

## FUNCIONALIZAÇÃO COM GLUTARALDEÍDO DE UM MICROELETRODO DE CARBONO IMPRESSO PARA DETECÇÃO DE PACIENTES COM COVID-19

CARVALHO, G.H.B.<sup>1</sup>; AZEVEDO, B.C.A.<sup>1</sup>; MENEZES, F.L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Discente do curso Bacharelado em Engenharia Química no IFNMG – campus Montes Claros; <sup>2</sup> Docente do curso Bacharelado em Engenharia Química no IFNMG – campus Montes Claros.

Palavras chaves: SARS-CoV-2; Biossensor; Eletroquímico; Eletrodo

### Introdução

O glutaraldeído (GA) é uma molécula orgânica linear que possui terminais aldeído em suas extremidades. Se trata de um composto muito utilizado em processos de funcionalização de eletrodos, principalmente ao se trabalhar com matéria orgânica, pois atua como um conector entre terminais amino destas moléculas [Ozcan et. al. (2021)]. Para caracterização de cada etapa de funcionalização utiliza-se a técnica de voltametria cíclica, onde espera-se uma redução da corrente após a fixação do glutaraldeído [Liv (2021), Wang et. al. (2021)]. Porém, nesse trabalho, que faz parte do projeto intitulado “Desenvolvimento de um imunossensor eletroquímico para detecção de pacientes com COVID-19”, observou-se um aumento da corrente. Para justificar esse resultado, foi levantada a hipótese de difusão lenta do par redox ferri/ferrocianeto de potássio na superfície do eletrodo. Esta difusão lenta pode ser causada por não haver agitação do eletrólito durante a análise eletroquímica. Visando a análise do processo de difusão, utilizou-se a técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). Nos resultados obtidos, foi observado, no diagrama de Nyquist, a curva com formato característico da impedância de Warburg, o que sugere um processo difusional lento na superfície do eletrodo [Hernández, et. al. (2019)]. No entanto, mais testes devem ser realizados para confirmação dessa hipótese. Embora a resposta do GA diferenciou-se de boa parte das referências utilizadas, o processo de funcionalização foi continuado com adição da proteína-*Spike* (proteína-S) do SARS-CoV-2, albumina humana e posterior exposição a uma solução com anticorpos específicos da proteína-S e outra sem anticorpos específicos, obtendo-se resultados promissores para o biossensor, indicando que o aumento de corrente observado não compromete o funcionamento geral do sensor.

### Material e métodos /Metodologia

#### *Materiais*

O microeletrodo impresso de carbono revestido com PANI foi fornecido pela Sigma Aldlich. Outros reagentes utilizados foram: solução aquosa de glutaraldeído 25% v/v, cloreto de potássio (KCl), solução aquosa de tampão fosfato salino (PBS), ferricianeto de potássio. Todos os reagentes também obtidos a partir da Sigma Aldlich.

#### *Métodos*

Para a etapa de funcionalização do glutaraldeído, o eletrodo de carbono revestido com PANI foi colocado em contato com uma solução aquosa de GA 2% v/v por duas horas, a fim de fixar os radicais de aldeído à superfície do eletrodo. Em seguida, lavou-se o eletrodo com solução aquosa 0,01 M de PBS, para remover excessos do reagente anteriormente em contato com o eletrodo. Testes de voltametria cíclicas foram realizados para avaliar se o GA estava se ligando à superfície do eletrodo.

Como solução de trabalho para os testes eletroquímicos, utilizou-se uma solução de trabalho de ferricianeto de potássio 5 mM em KCl aquoso 0,1 M. Os parâmetros utilizados para a voltametria potencial na faixa de -0,4 a 0,4 V, uma taxa de leitura de 0,05 V/s e um passo de 0,002 V. Já para a EIE, utilizou-se frequências de  $10^{-3}$  a  $10^5$  Hz, com tipo de onda 1-seno, frequência do tipo logarítmica e Eamp de 10 mV. Todos os testes eletroquímicos foram realizados em triplicata no potenciostato  $\mu$ Stat-i 400 da Metrohm DropSens.

## Resultados e discussão

A Fig. 1 apresenta o voltamograma para algumas repetições da leitura com glutaraldeído e com o eletrodo puro. Diferentemente do exposto nas literaturas [Liv (2021), Wang et. al. (2021)], observou-se um aumento de intensidade de corrente medida, que não pode ser justificado por melhor condução elétrica do glutaraldeído, uma vez que sua solução possui baixa condutividade. A diminuição de intensidade de corrente era esperada devido à adição de uma camada de radicais de aldeído à superfície do microeletrodo de carbono revestido com PANI, o que dificulta o contato dos íons do eletrólito com as cargas presentes naquela superfície, reduzindo o processo oxirredutivo e por consequência, reduzindo também a leitura de corrente.

Já a Fig. 2 retrata o resultado da EIE, onde pode ser observada a presença de um primeiro semicírculo para mais altas frequências, até um ponto tal, onde uma reta de cerca de  $45^\circ$  com a horizontal surge, caracterizando o fenômeno da impedância de Warburg, que se relaciona com a ocorrência de fenômenos de difusão [Hernández, et. al. (2019)], como apresentado na Fig. 3. Esta ocorrência corrobora a hipótese de ocorrência de difusão lenta do par redox, que pode gerar acúmulo de cargas negativas em partes do eletrodo de trabalho, justificando os aumentos observados e não esperados. Uma possível justificativa para a ocorrência do fenômeno é o baixo volume de solução de trabalho, na casa dos 100  $\mu$ L, já que não ocorre agitação na gota de solução ali colocada, deixando as espécies já reagidas ainda em contato com o eletrodo.

Em baixas frequências, pôde-se observar alguns pontos ligeiramente destoantes do padrão. O mais provável é que eles tenham ocorrido devido à precisão do potenciostato em baixas frequências, não influenciando o resultado como um todo.

A Fig. 4 apresenta voltamogramas sobrepostos para a funcionalização total do eletrodo. Pode ser visto, portanto, que apesar do aumento inesperado da corrente para a curva após a funcionalização com glutaraldeído, as demais etapas não foram comprometidas. Isto pode ser observado com a curva em preto, após funcionalização com a proteína-S, sofrer redução de intensidade de corrente quando comparado à anterior, após o glutaraldeído. O mesmo ocorreu para a curva violeta, após a adição de solução de albumina humana, e para a vermelha, após se imergir o eletrodo em solução com anticorpos específicos. No entanto, como esperado, ao colocar em contato com o eletrodo a solução sem anticorpos específicos para proteína-S, curva em azul, esta praticamente se sobrepôs à anterior, vermelha, indicando especificidade do sensor, mostrando, portanto, que o comportamento imprevisto do glutaraldeído não afetou o funcionamento final do biossensor.

## Conclusão(ões)/Considerações finais

Buscando entender o comportamento não-esperado do glutaraldeído após fixação em um eletrodo de carbono revestido com PANI, a técnica de impedância de espectroscopia eletroquímica foi aplicada para avaliar a ocorrência de difusão lenta da espécie eletroativa, principal hipótese para o ocorrido. Observou-se nos resultados, o formato característico de impedância de Warburg, que, como citado em literaturas, sugere a ocorrência do fenômeno proposto para justificar o aumento de corrente obtido. No entanto, mais testes devem ser elaborados para confirmação total da hipótese. Mesmo com o aumento obtido, as demais etapas da funcionalização foram realizadas, e os resultados apontam que o aumento de corrente na etapa de funcionalização com glutaraldeído não interfere no funcionamento do biossensor.

## Referências

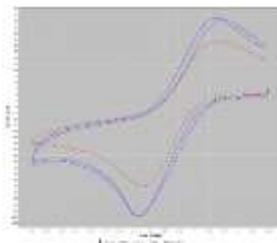
HERNÁNDEZ, H.H.; DÍAZ, F.G.; SAN MIGUEL, G.D.J.F.; ALTAMIRANO, J.C.V.; MORÁN, C.O.G.; HERNÁNDEZ, J.M. **Electrochemical Impedance Spectroscopy as a Practical Tool for Monitoring the Carbonation Process on Reinforced Concrete Structures**. *Arabian Journal for Science and Engineering* (2019). DOI:10.1007/s12369-019-04041-z.

LIV, L. **Electrochemical immunosensor platform based on gold-clusters, cysteamine and glutaraldehyde modified electrode for diagnosing COVID-19**. *Microchemical Journal*, 163, (2021).

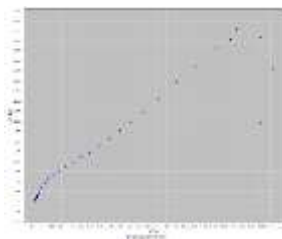
OZCAN, H.M.; AYDIN, U.D. **A simple imunossensor for thyroid stimulating hormone**. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* (2021). DOI: 10.1080/21691401.2020.1867153.

WANG, Y.; ZHAO, J.; YANG, T.; ZHANG, Y.; TAO, D.; HASEBE, Y.; ZHANG, Z. **Electrochemical evaluation of sulfide mineral modified glassy carbon electrode as novel mediated glucose biosensor**. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 894, (2021).

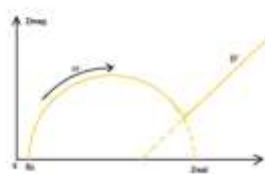
### ANEXO I



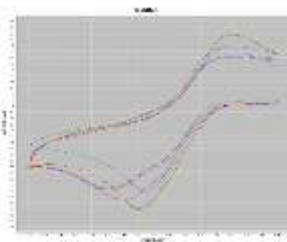
**Figura 1.** Voltamograma para funcionalização do eletrodo de PANI. Em vermelho: eletrodo puro, azul: após 2h em GA 2% v/v. Fonte: Arquivo Pessoal (2021).



**Figura 2.** Diagrama de Nyquist mostrando efeito de difusão. Fonte: Arquivo Pessoal (2021).



**Figura 3.** Exemplo de diagrama com semicírculo e reta que mostra impedância de Warburg. Fonte: Hernández (2019).



**Figura 4.** Voltamograma para cada etapa de funcionalização do eletrodo de PANI. Em verde: eletrodo puro, amarelo: após 2h em GA 2% v/v, preto: após antígeno (proteína-S), preto: após solução de albumina 1% p/v, vermelho: após solução com anticorpos específicos, azul: após solução sem anticorpos específicos. Fonte: Arquivo Pessoal (2021).