



\* B R 1 0 2 0 2 2 0 0 0 6 3 0 A 2 \*

República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,  
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102022000630-0 A2

(22) Data do Depósito: 13/01/2022

(43) Data da Publicação Nacional:  
25/07/2023

**(54) Título:** TRANSDUTOR MODIFICADO, MECANISMO DE TRANSDUÇÃO E MÉTODO DE DETECÇÃO E/OU QUANTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE ANALÍTICO COM TRANSDUTOR MODIFICADO

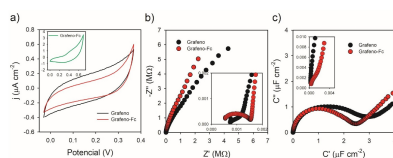
**(51) Int. Cl.:** H01M 4/96; B82Y 10/00; H01M 4/90; H01M 4/86; H01L 29/06; (...).

**(52) CPC:** H01M 4/96; B82Y 10/00; H01M 4/90; H01M 4/86; H01L 29/06; (...).

**(71) Depositante(es):** UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO.

**(72) Inventor(es):** PAULO ROBERTO BUENO; LAÍS CRISTINE LOPES; BEATRIZ LUCAS GARROTE; ADRIANO DOS SANTOS; EDGAR F. PINZÓN NIETO.

**(57) Resumo:** TRANSDUTOR MODIFICADO, MECANISMO DE TRANSDUÇÃO E MÉTODO DE DETECÇÃO E/OU QUANTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE ANALÍTICO COM TRANSDUTOR MODIFICADO. A presente invenção trata de um novo material transdutor modificado e seu mecanismo de tradução e método de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse analítico com dito transdutor modificado, utilizado para o desenvolvimento de sensores ou biossensores aplicados à métodos de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse analítico, o qual resulta em um eletrodo que contém níveis discretos de energia, ou contínuos quando apropriadamente modificado, e seu mecanismo de transferência eletrônico/eletroquímico emaranhado, baseado no emaranhamento quântico. O eletrodo em questão é baseado em estruturas unidimensionais (1D) ou bidimensionais (2D) para que os estados emaranhados possam ser utilizados como transdutor de sinal, onde essas estruturas possuem estados quantizados de energia, caracterizados pelas suas propriedades eletrônicas intrínsecas, que podem ser modificadas pelo acoplamento de estados quantizados de outras moléculas por meio de interações físicas ou químicas, com notável ganho de eficiência analítica.



**TRANSDUTOR MODIFICADO, MECANISMO DE TRANSDUÇÃO E MÉTODO DE  
DETECÇÃO E/OU QUANTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE ANALÍTICO  
COM TRANSDUTOR MODIFICADO**

[001] A presente invenção trata de um novo material transdutor modificado, sendo seu mecanismo de tradução e método de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse analítico com dito transdutor modificado, utilizado para o desenvolvimento de sensores ou biossensores aplicados à métodos de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse analítico, o qual resulta em um eletrodo que contém níveis discretos de energia, ou contínuos quando apropriadamente modificado, e seu mecanismo de transferência eletrônico/eletroquímico emaranhado, baseado no emaranhamento quântico entre condução e capacitância. O eletrodo em questão é baseado em estruturas unidimensionais (1D) ou bidimensionais (2D) para que os estados emaranhados possam ser utilizados como transdutor de sinal, onde essas estruturas possuem estados quantizados de energia, caracterizados pelas suas propriedades eletrônicas intrínsecas, que podem ser modificadas pelo acoplamento de estados quantizados de outras moléculas por meio de interações físicas ou químicas, com notável ganho de eficiência analítica.

**CAMPO DE APLICAÇÃO DA INVENÇÃO**

[002] O transdutor modificado, mecanismo de tradução e método de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse analítico transdutor modificado, objeto da presente invenção, é aplicado na área de microeletrônica, mais precisamente para micro dispositivos eletrônicos utilizados para o desenvolvimento de sensores ou biossensores aplicados à métodos de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse analítico, por apresentar um mecanismo ultrasensível de transdução servindo como ferramenta que possibilita a detecção/quantificação de analitos em quantidade traço em diferentes

tipos de amostras.

[003] Como exemplo, a invenção proposta possibilita a detecção da proteína C-reativa (CRP, analito) na concentração de 1 ag/mL (mesmo que 8,3 zmol/L, considerando a massa molecular da CRP de 120 kDa), demonstrando que a invenção é uma ferramenta sensível e versátil para ser aplicada em diagnóstico médico ou outras aplicações para detecção de analitos presentes em baixa concentração.

#### OBJETIVO DA INVENÇÃO

[004] O transdutor modificado, mecanismo de transdução e método de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse analítico, objeto da presente invenção, tem por objetivo apresentar ao mercado pertinente um transdutor modificado baseado no emalhamento quântico para desenvolvimento de sensor ou biossensor, com aplicação na detecção ou quantificação de espécies de interesse analítico.

[005] É outro objetivo da invenção apresentar um transdutor modificado como um eletrodo composto por materiais unidimensionais (1D) ou bidimensionais (2D) depositados sobre um substrato base geralmente isolante, mas podendo também ser um semicondutor.

[006] É, ainda, objetivo desta invenção apresentar um mecanismo de transdução baseado na variação dos estados quantizados temporais de energia do eletrodo acoplado a molécula, e que pode ser avaliado tanto por meio da constante de transferência elétrica/eletrônica ( $k$ ) e pela condutância ( $G$ ) e capacitância ( $C_q$ ).

[007] Outro objetivo desta invenção é apresentar um transdutor modificado cujo uso pode ser realizado por medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica, mas não exclusivamente, e que permite a diferenciação de mudanças na superfície deste eletrodo com a finalidade de identificação do analito por meio da transdução do sinal.

#### ESTADO DA TÉCNICA

[008] Em pesquisa realizada em bancos de dados especializados foram encontrados documentos de patentes referentes a material transdutor modificado, método de mecanismo de transferência eletrônico/eletroquímico e uso para desenvolvimento de sensor ou biossensor, porém nenhum desses métodos e dispositivos microeletrônicos possuem as características de configuração e funcionamento conforme descritas nesta invenção. Dentre esses documentos podem-se destacar os seguintes:

[009] O documento de patente BR 10.2014.024971-0 que trata de eletrodos de carbono modificados com catalisadores ou mediadores de processos redox de natureza inorgânica, orgânica ou biológica obtidos por compressão de mistura homogênea de proporções diversas de carbono (grafite) e agente modificador. O sistema consiste, basicamente, em misturas de grafite em pó (60 a 99%) com catalisadores ou mediadores de processos redox (1 a 40%), homogeneamente dispersos e compactados por prensagem e conectados a um transdutor ou a um eletrodo suporte contendo cavidade preenchida pelo material eletródico comprimido;

[010] O documento de patente JP2903016B1 trata de um transistor baseado num ponto quântico de fulereno, moléculas isolantes exibindo características de junção de tunelamento, moléculas condutoras exibindo características condutoras, um corpo isolante de porta consistindo em uma molécula isolada formando uma porta isolante e uma porta compreendendo moléculas condutoras. A molécula isolante e a molécula condutora, respectivamente, funcionam como uma fonte e um dreno. Em tal constituição, quando um potencial é impresso na porta, o potencial do ponto quântico feito de fulereno é alterado pela flutuação de potencial e, como resultante, a corrente do canal fluindo entre a fonte e o dreno passam por mudanças correspondentes ao potencial da porta. Além disso, a largura da junção do túnel e a altura da barreira, etc., podem ser controladas alterando a estrutura molecular do isolador;

[011] O documento de patente EP0109767A1 trata de eletrodo quimicamente modificado que consiste em um eletrodo de grafite pirolítico eletricamente condutor, cujo plano basal está exposto, e um mediador de elétrons redox imobilizado na superfície do eletrodo. O mediador de elétrons é, por exemplo, corante de viologen, bipyridina, fenantrolina, 1-metoxi-5-metilfenazênio metil sulfato ou N-metilfenazênio metil sulfato. O eletrodo é usado na detecção de substâncias biológicas.

[012] Assim, é fato que os documentos citados nos parágrafos acima, apesar de pertencerem ao campo de aplicação correlato ora solicitado, não apresentam nenhuma das características do objeto ora inventado garantindo, especialmente no que se refere ao uso das propriedades quânticas emaranhadas entre a condutância quântica e a capacitância quântica e que fornecem uma impressão digital temporal do estado quântico e que somente pode ser acessado por medidas transientes ou do tipo perturbação alternada em frequências características condizentes com o estado de temporal do estado quântico emaranhado, assim, que o objeto aqui relatado atende aos requisitos legais de patenteabilidade.

#### PROBLEMA A SER RESOLVIDO

[013] O transdutor modificado e seu mecanismo de tradução se trata de um eletrodo que contém níveis discretos de energia, ou contínuos, quando apropriadamente modificado, e seu mecanismo de transferência eletrônico/eletroquímico emaranhado, está baseado no emaranhamento quântico, tendo como principal aplicação o desenvolvimento de sensor ou biossensor aplicado na detecção ou quantificação de espécies de interesse analítico (analito). Este eletrodo em questão é baseado em estruturas unidimensionais (1D) ou bidimensionais (2D) para que os estados emaranhados possam ser utilizados como transdutor de sinal. Essas estruturas possuem estados quantizados de energia, caracterizados pelas suas propriedades eletrônicas intrínsecas, que podem ser

modificadas pelo acoplamento de estados quantizados de outras moléculas por meio de interações físicas ou químicas, com notável ganho de eficiência analítica.

[014] As mudanças ocorridas no ambiente externo desse eletrodo, durante sua utilização, como: a interação receptor-analito, alteram as propriedades elétricas do material, refletindo em variações nos valores de frequência, associados ao seu processo de transferência elétrica/eletrônica  $k$  emaranhado. Portanto, o reconhecimento do analito por meio da variação das propriedades quânticas dos materiais 1D e/ou 2D componentes do eletrodo modificado por um receptor pode ser monitorado por meio da variação da dinâmica eletrônica associada a  $k$  e, dessa forma, essa frequência ou tempo-característico quantizado pode ser utilizada como mecanismo vantajoso e ultrasensível de transdução, possibilitando de forma vantajosa a detecção/quantificação de analitos em quantidade traço em diferentes tipos de amostras, através da sua utilização em sensores e biossensores.

[015] Os sensores e os biossensores são dispositivos utilizados em aplicações médicas, no monitoramento ambiental, e em processos industriais. Um sensor biológico ou simplesmente biossensor é basicamente composto por uma superfície contendo uma espécie receptora (que tem afinidade pelo analito), um transdutor (responsável por converter o sinal de reconhecimento num outro, mensurável, como por exemplo um sinal elétrico) e o circuito destinado à leitura e processamento dos dados. O transdutor desses dispositivos é um de seus componentes mais importantes, uma vez que é por meio dele que o sinal de reconhecimento do analito pelo receptor pode ser detectado e medido, fornecendo uma resposta que pode ser um sinal qualitativo (i.e. positivo/negativo) ou quantitativo (i.e. concentração). Atualmente, existem diversos tipos de transdutores, como o piezelétrico, óptico e térmico, mas aqueles que se baseiam na transdução elétrica/eletroquímica se destacam por oferecerem maior sensibilidade e capacidade

para portabilidade (i.e., permitindo o seu uso em campo) e para análise de amostras complexas (i.e., biológicas, ambientais, industriais).

[016] Dentre os biossensores eletroquímicos, aqueles que se baseiam em estruturas eletroativas se sobressaem devido à sua característica *reagentless* (i.e. sem a necessidade de adicionar íons ou qualquer outra molécula para a execução do ensaio). Nestes ensaios, apenas há a necessidade de uma espécie eletroativa imobilizada sobre superfície condutora, ou a polimerização de um filme eletroativo sobre um eletrodo, para a obtenção do sinal analítico. Embora essa abordagem seja promissora no desenvolvimento de biossensores, a necessidade de obtenção de tal superfície pode ser um desafio para a comercialização dos dispositivos, uma vez que requerem rigoroso controle da mesma ou reprodutibilidade na obtenção de filme polimérico. No entanto, o uso de materiais que apresentam características quânticas, e que podem ser fabricados em larga escala por métodos de deposição escalonáveis (como a deposição química em fase de vapor – CVD, por exemplo), relacionadas ao processo de transferência/transmissão eletrônica pode se apresentar como uma solução a essa abordagem. Um exemplo de material que apresenta essas características, mas não se limitando a ele, é o grafeno (mono ou multicamadas), que é uma estrutura formada por átomos de carbono com hibridização  $sp^2$  dispostos em duas dimensões e apresenta propriedades promissoras para a eletrônica do futuro.

[017] Assim a presente invenção provê um transdutor modificado de forma vantajosa para ser utilizado no desenvolvimento de sensores e biossensores, sendo um dos componentes mais importantes desses dispositivos, uma vez que é por meio dele que o sinal de reconhecimento do analito pelo receptor pode ser detectado e medido, fornecendo uma resposta que pode ser um sinal qualitativo (positivo/negativo) ou quantitativo (concentração). A invenção proposta possibilita a detecção de analito na

concentração de 1 ag/mL (mesmo que 8,3 zmol/L, considerando a massa molecular da CRP de 120 kDa).

#### DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[018] A complementar a presente descrição e de modo a proporcionar melhor entendimento da invenção e de seu potencial na utilização como componente de biossensor para detecção da proteína CRP como prova de conceito, é acompanhado a descrição, em anexo, um conjunto de figuras, onde, de maneira exemplificada, embora não limitativa, onde se representa:

[019] A Figura 1 ilustra em: (a) a voltametria cíclica, (b) o diagrama de Nyquist impedimétrico e (c) o diagrama de Nyquist capacitivo do grafeno antes e depois da adsorção do ferroceno. O *inset* em: (a) mostra a voltametria cíclica do ferroceno adsorvido no grafeno na faixa de potencial característica do ferroceno (0,0 V – 0,7 V), (b) a ampliação da região de altas frequências do diagrama de Nyquist impedimétrico, e em (c) a ampliação da região de altas frequências do diagrama de Nyquist capacitivo. Condições experimentais: Velocidade de varredura de 100 mV/s, faixa de potencial de -0,3 V a 0,37 V (vs Ag|AgCl, 3 M KCl). Eletrólito de suporte 20 mM TBAClO<sub>4</sub> em solução de acetonitrila/água (1/4, v/v);

[020] A Figura 2 ilustra em: (a) o diagrama de Nyquist capacitivo e em (b) o diagrama de Bode da parte imaginária da capacitância de cada etapa de modificação da superfície do biossensor;

[021] A Figura 3 ilustra em: (a) o diagrama de Nyquist capacitivo e em (b) o diagrama de Bode da parte imaginária da capacitância em diferentes concentrações de analito;

[022] A Figura 4 ilustra em: (a) a curva analítica de variação de  $G_{equilíbrio}$  (mS), em (b) a curva analítica de  $C_q$  (nF/cm<sup>2</sup>) e em (c) a curva analítica de  $k_{equilíbrio}$  (ks<sup>-1</sup>) frente as concentrações de CRP (ag mL<sup>-1</sup>). Em (c),  $k_{equilíbrio}$  foi obtida a partir da relação

$$k_{\text{equilíbrio}} = G_{\text{equilíbrio}}/C_q.$$

[023] A Figura 5 ilustra em: (a) a curva analítica de variação de  $G_{\text{dinâmico}} = \omega C'' = 2\pi f_{\text{ressonância}} C''_{\text{dinâmico}}$ , em (b) a curva analítica de  $C_q$  (nF/cm<sup>2</sup>) e em (c) a curva analítica de  $k_{\text{dinâmico}}$  (Ms<sup>-1</sup>) frente as concentrações de CRP (ag mL<sup>-1</sup>), sendo que  $k_{\text{dinâmico}}$  foi obtida a partir da relação  $k_{\text{dinâmico}} = G_{\text{dinâmico}}/C_q$ .

#### DESCRIÇÃO GERAL DA INVENÇÃO

[024] O emaranhamento quântico aqui proposto para uso em transdutor modificado para aplicação em sensores e biossensores é um fenômeno que correlaciona duas propriedades intrínsecas do material, isto é, capacitância e condutância quânticas, sendo ambas propriedades associadas à sua estrutura eletrônica, onde a alteração ou a mudança de uma delas afeta inevitavelmente a outra.

[025] O emaranhamento quântico, descrito aqui por meio da constante temporal de transferência eletrônica/eletroquímica ( $k$ , com unidades de Hertz, i.e. s<sup>-1</sup>), é matematicamente descrita, em função do potencial químico ( $\mu$ ) como:

$$k(\mu) = G(\mu) \frac{1}{C_{\mu}(\mu)} = \left[ \frac{2e^2}{h} \sum_n T_n(\mu) \right] \left( \frac{1}{C_e} + \frac{1}{C_q} \right) \quad (\text{Formula 1})$$

onde o primeiro termo da equação, escrita entre colchetes, é a condutância quântica ( $G(\mu)$ ), enquanto a segunda é a capacitância eletroquímica ( $C_{\mu}(\mu)$ ).

[026] A condutância  $G(\mu)$  está associada com o processo de transferência/transporte de elétrons entre os níveis quantizados de energia por meio de um canal quântico, e é descrito como:

$$G(\mu) = \frac{2e^2}{h} \sum_n T_n(\mu) \quad (\text{Formula 2})$$

onde o termo  $2e^2/h$  é uma constante que representa a máxima condutância quântica ( $G_0$ ) de um canal quântico ideal, enquanto  $T_n(\mu)$  é a matriz de probabilidade de transmissão do elétron em um canal quântico  $n$ .

[027] Desta forma, para um único canal quântico ideal  $n$ , a transmissão é igual à unidade (i.e.  $T_n(\mu) = 1$ ). Para  $N$  canais quânticos ideais, a transmissão total é então dada pelo somatório  $\sum_n T_n(\mu) = N$ , e a condutância quântica total, portanto, dada por  $NG_0$ . Importante notar que esses canais podem ser interpretados como a probabilidade, dada pela matriz de transmissão, da comunicação entre os estados quantizados de energia que ocorre por meio da transmitância do elétron entre diferentes estados quânticos.

[028] Quando o processo de transferência eletrônica envolve o acúmulo de cargas, surge a componente capacitiva, descrita como capacitância eletroquímica ( $C_\mu$ ). A capacitância eletroquímica é a combinação em série de duas capacitâncias: a capacitância geométrica ou eletrostática ( $C_e$ ), que depende apenas da geometria do capacitor e, portanto, da configuração em que as cargas separadas se encontram, e a componente quântica ( $C_q$ ), relacionada com a ocupação eletrônica dos níveis energéticos. Essa combinação em série dá origem à capacitância eletroquímica descrita como:

$$\frac{1}{C_\mu} = \frac{1}{C_e} + \frac{1}{C_q} \quad (\text{Formula 3})$$

[029] No caso em que há alta densidade de elétrons energeticamente acessíveis num estado confinado, como no caso do grafeno, por exemplo, a componente quântica predomina sobre a capacitância total  $C_\mu$ , de forma que  $C_\mu \sim C_q$ , isso ocorre porque  $C_e \gg C_q$  na equação (3). Importante notar aqui que a capacitância geométrica está relacionada predominantemente com a capacitância da dupla camada elétrica em sistemas

eletroquímicos, que é a formação de uma camada de solvente/íons com carga oposta à carga aplicada no eletrodo.

[030] Para o caso aqui exemplificado, em que o grafeno modificado foi utilizado como eletrodo para o biossensoriamento do analito, considerando as equações 1 e 2, e que  $C_{\mu} \sim C_q$ , a constante  $k$  é dada por  $k = G/C_q$  e é determinada pela relação entre a capacidade de armazenamento de energia ( $C_q$ ) e pela probabilidade de transporte/transmissão de elétrons pelos canais quânticos ( $G$ ) dentro da estrutura bidimensional do grafeno. Como a condutância pode ser descrita como sendo o inverso da resistência  $R_q$  ( $G = 1/R_q$ ), a constante  $k$  pode ser escrita como  $k = 1/R_q C_q$ . Essa constante, por sua vez, corresponde à constante de tempo  $\tau^{-1}$ , visto que  $\tau = R_q C_q$ . Como  $G$  e  $C_q$  são quantizados e estão quanticamente emaranhados,  $k = \tau^{-1}$  obtido para a estrutura bidimensional (o mesmo equivale para estrutura unidimensional) também é quantizada, e apresenta uma propriedade intrínseca do material. Como esta propriedade pode ser monitorada em função da concentração de analito, e ela é modificada devido à interação receptor-ligante, ela pode ser utilizada como mecanismo de transdução ultrasensível de analito em diferentes tipos de amostras.

[031] As medidas podem ser realizadas numa célula eletroquímica padrão de três eletrodos, sendo o eletrodo de trabalho aquele constituído das estrutura 1D ou 2D em substrato isolante com moléculas acopladas quanticamente, eletrodo de platina como contra eletrodo, e eletrodo de Ag|AgCl (3 M KCl) sendo o de referência, utilizando eletrólito de suporte. Essa célula eletroquímica pode atuar como um transistor de efeito de campo. Um transistor de efeito de campo é um dispositivo composto convencionalmente por três terminais que são: fonte, dreno e porta. A fonte e o dreno são os terminais por onde entram e saem os portadores de carga no canal, respectivamente, enquanto que a porta modula a condutividade no canal.

[032] Na presente invenção, a estrutura 1D ou 2D depositada sobre um substrato base fica exposta ao meio e atua como o canal e o eletrodo de referência atuará como porta. Nessa configuração há apenas um terminal condutivo que atuará como fonte e dreno. O eletrodo de trabalho é então modificado com a molécula receptora de forma a detectar/quantificar o analito. No caso de quantificação do analito, diferentes concentrações são utilizadas, incubando o eletrodo nas amostras da menor para a maior concentração do analito. Cada amostra/concentração é monitorada por meio da técnica de impedância eletroquímica, avaliando as componentes emaranhadas  $G$  e  $C_q$  (Figuras 4 e 5). Então, pela relação  $k = G/C_q$  obtém-se  $k$ . Esse sistema pode ser usado em uma configuração contendo fonte e dreno em dois terminais condutivos distintos depositados sobre o substrato base. Ambas as configurações podem conter ou não um eletrólito, ou seja, o meio pode ser líquido, gasoso ou outro estado físico ou químico da matéria.

[033] O mecanismo de transdução é baseado na alteração do potencial externo sobre o eletrodo. A alteração desse potencial elétrico imposto sobre o canal quântico promove uma resposta quantizada entre as componentes emaranhadas  $C_q$  e  $G$ , que promovem mudança em  $k$ , que por sua vez, pode então ser monitorado como sinal transdutor de reconhecimento do analito-receptor.

[034] Como  $k$  é uma constante quântica temporal, típica da estrutura eletrônica, ela pode ser acessada por meio de técnicas transientes no tempo ou A.C., isto é, de perturbação de potencial alternado como o caso da espectroscopia de impedância/capacitância eletroquímica. Por meio dessas medições, as propriedades quânticas temporais ( $G$ ,  $C_q$  e  $k$ , como mostrados nas Figuras 4 e 5) podem ser obtidas e então utilizadas para monitorar a presença ou quantificar determinado analito numa amostra. A capacitância eletroquímica pode ser obtida pelo diâmetro do semicírculo num dígrama de Nyquist capacitivo, como mostrado na Figura 3a.

[035] A condutância pode ser obtida por duas metodologias diferentes, isto é, quando o sistema está no equilíbrio ou não (dinâmico). Esses parâmetros podem ser calculados experimentalmente onde a condutância do sistema em equilíbrio pode ser calculada seguindo a equação  $G_{equilíbrio} = \omega C''_{equilíbrio}$ , onde  $\omega (= 2\pi f)$  e  $f$  é a frequência angular do valor de  $C_q$  e  $C''_{equilíbrio}$  é o valor da capacitância imaginária de  $C_q$ , como mostrado no diagrama de Nyquist capacitivo (Figura 3a). Usando a relação  $k_{equilíbrio} = G_{equilíbrio}/C_q$ , calcula-se  $k_{equilíbrio}$  para cada concentração de analito (Figura 4c). Para o caso fora do equilíbrio, a condutância do sistema dinâmico é calculado a partir da frequência de ressonância (estado dinâmico) no valor máximo de  $C''$  no diagrama de Nyquist ou de Bode (Figura 3a e 3b, respectivamente), ou seja,  $C_q/2 = C''_{dinâmico}$ . De forma que  $G_{dinâmico} = \omega C''_{dinâmico} = 2\pi f_{ressonância} C''_{dinâmico}$ . Usando a relação  $k_{dinâmico} = G_{dinâmico}/C_q$ , calcula-se  $k_{dinâmico}$  para cada  $f_{ressonância}$  de cada concentração de analito (Figura 5c).

[036] As propriedades quânticas do eletrodo se alteram conforme ocorre ligação receptor-ligante como pode ser observado na Figura 4 e 5. Nestas figuras, observa-se a resposta linear de  $k_{equilíbrio}$  e  $k_{dinâmico}$  que está relacionado com a propriedade de emaranhamento quântico entre  $G_{equilíbrio}$  e  $C_q$  (Figura 4c) e  $G_{dinâmico}$  e  $C_q$  (Figura 5c). Por isso,  $k$  de estruturas 1D e 2D pode ser usado como sinal transdutor para quantificar/detectar o analito presente na amostra. Esses valores, por sua vez, não são possíveis de serem acessados por técnicas de corrente contínua D.C., como é o caso da voltametria cíclica, em que o voltamograma não apresenta corrente faradaica ou mudanças sensíveis em seu formato (Figura 1a).

## DESCRIÇÃO DETALHADA

[037] O transdutor modificado, mecanismo de tradução e método de detecção e/ou

quantificação de espécies de interesse analítico transdutor modificado, objeto da presente invenção, compreende:

[038] O transdutor modificado o qual trata-se de ser um eletrodo transdutor modificado compreendendo materiais unidimensionais (1D) ou bidimensionais (2D) que possuem estados quantizados temporais de energia acoplados aos estados quantizados temporais de outras moléculas como transdutores elétricos/eletroquímicos depositados sobre um substrato base isolante ou um semicondutor, para o desenvolvimento de sensores e biossensores; ditos materiais unidimensionais (1D) ou bidimensionais (2D) apresentando estados quantizados temporais de energia definidos por processos de transferência/transmissão eletrônica ( $k$ ) que possuem uma frequência característica definida pela condutância ( $G$ ) e capacitância ( $C_q$ ) quânticas, sendo  $k = G/C_q$  definido com unidade de frequência (em Hertz ou equivalente). Onde os processos de transferência/transmissão eletrônica ( $k$ ) são expressos como um tempo característicos  $\tau = R_q C_q$ , com unidade tempo (em segundos ou equivalente), em que  $R_q = 1/G$ . Onde o material depositado sobre o substrato isolante ou semicondutor pode conter mono ou multicamadas de estruturas 1D e 2D até o limite de 10 nm.

[039] No transdutor modificado os materiais unidimensionais (1D) podem ser, nanotubos de carbono de parede simples e múltiplas, nanorods e nanofios. dentre outros; os materiais bidimensionais (2D) podem ser grafeno e seus derivados como óxido de grafeno, óxido de grafeno reduzido, nanofitas de grafeno, grafeno tipo *crumpled*, nitreto de boro hexagonal, metais de transição dicalcogenetos, fosforeno, camadas de hidróxidos duplos, família de compostos monoelementais, nitretos/carbonetos de metal; óxidos do tipo perovskita, polímeros 2D, dentre outros; e os óxidos de metais de transição (Ti, Cu, Zn, e outros) em configuração 1D ou 2D que compreendem uma das dimensões limite do material, seção transversal das estruturas 1D ou espessura das estruturas 2D,

acoplados ao substrato no intervalo entre 0,2 a 10 nm.

[040] O eletrodo transdutor modificado é modificado como receptor ancorado para moléculas que se acoplam com os estados quantizados temporais de energia dos materiais unidimensionais (1D) e bidimensionais (2D), ligadas tanto covalentemente quanto não-covalentemente, para fins específicos de emaranhamento dos seus estados temporais quânticos das estruturas com aqueles presentes em moléculas como: - estruturas aromáticas condensadas ou não (naftaleno, antraceno, fenantreno, pireno e polímeros condutores); - espécies eletroativas moleculares com níveis doadores e aceptores de elétrons; - espécies eletroativas contendo elementos metálicos (Fe, Ru, Ti, V, Mn, Cr, Co, Ni, Nb ou Mo); - moléculas peptídicas e/ou oligonucleotídicas que contenham (a) e/ou (b) e/ou (c); onde, ditas estruturas podem conter grupos funcionais (carboxila, amina, sulfidril, etc.) adequados ancorando covalentemente ou não-covalentemente os receptores de interesse para o reconhecimento do analito ou já conterem o receptor biológico em suas estruturas. Dito material unidimensional (1D) ou bidimensional (2D) possuir contato ôhmico de baixa resistência elétrica e comportamento linear de corrente versus voltagem para fins de obtenção de e/ou acesso as suas propriedades temporais quantizadas por métodos transientes ou de corrente alternada (A.C.).

[041] No transdutor modificado o receptor ancorado covalentemente ou não-covalentemente na molécula pode ser aptâmeros, anticorpos, antígenos, fragmentos de anticorpos, estruturas genômicas, oligossacarídeos, peptídeos, células, bactérias, partículas virais, enzimas e proteínas para aplicação como biossensores ; e o analito reconhecido pelo receptor ancorado na molécula pode ser aptâmeros, anticorpos, antígenos, estruturas genômicas, fragmentos de anticorpos, oligossacarídeos, peptídeos, células, bactérias, partículas virais, enzimas e proteínas para aplicação como

biossensores. Onde o eletrodo transdutor modificado reconhece qualitativamente ou quantitativamente o analito.

[042] No transdutor modificado o material unidimensional (1D) ou bidimensional (2D) poder ser utilizado como sensor para gases ou outras moléculas de interesse biológico, principalmente, mas não somente, atuando como transdutor onde será depositado o material de reconhecimento/afinidade, ou também atuando como o próprio material de reconhecimento/afinidade, desde que suas propriedades elétricas sejam afetadas pelo analito de forma que haja uma transdução de sinal químico (ou bioquímico) em elétrico.

[043] No transdutor modificado, o mecanismo de transdução está baseado na variação dos estados quantizados temporais de energia acoplado ao eletrodo transdutor modificado podendo ser avaliado tanto por meio de  $k$  como pela condutância ( $G$ ) e capacitância ( $C_q$ ). Onde as propriedades de condutância ( $G$ ) e capacitância ( $C_q$ ) são obtidas pelas técnicas do método de detecção a partir de medidas de funções de transferência elétrica, sendo possível extrair os valores de capacitância complexa ( $C^*$ ), impedância complexa ( $Z^*$ ), condutância complexa ( $G^*$ ), ou qualquer função de admitância ( $Im^*$ ) e suas relações obtidas; as funções de admitância são funções complexas (e.g., admitância,  $Y^*$ , módulo,  $M^*$  e capacitância,  $C^*$ ) que podem ser obtidas a partir dos resultados de impedância complexa ( $Z^*$ ), calculadas por meio de relações matemáticas; onde essas funções complexas contêm componentes imaginários e reais que podem ser aplicados como sinais de transdução para qualquer interface sensora, incluindo as biossensores.

[044] O método de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse trata-se de um método de detecção por medidas dependentes do tempo e transiente para o sensoriamento do analito compreendendo: (a) contato do meio, que pode conter ou não o analito de interesse, com o eletrodo definido em qualquer uma das reivindicações de (1) a (18); (b) obter uma ou mais medidas elétricas ou eletroquímicas do eletrodo; e (c)

determinar por medidas elétricas e/ou eletroquímicas se o analito está presente no meio; onde as medidas elétricas e eletroquímicas podem conter, no mínimo, com um único eletrodo transdutor modificado. O qual inclui preferencialmente técnicas de medidas dependentes do tempo e transientes, como a voltametria de onda quadrada (SWV), voltametria de pulso diferencial (DPV), a espectroscopia de impedância (elétrica e eletroquímica, EIE), e pode incluir técnicas de medidas elétrica e eletroquímica, como espectroscopia de capacitância e derivações, e outras funções de imitância. De tal forma que quando determinar por medidas elétricas e/ou eletroquímicas se o analito está presente no meio, verificar a presença e/ou a concentração do analito tanto qualitativa e/ou quantitativamente, onde o uso do eletrodo é realizado por medidas dependentes do tempo e transientes como medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica, mas não exclusivamente, para a diferenciação de mudanças na superfície deste eletrodo com a finalidade de identificação do analito por meio da transdução do sinal.

#### EXEMPLO DE REALIZAÇÃO DA INVENÇÃO

[045] A presente patente de invenção se refere A UM novo material transdutor modificado seu mecanismo de tradução e método de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse analítico com dito transdutor modificado, utilizado para o desenvolvimento de sensores ou biossensores aplicados à métodos de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse analítico, mais precisamente trata-se de transdutor quântico modificado como eletrodo para desenvolvimento de sensor ou biossensor.

[046] Como exemplo da presente invenção, é apresentado o material baseado em estruturas bidimensionais (2D) que possuem estados quantizados de energia (grafeno) acoplados aos estados quantizados de outras moléculas (e.g. ferroceno ácido carboxílico, FcA) como transdutores elétricos/eletroquímicos para o desenvolvimento de (bio)sensores. Neste caso, 70 mM de FcA é adsorvido em um eletrodo de grafeno, podendo ser ou não multicamada, durante 16 horas a temperatura ambiente (24 °C). A adsorção das moléculas de ferroceno sobre a superfície de grafeno é consequência das

interações  $\pi$ - $\pi$  entre ambas as estruturas. A superfície de grafeno antes e depois da adsorção das moléculas de ferroceno é caracterizada por medidas eletroquímicas dependentes do tempo (espectroscopia de impedância eletroquímica, EIE) usando uma célula eletroquímica de três eletrodos, sendo o eletrodo de grafeno o eletrodo de trabalho, o eletrodo de Ag|AgCl em 3 M KCl o eletrodo de referência, e o eletrodo de platina o contra eletrodo.

[047] As medidas foram realizadas em um potenciostato portátil com um analisador de resposta em frequência. O eletrólito de suporte utilizado foi 20 mM de perclorato de tetrabutílamônio (TBAClO<sub>4</sub>) em solução de acetonitrila/água (1/4, v/v).

[048] Observa-se na Figura 1a, que são medidas do tipo D.C., que não foram observadas a presença dos picos característicos da espécie redox (nem mesmo na faixa de potencial característica nesse eletrólito de suporte, Figura 1a *inset*). No entanto, em medidas A.C. realizadas no mesmo eletrodo, observou-se uma mudança significativa no valor de  $G$  e  $C_q$  a baixas e altas frequências (Figura 1b e 1c). Dessa forma, as etapas posteriores foram avaliadas apenas por medidas A.C., como é esperado, visto que este dispositivo se comporta como um transistor A.C. ou transiente.

[049] Depois, a superfície grafeno-ferroceno é modificada para a obtenção do transdutor específico para a detecção da proteína C-reativa (CRP). Primeiro, o receptor específico (anticorpo anti-CRP) é imobilizado covalentemente às moléculas de ferroceno acopladas no grafeno através da reação carbodiimida.

[050] A solução de receptor é preparada em tampão fosfato (PB) pH 7,4 em uma concentração 1:1000 e foi incubada por 1h a temperatura ambiente imediatamente depois dos 30 min de imersão na solução 0,4 M 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) e 0,1 M N-hidroxissuccinimida (NHS) (1/1, v/v).

[051] Para garantir que não ocorra interações inespecíficas, o biossensor é bloqueado

durante 30 min a temperatura ambiente com a solução de bloqueio (*Superblock<sup>TM</sup>*, *ThermoFisher*). Após cada modificação, as variações de  $G$  e  $C_q$ , são acessadas por medidas de EIE (e demais funções de imitância, como a capacitância) para obter os valores de  $k_{equilíbrio}$  e  $k_{dinâmico}$ , conforme apresentado na Figura 4 e Figura 5, respectivamente.

[052] Em seguida, são feitas as medidas dos brancos para quantificar a variação em relação a solução de medida (PB pH 7,4), solução em que são preparadas as concentrações de CRP. Para isso, a superfície de grafeno modificada é imersa 30 min em PB pH 7,4 a temperatura ambiente e, depois, caracterizada por EIE. Essa etapa é repetida duas vezes.

[053] Após as medidas dos brancos, são feitas as incubações e medidas das amostras do analito CRP. As concentrações de CRP usadas foram 1; 2; 5; 7,5; 10; 12,5; 15, 20 e 40 ag/mL, todas preparadas em PB pH 7,4. As amostras são incubadas 30 min a temperatura ambiente. A interação entre o anticorpo anti-CRP e o analito CRP foi caracterizada eletroquimicamente. Esse processo de incubação e caracterização é repetido para cada amostra de CRP, começando pela menor concentração até a maior concentração (Figura 3). O biossensor é construído utilizando tanto o parâmetro  $k_{equilíbrio}$  como o  $k_{dinâmico}$  como sinal transdutor, conforme Figuras 4c e 5c, respectivamente, sendo que para os dois parâmetros  $k_{equilíbrio}$  e  $k_{dinâmico}$  o intervalo de resposta linear foi de 1-10 ag/mL. Com ambos os sinais analíticos foi possível a detecção de analito na concentração de 1 ag/mL (mesmo que 8,3 zmol/L, considerando a massa molecular da CRP de 120 kDa).

[054] É certo que quando o presente invento for colocado em prática, poderão ser introduzidas modificações no que se refere a certos detalhes, sem que isso implique afastar-se dos princípios fundamentais que estão claramente substanciados no quadro

reivindicatório, ficando assim entendido que a terminologia empregada não teve a finalidade de limitação.

[055] Assim, pelas características de configuração e funcionamento, acima descritas, pode-se notar claramente que o TRANSDUTOR MODIFICADO, MECANISMO DE TRANSDUÇÃO E MÉTODO DE DETECÇÃO E/OU QUANTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE ANALÍTICO COM TRANSDUTOR MODIFICADO, tratam-se de um método e dispositivo novos para o Estado da Técnica o qual reveste-se de condições de inovação, atividade inventiva e industrialização inéditas, que o fazem merecer o Privilégio de Patente de Invenção.

## REIVINDICAÇÕES

1 - **TRANSDUTOR MODIFICADO**, caracterizado por ser um eletrodo transdutor modificado compreendendo materiais unidimensionais (1D) ou bidimensionais (2D) que possuem estados quantizados temporais de energia acoplados aos estados quantizados temporais de outras moléculas como transdutores elétricos/eletroquímicos depositados sobre um substrato base isolante ou um semicondutor, para o desenvolvimento de sensores e biossensores; ditos materiais unidimensionais (1D) ou bidimensionais (2D) apresentando estados quantizados temporais de energia definidos por processos de transferência/transmissão eletrônica ( $k$ ) que possuem uma frequência característica definida pela condutância ( $G$ ) e capacitância ( $C_q$ ) quânticas, sendo  $k = G/C_q$  definido com unidade de frequência (em Hertz ou equivalente).

2 - **TRANSDUTOR MODIFICADO**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os processos de transferência/transmissão eletrônica ( $k$ ) serem expressos como um tempo característicos  $\tau = R_q C_q$ , com unidade tempo (em segundos ou equivalente), onde  $R_q = 1/G$ .

3 - **TRANSDUTOR MODIFICADO**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os materiais unidimensionais (1D) serem, nanotubos de carbono de parede simples e múltiplas, nanorods e nanofios, dentre outros.

4 - **TRANSDUTOR MODIFICADO**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os materiais bidimensionais (2D) serem, grafeno e seus derivados como óxido de grafeno, óxido de grafeno reduzido, nanofitas de grafeno, grafeno tipo *crumpled*, nitreto de boro hexagonal, metais de transição dicalcogenetos, fosforeno, camadas de hidróxidos duplos, família de compostos monoelementais, nitretos/carbonetos de metal; óxidos do tipo perovskita, polímeros 2D, dentre outros.

5 - **TRANSDUTOR MODIFICADO**, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por

os óxidos de metais de transição (Ti, Cu, Zn e outros) em configuração 1D ou 2D compreenderem uma das dimensões limite do material, seção transversal das estruturas 1D ou espessura das estruturas 2D, acoplados ao substrato no intervalo entre 0,2 e 10 nm.

**6 - TRANSDUTOR MODIFICADO**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** o eletrodo transdutor modificado ser modificado com moléculas que se acoplam com os estados quantizados temporais de energia dos materiais unidimensionais (1D) e bidimensionais (2D), ligadas tanto covalentemente quanto não-covalentemente, para fins específicos de emaranhamento dos seus estados temporais quânticos das estruturas com aqueles presentes em moléculas como: - estruturas aromáticas condensadas ou não (naftaleno, antraceno, fenantreno, pireno e polímeros condutores); - espécies eletroativas moleculares com níveis doadores e aceptores de elétrons; - espécies eletroativas contendo elementos metálicos (Fe, Ru, Ti, V, Mn, Cr, Co, Ni, Nb ou Mo); - moléculas peptídicas e/ou oligonucleotídicas que contenham (a) e/ou (b) e/ou (c); onde, ditas estruturas podem conter grupos funcionais (carboxila, amina, sulfidril, etc) adequados ancorando covalentemente ou não-covalentemente os receptores de interesse para o reconhecimento do analito ou já conterem o receptor biológico em suas estruturas.

**7 - TRANSDUTOR MODIFICADO**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** o material depositado sobre o substrato isolante ou semicondutor poder conter mono ou multicamadas de estruturas 1D e 2D até o limite de 10 nm.

**8 - TRANSDUTOR MODIFICADO**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** o material unidimensional (1D) ou bidimensional (2D) possuir contato ôhmico de baixa resistência elétrica e comportamento linear de corrente versus voltagem para fins de obtenção de e/ou acesso as suas propriedades temporais quantizadas por métodos

transientes ou de corrente alternada (A.C.).

9 - **TRANSDUTOR MODIFICADO**, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizado por** o receptor ancorado covalentemente ou não-covalentemente na molécula poder ser aptâmeros, anticorpos, antígenos, fragmentos de anticorpos, estruturas genômicas, oligossacarídeos, peptídeos, células, bactérias, partículas virais, enzimas e proteínas para aplicação como biossensores.

10 - **TRANSDUTOR MODIFICADO**, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizado por** o analito reconhecido pelo receptor ancorado na molécula poder ser aptâmeros, anticorpos, antígenos, estruturas genômicas, fragmentos de anticorpos, oligossacarídeos, peptídeos, células, bactérias, partículas virais, enzimas e proteínas para aplicação como biossensores.

11 - **TRANSDUTOR MODIFICADO**, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizado por** o eletrodo transdutor modificado poder reconhecer qualitativamente ou quantitativamente o analito.

12 - **TRANSDUTOR MODIFICADO**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** o material unidimensional (1D) ou bidimensional (2D) poder ser utilizado como sensor para gases ou outras moléculas de interesse biológico, principalmente, mas não somente, atuando como transdutor onde será depositado o material de reconhecimento/afinidade, ou também atuando como o próprio material de reconhecimento/afinidade, desde que suas propriedades elétricas sejam afetadas pelo analito de forma que haja uma transdução de sinal químico (ou bioquímico) em elétrico.

13 - **MECANISMO DE TRANSDUÇÃO**, **caracterizado por** ser baseado na variação dos estados quantizados temporais de energia acoplado ao eletrodo transdutor modificado podendo ser avaliado tanto por meio da constante de transferência elétrica/eletrônica ( $k$ ) como pela condutância ( $G$ ) e capacitância ( $C_q$ ).

14 - **MECANISMO DE TRANSDUÇÃO**, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado por** as propriedades de condutância ( $G$ ) e capacitância ( $C_q$ ) serem obtidas pelas técnicas do método de detecção a partir de medidas de funções de transferência elétrica, sendo possível extrair os valores de capacitância complexa ( $C^*$ ), impedância complexa ( $Z^*$ ), condutância complexa ( $G^*$ ), ou qualquer função de admitância ( $Y^*$ ) e suas relações obtidas; as funções de admitância são funções complexas (e.g., admitância,  $Y^*$ , módulo,  $M^*$  e capacitância,  $C^*$ ) que podem ser obtidas a partir dos resultados de impedância complexa ( $Z^*$ ), calculadas por meio de relações matemáticas; onde essas funções complexas contêm componentes imaginários e reais que podem ser aplicados como sinais de transdução para qualquer interface sensora, incluindo as biossensoras.

15 - **MÉTODO DE DETECÇÃO E/OU QUANTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE ANALÍTICO**, **caracterizado por** ser um método de detecção por medidas dependentes do tempo e transiente para o sensoriamento do analito compreendendo:

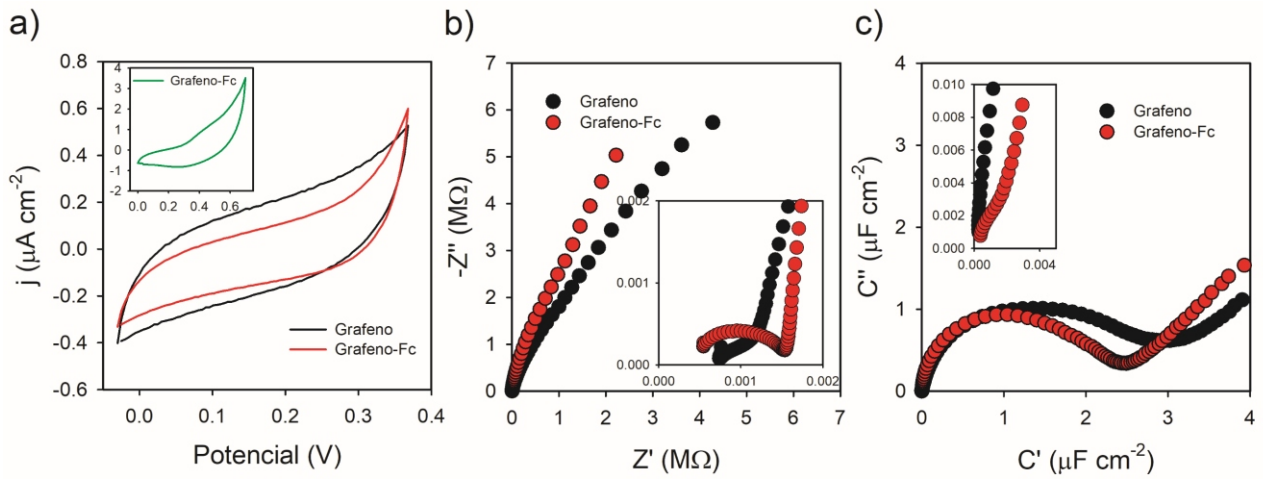
- (a) contato do meio, que pode conter ou não o analito de interesse, com o eletrodo definido em qualquer uma das reivindicações de (1) a (14);
- (b) obter uma ou mais medidas elétricas ou eletroquímicas do eletrodo; e
- (c) determinar por medidas elétricas e/ou eletroquímicas se o analito está presente no meio; onde as medidas elétricas e eletroquímicas poder conter, no mínimo, com um único eletrodo transdutor modificado.

16 - **MÉTODO**, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado por** o método incluir preferencialmente técnicas de medidas dependentes do tempo e transientes, como a voltametria de onda quadrada (SWV), voltametria de pulso diferencial (DPV), a espectroscopia de impedância (elétrica e eletroquímica, EIE).

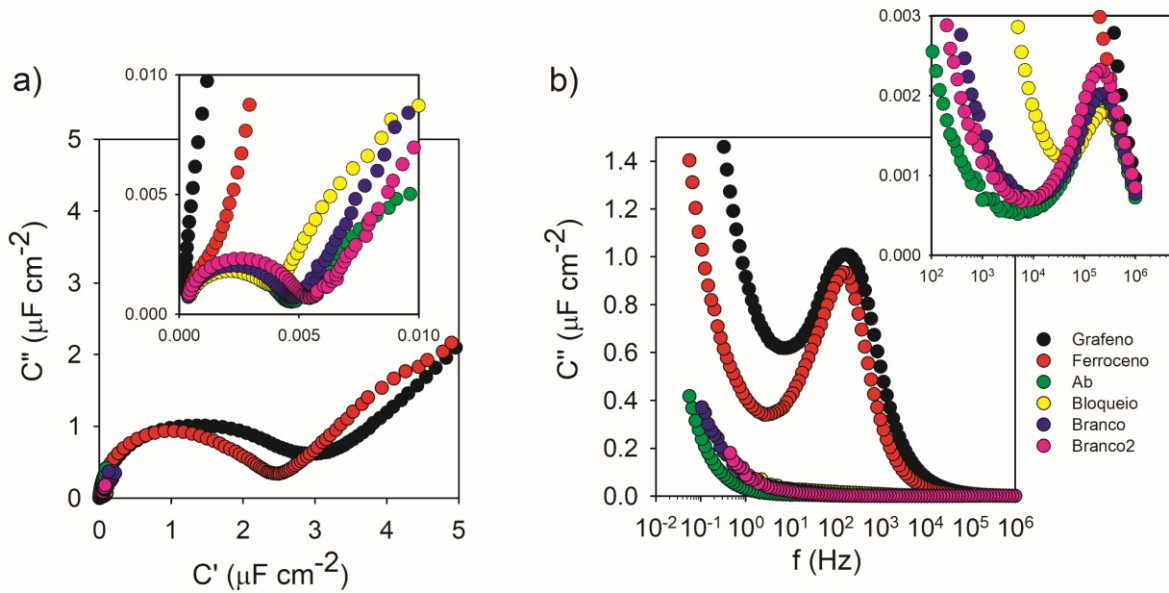
17 - **MÉTODO**, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado por** o método poder incluir técnicas de medidas elétrica e eletroquímica, como espectroscopia de

capacitância e derivações, e outras funções de imitação.

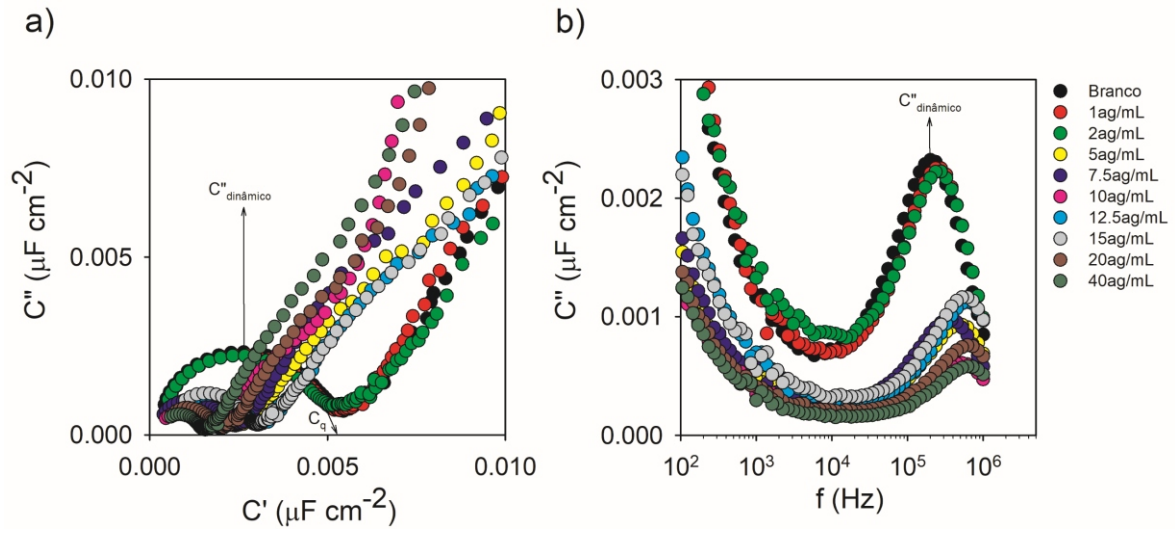
18 - **MÉTODO**, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado por** o método, quando determinar por medidas elétricas e/ou eletroquímicas se o analito está presente no meio, verificar a presença e/ou a concentração do analito tanto qualitativa e/ou quantitativamente.



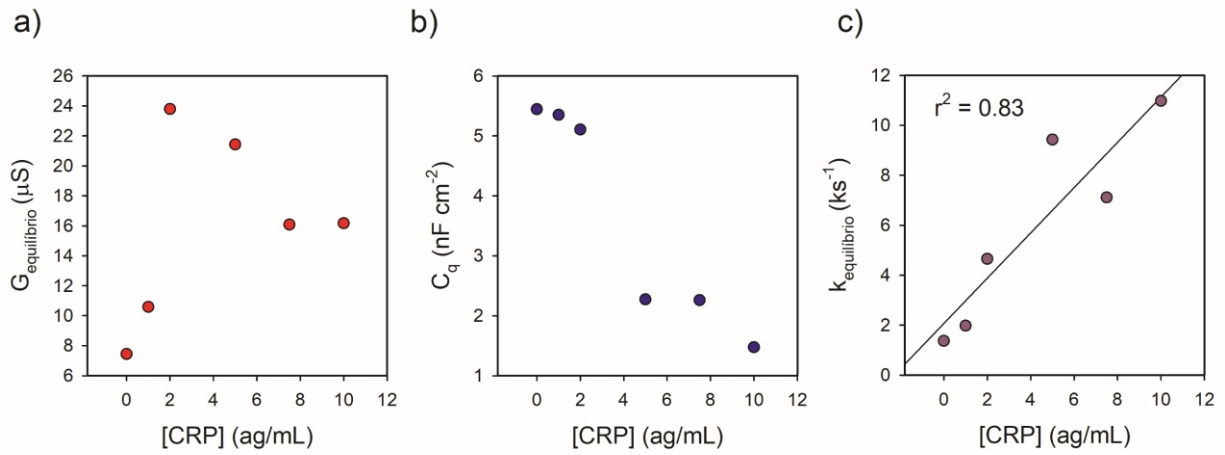
**Figura 1**



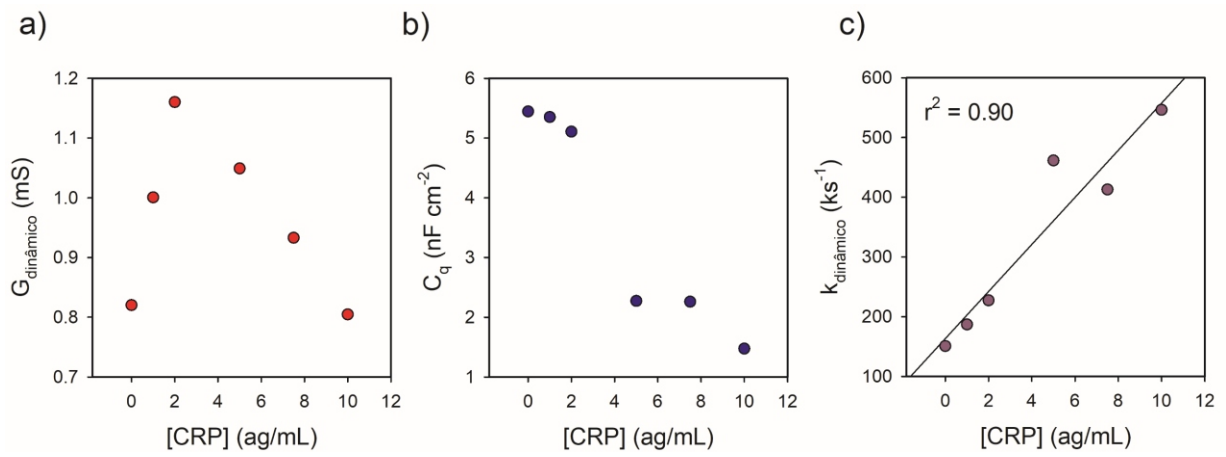
**Figura 2**



**Figura 3**



**Figura 4**

**Figura 5**

## RESUMO

**TRANSDUTOR MODIFICADO, MECANISMO DE TRANSDUÇÃO E MÉTODO DE DETECÇÃO E/OU QUANTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE ANALÍTICO COM TRANSDUTOR MODIFICADO**

A presente invenção trata de um novo material transdutor modificado e seu mecanismo de tradução e método de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse analítico com dito transdutor modificado, utilizado para o desenvolvimento de sensores ou biossensores aplicados à métodos de detecção e/ou quantificação de espécies de interesse analítico, o qual resulta em um eletrodo que contém níveis discretos de energia, ou contínuos quando apropriadamente modificado, e seu mecanismo de transferência eletrônico/eletroquímico emaranhado, baseado no emaranhamento quântico. O eletrodo em questão é baseado em estruturas unidimensionais (1D) ou bidimensionais (2D) para que os estados emaranhados possam ser utilizados como transdutor de sinal, onde essas estruturas possuem estados quantizados de energia, caracterizados pelas suas propriedades eletrônicas intrínsecas, que podem ser modificadas pelo acoplamento de estados quantizados de outras moléculas por meio de interações físicas ou químicas, com notável ganho de eficiência analítica.