

Síntese de estruturas de carbono a partir de biomassa de mandioca fibra e para aplicação em biossensores

Marianna Soares de J. Godoi, Aline M. Faria, Talita Mazon

mgodoi@cti.gov.br, aline.faria@cti.gov.br, talita.mazon@cti.gov.br

**²Divisão de Segurança de Sistemas de Informação – DSSI
CTI/MCTI Renato Archer – Campinas/SP**

Abstract. Biomass derived carbon are promising candidates for biosensor devices due to their low cost, sustainability, and resource availability. This proposal aims to develop a simple synthesis process to prepare biomass carbon derived from cassava or and its composites with zinc oxide nanoparticles. The carbon synthesis consists of direct pyrolysis of the samples at 750 ° C for 4 hours. The carbon structures will be subjected to deposition by chemical bath with zinc acetate to obtain the nanohybrids. The synthesized materials will be characterized by MEV and the electrochemical performance of the biosensors using biomass carbon electrodes and their ZnO composite will be investigated by Differential Pulse Voltammetry (DPV) and Cyclic Voltammetry (CV).

Resumo. Carbonos derivados da biomassa estão entre os candidatos mais promissores para dispositivos biossensores devido ao baixo custo, sustentabilidade, e disponibilidade de recursos. Nesta proposta pretende-se desenvolver um processo de síntese simples para preparar carbono de biomassa derivados de mandioca ou e seus compósitos com nanopartículas de óxido de zinco. A síntese dos carbonos consiste em pirólise direta das amostras a 750 ° C por 4 horas. As estruturas de carbono serão submetidas à deposição por banho químico com acetato de zinco para a obtenção dos nanohíbridos. Os materiais sintetizados serão caracterizados por Microscopia Eletronica de Varredura (MEV) e o desempenho eletroquímico dos biossensores utilizando eletrodos de carbono de biomassa e seu compósito com ZnO será investigado por Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) e Voltametria Cíclica (VC).

1. Introdução

Desenvolvimento de sensores portáteis para diagnósticos de doenças tem sido largamente estudados^{1,2}, sendo empregados uma significativa quantia de dinheiro para o desenvolvimento destes. O emprego de biomassa grafítizada em supercapacitores já é largamente estudada³, mas seu emprego na utilização em biossensores ainda é uma novidade. A utilização da biomassa com alto grau de grafitação possui as vantagens de ser ecologicamente correto, melhorar a passagem de corrente e apresentar baixo custo de produção. A funcionalização da biomassa com nanobastões de óxido de zinco também leva ao aumento da corrente elétrica aumentando a precisão do sensor e aumentam a área de superfície facilitando a correta ancoragem do anticorpo a base sensora². O sensor desenvolvido tem como base uma placa de circuito impresso, é integrado apresentando um contra eletrodo e um eletrodo de trabalho ambos de ouro e um eletrodo de referência de prata, desenvolvido em estudos anteriores do grupo². Sobre o eletrodo de trabalho é depositado uma camada de biomassa de mandioca, com alto grau de grafitação e funcionalizada com nanobastões de ZnO. A dengue é uma doença de alta incidência no Brasil acometendo milhares de pessoas a cada ano. O desenvolvimento de biossensores para detecção de dengue é de fundamental importância para um rápido diagnóstico de forma precisa e seletiva. Tem como vantagem também o fato de ser portátil o que permite que possa ser utilizado em áreas de difícil acesso como populações ribeirinhas do rio Amazonas que não tem acesso a rede pública de saúde, nem a laboratório de análises clínicas para realização de testes sorológicos. Tendo em vista estes fatos, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de base sensora eletroquímica para diagnósticos de dengue tendo como base sensora desenvolvida a partir de compósitos de carbono de biomassa, obtido de mandioca fibra, funcionalizados com nanoestruturas de ZnO.

2. Materiais e métodos

2.1 Tratamento térmico da biomassa

A biomassa in natura da mandioca fibra foi submetida a um tratamento térmico sob as condições de 750°C por quatro horas. Após isso, a amostra foi retirada, macerada em almofariz e peneirada após 24 horas.

2.2 Preparação de acetato de zinco

Para 100mM de zinco foi feito $100 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$ totalizando 2,194g de acetato de zinco para 100ml, levado a agitação em um béquer até dissolver por completo.

2.3 Camada semente

Foram armazenados a biomassa tratada, e depois foram adicionados 10 ml de acetato de zinco em etanol (ZnAc/EtOH) e mantida 24h na estufa.

2.4 Síntese com ZnO

Em um pote de teflon (PTFE) foi realizada a síntese de ZnO. Na solução AcZn (acetato de zinco) contendo AcZn da mandioca fibra foram adicionados a hexametilenotetramina (HMTA), nitrato de zinco ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$) e H_2O deionizada. Posteriormente com o termopar imerso na solução, o recipiente foi levado para um banho de silicone, agitado e aquecido por 2 horas á 90°C para o crescimento dos nanobastões. Após a síntese, o liquido foi centrifugado por 15 minutos a 10.000 RPM e mantido em estufa por 24h para secagem. Para verificar a influência do ZnO em tamanho, densidade e orientação dos nanobastões de zinco, foi realizada a avaliação da morfologia e densidade das nanoestruturas por MEV.

2.5 Preparação do biossensor

No ultrassom os sensores foram lavados de 10 em 10 minutos em um béquer contendo água deionizada, depois inseridos em um béquer com álcool isopropílico e retornados para a água deionizada novamente por mais 10 minutos para completa higienização do mesmo. Após ser feita a secagem com o nitrogênio, foi feita a aplicação da tinta de prata no eletrodo de referência e deixado em estufa para secagem por 24 horas, depois os sensores foram envolvidos por uma veda rosca, deixando exposta apenas a superfície do eletrodo de trabalho para em seguida serem adicionados sobre ele cystamina e mantido em estufa 60°C overnight.

2.6 Preparação da biomassa

Ao serem pesados 0,05 g da biomassa de mandioca fibra em um eppendorf, foram adicionadas glutaraldeído e levado para agitação por 24h. Depois da retirada do eppendorf do ensaio de agitação foram acrescentados na biomassa PVDF em uma placa de petri e macerado com bastão de vidro até alcançar uma mistura homogênea. Essa mesma pasta é colocada na superfície do sensor que ficará na estufa a 60°C overnight.

2.7 Imobilização do Anticorpo anti-dengue

No processo de incubação, após retirada dos sensores da estufa, foram lavados com água deionizada e sobre a sua superfície foram adicionados 20mM de cystamina, mantido em repouso em temperatura ambiente por 2 horas e lavado com PBS. Consequentes desse processo foram adicionados glutaraldeído em PBS e mantido em temperatura ambiente por mais 45 minutos. Os sensores foram novamente lavados com PBS e incubados com o anticorpo anti-dengue (1:1000) em câmara úmida a 4°C overnight.

2.8 Caracterização elétrica

Depois que os sensores foram retirados do nitrogênio as respostas analíticas do imunossensor foram analisados por medições eletroquímicas como VC, utilizando como faixa de varredura de -0.6 a 0.6V . A velocidade de varredura foi de 100mV/s . Para DPV a faixa de leitura foi de -0.5 a 0.4V . Ambas medidas utilizaram como eletrólito Ferrocianeto de Potássio 10 mmol.L^{-1} $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em 0.5 mol.L^{-1} NaNO_3 .

3. Resultados e Discussão

3.1 Grafitação da Biomassa

Após o processo de pirólise a biomassa foi avaliada quanto ao seu grau de grafitação. A análise por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTR) demonstrou o alto grau de grafitação pela presença de bandas bem definidas em torno de 2898 cm^{-1} , 1591 cm^{-1} , 1273 cm^{-1} e 826 cm^{-1} que poderiam ser atribuídas a C-H, C=C, C-O e C-C respectivamente demonstrando a presença de grande concentração de carbono (Figura 1).

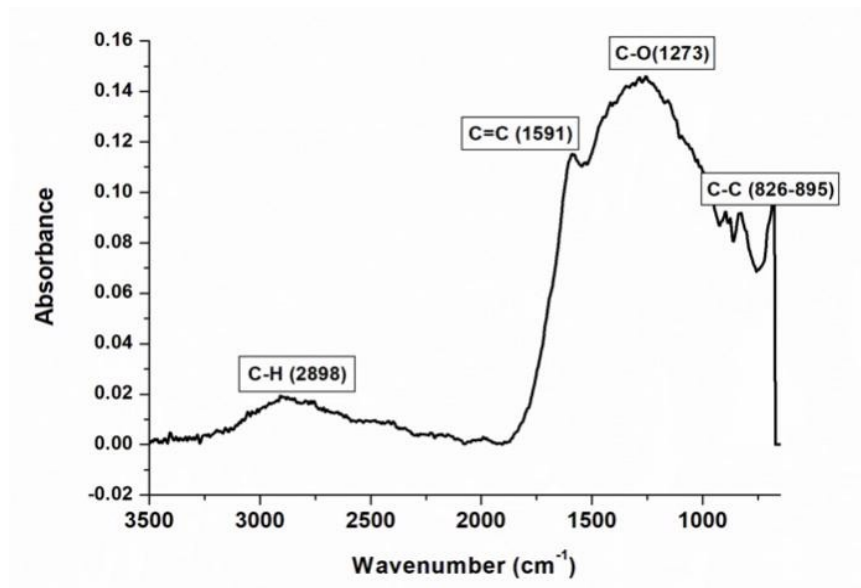


Figura 1: FTR análises com presença de bandas atribuídas a ligações de carbono

3.2. Síntese de nanobastões

A Síntese dos nanobastões sobre a biomassa foi realizada com quatro concentrações diferentes de Acetato de Zinco (AcZn) sendo elas: 60mM, 80mM, 100mM e 120mM e a avaliação da efetividade da síntese por microscopia eletrônica de varredura MEV. Conforme observado na figura 2 o crescimento de nanobastões em concentração adequada e distribuída de forma homogênea por toda a biomassa ocorreu na síntese utilizando o AcZn nas concentrações de 100mM e 120mM.

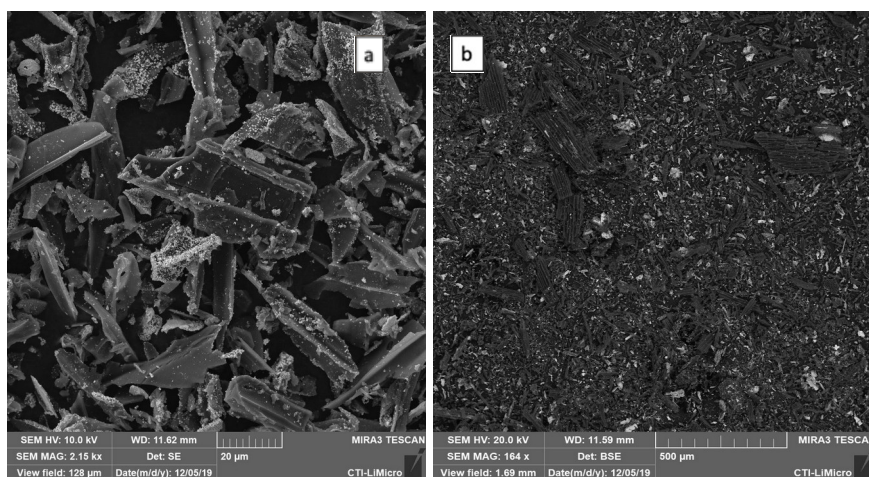


Figura 2: a) Micrografias realizadas por microscopia eletrônica de varredura da base sensora com biomassa com síntese de nanobastões com AcZn na concentração de 60mM. b) Micrografias realizadas por microscopia eletrônica de varredura da base sensora com biomassa com síntese de nanobastões com AcZn na concentração de 80mM.

3.3 Caracterização eletroquímica das bases sensoras

As bases sensoras com biomassa sintetizadas com diferentes concentrações de AcZn foram avaliadas quanto sua resposta elétrica por Voltametria de Pulso diferencial conforme figura 3 sendo observado um significativo aumento da corrente de pico anódico (I_{pa}) nas bases sensoras preparadas com biomassa com nanobastões sintetizados na concentração de 100mM. Tendo em vista a melhor resposta elétrica bem como distribuição de forma mais homogênea dos nanobastões a biomassa optou-se pela utilização da biomassa com 100mM de AcZn para desenvolvimento do biossensor.

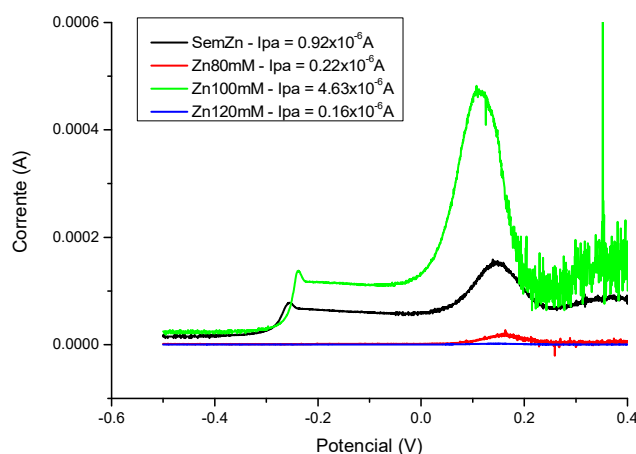


Figura 3: Análise por VPD. Em preto base sensora com biomassa sem síntese de nanobastões. Em vermelho base sensora com biomassa com síntese de nanobastões utilizando AcZn na concentração de 80mM. Em verde base sensora com biomassa com síntese de nanobastões

utilizando AcZn na concentração de 100mM. Em azul base sensora com biomassa com síntese de nanobastões utilizando AcZn na concentração de 120mM

3.4 Imobilização do anticorpo anti-dengue a base sensora

A base sensora desenvolvida foi incubada com anticorpo anti-dengue na concentração 1:1000, overnight a temperatura de 4°C. A Avaliação da imobilização do anticorpo foi realizada por voltametria cíclica sendo observada a redução da corrente de pico anódico com a adição do anticorpo a base sensora. Isto ocorre devido à característica isolante do anticorpo de mostrando assim sua efetiva ligação a base sensora (Figura 4a). A estabilidade do biossensor foi avaliada por quatro voltamogramas consecutivos, permanecendo estes estáveis durante o tempo de leitura (Figura 4b).

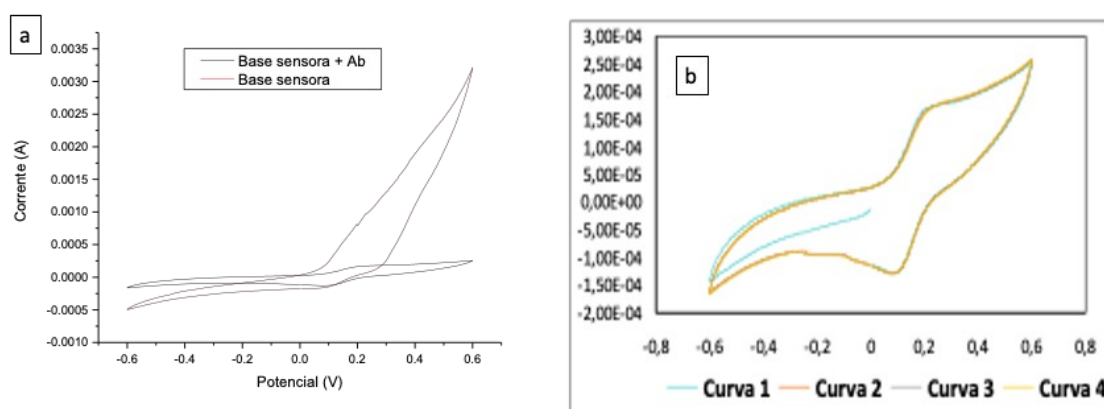


Figura 4: a) Análise por Voltametria cíclica sendo a curva em vermelho representando base sensora sem imobilização de anticorpo e em preto com imobilização de anticorpo. b) repetibilidade do sensor avaliado por Voltametria cíclica sendo avaliadas quatro curvas consecutivas.

4. Conclusão

O estudo demonstrou que a pirólise da biomassa de mandioca produziu composto com alto grau de grafitação conforme avaliado pela técnica de FTIR. A síntese de nanobastões foi eficiente sendo possível a identificação, por MEV, de grande concentração de nanoestruturas, na biomassa, em síntese com concentração superior a 100mM de ZnAc. A caracterização por DPV demonstrou que sensores sintetizados com 100mM de ZnAC apresentam melhor resposta eletroquímica. A imobilização dos anticorpos à base sensora ocorreu de forma eficiente, com demonstrado pela redução do I_{pa} , em análise de voltametria cíclica. Com vistas aos resultados obtidos foi desenvolvida com sucesso uma base sensora utilizando biomassa de mandioca funcionalizada com nanobastões de Óxido de Zinco. A imobilização do anticorpo ocorreu de forma efetiva, apresentando boa estabilidade.

5. Referências

1. Faria, A.M., Peixoto, E.B.M.I., Adamo, C.B. *et al.* Controlling parameters and characteristics of electrochemical biosensors for enhanced detection of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Sci Rep* **9**, 7411 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43680-y>
2. Aline Macedo Faria, Talita Mazon, Early diagnosis of Zika infection using a ZnO nanostructures-based rapid electrochemical biosensor, *Talanta*, Volume 203, 2019, Pages 153-160, ISSN 0039-9140, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.041>.
3. Cassava- and bamboo-derived carbons with higher degree of graphitization for energy storage MujibShakir Bin, VessalliBeatriz, BizzoWaldir A, MazonTalita, and SinghGurpreet *Nanomaterials and Energy* 2020 9:1, 54-65