

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE FÍSICA

GRUPO DE ESPECTROSCOPIA DE MATERIAIS
(GEM)

Trabalho de Conclusão de Curso

Título do trabalho: Eletrodos de Grafeno Quimicamente Modificados com Corantes Biocompatíveis e sua Aplicação em Biossensores de Diagnóstico

Área de concentração: Física Médica/Materiais
Aluna: Ana Laura Pedrosa Areias
Orientador: Prof. Dr. Mauricio Foschini

Uberlândia
15/12/2025

AGRADECIMENTOS

O caminho da graduação é desafiador... envolve crescimento intelectual e pessoal, lidar com situações adversas, conhecer novas pessoas, descobrir novos caminhos e possibilidades. É também sobre refletir todos os dias se você será um dos poucos que chegam à reta final. Acredito que essa é uma fase impossível de atravessar sem fé em Deus e sem as pessoas certas ao lado. Por isso, faço questão de usar este trabalho para agradecer a todos que fizeram parte dessa trajetória e a tornaram mais leve e especial.

Aos meus amigos, especialmente Laura Troiano, Diego Cândido e Fernando Kleber, que tornaram cada aula e cada momento únicos, suavizando até os períodos mais difíceis. À Amanda Mesquita, Gabriela de Paiva e Giulia Simão, que há 13 anos me acompanham muito além dos muros da faculdade. Entre risadas, estudos e apoio mútuo, transformaram a rotina da graduação e o dia a dia em algo mais leve e especial, mostrando que o companheirismo faz toda a diferença nos dias fáceis e, principalmente, nos difíceis. Por essa razão, brinco que a vida e a faculdade me deram de presente uma família, pois considero vocês meus irmãos e irmãs de coração.

Aos meus professores, que contribuíram para minha formação intelectual e para meu crescimento pessoal, sempre dispostos a me ajudar quando precisei. Meus agradecimentos especiais aos professores Diego Merigue e Mauricio Foschini, que sempre lembrarei com imenso carinho, por tudo que fizeram por mim e por serem grandes exemplos, tanto como pessoas quanto como profissionais.

Ao meu namorado, Cássio Komatsu, que caminhou comigo durante essa reta final, sempre me apoiando, incentivando e ajudando quando mais precisei.

À minha família, indispensável durante toda essa jornada, especialmente minha mãe e minha irmã, que sempre foram meu mundo e acreditaram no meu potencial mesmo quando eu não acreditava. Obrigada por estarem sempre na torcida, por comemorarem minhas vitórias e me amparem nas derrotas.

Por fim, dedico este TCC à minha falecida avó, Regina Célia, minha maior saudade e meu grande exemplo. Durante toda a faculdade, imaginava se ela sentiria orgulho da pessoa que me tornei e de onde cheguei. Meu maior desejo seria poder viver este momento com ela, e é por isso que dedico este trabalho em sua memória.

RESUMO

Este trabalho analisa o potencial de eletrodos de grafeno para imobilização de biorreceptores visando aplicação em biossensores de diagnóstico. Para isso, utilizou-se uma máquina de Corte e Gravação a Laser VS6040 VISUTEC modificada (10600 nm, 60 W) e otimizou-se a impressão dos eletrodos, garantindo condutividade elétrica elevada, homogeneidade estrutural, resistência mecânica e adesão ao substrato, com mínima ocorrência de descascamento. Após a impressão, os eletrodos foram modificados com soluções de Eosina Amarela (Neon) ($0,005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) em etanol e etanol:água (3:2), Vermelho de Metila PA (Neon) ($0,005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) em etanol e etanol:água (3:2), e ácido cítrico PA (Nox) ($0,005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) em meio aquoso. Em seguida, a resposta eletroquímica foi avaliada em solução aquosa contendo ferricianeto de potássio ($0,005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), ferrocianeto de potássio ($0,005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e KCl (Synth) ($0,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), via voltametria cíclica (Ivium CompactStat, modo bipotenciostato), com janela de potencial $\Delta E = -0,3 \text{ V}$ a $0,3 \text{ V}$, 3 ciclos e velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Os resultados comprovaram a eficácia na produção de eletrodos com as características desejadas, o potencial da eosina amarela como matriz de ancoragem para biossensores, a melhora no transporte de carga interfacial por todas as modificações, além de pares redox bem definidos e atividade eletroquímica estável, constituindo resultados essenciais para o desenvolvimento de biossensores de diagnóstico.

Palavras-chave: Grafeno; Biossensores; Eosina Y; Voltametria Cíclica.

ABSTRACT

This work analyzes the potential of graphene electrodes for the immobilization of bioreceptors for application in diagnostic biosensors. For this purpose, a modified VS6040 VISUTEC Laser Cutting and Engraving Machine (10600 nm, 60 W) was used, and the electrode printing process was optimized to ensure high electrical conductivity, structural homogeneity, mechanical resistance, adhesion to the substrate, and minimal delamination. After printing, the electrodes were modified with solutions of Eosin Y (Neon) ($0.005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in ethanol and ethanol:water (3:2), Methyl Red PA (Neon) ($0.005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in ethanol and ethanol:water (3:2), and citric acid PA (Nox) ($0.005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in aqueous medium. Subsequently, the electrochemical response was evaluated in an aqueous solution containing potassium ferricyanide ($0.005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), potassium ferrocyanide ($0.005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), and KCl (Synth) ($0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) via cyclic voltammetry (Ivium CompactStat, bipotentiostat mode), with a potential window of $\Delta E = -0.3 \text{ V}$ to 0.3 V , 3 cycles, and a scan rate of 50 mV s^{-1} . The results confirmed the efficacy in producing electrodes with the desired properties, the potential of Eosin Y as an anchoring matrix for biosensors, enhanced interfacial charge transport due to all modifications, as well as well-defined redox pairs and stable electrochemical activity, constituting essential findings for the development of diagnostic biosensors.

Keywords: Graphene; Biosensors; Eosin Y; Cyclic Voltammetry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquematização do processo de funcionamento de um biossensor.....	8
Figura 2. Esquematização de algumas classificações atribuídas aos biossensores divididas por tipo de analito biológico empregado e tipo de transdução.	9
Figura 3. Foto do eletrodo de grafeno desenvolvido na pesquisa.	12
Figura 4. Estrutura química da Eosina Amarela PA (Neon) desenvolvida utilizando o software ACD/ChemSketch (Freeware) 2019.1.3.	14
Figura 5. Estrutura química do Vermelho de Metila PA (Neon) desenvolvida utilizando o software ACD/ChemSketch (Freeware) 2019.1.3.	14
Figura 6. Estrutura química do Ácido Cítrico desenvolvida utilizando o software ACD/ChemSketch (Freeware) 2019.1.3.....	15
Figura 7. Eletrodos de grafeno em modo bipotenciostato confeccionado sobre poliimida.	17
Figura 8. Equipamento Ivium CompactStat com o eletrodo de grafeno confeccionado e modificado acoplado a fim de empregar a técnica de voltametria cíclica e, assim, avaliar a resposta eletroquímica.....	19
Figura 9. Voltamograma cíclico em meio de ferro/ferri de um eletrodo	20
Figura 10. Voltamograma cíclico comparativo em meio de ferro/ferri, do eletrodo....	22
Figura 11. Voltamograma cíclico comparativo em meio de ferro/ferri, do eletrodo....	23
Figura 12. Voltamograma cíclico comparativo em meio de ferro/ferri, do eletrodo de grafeno, grafeno modificado com ácido cítrico em meio aquoso.....	24
Figura 13. Voltamograma cíclico comparativo em meio de ferro/ferri, do eletrodo de grafeno não modificado (Grafeno), grafeno modificado com ácido cítrico (Grafeno/Á.C.), eosina amarela em etanol (E.Y. (etanol)), eosina amarela em etanol e água (E.Y. (etanol:água)), vermelho de metila em etanol (V.M. (etanol)) e vermelho de metila em etanol e água (V.M. (etanol:água)).	25

SUMÁRIO

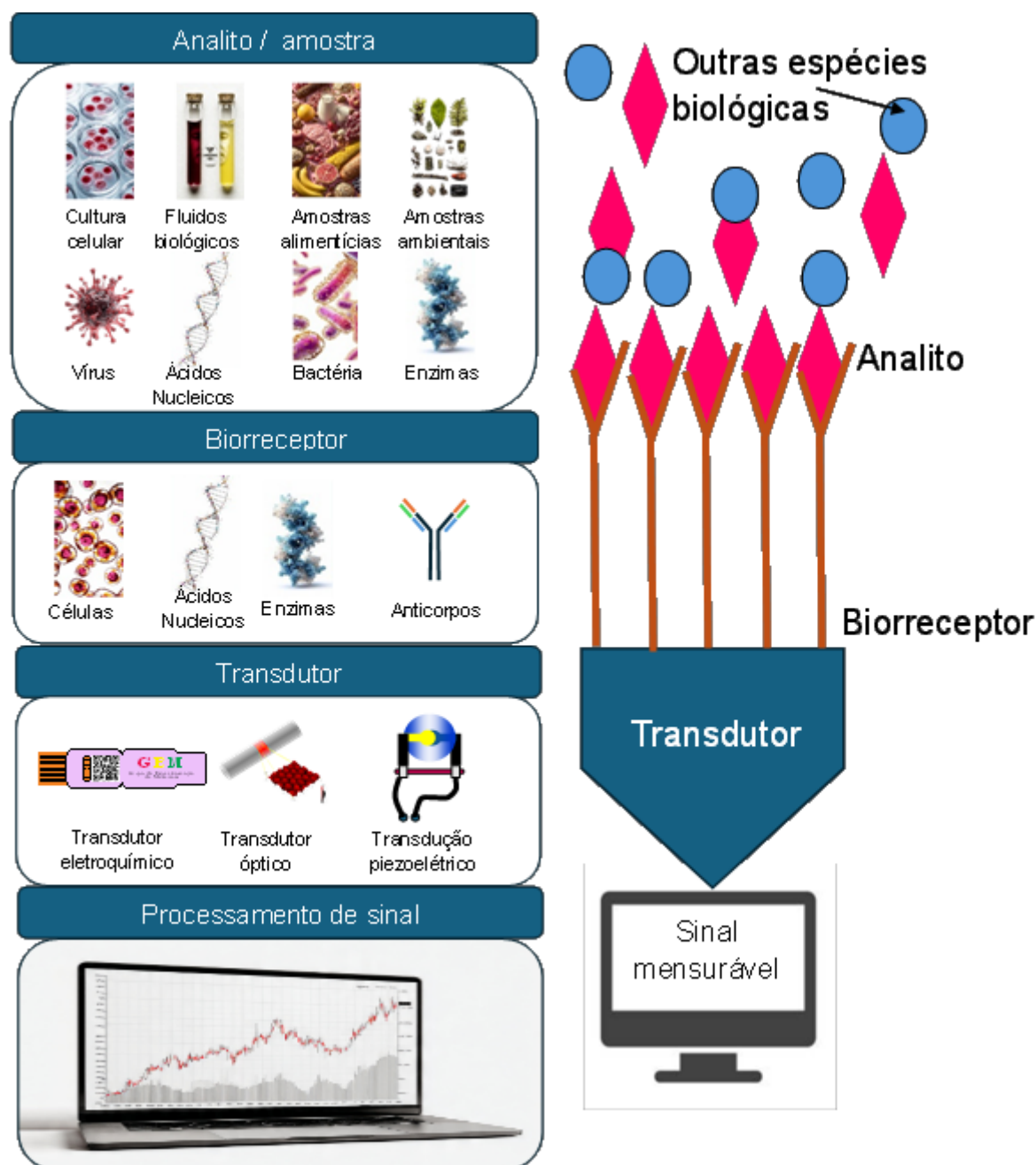
1	INTRODUÇÃO _____	7
1.1	OBJETIVOS _____	16
2	TÉCNICAS E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS _____	16
2.1	PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS _____	16
2.2	MODIFICAÇÕES NOS ELETRODOS DE GRAFENO _____	18
2.3	RESPOSTA ELETROQUÍMICA _____	19
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES _____	20
4	CONCLUSÃO _____	26
5	REFERÊNCIAS _____	28

1 INTRODUÇÃO

Leland C. Clark Jr. é amplamente reconhecido pela comunidade científica como o "pai dos biossensores" (1,2). Em colaboração com Ann Lyons, ele desenvolveu o primeiro biossensor de glicose à base de enzima imobilizada em um eletrodo (3,4). Com o surgimento dessa nova área e devido a características como baixo custo, portabilidade, facilidade de manuseio, capacidade de realizar análises instantâneas e eficiência na identificação de biomarcadores com alta seletividade e sensibilidade (5,6,7,8,9), os biossensores tornaram-se essenciais para aplicações em segurança alimentar, diagnósticos na área da saúde entre outras áreas (2,3,4).

Considerando esse contexto, a análise de custo evidencia uma vantagem significativa dos eletrodos desenvolvidos neste trabalho em comparação aos modelos comerciais existentes, como os da Metrohm (10). Enquanto os eletrodos disponíveis no mercado são comercializados por valores entre US\$ 5,00 e US\$ 6,00 por unidade, os eletrodos propostos apresentam um custo estimado de apenas R\$ 0,14 considerando exclusivamente os materiais empregados. Mesmo quando se incluem despesas adicionais como mão de obra, consumo de energia e tempo de utilização dos equipamentos, o custo unitário não ultrapassa R\$ 1,00, reforçando o potencial econômico e a viabilidade da produção em escala.

Figura 1. Esquemática do processo de funcionamento de um biossensor.



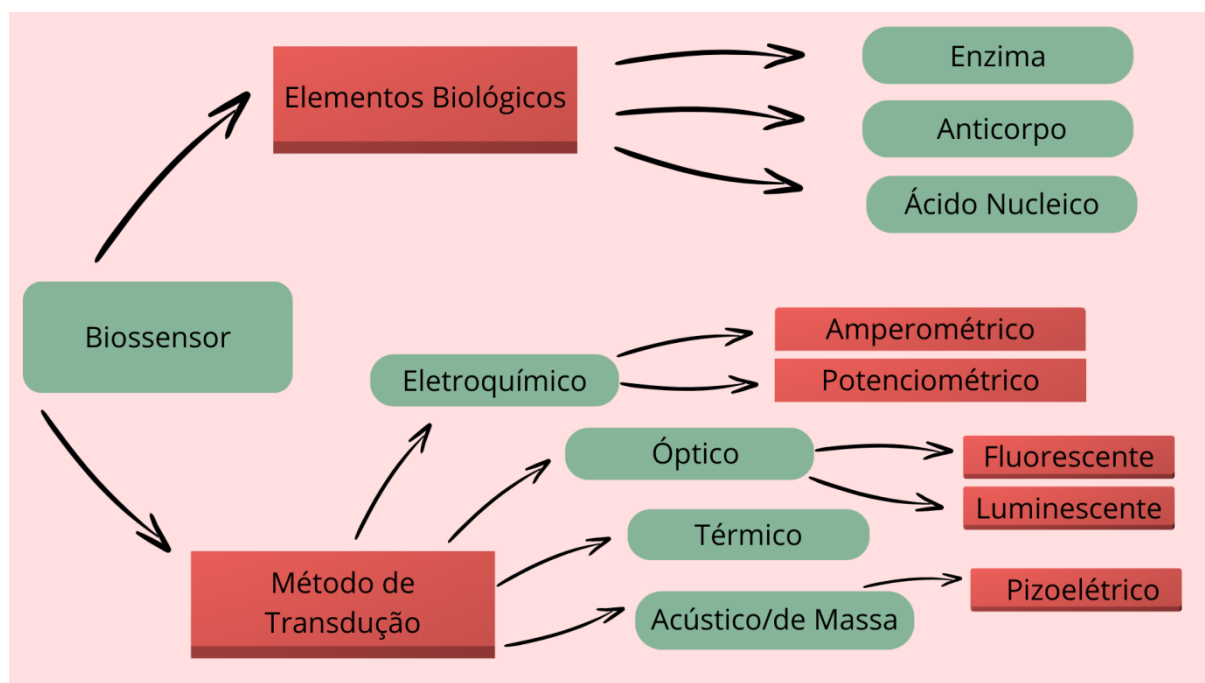
Fonte: Adaptado de Geka et al., 2023 (11).

Tendo isso em vista, os biossensores são classificados como dispositivos analíticos, uma vez que permitem a detecção, identificação e/ou quantificação de um analito presente em uma amostra. Esses sistemas integram um elemento de reconhecimento biológico (como enzimas, anticorpos ou ácidos nucleicos) a um

transdutor. A interação seletiva entre o biorreceptor e o analito, conhecida como processo “chave-fechadura”, gera uma alteração que o transdutor capta e traduz em dados analíticos quantificáveis ou semi-quantificáveis, conforme ilustrado esquematicamente pela Figura 1 (12,13,14).

Um biossensor pode ser separado por classes fundamentadas no mecanismo de reconhecimento biológico, no método de transdução do sinal ou em uma combinação desses fatores. É importante destacar, contudo, que qualquer sistema de nomenclatura adotado deve obrigatoriamente alinhar-se às diretrizes e regulamentações estabelecidas pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), garantindo assim a padronização científica (14,2,15).

Figura 2. Esquematização de algumas classificações atribuídas aos biossensores divididas por tipo de analito biológico empregado e tipo de transdução.



Fonte: Adaptado de Gomes, 2022 (16).

Diante desse contexto, a Figura 2 apresenta, de forma esquemática, algumas das principais classificações atribuídas aos biossensores. Neste trabalho, optou-se pela utilização de biossensores eletroquímicos, os quais são assim denominados em função do princípio de transdução empregado para converter o evento de reconhecimento biológico em um sinal mensurável. O termo “eletroquímico” indica que essa transdução ocorre por meio de fenômenos eletroquímicos na interface do sensor, onde a interação bioquímica provoca alterações nas propriedades elétricas do sistema. Tais alterações podem envolver processos de oxidação e redução, acúmulo de cargas interfaciais, reações catalíticas, entre outros parâmetros eletroquímicos, resultando em variações de corrente, potencial ou impedância. Essas variações são então quantificadas por um transdutor eletroquímico, permitindo a obtenção do sinal analítico (12,14,15,17).

Dessa forma, os biossensores eletroquímicos podem ser classificados, de maneira geral, em três categorias principais, de acordo com o tipo de sinal eletroquímico monitorado. Entre eles pode-se citar os biossensores potenciométricos que baseiam-se na medição da diferença de potencial elétrico sob condições de corrente praticamente nula, apresentando uma resposta logarítmica em função da concentração do analito (2,12,14). Esse princípio é característico de sensores como os de pH e está historicamente associado aos trabalhos pioneiros de Leland C. Clark Jr., que desenvolveu o primeiro biossensor da história em 1962 (14,3,4).

Os biossensores amperométricos fundamentam-se na medida da corrente elétrica gerada por reações de oxidação ou redução de espécies eletroativas sob a aplicação de um potencial (12,14). Esses dispositivos destacam-se pela elevada sensibilidade, resposta linear e rápida, sendo amplamente empregados em biossensores enzimáticos baseados em oxidases ou desidrogenases. Um exemplo

clássico é o biossensor que utiliza a enzima glicose oxidase para a detecção da glicose, configurando um dos sistemas mais consolidados na área de biossensores eletroquímicos (4,2).

Por fim, os biossensores condutimétricos/impedimétricos avaliam variações na condutividade ou na impedância elétrica da interface eletrodo–solução, decorrentes de eventos de reconhecimento biomolecular. Esses sensores são particularmente relevantes para estratégias de detecção sem rótulo (label-free), pois permitem monitorar diretamente interações específicas, como o pareamento de sequências de DNA ou RNA, bem como a formação de complexos antígeno–anticorpo, sem a necessidade de reações redox adicionais ou marcadores eletroativos, o que os torna especialmente atrativos para aplicações em imunossensores e sensores baseados em ácidos nucleicos (14,4,5).

A partir disso, para a confecção desses biossensores, deve-se utilizar matrizes biocompatíveis para imobilização dos biorreceptores, devido ao fato de serem materiais que proporcionam um ambiente físico-químico favorável para fixar e manter a atividade dos elementos biológicos sem causar desnaturação, perda de função ou reações adversas que prejudiquem a medição (5,14). Nesse contexto, a biocompatibilidade de uma matriz está associada a dois aspectos fundamentais. Primeiramente, ela deve ser eletricamente inerte de modo a garantir que a corrente medida provenha da reação biológica entre o biorreceptor e o analito e não de reações paralelas da matriz com o meio. Além disso, a matriz não pode alterar a conformação molecular do biorreceptor a fim de "ancorar" a molécula sem causar deformação e preservar seu sítio ativo bem como sua funcionalidade (18,19,2).

Logo, estudos recentes com grafeno têm revelado o grande potencial desse material. O grafeno é composto por uma estrutura bidimensional formada por átomos

de carbono organizados em um arranjo hexagonal. Esse material apresenta alta condutividade elétrica, leveza extrema combinada com elevada resistência mecânica, flexibilidade, grande área superficial e notável estabilidade química. Essas características tornam o grafeno um material ideal para a fabricação de biossensores, especialmente os do tipo eletroquímico (9,20,6,21).

Figura 3. Foto do eletrodo de grafeno desenvolvido na pesquisa.



Fonte: Autoria Própria (2026).

Biossensores desenvolvidos com base no grafeno oferecem sensibilidade superior, devido à elevada área efetiva do grafeno, caracterizada por sua rugosidade intrínseca, porosidade ou bordas expostas, o que permite imobilizar uma alta densidade de biorreceptores na superfície do sensor (22,23). Dessa forma, quanto maior o número de biorreceptores presentes, maior a probabilidade de capturar o analito alvo, resultando em um sinal detectável mais intenso (20,5,7,24,21).

Como resultado, esses biossensores viabilizam a detecção de biomarcadores em concentrações extremamente baixas. Ademais, as possibilidades de produção e manipulação do grafeno facilitam a criação de dispositivos de diagnóstico compactos, portáteis e de baixo custo, tornando-os acessíveis para diversas aplicações. Esses

dispositivos são particularmente promissores para diagnósticos não invasivos, eficientes em tempo real e economicamente viáveis (5,9,6,7).

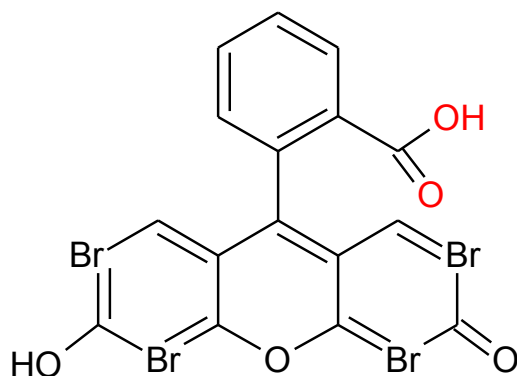
No entanto, para viabilizar a aplicação do grafeno na construção de biossensores, torna-se indispensável a imobilização do biorreceptor sobre o transdutor. Para esse fim, diversas estratégias de imobilização podem ser empregadas, variando conforme o tipo de interação estabelecida entre a biomolécula e a superfície do sensor (2,25). Entre elas, destaca-se a adsorção física, baseada em interações fracas, como forças de Van der Waals e interações iônicas, que apresenta simplicidade de implementação, porém apresenta baixa estabilidade frente com variações de pH (2,5,19,25). O aprisionamento em matrizes poliméricas ou géis promove a retenção da biomolécula por inclusão física, oferecendo certa proteção estrutural, embora possa dificultar a difusão do analito até o sítio ativo (19,22,25,26).

A ligação covalente consiste no estabelecimento de conexões químicas fortes e permanentes entre o biorreceptor e superfícies previamente funcionalizadas, conferindo elevada estabilidade ao sistema, ainda que possa acarretar riscos de perda parcial da atividade biológica (20,7,19,22). A reticulação, por sua vez, forma uma rede rígida e estável entre as biomoléculas, mas frequentemente à custa da flexibilidade conformacional e do acesso ao sítio ativo (22,26). Já a auto-montagem em monocamadas, típica de superfícies metálicas como o ouro, possibilita controle nanométrico da orientação e da densidade do biorreceptor, sendo especialmente adequada para sensores que exigem alta sensibilidade e reprodutibilidade (27,28).

Nesse contexto, o foco deste trabalho foi efetuar a imobilização por ligação covalente, promovida por modificações da superfície do grafeno com corantes biocompatíveis e o ácido cítrico. Já que esses compostos introduzem grupos funcionais, como carboxílicos, que possibilitam o ancoramento por meio de ligações

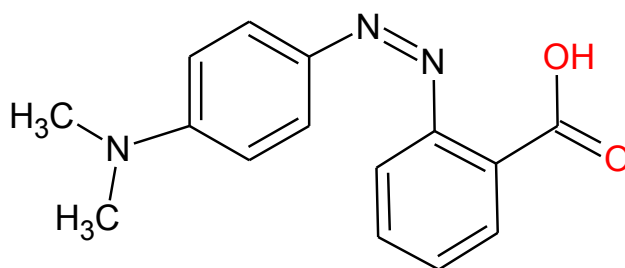
covalentes fortes e permanentes que conferem alta estabilidade no sistema. Por isso, são capazes de criar sítios químicos para a imobilização covalente ou eletrostática de biorreceptores, aumentando a afinidade da superfície do grafeno por biomoléculas e favorecendo a formação de interfaces bioativas adequadas para aplicações em biossensores (2,7,25).

Figura 4. Estrutura química da Eosina Amarela PA (Neon) desenvolvida utilizando o software ACD/ChemSketch (Freeware) 2019.1.3.



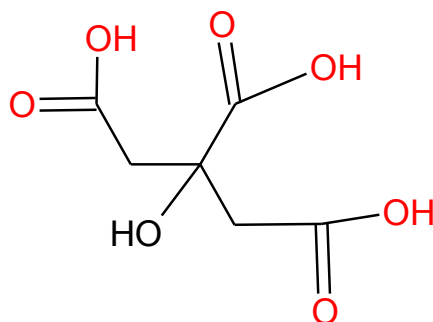
Fonte: Autoria Própria (2026).

Figura 5. Estrutura química do Vermelho de Metila PA (Neon) desenvolvida utilizando o software ACD/ChemSketch (Freeware) 2019.1.3.



Fonte: Autoria Própria (2026).

Figura 6. Estrutura química do Ácido Cítrico desenvolvida utilizando o software ACD/ChemSketch (Freeware) 2019.1.3.



Fonte: Autoria Própria (2026).

Com isso, neste trabalho foram selecionados os corantes Eosina Amarela PA (Neon) e Vermelho de Metila PA (Neon), bem como o Ácido Cítrico PA (Nox), cujas estruturas químicas estão apresentadas nas Figuras 4, 5 e 6, respectivamente. Essas modificações são essenciais, pois o grafeno puro apresenta superfície quimicamente inerte e hidrofóbica, o que dificulta a ancoragem estável de biomoléculas. A escolha desses compostos deve-se à presença de grupos funcionais como carboxilas, hidroxilas e estruturas aromáticas conjugadas que permitem tanto interações π - π com o grafeno quanto à imobilização covalente dos biorreceptores. Dessa forma, é possível criar interfaces biocompatíveis e eletricamente ativas aplicáveis a biossensores (7,20,29).

Portanto, neste trabalho foi realizada a síntese e modificações em eletrodos de grafeno para imobilizações de biorreceptores com o intuito de realizar a aplicação em biossensores de diagnóstico.

1.1 OBJETIVOS

Este trabalho teve como principal objetivo a verificação das melhores condições de impressão para a confecção dos eletrodos de grafeno, bem como a aplicação de modificações em sua superfície com corantes biocompatíveis e o ácido cítrico visando à imobilização de biorreceptores e sua posterior aplicação em biossensores de diagnóstico compactos e economicamente viáveis.

2 TÉCNICAS E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

2.1 PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS

Eletrodos de grafeno foram preparados em substrato de poliimida (Kapton®) previamente enrijecida com Polaseal para garantir estabilidade dimensional. O processo de impressão empregou um sistema laser de alta potência que, ao interagir com a superfície da poliimida, induziu a formação de plasma localizado, promovendo a conversão do material em grafeno através de ablação térmica controlada.

Para garantir a condutividade final adequada dos eletrodos, o processo de fabricação foi realizado em uma máquina de corte e gravação a laser VS6040 VISUTEC modificada, equipada com laser de CO₂ (comprimento de onda de 10600 nm; potência máxima 60 W). Durante a produção, mantiveram-se condições ambientais controladas como fluxo de ar a 10 L·min⁻¹, umidade relativa entre 46–52 % e temperatura estabilizada em 20 °C com o objetivo de reduzir variações térmicas e de oxidação que pudessem afetar a formação e a aderência das trilhas condutivas.

Paralelamente, foram otimizados parâmetros críticos do processamento laser para obter trilhas com baixa resistência elétrica e alta reprodutibilidade como a velocidade de varredura do laser a $50 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$, resolução de $2 \text{ pulsos}\cdot\text{pixel}^{-1}$ e potência ajustada entre 8,5 % e 10,2 %. A condutividade dos traços foi monitorada continuamente medindo a resistência elétrica com um multímetro durante a varredura, o que permitiu ajuste iterativo dos parâmetros até alcançar o compromisso desejado entre condução elétrica, integridade mecânica do filme e uniformidade superficial.

Este procedimento permitiu determinar as melhores condições para confecção de eletrodos de grafeno com características otimizadas de condutividade elétrica, homogeneidade estrutural e resistência mecânica, assegurando boa adesão ao substrato e minimizando problemas de descascamento. Além disso, os eletrodos produzidos apresentaram banda G com intensidade de 5,1 e banda 2D com intensidade 3, conforme estudos prévios (30). A partir desses valores, a relação $I(2D)/I(G)$ obtida indica que o grafeno sintetizado possui entre 6 e 10 camadas (31).

Assim, os eletrodos foram confeccionados em configuração de bipotenciostato, sendo compostos por um eletrodo de referência (ER) e dois eletrodos de trabalho, denominados eletrodo de trabalho 1 (ET1) e eletrodo de trabalho 2 (ET2), para aplicações em biossensores amperométricos e/ou monitoramento de inibição de corrente, conforme apresentado na Figura 7.

Figura 7. Eletrodos de grafeno em modo bipotenciostato confeccionado sobre poliimida.



Fonte: Autoria Própria (2026).

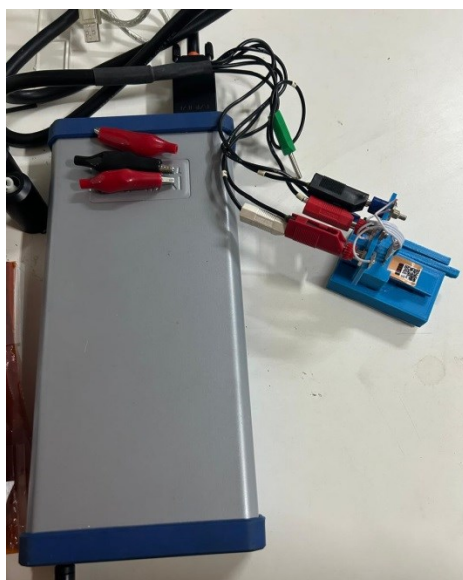
2.2 MODIFICAÇÕES NOS ELETRODOS DE GRAFENO

Foram preparadas soluções de Eosina Amarela PA (Neon) ($0,005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) em etanol (Solução A) e em etanol:água (3:2) (Solução B). Da mesma forma, foram preparadas as soluções de Vermelho de Metila PA (Neon) ($0,005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) em etanol (Solução C) e em etanol:água (3:2) (solução D), por fim, foi preparado em meio aquoso uma solução de ácido cítrico PA (Nox) ($0,005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) (solução E).

As amostras de eletrodos de grafeno foram inicialmente imersas em 10 μL de etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), a fim de reduzir sua hidrofobicidade superficial. Após a evaporação completa do solvente em condições ambiente, procedeu-se à ativação química por meio das soluções A, B, C, D e E, com deposição de 5 μL sobre o eletrodo de trabalho de interesse usando uma micropipeta automática. As deposições foram realizadas com extremo cuidado, especialmente durante a modificação interfacial, uma vez que apenas o eletrodo de trabalho 1 deveria ser modificado, como também foram utilizadas luvas durante as manipulações com o propósito de evitar contaminação e danos às amostras.

2.3 RESPOSTA ELETROQUÍMICA

Figura 8. Equipamento Ivium CompactStat com o eletrodo de grafeno confeccionado e modificado acoplado a fim de empregar a técnica de voltametria cíclica e, assim, avaliar a resposta eletroquímica.



Fonte: Autoria Própria (2026).

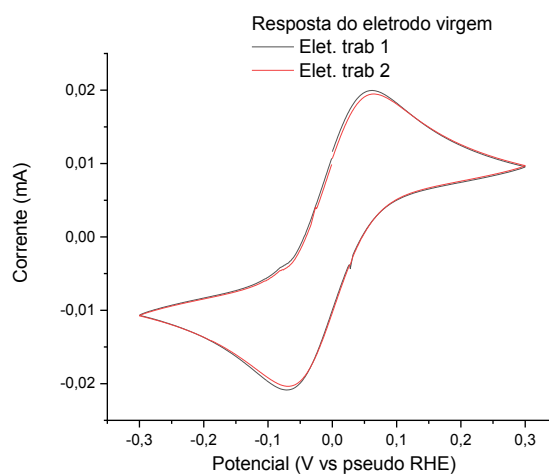
A resposta eletroquímica foi feita em meio aquoso contendo ferricianeto de potássio ($0,005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), ferrocianeto de potássio ($0,005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e cloreto de potássio (Synth) ($0,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), também conhecida como solução de ferro/ferri. Dessa forma, nesse processo foi empregada a técnica de voltametria cíclica usando o equipamento Ivium CompactStat, como mostrada pela Figura 8, em modo de bipotenciostato com uma janela de potencial aplicada $\Delta E = -0,3\text{V}$ até $0,3\text{V}$, contendo 3 ciclos, e com velocidade de varredura igual a 50 mV s^{-1} . Esta metodologia proporcionou a caracterização das propriedades eletroquímicas do material, permitindo não apenas a avaliação de sua atividade em reações redox, mas também a verificação de sua eficácia para aplicação no desenvolvimento de biossensores de diagnóstico.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste trabalho, foram avaliadas as respostas eletroquímicas dos eletrodos de grafeno, em modo bipotenciostato, em meio ferro/ferri. A partir disso, foram comparados os voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos modificados e não modificados, permitindo identificar as diferenças de comportamento entre eles e avaliar como essas variações influenciam no desempenho dos eletrodos, como na estabilidade e na eficiência de transferência de carga. As modificações com eosina amarela, vermelho de metila e ácido cítrico evidenciaram o favorecimento do transporte de cargas interfacial em relação ao grafeno puro. Além disso, todos os sistemas modificados exibiram atividades eletroquímicas estáveis, com pares redox bem definidos e simetria em torno de 0 V.

A Figura 9, apresenta a resposta eletroquímica dos eletrodos de trabalho 1 e 2 sem modificações primeiramente.

Figura 9. Voltamograma cíclico em meio de ferro/ferri de um eletrodo de bipotenciostato, sem modificações nos eletrodos de trabalho 1 e 2.



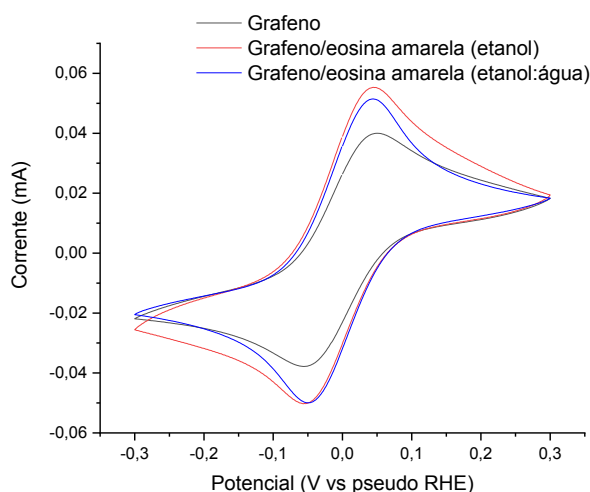
Na Figura 9, observa-se um par redox característico do sistema ferro/ferri para ambos os eletrodos de grafeno não modificados, operando em modo

bipotenciostato. O voltamograma cíclico em vermelho corresponde ao eletrodo de trabalho 2 (ET2), adotado como eletrodo de grafeno não modificado, enquanto o em preto refere-se ao eletrodo de trabalho 1 (ET1), igualmente não modificado nesta etapa. Nota-se uma sobreposição quase integral entre os dois eletrodos virgens, o que evidencia a consistência nas condições de fabricação e a elevada reprodutibilidade da resposta eletroquímica, esta resposta é reprodutível em nossos sistema e eletrodos obtidos por esta técnica. Dessa forma, devido a coerência entre os eletrodos de trabalho 1 e 2 eles podem ser utilizados para fins comparativos.

Diante disso, o eletrodo de trabalho 2 (ET2) foi adotado como padrão de referência para comparações diretas com versões modificadas. Para garantir a comparabilidade entre lotes distintos, a proporção de normalização estabelecida para o ET2 foi estendida ao ET1. Essa abordagem permite não apenas comparar as respostas entre os dois eletrodos de trabalho, mas também avaliar variações nas correntes elétricas entre diferentes eletrodos e entre lotes distintos.

Com a comprovação da alta coerência e estabilidade entre os eletrodos não modificados, procedeu-se à modificação do eletrodo de trabalho 1 (ET1), com eosina amarela em etanol e, posteriormente, com eosina amarela em etanol:água, mantendo-se o eletrodo de trabalho 2 (ET2) como grafeno não modificado. Essa configuração permitiu a comparação direta entre o eletrodo modificado e o eletrodo controle, resultando na Figura 10.

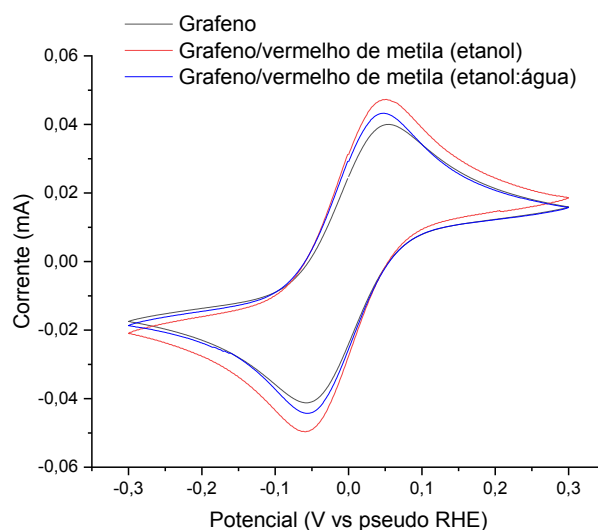
Figura 10. Voltamograma cíclico comparativo em meio de ferro/ferri, do eletrodo de grafeno, grafeno modificado com eosina amarela em etanol e em meio etanol:água.



A resposta eletroquímica preserva o par redox característico do ferro/ferri, mas revela um aumento global de corrente no eletrodo modificado com eosina amarela em etanol, mostrando uma redução da resistência da dupla camada eletroquímica com a solução. Entretanto, quando a eosina amarela é solubilizada em etanol:água, as alterações restringem-se às regiões dos picos de oxidação e redução do ferro/ferri, que se tornam mais definidos. Este comportamento indica uma mudança no mecanismo de ancoragem do corante no grafeno, possivelmente expondo apenas sítios catiônicos do corante com afinidade pelo ferro/ferri, o que sugere a possibilidade de usá-lo como meio de ancoragem de biorreceptores, como mediador para melhora de sinais elétricos de interesse e como provável agente de imobilização covalente de biomoléculas, devido à presença de grupos carboxílicos. Contudo, a ligação covalente poderá ser confirmada utilizando técnicas espectroscópicas, como o RAMAN, em estudos futuros.

Da mesma forma, a resposta dos eletrodos modificados com vermelho de metila em etanol e etanol:água foi realizada, resultando na figura 11.

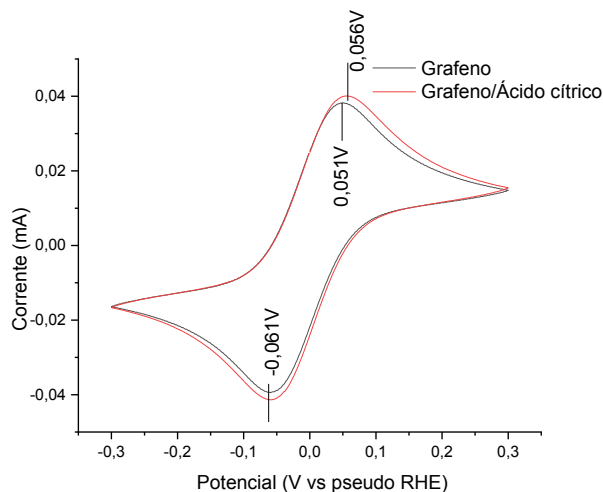
Figura 11. Voltamograma cíclico comparativo em meio de ferro/ferri, do eletrodo de grafeno, grafeno modificado com vermelho de metila em etanol e em meio de etanol:água.



Na Figura 11, observa-se que as modificações em etanol e etanol:água apresentaram comportamento semelhante ao da eosina amarela, com aumento da corrente em relação ao eletrodo não modificado, porém em menor magnitude. Esse resultado indica que o vermelho de metila interagiu menos com o sistema ferro/ferri, sugerindo menor afinidade, possivelmente em função de seus estados oxidativos também poderem assumir caráter catiônico.

Em seguida, obteve-se a resposta eletroquímica comparativa do grafeno modificado com ácido cítrico, dada pela Figura 12.

Figura 12. Voltamograma cíclico comparativo em meio de ferro/ferri, do eletrodo de grafeno, grafeno modificado com ácido cítrico em meio aquoso.

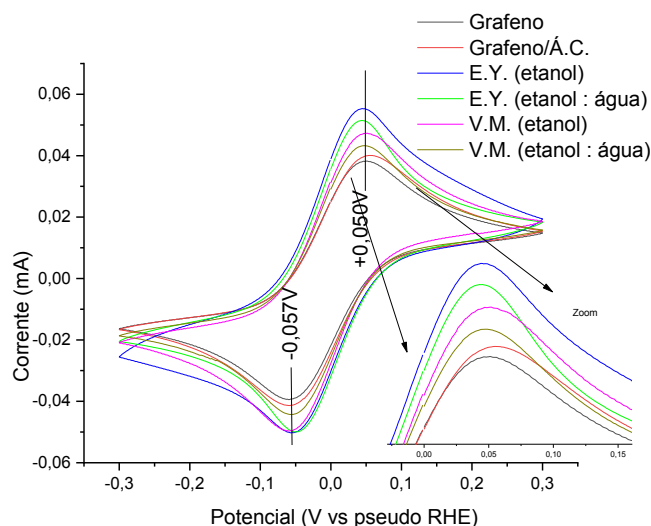


A resposta apresentada na Figura 12 mostrou-se favorável, conforme esperado para um ácido de comportamento aniônico, uma vez que a presença de grupos carboxilatos na superfície do eletrodo pode favorecer a interação eletrostática com os íons ferro/ferri, melhorando a transferência de carga.

Durante o preparo, observou-se dificuldade em umedecer o eletrodo com a solução aquosa de ácido cítrico, evidenciando a hidrofobicidade da superfície do grafeno. Essa característica pode ter contribuído para o aumento da diferença de potencial entre os picos redox, prejudicando o comportamento eletroquímico. Com essa alteração, um aumento na diferença de potencial entre os picos redox era esperado, prejudicando o comportamento eletroquímico da célula eletroquímica.

Por fim, a Figura 13 reúne todas as comparações, ou seja, o eletrodo não modificado (em preto) com as versões alteradas com ácido cítrico em água, eosina amarela (em etanol e etanol:água) e vermelho de metila (em etanol e etanol:água).

Figura 13. Voltamograma cíclico comparativo em meio de ferro/ferri, do eletrodo de grafeno não modificado (Grafeno), grafeno modificado com ácido cítrico (Grafeno/Á.C.), eosina amarela em etanol (E.Y. (etanol)), eosina amarela em etanol e água (E.Y. (etanol:água)), vermelho de metila em etanol (V.M. (etanol)) e vermelho de metila em etanol e água (V.M. (etanol:água)).



A resposta comparativa entre todos os eletrodos, apresentada na Figura 13, evidenciou diferenças significativas na magnitude de corrente entre o grafeno não modificado e suas versões modificadas. Observou-se que o eletrodo modificado com eosina amarela em etanol apresentou a maior intensidade de corrente, seguido pela eosina amarela em etanol:água. Em seguida, situam-se os eletrodos modificados com vermelho de metila em etanol e em etanol:água, enquanto o grafeno modificado com ácido cítrico apresentou incremento mais modesto. Por fim, o grafeno não modificado exibiu a menor corrente.

Esses resultados indicam que a eosina amarela se destaca como matriz de ancoragem para biossensores, atuando como mediadora para espécies com características catiônicas e promovendo maior eficiência na transferência de carga interfacial. O vermelho de metila demonstrou ancoragem à superfície do eletrodo,

porém, com efeito, menos pronunciado sobre a corrente, sugerindo menor afinidade com o sistema ferro/ferri. Já o ácido cítrico, embora tenha promovido modificação superficial, apresentou desempenho inferior, possivelmente devido à ausência de estruturas capazes de interagir de forma mais eficiente com os anéis do grafeno além de forças de Van der Waals. Contudo, todas as modificações favoreceram o transporte de carga interfacial em relação ao grafeno puro, conforme evidenciado na Figura 13.

A análise comparativa dos voltamogramas na Figura 13 também evidenciou diferenças significativas no desempenho dos eletrodos modificados (curva(s) coloridas) em relação ao não modificado (curva em preto). Todos os sistemas apresentaram pares redox bem definidos, indicando atividade eletroquímica estável, com simetria em torno de 0 V, característica compatível com o comportamento pseudoreferência do eletrodo, se aproximando de um eletrodo de referência padrão de hidrogênio. Assim, pode ser descrito como um pseudo eletrodo de referência de hidrogênio cujo comportamento é compatível com um pseudo-referência estável (pseudo RHE), onde o potencial se aproxima do par redox.

4 CONCLUSÃO

Este estudo comprovou a viabilidade de confeccionar eletrodos de grafeno com elevada condutividade elétrica, homogeneidade estrutural e resistência mecânica, associados a boa adesão ao substrato e mínimos problemas de descascamento, devido à imposição de condições ambientais específicas e parâmetros críticos como velocidade de varredura e potência do laser. Verificou-se

ainda que as modificações com eosina amarela, vermelho de metila e ácido cítrico promoveram melhora no transporte de carga interfacial em relação ao grafeno puro.

Dentre os compostos avaliados, a eosina amarela destacou-se por proporcionar o maior incremento de corrente, evidenciando seu potencial como matriz de ancoragem para biossensores, especialmente como mediadora para materiais com características catiônicas, lembrando que ela possui em sua estrutura grupos de bromo, carboxila e anéis aromáticos. O vermelho de metila que possui grupo azo e dimetilamino apresentou ancoragem à superfície do eletrodo, porém com efeito menos pronunciado, enquanto o ácido cítrico que possui apenas carboxilas demonstrou impacto limitado, possivelmente seguindo uma sequência em função de interações da mais forte para a mais fracas com a estrutura do grafeno.

Além disso, todos os sistemas exibiram pares redox bem definidos e comportamento eletroquímico estável, observado em repetições consecutivas com alta reprodutibilidade, com simetria em torno de 0 V, compatível com o funcionamento de um eletrodo pseudorreferência. Assim, os resultados obtidos validam o uso de eletrodos de grafeno modificados com eosina amarela para a imobilização de biorreceptores, direcionando sua aplicação futura no desenvolvimento de biossensores de diagnóstico compactos, sensíveis e de baixo custo, portanto, para dar continuidade a esta pesquisa, trabalhos futuros poderão explorar a imobilização de diferentes biorreceptores, como enzimas, ou anticorpos ou sequências de DNA, sobre a matriz de eosina amarela, ampliando o leque de aplicações do dispositivo para o diagnóstico de outras doenças.

5 REFERÊNCIAS

1. Renneberg, R., Pfeiffer, D., Lisdat, F., Wilson, G., Wollenberger, U., Ligler, F., & Turner, A. P. F. (2008). Frieder Scheller and the Short History of Biosensors. In R. Renneberg & F. Lisdat (Eds.), *Biosensing for the 21st Century* (pp. 1–18). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/10_2007_086
2. Naresh, Varnakavi., & Lee, N. (2021). A Review on Biosensors and Recent Development of Nanostructured Materials-Enabled Biosensors. *Sensors*, 21(4). <https://doi.org/10.3390/s21041109>
3. Song, Y., Sha, J., Wang, C., Liu, X., Han, L., & Li, L. (2022). *Bi-enzyme photoelectrochemical biosensor for sensitive determination of phosphatidylcholine in vegetable oil*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2156641/v1>
4. Hassan, R. Y. A. (2022). Advances in Electrochemical Nano-Biosensors for Biomedical and Environmental Applications: From Current Work to Future Perspectives. *Sensors*, 22(19). <https://doi.org/10.3390/s22197539>
5. Zhang, H., Sun, Z., Sun, K., Liu, Q., Chu, W., Fu, L., Dai, D., Liang, Z., & Lin, C.-T. (2025). Electrochemical Impedance Spectroscopy-Based Biosensors for Label-Free Detection of Pathogens. *Biosensors*, 15(7). <https://doi.org/10.3390/bios15070443>
6. Khadeeja Thanha, K. P., Ayisha Sana, P., & Pramod, K. (2026). Recent advances in graphene-based biosensors for point-of-care diagnostics. *Biomaterials Advances*, 180, 214541. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2025.214541>
7. Ramoso, J. P., Rasekh, M., & Balachandran, W. (2025). Graphene-Based Biosensors: Enabling the Next Generation of Diagnostic Technologies—A Review. *Biosensors*, 15(9). <https://doi.org/10.3390/bios15090586>
8. Jayanthi, V. S. P. K. S. A., Das, A. B., & Saxena, U. (2017). Recent advances in biosensor development for the detection of cancer biomarkers. *Biosensors and Bioelectronics*, 91, 15–23. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.12.014>

9. Mahalakshmi, D., Nandhini, J., Meenaloshini, G., Karthikeyan, E., Karthik, K. K., Sujaritha, J., Vandhana, & Ragavendran, C. (2025). Graphene nanomaterial-based electrochemical biosensors for salivary biomarker detection: A translational approach to oral cancer diagnostics. *Nano TransMed*, 4, 100073.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ntm.2025.100073>
10. Metrohm. (2023, March 29). *Eletrodos Metrohm*.
11. Geka, G., Kanioura, A., Likodimos, V., Gardelis, S., Papanikolaou, N., Kakabakos, S., & Petrou, P. (2023). SERS Immunosensors for Cancer Markers Detection. *Materials*, 16(10). <https://doi.org/10.3390/ma16103733>
12. Singh, A., Sharma, A., Ahmed, A., Sundramoorthy, A. K., Furukawa, H., Arya, S., & Khosla, A. (2021). Recent Advances in Electrochemical Biosensors: Applications, Challenges, and Future Scope. *Biosensors*, 11(9).
<https://doi.org/10.3390/bios11090336>
13. Ansari, M. I. H., Hassan, S., Qurashi, A., & Khanday, F. A. (2016). Microfluidic-integrated DNA nanobiosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 85, 247–260.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.05.009>
14. Thévenot, D. R., Toth, K., Durst, R. A., & Wilson, G. S. (2001). Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification¹International Union of Pure and Applied Chemistry: Physical Chemistry Division, Commission I.7 (Biophysical Chemistry); Analytical Chemistry Division, Commission V.5 (Electroanalytical Chemistry).¹. *Biosensors and Bioelectronics*, 16(1), 121–131.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(01\)00115-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0956-5663(01)00115-4)
15. Durst, R. A. (1997). *Chemically modified electrodes: Recommended terminology and definitions (IUPAC Recommendations 1997)*. *Pure and Applied Chemistry*, 69(6), 1317–1324. <https://doi.org/doi:10.1351/pac199769061317>
16. Gomes, F. C. B., & Zucolotto, V. (2022). *Sensores e seu uso contra COVID-19: estudos e perspectivas*.

17. Hulanicki, A., Glab, S., & Ingman, F. (1991). *Chemical sensors: definitions and classification. Pure and Applied Chemistry*, 63(9), 1247–1250.
<https://doi.org/doi:10.1351/pac199163091247>
18. Datta, S., Christena, R., & Rajaram, Y. (2012). Enzyme immobilization: An overview on techniques and support materials. *3 Biotech*, 3. <https://doi.org/10.1007/s13205-012-0071-7>
19. Robescu, M. S., & Bavaro, T. (2025). A Comprehensive Guide to Enzyme Immobilization: All You Need to Know. *Molecules*, 30(4).
<https://doi.org/10.3390/molecules30040939>
20. Song, J., Luo, Y., Hao, Z., Qu, M., Huang, C., Wang, Z., Yang, J., Liang, Q., Jia, Y., Song, Q., Zhang, Q., & Luo, S. (2025). Graphene-based wearable biosensors for point-of-care diagnostics: From surface functionalization to biomarker detection. *Materials Today Bio*, 32, 101667. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2025.101667>
21. Suvarnaphaet, P., & Pechprasarn, S. (2017). Graphene-Based Materials for Biosensors: A Review. *Sensors*, 17(10). <https://doi.org/10.3390/s17102161>
22. Prabhakar, T., Giaretta, J., Zulli, R., Rath, R. J., Farajikhah, S., Talebian, S., & Dehghani, F. (2025). Covalent immobilization: A review from an enzyme perspective. In *Chemical Engineering Journal* (Vol. 503). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.158054>
23. Basu, J., & Roychaudhuri, C. (2018). Graphene Nanoporous FET Biosensor: Influence of Pore Dimension on Sensing Performance in Complex Analyte. *IEEE Sensors Journal*, 18, 5627–5634. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:49540618>
24. Wang, Y.-T., Mukundan, A., Karmakar, R., Chen, T.-H., Dhiman, H., Lin, F.-M., & Wang, H.-C. (2025). A comprehensive review of graphene-based biosensors: Fabrication, applications, characterization and future perspectives—A review. *APL Bioengineering*, 9(3), 031504. <https://doi.org/10.1063/5.0266596>

25. Smutok, O., & Katz, E. (2023). Biosensors: Electrochemical Devices—General Concepts and Performance. *Biosensors*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/bios13010044>
26. Abdel Wahab, W. (2025). Review of research progress in immobilization and chemical modification of microbial enzymes and their application. *Microbial Cell Factories*, 24, 167. <https://doi.org/10.1186/s12934-025-02791-0>
27. Sss, D., & Sarkar, A. (2011). ChemInform Abstract: Immobilization of Bio-Macromolecules on Self-Assembled Monolayers: Methods and Sensor Applications. *Chemical Society Reviews*, 40, 2567–2592. <https://doi.org/10.1039/c0cs00056f>
28. Love, J. C., Estroff, L. A., Kriebel, J. K., Nuzzo, R. G., & Whitesides, G. M. (2005). Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chemical Reviews*, 105(4), 1103–1170. <https://doi.org/10.1021/cr0300789>
29. Wei, S., Zou, X., Tian, J., Huang, H., Guo, W., & Chen, Z. (2019). Control of Protein Conformation and Orientation on Graphene. *Journal of the American Chemical Society*, 141(51), 20335–20343. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b10705>
30. Hwangbo, Y., Lee, C.-K., Mag-isa, A., Jang, J.-W., Lee, H.-J., Lee, S.-B., Kim, S. S., & Kim, J.-H. (2014). Interlayer non-coupled optical properties for determining the number of layers in arbitrarily stacked multilayer graphenes. *Carbon*, 77c, 454–461. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2014.05.050>
31. Lee, C.-W., Hwangbo, K., & Lee, I.-S. (2014). The Effects of Combination Patterns of Proprioceptive Neuromuscular Facilitation and Ball Exercise on Pain and Muscle Activity of Chronic Low Back Pain Patients. *Journal of Physical Therapy Science*, 26(1), 93–96. <https://doi.org/10.1589/jpts.26.93>