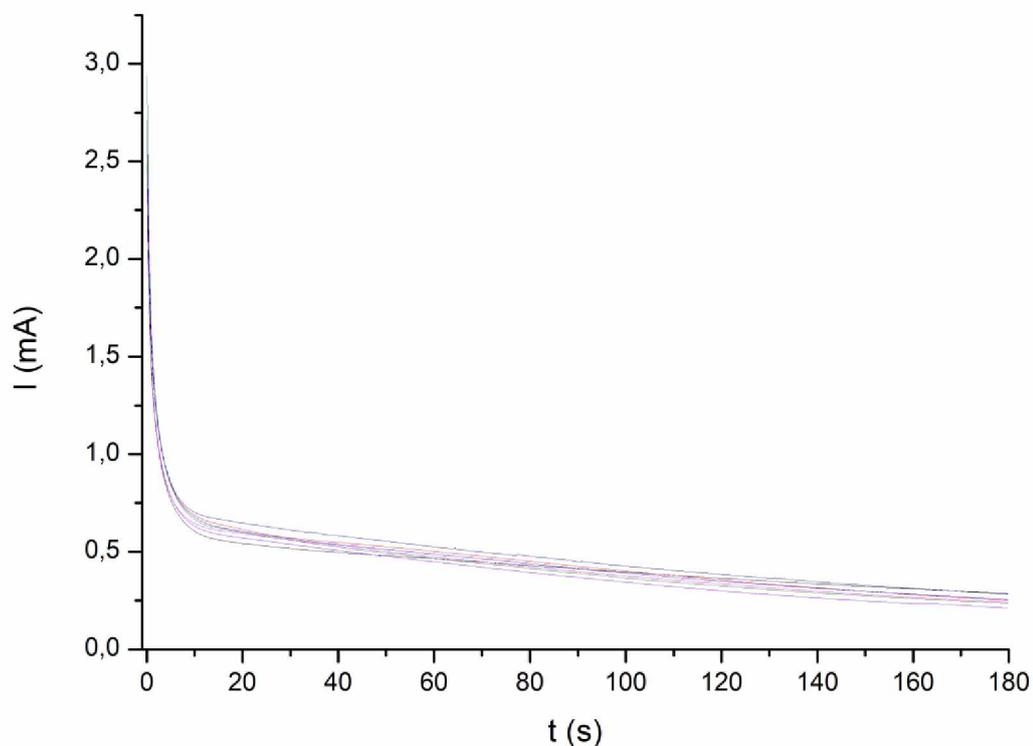
	Área (mm ²)
Contra Eletrodo	12,14
Trabalho	6,35
Referência	5,25

Fonte: O autor

4.2 Preparação do eletrodo de referência Ag/AgCl no eletrodo impresso

O eletrodo de referência Ag/AgCl foi preparado no eletrodo impresso a partir do eletrodo EI/Ag_(s), via cronoamperometria, sendo aplicado um potencial constante de +0,7 V vs. Ag/AgCl_(s), durante 180 s (Figura 25).

Figura 25: Cronoamperogramas para eletrodeposição de AgCl sobre a tinta de prata, em diferentes EI-Ag/AgCl.



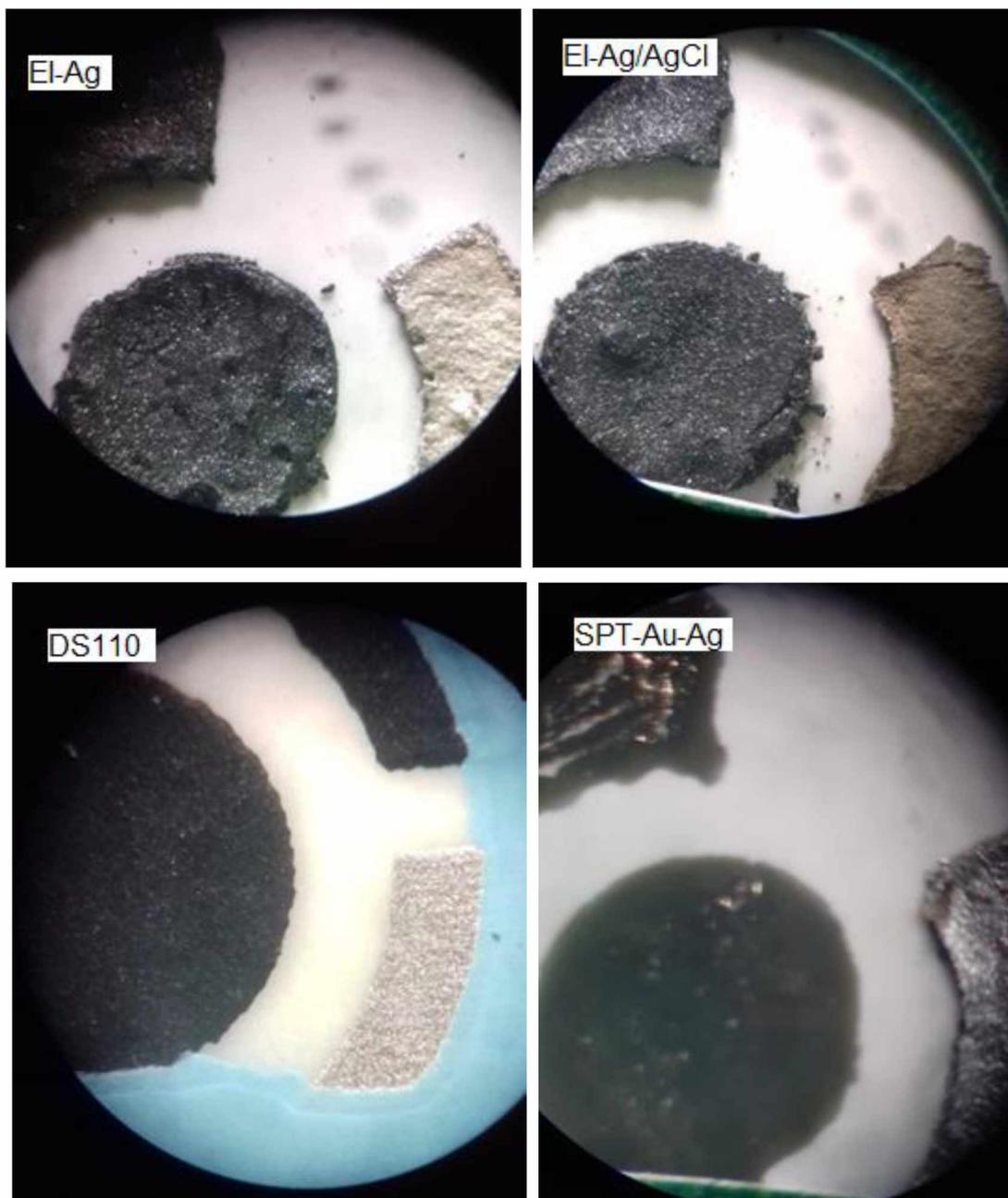
Fonte: O autor

Como já visto anteriormente na equação 1 e 2, o processo que ocorre é a oxidação da prata seguida da formação de uma camada de cloreto de prata na superfície do eletrodo. Graficamente, podemos notar que, para todos os eletrodos, obtivemos o mesmo perfil de difusão próximo a superfície do eletrodo, percebido pela queda de corrente com o decorrer do tempo.

4.3 Análise Morfológica dos eletrodos

A morfologia dos eletrodos foi analisada por microscopia óptica, microscopia de força atômica, e microscopia eletrônica de varredura. Na figura 24 temos a imagem de microscopia óptica para os eletrodos impressos.

Figura 26: Imagens de estereomicroscopia para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag, ambos com mesma ampliação (4X). O eletrodo em formato de disco ao centro é o eletrodo de trabalho, a direita dela temos o eletrodo de referência e acima temos o contra-eletrodo.



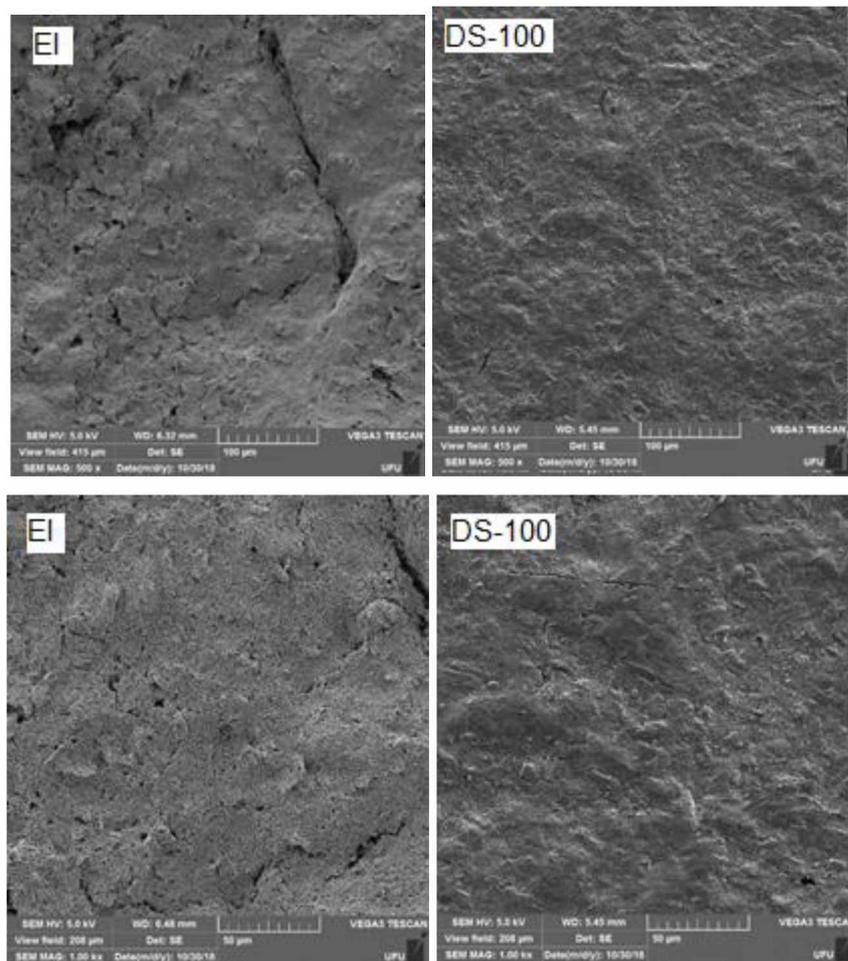
Fonte: O autor

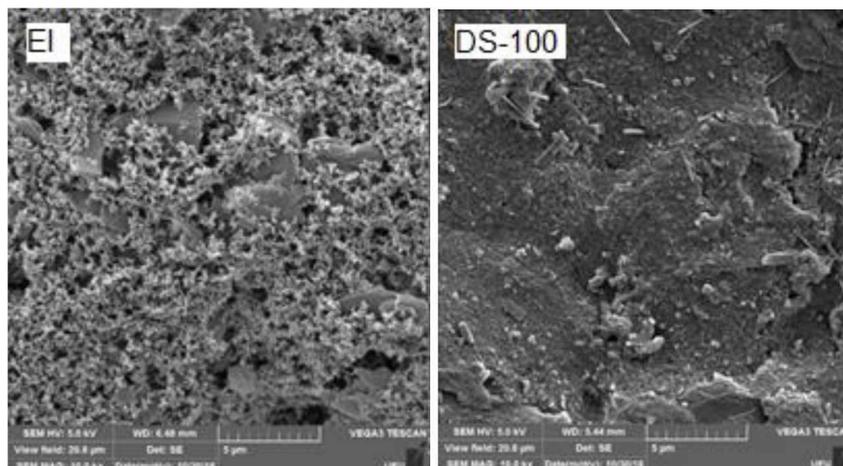
A Figura 26 mostra que os eletrodos preparados neste trabalho apresentam boa separação entre as trilhas, indicando que a utilização do adesivo vinílico se mostra como uma alternativa para o desenvolvimento de trilhas. Comparando o EI-Ag e o EI-Ag/AgCl, notamos diferença entre os eletrodos de referência, ocasionada pela eletrodeposição de AgCl sobre a

tinta de prata, tornando a superfície mais escura. O eletrodo DS110 apresenta menor rugosidade da superfície e melhor resolução das trilhas, devido a metodologia de impressão ser efetuada por equipamento de impressão. As imagens do SPT-Au-Ag mostram que a superfície do eletrodo de trabalho é mais lisa e uniforme que todos os outros, devido ao espalhamento uniforme ocasionado durante a sua construção por *sputtering*.

A figura 27 mostra as imagens por microscopia eletrônica de varredura dos eletrodos de trabalho de EI-Ag, EI-Ag/AgCl e do eletrodo DS110.

Figura 27: Microscopia eletrônica de varredura da área do eletrodo de trabalho, preparados neste trabalho (EI) e o eletrodo comercial (DS110) (coluna da esquerda). Na primeira linha temos 500X de ampliação, na segunda 1.000X e na terceira 10.000X.



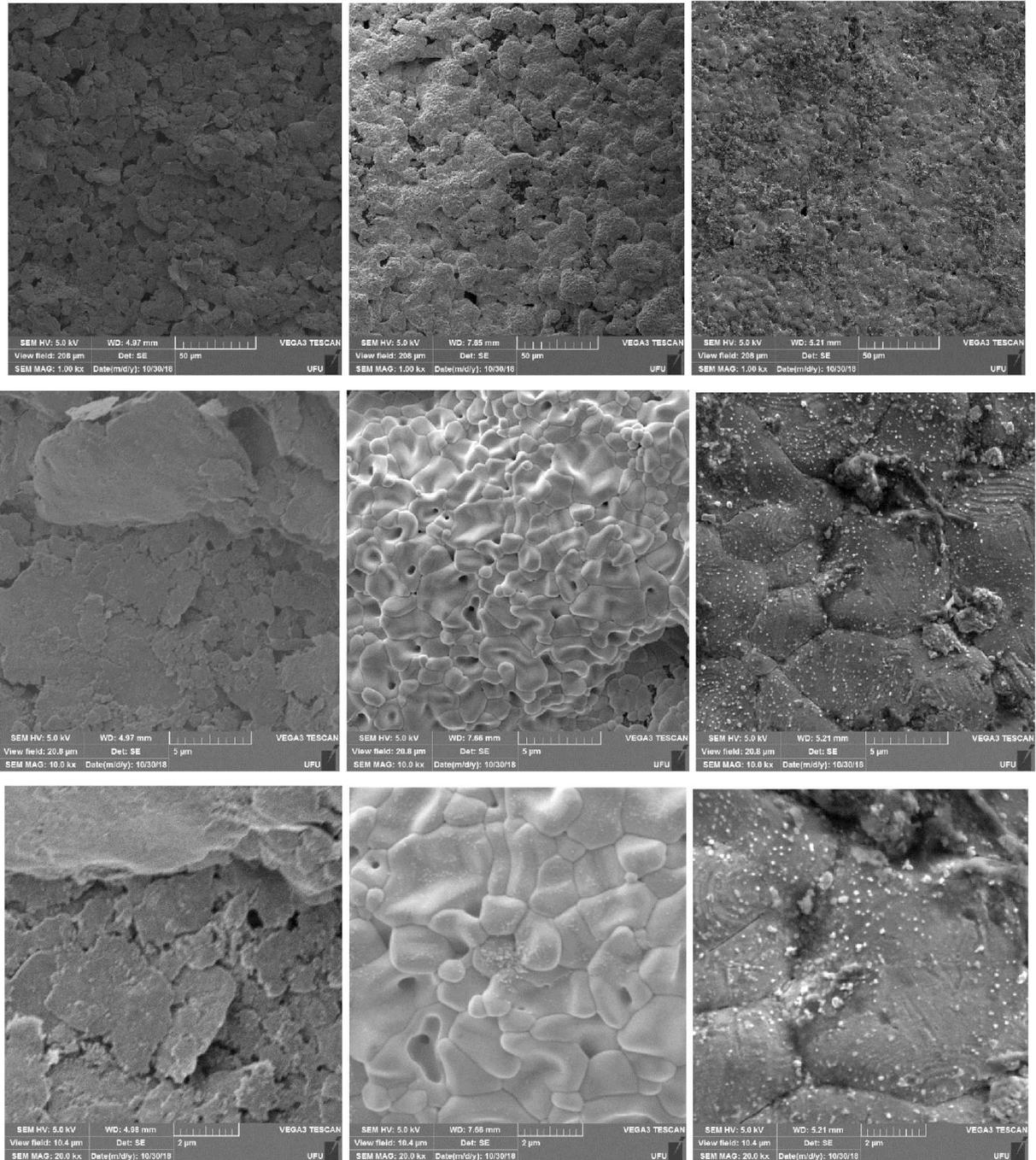


Fonte: O autor

A Figura 27 mostra a presença de sulcos e aglomerados para o eletrodo impresso preparado neste trabalho, bem como a presença de placas recobertas por material de maior granulação, perfil diferente em relação ao eletrodo comercial. Não foi avaliada a morfologia do eletrodo SPT-Au-Ag pois o que seria visto nas imagens seria apenas as imperfeições do substrato utilizado (PVC), pois a camada de ouro é extremamente fina.

A morfologia avaliada por microscopia eletrônica de varredura dos eletrodos de referência do EI-Ag, do EI-Ag/AgCl e do eletrodo DS110 são mostradas na Figura 28.

Figura 28: Imagens por microscopia eletrônica de varredura da área dos eletrodos de referência para EI-Ag_(s), EI-Ag/AgCl_(s) e do eletrodo comercial (DS110), colunas em sequência da esquerda para a direita. Na primeira linha temos ampliações de 1000X, na segunda 10000X, e na terceira 20000X.



EI-Ag

EI-Ag/AgCl_(s)

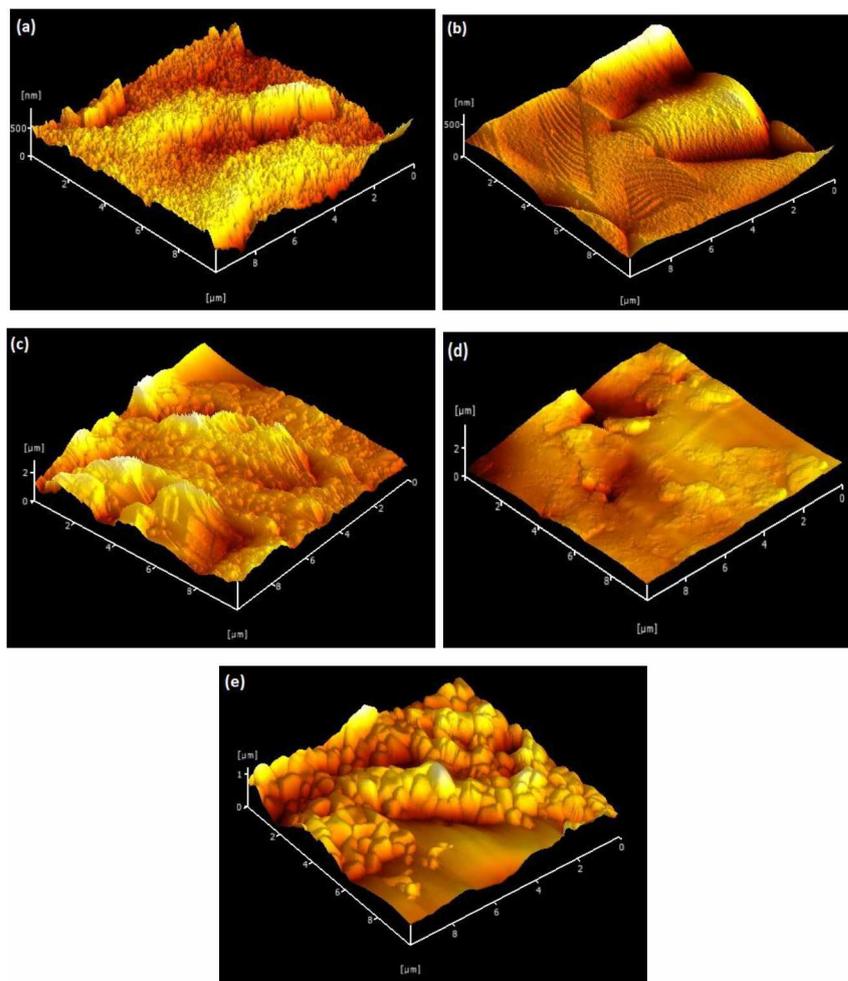
DS-110

Fonte: O autor

A figura 28, para ampliações de 10.000 e 20.000X, mostra a presença de material em forma de placas, característico dos flocos de prata utilizados na síntese da tinta de prata para os eletrodos EI-Ag. Para o eletrodo EI-Ag/AgCl (ampliação de 10.000X), é observada a camada de AgCl eletrodepositada sobre o eletrodo, bem como ao fundo são observadas as placas referentes ao floco de prata. É possível notar uma diferenciação mais pronunciada nas imagens com ampliação de 10.000X e 20.000X. As imagens do eletrodo comercial (DS110) mostra maior uniformidade de sua superfície, com pequenos grânulos distribuídos pela superfície formada por aglomerados maiores, sendo que o material deste eletrodo de referência é prata, originária de tinta de prata comercial, conforme descrição do fabricante.

A Figura 29 mostra imagens por microscopia de força atômica dos eletrodos preparados neste trabalho, bem como do eletrodo comercial (DS110).

Figura 29: Imagens por microscopia de força atômica do eletrodo de trabalho DS110 (a), eletrodo de referência DS110 (b), eletrodo de trabalho EI (c), eletrodo de referência EI-Ag_(s) (d), eletrodo de referência EI-Ag/AgCl (e).



Fonte: O autor

A tabela 6 apresenta os valores de rugosidade média e rugosidade quadrática obtidas para os diferentes eletrodos estudados.

Tabela 6: Valores de rugosidade média (Ra) e rugosidade média quadrática (Rq) para os diferentes eletrodos analisados

Eletrodo	Fabricante	Ra(nm)	Rq(nm)
Trabalho	Dropsens	109,3	131,1
	Lafip	245,6	336,0
Referência Ag	Dropsens	49,0	69,6
	Lafip	125,0	160,7
Referência Ag/AgCl	Lafip	91,1	123,0

Fonte: O autor

Os valores de Ra e Rq são representações da rugosidade superficial, porém cada um é calculado com fórmulas diferentes. O Ra é calculado a partir da média da rugosidade da superfície entre os picos e vales da superfície. Já o Rq é calculado a partir dos mesmos valores de picos e vales, porém esses valores são obtidos a partir de uma média quadrática. Devido esses termos serem elevados ao quadrado, mínimos valores que se diferem da média são mais impactantes nos resultados de rugosidade. ^{[71][72]}

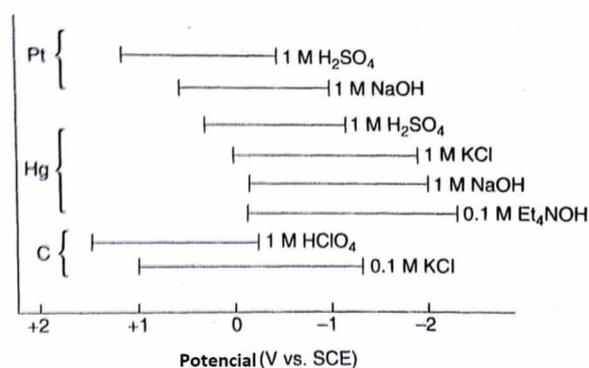
Analisando as imagens da figura 7(a) e (b), bem como os valores de Ra e Rq, é possível observar que o eletrodo de trabalho da Dropsens[®], apresenta menor rugosidade média e rugosidade quadrática em relação aos eletrodos preparados neste trabalho. Também pode ser notado que a rugosidade dos eletrodos de trabalho é maior quando comparada aos eletrodos de referência. Quando o eletrodo de referência do EI-Ag é comparado com EI-Ag/AgCl, pode ser observado o aparecimento de aglomerados, bem como o aumento de rugosidade, o que pode ser atribuído a eletrodeposição do AgCl. Estes resultados estão em concordância com as análises por microscopia eletrônica de varredura.

4.4 Avaliação do perfil eletroquímico

4.4.1 Escolha do eletrólito suporte e janela de estabilidade de potencial

Eletrólitos suporte são necessários em eletroquímica para diminuir a resistência da solução, eliminar os efeitos de migração e manter constante a força iônica^[73]. A escolha do eletrólito suporte deve considerar tanto a natureza do eletrodo quanto a natureza do analito em questão. Cada eletrólito suporte tem a sua janela de potencial de trabalho ideal. ^{[74][75][76]}. Alguns eletrodos de trabalho com os respectivos eletrólitos e janelas de potencial são apresentadas na Figura 30.

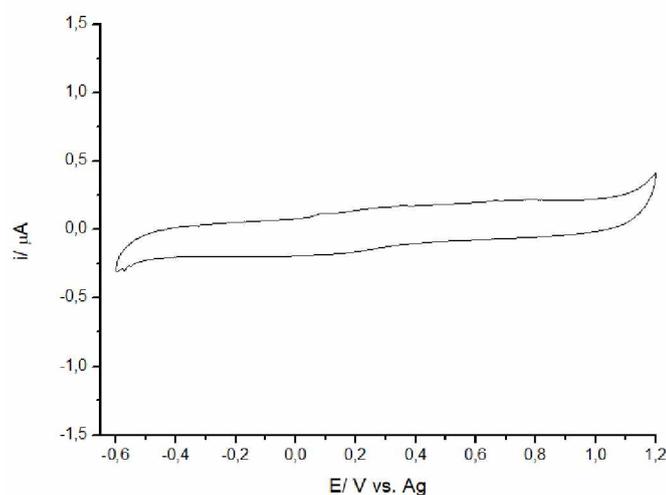
Figura 30: Janela potencial de eletrodos de platina, mercúrio e carbono em vários eletrólitos de suporte.



Fonte: ^[12]

Visando determinar a janela de estabilidade de potencial para os eletrodos impressos EI preparados neste trabalho, foram efetuados estudos utilizando voltametria cíclica em HClO₄ 5,0 mmol.L⁻¹. Foram realizadas sucessivas varreduras de potencial em amplas faixas de potenciais, para determinar qual é o intervalo em que ocorre apenas processos capacitivos. Na Figura 31 temos a representação do último ciclo para a janela de estabilidade de potencial.

Figura 31: Último ciclo de potencial do eletrodo EI-Ag em HClO_4 $5,0 \text{ mmol.L}^{-1}$, de $-0,6 \text{ V}$ até $+1,2 \text{ V}$



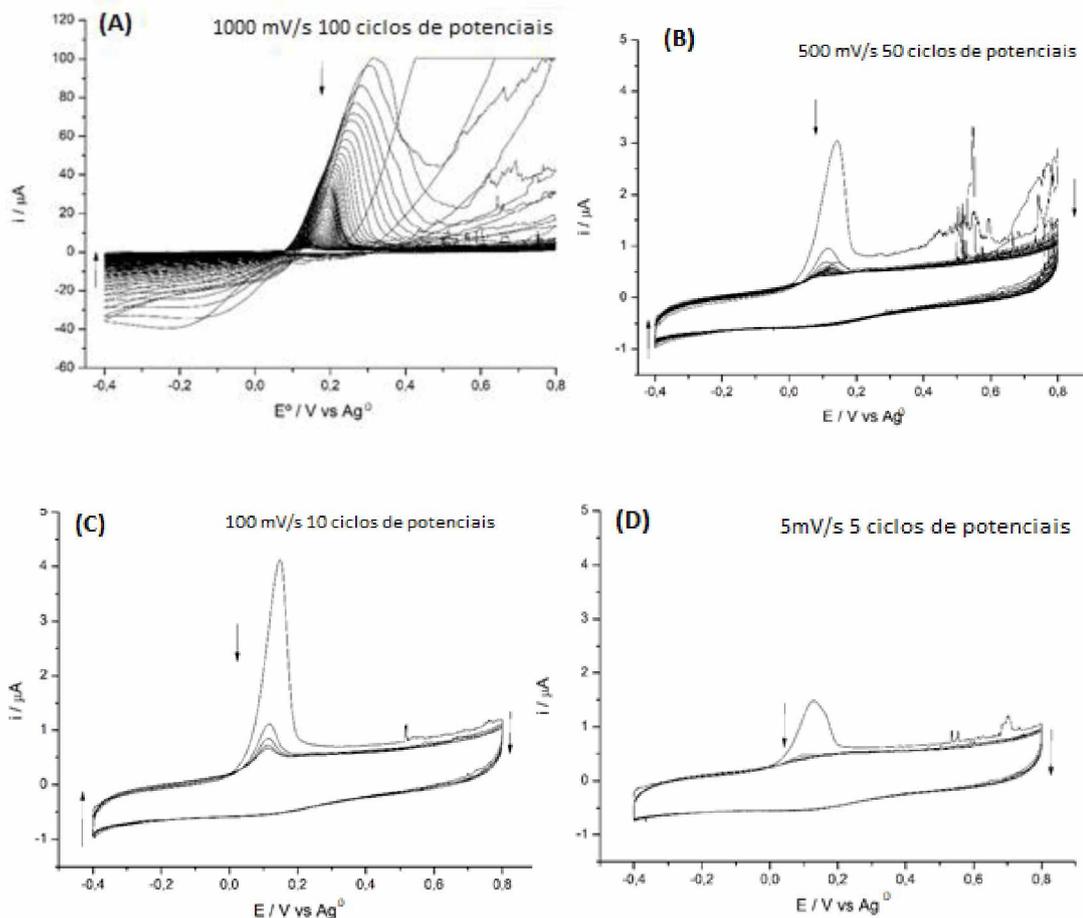
Fonte: O autor

Para potenciais maiores que $+1,2 \text{ V}$, ocorre aumento dos valores de corrente, correspondente a eletrólise da água e geração de oxigênio. Para valores catódicos até $-0,6 \text{ V}$ não são observados processos faradaicos. Abaixo deste ocorre a redução da água e consequente geração de hidrogênio. Portanto, a janela de estabilidade de potencial é de $1,8 \text{ V}$, começando em $-0,6 \text{ V}$ até $1,2 \text{ V}$.

4.4.1 Condicionamento eletroquímico

Foi realizado um polimento eletroquímico com o intuito de padronizar a resposta dos eletrodos antes de iniciar os testes. Esse pré-tratamento se mostrou como alternativa eficaz para condicionar os eletrodos impressos, pois não é realizado nenhum outro tipo de pré-tratamento, por exemplo, polimento mecânico da superfície do eletrodo de trabalho. Como resultado desse condicionamento eletroquímico, pode ser observado que não existe um número padrão de ciclos de potencial que estabiliza todos eletrodos, entretanto todos eles, ao estabilizarem, apresentam o mesmo perfil. Na figura 30 são apresentados voltamogramas efetuados para o condicionamento de um eletrodo impresso.

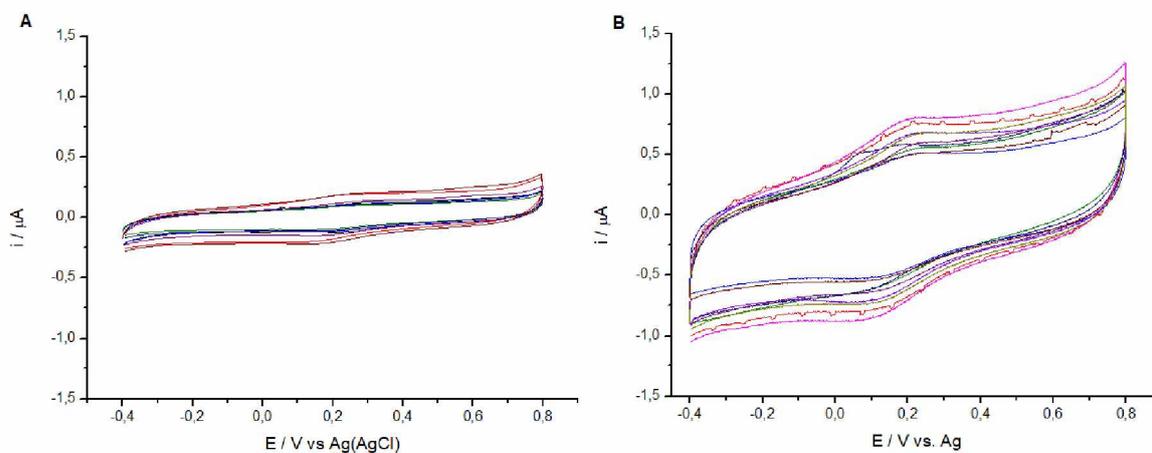
Figura 32: Sequência adotada de pré-tratamento eletroquímico para um EI-Ag em HClO_4 $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$



Fonte: O autor

A figura 32(A) mostra a presença de um pico anódico inicialmente em cerca de $+0,5\text{V}$, atribuído a impurezas na tinta ou adesivo. A medida que sucessivas varreduras de potencial são aplicadas, ocorre diminuição da corrente deste pico e diminuição significativa do ruído. A Figura 31 apresenta os voltamogramas correspondentes ao último ciclo de potencial para os 7 eletrodos de cada tipo (EI-Ag e EI-Ag/AgCl).

Figura 33: Último ciclo de potencial em HClO_4 5mol.L^{-1} a 50mV.s^{-1} , para EI-Ag voltamograma (A), e EI-Ag/AgCl voltamograma (B)



Fonte: O autor

A Figura 31 indica que foi possível obter eletrodos com perfil de eletroatividade semelhantes para cada tipo de eletrodo impresso preparado neste trabalho, sendo possível identificar uma diferença de resposta entre os dois tipos de eletrodos impressos. O EI-Ag possui uma resposta de corrente de fundo maior que o EI-Ag/AgCl, apresentando também maior ruído em seu perfil eletroquímico.

4.4.2 Avaliação da reversibilidade dos eletrodos impressos

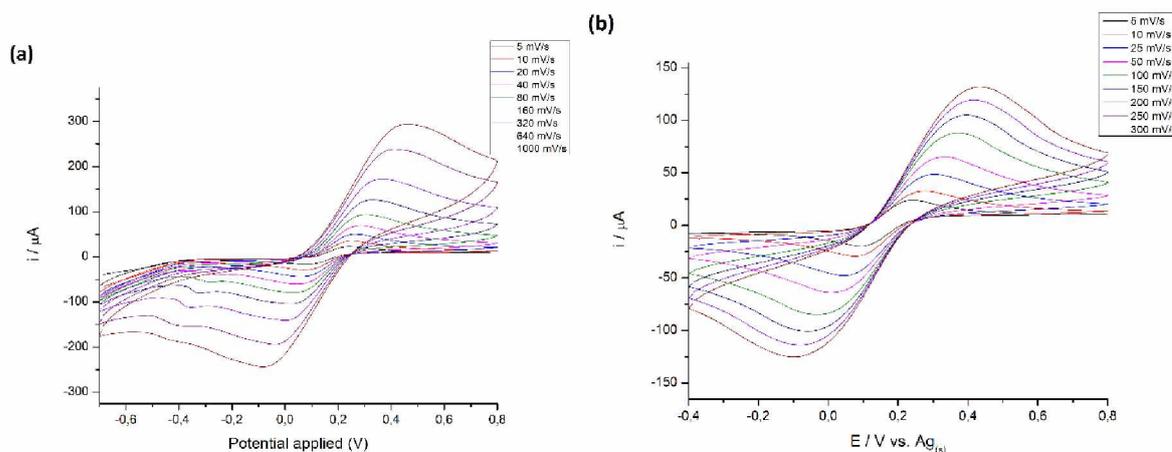
Um sistema eletroquímico é considerado reversível quando ocorre a uma velocidade suficientemente alta para o estabelecimento de um equilíbrio dinâmico na interface do eletrodo com a solução, ou seja, as reações de oxirredução devem ser suficientemente rápidas para que as concentrações das espécies permaneçam constantes na interface eletrodo/solução. Neste sistema, a taxa de transferência de elétrons na superfície do eletrodo é rápida e o sistema é limitado apenas pelo transporte de massa. Em um sistema eletroquímico quasi-reversível, os dois processos, transporte de massa e transporte de carga, limitam o processo. Já para um sistema irreversível, o transporte de massa é favorecido, porém, a transferência de carga é limitada. [12]

O comportamento eletroquímico foi avaliado para os quatro eletrodos: EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS-110 e SPT-Au-Ag, visando comparação de suas respostas eletroquímicas. Para isso foram utilizados como parâmetros os testes com a sonda catiônica de ferricianeto de potássio e ferrocianeto de potássio, avaliando os critérios de reversibilidade. Os testes foram

realizados com um espaço amostral de 7 eletrodos para todos os tipos de eletrodos testados.

Inicialmente, para determinar quais velocidades de varreduras seriam utilizadas foi utilizado o EI-Ag. Foram efetuados estudos em diferentes velocidades de varredura de potencial, conforme mostrado na Figura 32, onde temos voltamogramas representativos para os dois eletrodos.

Figura 34: Voltamogramas cíclicos em solução de KCl ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) contendo $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (5 mmol.L^{-1}), em diferentes velocidades de varredura, para eletrodo EI/Ag.



Fonte: O autor

A Figura 32(a) mostra que, para velocidades maiores que 320 mV.s^{-1} , o EI-Ag apresentou um grande deslocamento, maior que 500 mV , entre os picos de oxidação e redução. A partir disso foram realizadas voltametrias cíclicas, novamente para 7 eletrodos, até 300 mV.s^{-1} [Figura 32(b)].

No diagnóstico 1 foi monitorada a diferença entre os valores de potenciais de pico anódico (E_{pa}) e potenciais de pico catódico (E_{pc}), segundo a equação 6

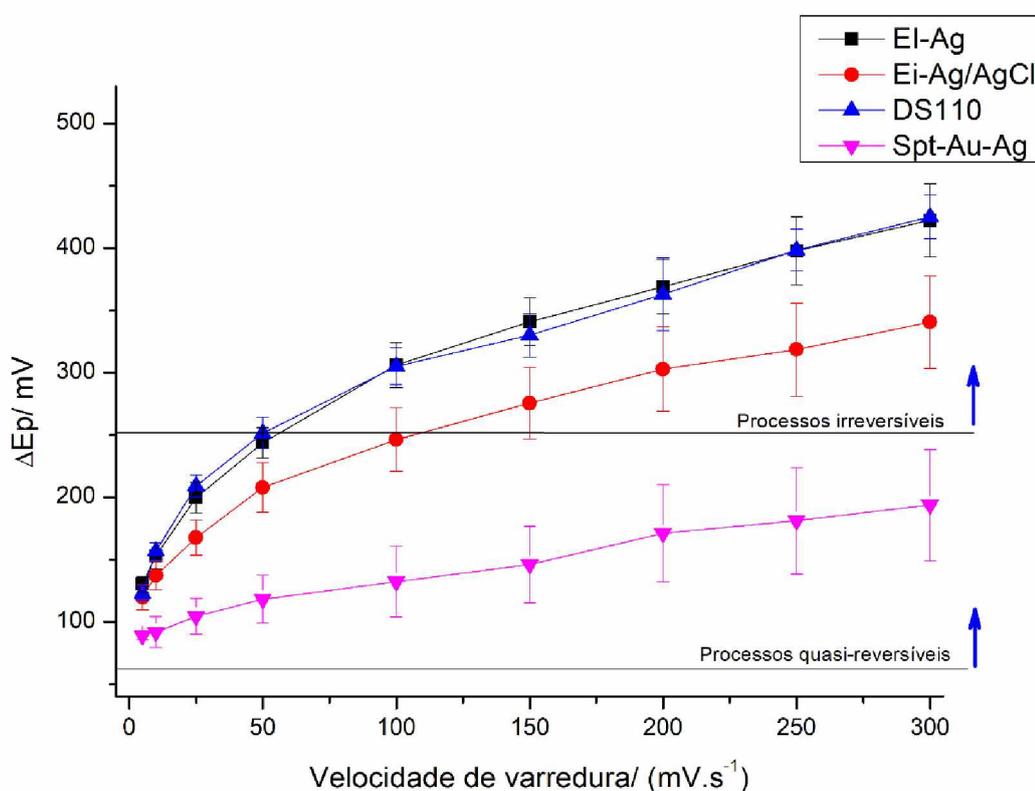
$$\text{Equação 6: } \Delta E_p = E_{pa} - |E_{pc}|$$

O diagnóstico 1, para sistema eletroquímico reversível, tem como resultado um valor de ΔE_p igual a 59 mV.n^{-1} , sendo n o número de elétrons envolvidos. Para este sistema, o ΔE_p se mantém constante, independente da velocidade de varredura aplicada. Já em um sistema quase-reversível, o valor de ΔE_p é maior que 59 mV/n , e este valor tende a aumentar com o aumento da velocidade de varredura. Para sistemas irreversíveis é observado um valor de ΔE_p

maior que 250 mV ou a ausência de picos na varredura reversa.^[12] Na figura 35 estão representados os resultados para esse diagnóstico e, na tabela 7, os dados utilizados para a construção do gráfico.

Para esse critério, foram avaliadas as velocidades de 5, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 250, e 300 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Figura 35: Variação do ΔE_p em função de incrementos de velocidade de varredura em solução de KCl ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) contendo $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ($5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag.



Fonte: O autor.

Os resultados de ΔE_p em função da velocidade de varredura mostram que o eletrodo EI-Ag e o eletrodo omercial DS110 tem comportamento eletroquímico semelhante, sofrendo o maior aumento da separação de pico com aumento da velocidade de varredura entre os eletrodos testados. O EI-Ag/AgCl mostrou a melhor resposta eletroquímica dentre os eletrodos impressos para este diagnóstico, pois mostrou uma menor sensibilidade a incrementos de velocidade de varredura, explicado pela eletrodeposição de $\text{AgCl}_{(s)}$, que

facilita o estabelecimento do equilíbrio dinâmico na interface do eletrodo com a solução. O SPT-Au-Ag, construído por *sputtering*, demonstrou ser o menos sensível a incrementos de velocidade de varredura, sendo o melhor dentre os eletrodos do tipo impresso. No quadro 7 temos todos os ΔE_p com desvio padrão obtidos.

Tabela 7: Valores de ΔE_p e desvio padrão para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em diferentes velocidades de varredura em solução de KCl (0,1 mol.L⁻¹) contendo K₃[Fe(CN)₆] e K₄[Fe(CN)₆] (5 mmol.L⁻¹).

ΔE_p								
	EI-Ag		EI-Ag/AgCl		DS110		Spt-Au-Ag	
V (mV.s ⁻¹)	ΔE_p (mV)	desv. Pad(±) mV						
5	130,2	6,1	119,8	10,1	122,9	5,5	89,0	2,9
10	153,1	10,4	137,3	11,7	156,7	7,0	91,9	12,6
25	199,7	12,3	167,6	14,2	209,1	8,8	104,5	14,5
50	243,9	12,3	207,9	20,1	251,5	12,5	118,3	19,5
100	306,1	18,1	246,3	25,4	305,2	14,7	132,2	28,3
150	341,0	19,0	275,5	28,7	330,0	17,4	146,0	30,6
200	369,0	21,9	302,8	33,8	363,0	29,2	171,2	39,0
250	397,8	27,6	318,7	37,4	398,4	16,7	181,3	42,7
300	422,3	29,3	340,6	37,1	425,2	17,4	193,9	44,8

Fonte: o autor

Pode ser constatado, baseado no Quadro 7 que todos os eletrodos apresentam um aumento de ΔE_p com o aumento na velocidade de varredura, que é uma característica de sistemas quase-reversíveis. Notamos também que a soma dos valores de ΔE_p médio com seu desvio padrão indica que o eletrodo de SPT-Au-Ag apresenta menores valores para todas velocidades, sugerindo melhor reversibilidade dos processos redox. Para todas as velocidades testadas para este eletrodo, os processos eletroquímicos foram quasi-reversíveis. Processos com $\Delta E_p > 250$ mV são considerados já como irreversíveis. Baseado neste parâmetro, os processos eletroquímicos que ocorrem nos eletrodos EI-Ag e DS110 são quasi-reversíveis para velocidades de até 50 mV.s⁻¹, já o EI-Ag/AgCl apenas para velocidades maiores que 100 mV.s⁻¹, sendo melhor que estes dois últimos.

Visando avaliar o segundo diagnóstico de reversibilidade para os eletrodos, foi construída uma tabela contendo os valores de potencial de pico catódico (E_{pc}) e respectivos desvios padrão, em função das velocidades de varredura de potencial (Tabela 8).

Tabela 8: Valores de E_{pc} para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) contendo $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (5 mmol.L^{-1}).

Fonte: O autor

Epc								
	EI-Ag		EI-Ag/AgCl		DS110		Spt-Au-Ag	
V (mV.s-1)	Ep (mV)	desv. Pad(±) mV	Ep (mV)	desv. Pad(±) mV	Ep (mV)	desv. Pad(±) mV	Ep (mV)	desv. Pad(±) mV
5	95,7	5,7	93,5	9,4	66,6	9,1	121,1	5,5
10	85,9	9,7	87,0	12,1	49,5	7,5	120,0	7,6
25	60,4	14,2	70,5	16,7	23,5	6,3	114,9	8,6
50	38,1	17,4	48,9	19,2	3,6	7,7	107,4	11,2
100	7,2	22,4	26,6	24,6	-22,9	6,5	96,1	12,7
150	-8,6	24,4	12,2	27,7	-34,3	8,7	91,9	15,4
200	-25,9	29,9	-2,9	30,9	-50,6	9,3	78,4	17,0
250	-40,3	30,9	-10,8	34,4	-68,5	6,8	75,9	19,1
300	-50,3	28,6	-20,9	36,2	-78,2	8,1	68,4	20,6

A tabela 8 indica que os valores de E_{pc} em função da velocidade de varredura deslocam para valores mais negativos, com o aumento da velocidade de varredura, para ambos os tipos de eletrodos de referência utilizados, caracterizando ambos os sistemas como quase-reversíveis.

Baseado no segundo diagnostico, em que quanto menor o deslocamento para valores catódicos, melhor a reversibilidade, os EI-Ag e EI-Ag/AgCl tiveram melhor desempenho que o eletrodo comercial DS110 e, novamente, o eletrodo EI-Ag/AgCl se saiu melhor dentre os eletrodos do tipo impressos. O deslocamento sofrido pelo eletrodo Spt-Au-Ag foi o menor de todos, sendo, portanto, o melhor segundo este diagnóstico.

O critério 3 avalia a razão da magnitude dos valores de corrente de pico anódico (I_{pa}) e catódico (I_{pc}), tendo como função o aumento da velocidade de varredura. A tabela 9 representa esses resultados.

Tabela 9: Valores de $|I_{pa}/I_{pc}|$ para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) contendo $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (5 mmol.L^{-1}).

Ip								
V (mV.s-1)	EI-Ag		EI-Ag/AgCl		DS110		Spt-Au-Ag	
	$ I_{pa}/I_{pc} $	desv. Pad(\pm)	$ I_{pa}/I_{pc} $	desv. Pad(\pm)	$ I_{pa}/I_{pc} $	desv. Pad(\pm)	$ I_{pa}/I_{pc} $	desv. Pad(\pm)
5	0,98	0,02	0,96	0,02	1,03	0,05	1,02	0,05
10	1,00	0,03	1,02	0,03	1,01	0,01	1,02	0,04
25	1,00	0,02	0,99	0,01	1,00	0,01	0,99	0,02
50	1,01	0,01	0,99	0,01	0,99	0,01	0,98	0,03
100	1,00	0,02	0,98	0,01	0,99	0,02	1,01	0,03
150	1,02	0,04	0,99	0,01	0,99	0,04	0,99	0,03
200	1,01	0,04	0,98	0,02	0,98	0,02	0,98	0,04
250	1,01	0,04	1,00	0,01	0,97	0,02	0,99	0,03
300	1,01	0,04	1,00	0,02	0,98	0,03	0,98	0,02

Fonte: O autor

Para todos os eletrodos, os valores de I_{pa}/I_{pc} observados foram bem próximos a 1,00 indicando um sistema quase-reversível para todos eletrodos. Caso o valor fosse exatamente 1,00 o processo seria reversível, o que significaria que a quantidade de elétrons envolvidas na oxidação é o mesmo que na redução. Observamos no Quadro 9 que não houve nenhuma diferença significativa dentre todos os eletrodos.

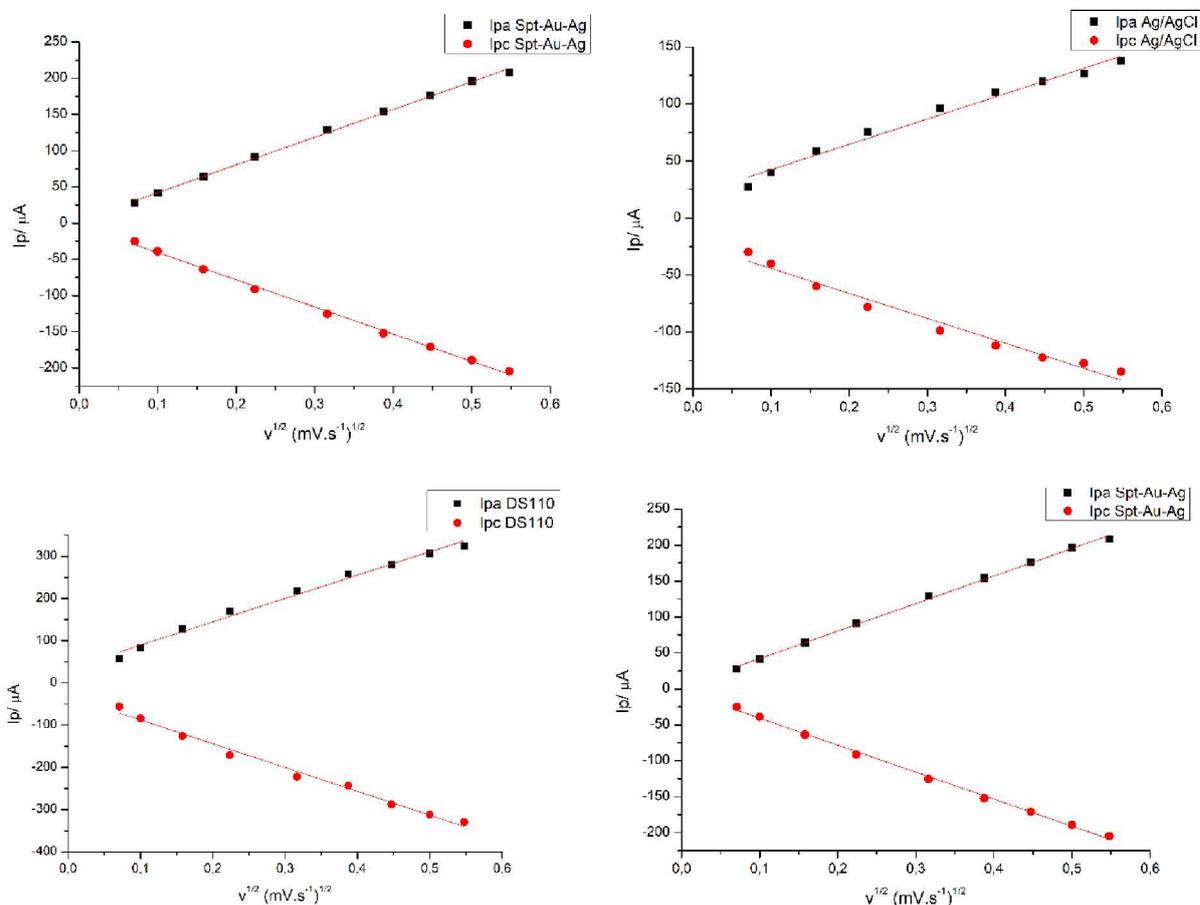
O critério 4 é fundamentado na equação de Randles-Sevcic, equação 7.

Equação 7: $I_p = 2,686 \cdot 10^5 \cdot C \cdot A \cdot n^{3/2} D^{1/2} \cdot V^{1/2}$

Esta equação mostra que a corrente de pico varia proporcionalmente com a concentração das espécies, a área eletroativa do eletrodo de trabalho, o número de elétrons envolvidos, o coeficiente de difusão e a raiz quadrada da velocidade de varredura. Com base nisso, foi construído um gráfico para os eletrodos, relacionando a corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura.

A Figura 36 mostra a representação gráfica que relaciona a equação de Randles-Sevcic para ambos os eletrodos, e o Quadro 10 apresenta os valores de coeficientes de correlação para os eletrodos.

Figura 36: I_p vs. $v^{1/2}$ para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl (0,1 mol.L⁻¹) contendo K₃[Fe(CN)₆] e K₄[Fe(CN)₆] (5 mmol.L⁻¹).



Fonte: O autor

Tabela 10: Valores de correlação ao quadrado de I_p vs $V^{1/2}$ para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl (0,1 mol.L⁻¹) contendo K₃[Fe(CN)₆] e K₄[Fe(CN)₆] (5 mmol.L⁻¹).

	R ² Anódico	R ² Catódico
EI-Ag	0,991	0,990
EI-Ag/AgCl	0,988	0,988
SPT-Au-Ag	0,999	0,999
DS110	0,995	0,995

Fonte: O autor

A Tabela 10 indica linearidade entre os valores de corrente de pico e o aumento da raiz quadrada da velocidade de varredura, quanto mais próximo de 1,00 o valor de correlação, maior a reversibilidade do sistema. ^{[9][12]} Observando os parâmetros deste diagnóstico, o DS110 teve um maior valor de R^2 dentre os eletrodos impressos, e o segundo melhor é o EI-Ag/AgCl. Já o Spt-Au-Ag teve novamente o melhor desempenho de todos, melhor mesmo que o eletrodo comercial, pois teve $R^2 > 0,999$.

4.4.3 Avaliação da Repetibilidade

Com o intuito de avaliar e comparar a repetibilidade das respostas eletroquímicas dos eletrodos construídos, foram utilizados os dados do experimento com a sonda catiônica $K_3[Fe(CN)_6]$ e $K_4[Fe(CN)_6]$. Foi avaliada a repetibilidade dos valores de corrente, porém foi normalizado pela densidade de corrente, pois o eletrodo comercial DS110 possui uma área que é o dobro dos eletrodos construídos para este trabalho, visto que a corrente é proporcional a área do eletrodo de trabalho. Assim como em todos os testes deste trabalho, os testes foram realizados com 7 eletrodos diferentes para maior confiabilidade nos resultados. Abaixo na Tabela 11 temos os resultados.

Tabela 11: Valores de densidade de corrente anódica I_{pa} para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) contendo $K_3[Fe(CN)_6]$ e $K_4[Fe(CN)_6]$ (5 mmol.L^{-1}).

I_{pa}								
$V \text{ (mV.s}^{-1}\text{)}$	EI-Ag		EI-Ag/AgCl		DS110		SPT-Au-Ag	
	Média $I_{pa} \text{ } \mu\text{A}$	Desv. Pad (\pm)	Média $I_{pa} \text{ } \mu\text{A}$	Desv. Pad (\pm)	Média $I_{pa} \text{ } \mu\text{A}$	Desv. Pad (\pm)	Média $I_{pa} \text{ } \mu\text{A}$	Desv. Pad (\pm)
10 mV.s^{-1}	5,6	1,3	6,1	1,1	6,0	0,4	6,36	0,39
25 mV.s^{-1}	8,9	1,4	9,4	1,4	9,0	0,7	10,21	0,87
50 mV.s^{-1}	11,6	1,8	12,9	3,0	12,0	0,9	13,50	1,61
100 mV.s^{-1}	14,8	2,2	16,0	3,2	15,6	1,0	19,99	3,02
150 mV.s^{-1}	16,6	2,2	18,1	3,5	17,2	2,0	25,24	4,02
200 mV.s^{-1}	18,7	2,6	19,5	3,8	19,1	2,3	29,23	3,70
250 mV.s^{-1}	20,1	2,8	20,8	3,8	21,0	1,9	32,70	4,60
300 mV.s^{-1}	21,1	3,0	21,8	4,1	22,0	2,0	35,44	5,54

Fonte: O autor

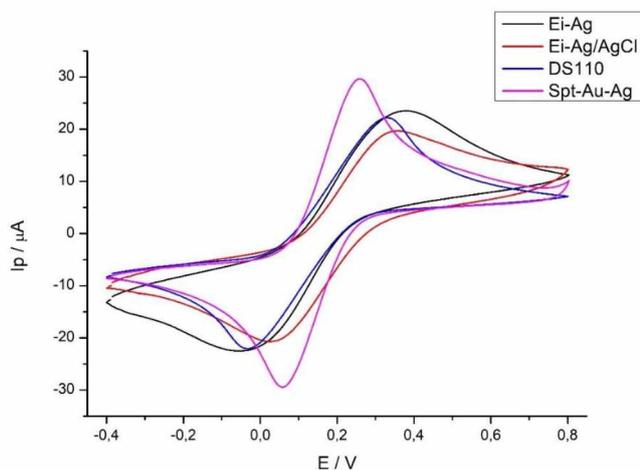
Tabela 12: Valores de densidade de corrente catódica I_{pc} para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) contendo $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (5 mmol.L^{-1}).

I_{pc}

$V \text{ (mV.s}^{-1}\text{)}$	EI-Ag		EI-Ag/AgCl		DS110		SPT-Au-Ag	
	Média $I_{pc} \text{ } \mu\text{A}$	Desv. Pad (\pm)	Média $I_{pc} \text{ } \mu\text{A}$	Desv. Pad (\pm)	Média $I_{pc} \text{ } \mu\text{A}$	Desv. Pad (\pm)	Média $I_{pc} \text{ } \mu\text{A}$	Desv. Pad (\pm)
10 mV.s^{-1}	-5,6	1,3	-6,0	1,1	-6,0	0,4	-6,2	0,4
25 mV.s^{-1}	-8,8	1,4	-9,5	1,5	-9,0	0,6	-10,3	1,0
50 mV.s^{-1}	-11,5	1,9	-13,0	3,1	-12,2	0,9	-14,5	1,9
100 mV.s^{-1}	-14,8	2,5	-16,3	3,4	-15,8	1,1	-19,9	3,4
150 mV.s^{-1}	-16,4	2,5	-18,3	3,7	-17,3	1,8	-25,7	4,8
200 mV.s^{-1}	-18,7	3,1	-19,7	4,0	-19,5	2,3	-29,9	4,7
250 mV.s^{-1}	-20,0	3,2	-20,5	4,0	-21,6	1,8	-33,0	5,2
300 mV.s^{-1}	-21,1	3,4	-21,6	4,4	-22,6	1,9	-36,1	5,7

Analisando os quadros 11 e 12, pode ser observado que a densidade de corrente dos eletrodos EI-Ag e EI-Ag/AgCl são semelhantes ao eletrodo comercial DS110, apesar de terem um desvio padrão levemente maior. Ao observar o SPT-Au-Ag, temos valores de densidade de corrente significativamente maiores que o eletrodo comercial DS110. Esta maior densidade de corrente indica que ocorre maior transferência eletrônica no eletrodo SPT-Au-Ag que no eletrodo comercial, pois a uma mesma concentração de analito, foi obtido um maior sinal de corrente. A figura 35 mostra os voltamogramas cíclicos para um eletrodo representativo de cada tipo a 300 mV.s^{-1} , onde pode ser constatada esta observação.

Figura 37: Último ciclo de potencial a 300 mV.s^{-1} para EI-Ag, EI-Ag/AgCl, DS110, SPT-Au-Ag em solução de KCl ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) contendo $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (5 mmol.L^{-1}).

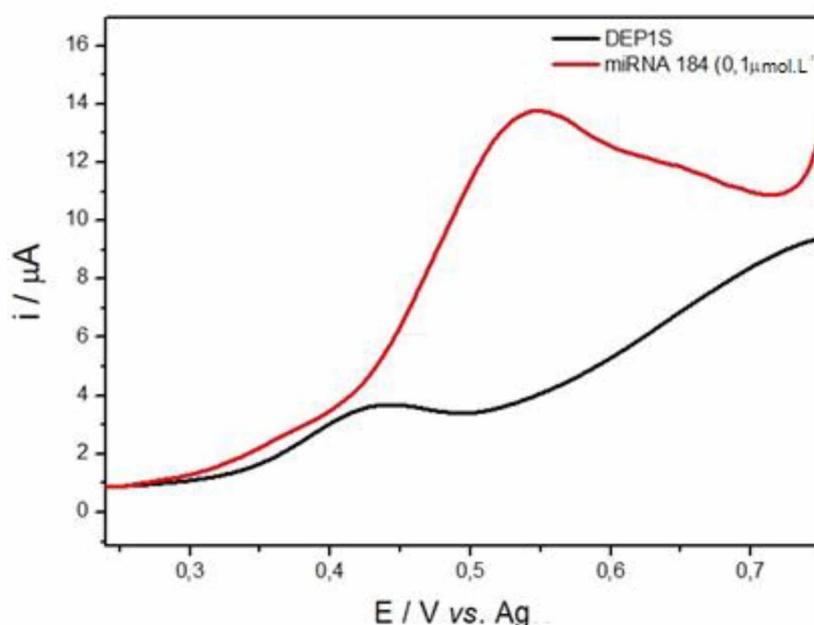


Fonte: O autor

4.5 Aplicação de eletrodos impressos em biossensores

MicroRNAs (miRNA) são filamentos de RNA não codificados que contêm entre 20 e 24 nucleotídeos.^[76] O MicroRNA-184, especificamente, é uma molécula descrita na literatura e possui papel importante em diversas doenças, tais como osteosarcomas^[77], adenocarcinomas^[78], câncer de ovário^[79], câncer de mama^[80] e glioblastomas^[81]. Deste modo, a sua detecção tem grande relevância para o diagnóstico e/ou monitoramento de patologias. O miRNA-184 foi detectado por meio de detecção indireta, utilizando o brometo de etídio como mediador. Foi monitorada a amplificação de seu sinal de corrente para processos anódicos. Na Figura 38 temos a sobreposição de um voltamograma representativo para sonda e alvo.

Figura 38: Voltamograma de pulso diferencial para sonda (DEP1S)+brometo de etídio e sonda-alvo (DEP1S-MicroRNA-184)+brometo de etídio utilizando o eletrodo SPT-Au-Ag

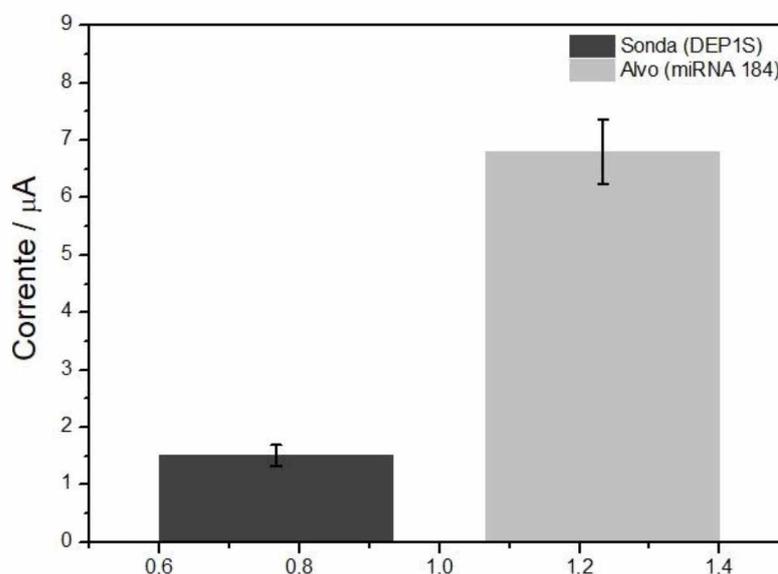


Fonte: O autor

A Figura 38 mostra claramente uma diferenciação entre a resposta do eletrodo contendo apenas a sonda e o eletrodo contendo a sonda que teve interação com o alvo. Essa diferenciação se deu devido a capacidade do brometo de etídio se ligar, preferencialmente, na dupla fita de DNA formada pela interação sonda-alvo. Esta diferenciação é perceptível para valores de corrente de pico e para potenciais de oxidação, ou seja, trata-se de um biossensor amperométrico e potenciométrico. Os valores de potenciais obtidos foram +0,44 V (somente

sonda) e +0,55 V (interação sonda-alvo) vs. $Ag_{(s)}$. Essa diferença de potencial pode ser explicada pelo fato do brometo de etídio estar intercalado entre as bases nitrogenadas, as quais fornecem maior resistência a processos eletroquímicos, deslocando o pico de oxidação do brometo de etídio para maior potencial. De modo oposto, quando o intercalante de DNA se encontra ligado apenas a simples fita (sonda), o pico de oxidação aparece em menor potencial (0,44 V). Na figura 39 temos a representação do histograma contendo a média e desvio padrão para a triplicata realizada.

Figura 39: Histograma representativo dos valores de corrente de sonda e alvo com desvio padrão para detecção de MicroRNA-184.



Fonte: O autor

O histograma mostra claramente uma grande diferenciação de valor de corrente entre o eletrodo contendo apenas a sonda e o eletrodo contendo a sonda que teve interação com o alvo, tendo este último um valor de corrente 4,53 vezes maior que a resposta do eletrodo somente com a sonda. Esta diferença pode ser explicada pela capacidade do intercalante de DNA brometo de etídio apresentar maior afinidade ao *duplex* de DNA, ligando-se com maior intensidade neste caso ao alvo. Os valores de desvio padrão para a sonda foram de 11,92% e de 8,30% para o alvo, Sendo estes resultados considerados promissores por ser obtidos a partir de um experimento exploratório inicial.

CONCLUSÕES

A utilização de adesivo vinílico comercial, se mostrou uma alternativa eficiente para substituição das telas de gravação de eletrodos impressos, e ainda eficaz para construção de eletrodos por *sputtering*. Foi possível preparar com êxito uma tinta de carbono com aplicabilidade em impressão de eletrodos impressos. A utilização de HCl para a transformação EI-Ag em EI-Ag/AgCl foi confirmada. A partir das imagens de microscopia eletrônica de varredura foi possível observar a presença de flocos na tinta de prata, bem como o cloreto de prata recobrindo os flocos, isto para o EI-Ag e EI-Ag/AgCl. Por microscopia de força atômica, foi observada uma maior rugosidade da superfície dos eletrodos do tipo EI, em comparação com o eletrodo comercial (DS110), bem como estas análises confirmaram a modificação da superfície após preparação do eletrodo de referência por cronoamperometria, pelo aparecimento de aglomerados e aumento nos valores de rugosidade. Os condicionamentos eletroquímicos dos EI preparados neste trabalho foram adequados e necessários para sua utilização. Comparando entre os eletrodos impressos, o EI-Ag/AgCl apresentou menor corrente de fundo e menor ruído, em comparação ao eletrodo EI/Ag. Os diagnósticos de reversibilidade eletroquímica indicam uma melhor resposta eletroquímica do eletrodo SPT-Au-Ag, seguido do EI-Ag/AgCl. O eletrodo DS110 teve um desempenho de reversibilidade semelhante ao EI-Ag. Analisando a repetibilidade da densidade de corrente temos que o SPT-Au-Ag teve uma maior densidade de corrente. Esta maior sensibilidade de corrente implica em uma maior sensibilidade eletroquímica. A densidade de corrente para os EI foi semelhante ao do eletrodo comercial. A utilização do SPT-Au-Ag na detecção do miRNA-184 foi possível amperometricamente e potenciometricamente, demonstrando potencial de aplicabilidade.

6 PERSPECTIVA FUTURAS

- Aplicação dos eletrodos EI/Ag, EI-Ag/AgCl e SPT-Au-Ag na construção de biossensores;
- Avaliação dos eletrodos EI/Ag, EI-Ag/AgCl e SPT-Au-Ag por Espectroscopia de Impedância eletroquímica

REFERÊNCIAS

- [1] – HIGGINS, IJ; HILL HAO; PLOTKINS, EV; E GENETICS INTERNATIONAL, INC. Sensor for components of a liquid mixture. A61B 5/00. US 4711245. 7 de maio de 1984. 8 de dezembro de 1987. Disponível em www.freepatentsonline.com/patent/4711245.pdf Acesso em 20 de Novembro de 2018
- [2] – CASS, A. E. G.; DAVIS G.; FRANCIS D. G; HILL H. O. Ferrocene mediated enzyme for electrode for amperometric determination of glucose. Anal Chem, v. 56, n. 4 p. 667-671, 1984 <https://doi.org/10.1021/ac00268a018>
- [3] – EBTISAM WILKINS; Membrane electrode for non-ionic species. A61B 500; US 4440175, 3 de Abril de 1984. Disponível em <https://patents.justia.com/patent/4440175> Acesso em 20 de Novembro de 2018
- [4] DE PAULA, L.F Desenvolvimento de tintas condutivas e sua aplicação em eletrodos impressos. 2013 Tese de doutorado - Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia
- [5] – <http://www.mein-diabetes-blog.com/blutzuckermessung-vor-20-jahren/> Acesso em 20 de Novembro de 2018
- [6] – NATARAJAN THIYAGARAJAN, JEN-LIN CHANG, KRISHNAN SENTHILKUMAR, JYH-MYNG ZEN. Disposable electrochemical sensors: A mini review. Electrochemistry Communications 38 (2014) 86–90
<https://doi.org/10.1016/j.elecom.2013.11.016>
- [7] – NIINA J. RONKAINEN, H. BRIAN HALSALLB AND WILLIAM R. HEINEMANB. Electrochemical biosensors. Chemical Society Reviews. ,vol 5. 1 de fevereiro de 2010
<https://doi.org/10.1039/B714449K>
- [8] – JOSHUA RAY WINDMILLER, AMAY JAIRAJ BANDODKAR, SERGUEY PARKHOMOVSKY AND JOSEPH WANG. Stamp transfer electrodes for electrochemical sensing on non-planar and oversized surfaces. Analyst, volume 7 2012, pg 137
<https://doi.org/10.1039/C2AN35041F>
- [9] – HAYAT. A., MARTY J.L, Disposable screen printed electrochemical sensors: tools for environmental monitoring. Sensors 2014 Jun 13;14(6):110432-10453 [10.3390/s140610432](https://doi.org/10.3390/s140610432)
- [10] – HAYAT, A.; ANDREESCU, S.; MARTY, J.-L. Design of PEG-aptamer two piece macromolecules as convenient and integrated sensing platform: Application to the label free detection of small size molecules. Biosens.. 2013, 45, 168–173 [10.1016/j.bios.2013.01.059](https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.01.059)

- [11] – HAYAT, A.; HAIDER, W.; ROLLAND, M.; MARTY, J.-L. Electrochemical grafting of long spacer arms of hexamethyldiamine on a screen printed carbon electrode surface: Application in target induced ochratoxin A electrochemical aptasensor. *Analyst* 2013, 138, 2951–2957 [10.1039/c3an00158j](https://doi.org/10.1039/c3an00158j)
- [12]-<https://www.metrohm.com/en-sg/products/electrochemistry/electrochemistry-electrodes/EISMIX> acesso em 22 de novembro de 2018.
- [13] –<https://www.palmsens.com/product/ac1-w1-r1-2> acesso em 22 de novembro de 2018.
- [14] – <https://www.palmsens.com/product/italsens-is-c/>acesso em 22 de novembro de 2018.
- [15]-<https://www.palmsens.com/products/sensors/screen-printed-electrodes/?filters=re-material> acesso em 22 de novembro de 2018.
- [16] – http://www.dropsens.com/en/screen_printed_electrodes_pag.html acesso em 22 de novembro de 2018.
- [17] –<http://www.nanoshel.in/screen-printed-electrodes.html>acesso em 22 de novembro de 2018
- [18] –http://www.gwent.org/gs_overview.html acesso em 22 de novembro de 2018
- [19] – BOCKRIS JO'M, KHAN SUM (1993) *Surface electrochemistry*. Plenum Press, New York
- [20] – HEYROVSKY J, KUTA J (1966) *Principles of polarography*. Academic Press, New York
- [21] – BOND AM, SCHOLZ F (1990) *Electroanalytical Methods*, 2 edição, Springer
- [22] –http://www.quimica.ufpr.br/fmatsumo/antigo/20122_CQ736_Voltametria2.pdf acesso em 21 de janeiro de 2019
- [23] – DOBLHOFER K (1994) Thin polymer films on electrodes: a physicochemical approach. In: Lipkowski J, Ross PN *The electrochemistry of novel materials*. VCH, Weinheim, Editor: Fritz Scholz, pg 141
- [24] – *Eletroanalitical Methods*, F. SCHOLZ, ed Springer, 2 ed 2009
- [25] – APETREI, C., APETREI, IM., DE SAJA, J. A., RODRIGUEZ-MENDEZ, M. L. Carbon Paste Electrodes Made from Different Carbonaceous Materials: Application in the Study of Antioxidants. *Sensors*, 11, 1328-1344, 2011 [10.3390/s110201328](https://doi.org/10.3390/s110201328)
- [26] – SVANCARA, I., KALCHER, K., WALCARIUS, A., VYTAS, K. *Electroanalysis with carbon paste electrodes*. Boca Raton, London, New York: CRC Press, 10-126. 2012.
- [27] – Detection of Antibiotics and Evaluation of Antibacterial Activity with Screen-Printed Electrodes. *Sensors*. Março 2018, volume 18 pg 901 [10.3390/s18030901](https://doi.org/10.3390/s18030901)

- [28] – Tangkuaram T., Ponchio C., Design and development of a highly stable hydrogen peroxide biosensor on screen printed carbon electrode based on horseradish peroxidase bound with gold nanoparticles in the matrix of chitosan. *Biosensors & Bioelectronics* Volume 22, 15 April 2007, pg 2071-2078 [10.1016/j.bios.2006.09.011](https://doi.org/10.1016/j.bios.2006.09.011)
- [29] – Bard, Allen J.; Larry R. Faulkner (2000-12-18). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications* (2 ed.). Wiley.
- [30] – Ives, David J. G.; George J. Janz (1961). *Reference Electrodes, Theory and Practice* (1 ed.). Academic Press.
- [31] – <https://www.gamry.com/application-notes/electrodes-cells/reference-electrodes/> acesso em 22 de novembro de 2018
- [32] – OLIVEIRA, WANDA DE. Eletrodo de hidrogênio: o que há nos livros didáticos além de $E = 0?$. *Química. Nova*, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 1064-1068, 2009 [10.1590/S0100-40422009000400041](https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400041)
- [33] – <http://www.consultrsr.net/resources/ref/refpotls.htm> acesso em 22 de Novembro de 2018
- [34] – "Electrochemistry for Chemists, Second Edition", DT SAWYER, AJ SOBKOWIAK, J ROBERTS, JR., JOHN WILEY & SONS, Nova York (1995). Seção 5.2
- [35] – "Handbook of Analytical Chemistry", L Meites, ed., MCGRAW HILL, Nova York (1963). Cap 5.
- [36] – SOPHOCLEOUS M., ATKINS J. K. A review of screen-printed silver/silver chloride (Ag/AgCl) reference electrodes potentially suitable for environmental potentiometric sensors, *Sensors and Actuators A: Physical* Volume 267, 1 November 2017, Pages 106-120 [10.1016/j.sna.2017.10.013](https://doi.org/10.1016/j.sna.2017.10.013)
- [37] – M. GLANC, M. SOPHOCLEOUS, J.K. ATKINSONA, E. GARCIA-BREIJO The effect on performance of fabrication parameter variations of thick-film screen printed silver/silver chloride potentiometric reference electrodes, *Sensors and Actuators A* 197 (2013) 1–8 [10.1016/j.sna.2013.03.036](https://doi.org/10.1016/j.sna.2013.03.036)
- [37] - <https://goldbook.iupac.org/html/B/B00663.html> Acesso em 22 de Novembro de 2018
- [38] - WANG, J. From DNA Biosensors to Gene Chips. *Nucleic Acids Research*, v.28, n.16, p.3011-3016, 2000. [10.1093/nar/28.16.3011](https://doi.org/10.1093/nar/28.16.3011)
- [39] - FERREIRA, D.C Imunossensor para diagnóstico da anaplasmose bovina a partir da plataforma de grafite funcionalizada com poli (ácido 3-hidroxidobenzoico) 2015. Tese de doutorado - Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia

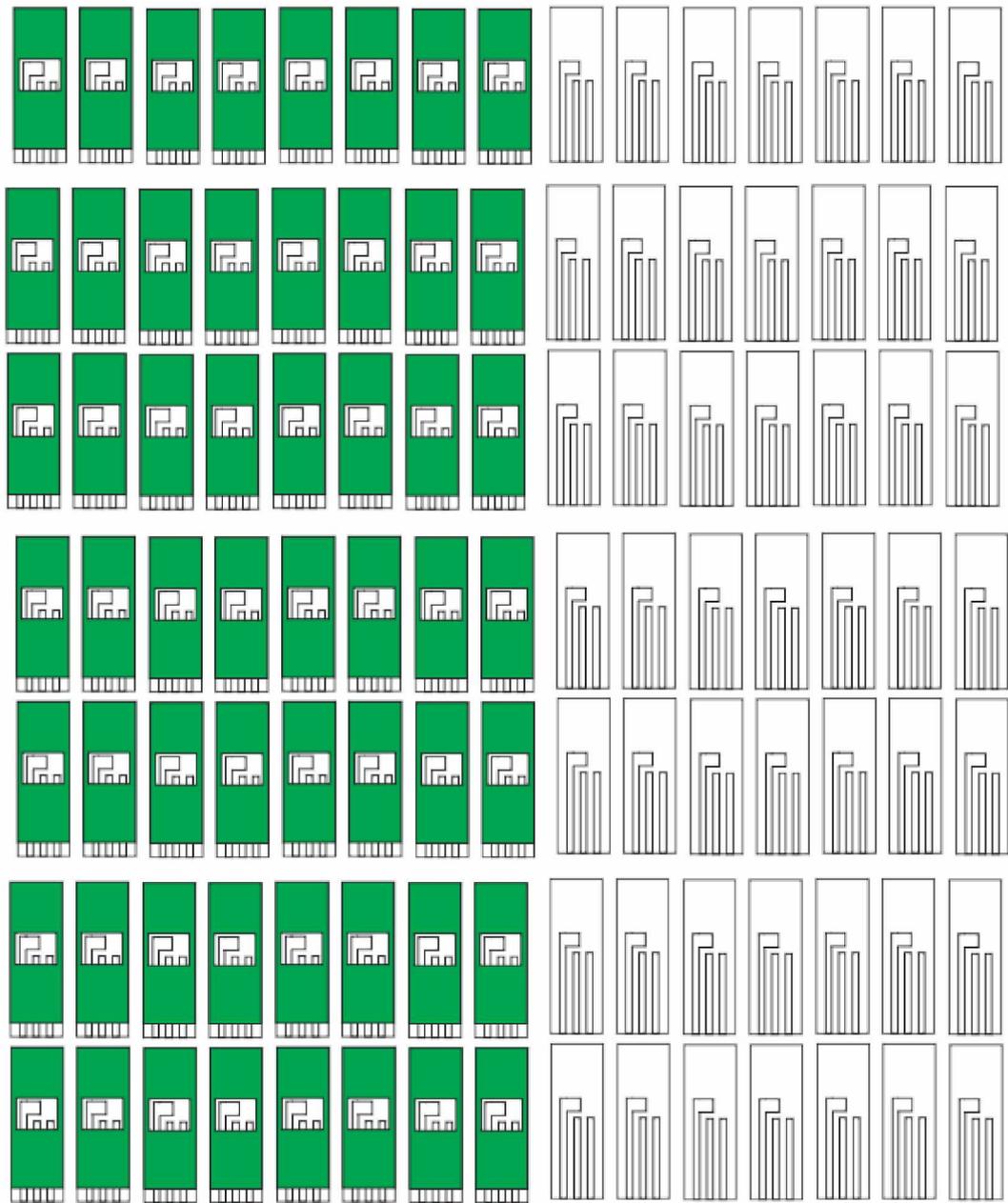
- [40] - HEALY, D.A., HAYES, C.J., LEONARD, P., MCKENNA, L., O'KENNEDY, R., Biosensor developments: application to prostate-specific antigen detection. Trends in Biotechnology, 25, 125-131, 2007 [10.1016/j.tibtech.2007.01.004](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.01.004)
- [41] - SHENGBO S., WENDONG Z., YUAN Z., Review on the design art of biosensors. State of the art in biosensors - General aspects. cap. 4. 2013.p.89-110
- [42] – SILVA, R. Preparação de pasta de carbono com poli(4-aminofenol) e desenvolvimento de eletrodo de trabalho com aplicação em biossensores. 2018, dissertação de mestrado. Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia
- [43] – OLIVEIRA, A., E., F., PEREIRA, A., C. Biossensores e a Indústria Alimentar - Revisão. Revista. Virtual Química, 2016. Vol 8. Num. 5
- [44] – SKOOG, A.D., HOLLER, F.J., NIEMAN, T.A. Principles of Instrumental Analysis, Bookman, Porto Alegre, 2002
- [46] – HWANG, G. M.; DICARLO, A. A.; LIN, G. C. An Analysis on the Detection of Biological Contaminants Aboard Aircraft. PLOS ONE, v. 6, n. 1, jan 2011.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014520>
- [47] – GABIG-CIMINSKA, M. *et al.* Identification of Pathogenic Microbial Cells and Spores by Electrochemical Detection on a Biochip. Microbial Cell Factories, v.3, n.2, abr 2004.
[10.1186/1475-2859-3-2](https://doi.org/10.1186/1475-2859-3-2)
- [48] – BANERJEE, P. *et al.* A Novel and Simple Cell-based Detection System with a Collagenencapsulated B-lymphocyte Cell Line as a Biosensor for Rapid Detection of Pathogens and Toxins. Laboratory Investigation, v.88, p.196-206, fev 2008.
<https://doi.org/10.1038/labinvest.3700703>
- [49] – STRATIS-CULLUM, D. N. *et al.* Intensified Biochip System Using Chemiluminescence for the Detection of Bacillus globiggi spores. Bioanalysis, v.391, p.1655-1660, 2008 [10.1007/s00216-008-1835-0](https://doi.org/10.1007/s00216-008-1835-0)
- [50] – MCGOVERN, John-Paul *et al.* Array Lead Zirconate Titanate/Glass Piezoelectric Microcantilevers for Real-time Detection of Bacillus anthracis with 10 spores/ml Sensitivity and 1/1000 Selectivity in Bacterial Mixtures. Review of Scientific Instruments, v.80, dez 2009. [10.1063/1.3264082](https://doi.org/10.1063/1.3264082)
- [51] – PAPO, N. *et al.* A Novel Lytic Peptide Composed of DL-Amino Acids Selectively Kills Cancer Cells in Culture and in Mice. The Journal of Biological Chemistry, v.278, n.23, p.21018-21023, jun 2003 [10.1074/jbc.M211204200](https://doi.org/10.1074/jbc.M211204200)
- [52] – NONAKA, Y.; SODE, K.; IKEBUKURO, K. Screening and Improvement of an

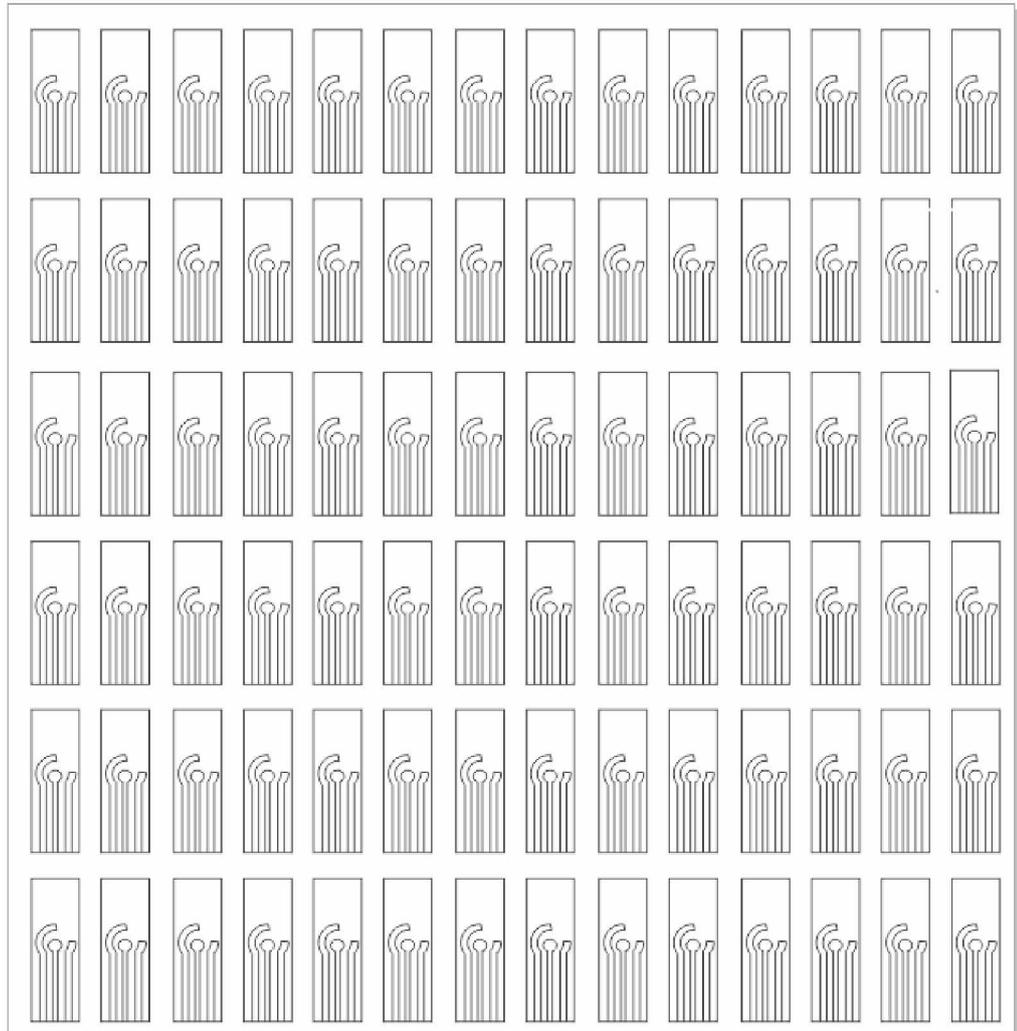
- AntiVEGF DNA Aptamer. *Molecules*, v.15, p.215-225, 2010. [10.3390/molecules15010215](https://doi.org/10.3390/molecules15010215)
- [53] – CHU, B. H. *et al.* Aluminum Gallium Nitride (GaN)/GaN High Electron Mobility Transistor-Based Sensors for Glucose Detection in Exhaled Breath Condensate, *Journal of Diabetes Science and Technology*, v.4, n.1, p.171-179, jan 2010.
- [54] – LAIWATTANAPAISAL, W. *et al.* On-Chip Immunoassay for Determination of Urinary Albumin. *Sensors*, v.9, p.10066-10079, dez 2009. [10.3390/s91210066](https://doi.org/10.3390/s91210066)
- [55] – PERUMAL, V.; HASHIM, U. Advances in biosensors: Principle, architecture and applications. *Journal of Applied Biomedicine*, v. 12, n. 1, p. 1-15, 2014. [10.1016/j.jab.2013.02.001](https://doi.org/10.1016/j.jab.2013.02.001)
- [56] – D'Orazio, P.; "Biosensors in clinical chemistry". *Clinica Chimica Acta*, 334, 2003, 41-69. [10.1016/s0009-8981\(03\)00241-9](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(03)00241-9)
- [57] – Mello, L. D. and Kubota, L. T.; "Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries". *Food Chemistry*, 77, 2002, 237-256. [10.1016/s0308-8146\(02\)00104-8](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00104-8)
- [58] – RODRIGUES, L. P SISTEMAS BIOMIMÉTICOS POLIMÉRICOS PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE DOENÇAS HUMANAS E DE ANIMAIS 2014. Tese de doutorado. Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia
- [59] – SEGATTO, M.S. Desenvolvimento da plataforma de grafite funcionalizada com poli(ácido 4-hidroxifenilacético) sobre óxido de grafeno reduzido-nanopartículas de ouro, para detecção do hormônio triiodotironina. 2017. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia
- [60] – KARUNAKARAN, C.; RAJKUMAR, R.; BHARGAVA, K. Chapter 1 - Introduction to Biosensors. In: KARUNAKARAN, C.; BHARGAVA, K., *et al* (Ed.). *Biosensors and Bioelectronics*: Elsevier, 2015. p.1-68.
- [61] – ALVES, M. L. Biosensores para detecção de *Toxoplasma gondii*. 2018. Tese de doutorado. Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia
- [62] – Analytical Chemistry, J. WANG, ed Wiley-VCH- terceira edição, pg 29 2006
- [63] – OLDHAM KB, MYLAND JC (1994) *Fundamental of Electrochemical Science*. Academic Press, London, pg 424 <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000200038>
- [65] – <https://studylib.net/doc/18860878/electroanalytical-methods-2010> acesso em 23 de novembro de 2018
- [67] – SKOOG, A.D., HOLLER, F.J., NIEMAN, T.A. *Skoog, Análise instrumental*, 6 ed,

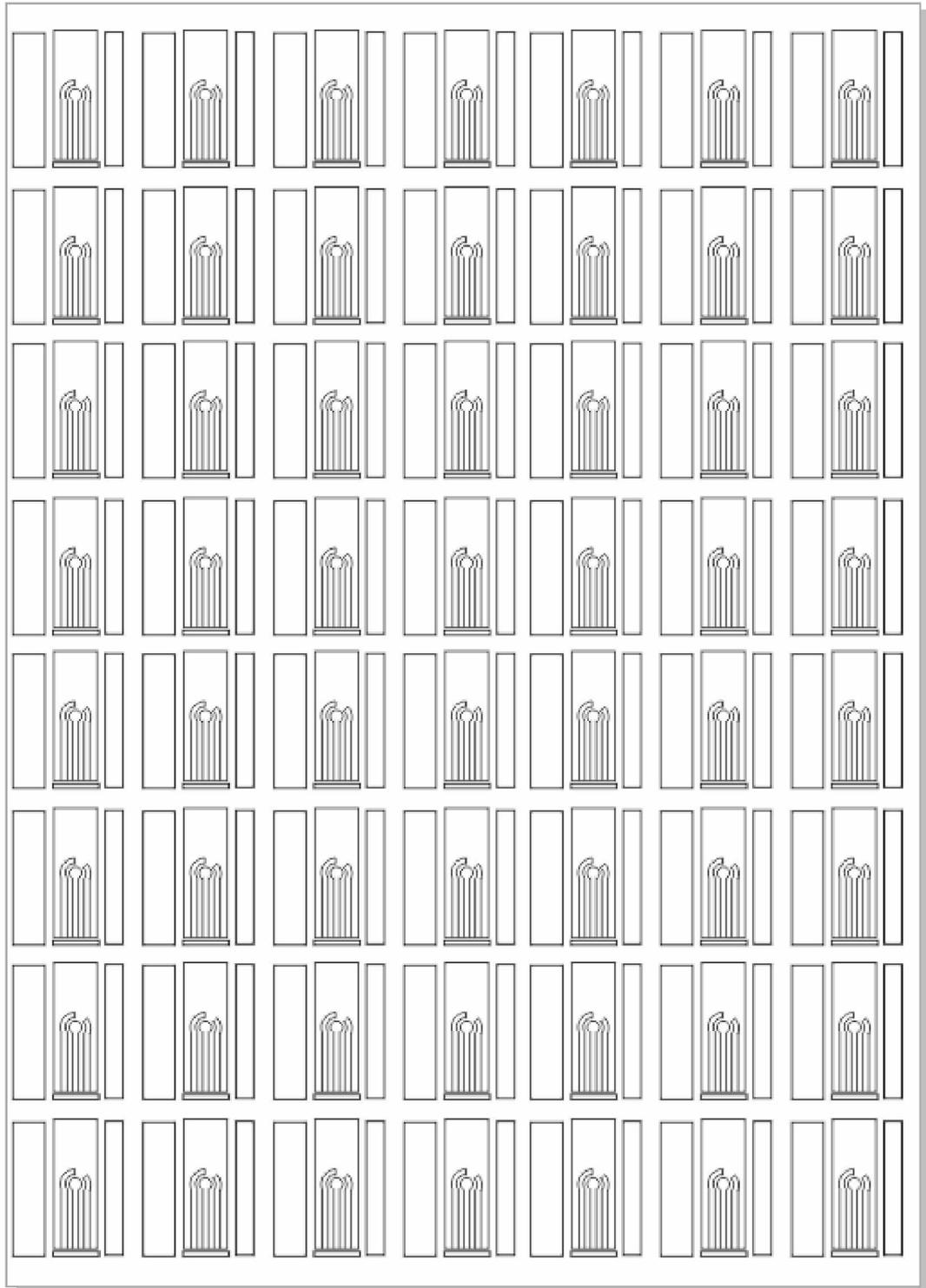
Bookman 2006

- [68] – FERREIRA, Rafael de Queiroz; AVACA, Luis Alberto. Determinação eletroquímica da capacidade antioxidante de sucos de frutas industrializados usando o CRAC assay. *Química Nova*, v. 31, n. 8, p. 2169-2173, 2008. [10.1590/S0100-40422008000800044](https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000800044)
- [69] https://www.gamry.com/Framework%20Help/HTML5%20%20Tripane%20%20Audience%20A/Content/PE/Experimental_Techniques/Chronoamperometry/Purpose.htm acesso em 22 de novembro de 2018
- [70] – <http://www.marinereef.com/afm5100n.php> acesso em 28 de Novembro de 2018
- [71] <http://www.harrisonep.com/electropolishing-ra.html> acesso em, 24 de Novembro de 2018
- [72] http://membranes.edu.au/wiki/index.php/Surface_Roughness acesso em 24 de Novembro de 2018
- [73] Silva, S.; Blond, A. M., *Analytica Chimica Acta* 500 (2003)
- [74] SIPA, K. BRYCHT, M. The effect of the supporting electrolyte on the voltammetric determination of the veterinary drug nitroxinil *Journal of Electroanalytical Chemistry* vol 827, 15 Outubro 2018, pg 21-26 [10.1016/j.jelechem.2018.09.006](https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.09.006)
- [75] AGOSTINHO, SILVIA M. L. *et al.* O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 813-817, Outubro 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422004000500022>
- [76] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/406960> acesso em 28 de Novembro de 2018
- [77] LIN BC, HUANG D, YU CQ, MOU Y, LIU YH, ZHANG DW, SHI FJ. MicroRNA-184 Modulates Doxorubicin Resistance in Osteosarcoma Cells by Targeting BCL2L1. *Medical Science Monitor*. 2016 May 25;22:1761-5. [10.12659/msm.896451](https://doi.org/10.12659/msm.896451)
- [78] LI H, XIANG H, GE W, WANG H, WANG T, XIONG M. Expression and functional perspectives of miR-184 in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Oct 1;8(10):12313-8. eCollection 2015.
- [79] QIN CZ, LOU XY, LV QL, CHENG L, WU NY, HU L, ZHOU HH. MicroRNA-184 acts as a potential diagnostic and prognostic marker in epithelial ovarian cancer and regulates cell proliferation, apoptosis and inflammation. *Pharmazie*. 2015 Oct;70(10):668-73.
- [80] FENG R, DONG L. Inhibitory effect of miR-184 on the potential of proliferation and invasion in human glioma and breast cancer cells in vitro. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Aug 1;8(8):9376-82.
- [81] FENG L, MA J, JI H, LIU Y, HU W. MiR-184 Retarded the Proliferation, Invasiveness and Migration of Glioblastoma Cells by Repressing Stanniocalcin-2. *Pathol Oncol Res*. 2018

Oct;24(4):853-860. [10.1007/s12253-017-0298-z](https://doi.org/10.1007/s12253-017-0298-z)







ANEXO 4 adesivo isolante para a terceira versão

