



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA**

**DEBORA VITORIA DE OLIVEIRA DIAS**

**BIOSENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO NO PEPTÍDEO BOTRAMP14 PARA  
IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS CLINICAMENTE RELEVANTES**

Recife  
2025

**DEBORA VITORIA DE OLIVEIRA DIAS**

**BIOSENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO NO PEPTÍDEO BOTRAMP14 PARA  
IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS CLINICAMENTE RELEVANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Inovação Terapêutica.

**Área de concentração:** Fármacos, Medicamentos e insumos Essenciais para a Saúde

**Orientador:** Prof. Dr. César Augusto Souza de Andrade

**Coorientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Danielly Lima de Oliveira

Recife  
2025

Catálogo de Publicação na Fonte  
UFPE - Biblioteca Central

Dias, Débora Vitória de Oliveira.

Biossensor eletroquímico baseado no peptídeo BotrAMP14 para identificação de bactérias clínica / Débora Vitória de Oliveira Dias. - Recife, 2025.

106f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, 2025.

Orientação: César Augusto Souza de Andrade.

Coorientação: Maria Danielly Lima de Oliveira.

Inclui referências.

1. Biossensor; 2. Eletroquímica; 3. Infecções bacterianas; 4. Nanotecnologia; 5. Peptídeos antimicrobianos. I. Andrade, César Augusto Souza de. II. Oliveira, Maria Danielly Lima de. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

**DEBORA VITORIA DE OLIVEIRA DIAS**

**BIOSENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO NO PEPTÍDEO BOTRAMP14 PARA  
IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS CLINICAMENTE RELEVANTES**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico Ciências Biológicas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Inovação Terapêutica. Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Insumos essenciais para a Saúde.**

**Aprovada em: 12/09/2025**

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. César Augusto Souza de Andrade** (Orientador)  
Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica - UFPE

---

**Profa . Dra . Maria Danielly de Oliveira** (Coorientadora)  
Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica - UFPE

---

**Alberto Galdino da Silva Junior** (Examinador Externo à Instituição)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

**Kleber Gonçalves Bezerra Alves** (Examinador Externo ao Programa)  
Departamento de Engenharia Mecânica - UFPE

***Às minhas inesquecíveis avós Maria, Rosa e Lurdes, cuja força, coragem e ensinamentos até o último dia de suas vidas foram a minha maior inspiração. Sou mais forte pelos laços que me cercam.***

## AGRADECIMENTOS

*Primeiramente, aos **meus pais**, minha base inabalável, por dedicarem suas vidas à minha formação e por me ensinarem, com amor e exemplo, a importância da educação, coragem e gentileza para transformar vidas.*

*À minha irmã **Ester**, cujo carinho e luz renovaram minha visão de mundo, lembrando-me, todos os dias, da beleza e simplicidade de ser criança.*

*Ao meu companheiro de vida, **Ryan Lucas**, por estar sempre ao meu lado em cada desafio, por compartilhar sonhos, conquistas e até uma lasanha com Coca-Cola de 1 litro ao longo da graduação. Pelo amor incondicional, pelas risadas e apoio incansável. Eu amo você para sempre.*

*Às minhas avós **Lurdes, Maria e Rosa** (em memória), que me inspiraram a seguir esta jornada com força e dedicação para impactar vidas. Pelos ensinamentos, pelas histórias e por me mostrarem o lado bom da vida, minha eterna gratidão.*

*Ao meu avô **Franklin**, pelo incentivo e investimento na minha educação. O senhor é um exemplo, e todos os dias luto para levar oportunidades a quem mais precisa.*

*À minha avó **Abilene**, às minhas tias **Márcia, Misma e Avani**, e ao meu tio **Rubem**, por todo amor, apoio e por nunca me deixarem desistir dos meus sonhos.*

*Aos meus irmãos de coração, **Leandra e Italo**, por caminharem comigo em cada etapa, vibrando com minhas conquistas e tornando a jornada tão valiosa quanto a chegada. Vocês são sinônimo de esperança na minha vida.*

*Aos meus orientadores, **Prof. Dr. César Andrade e Profa. Dra. Maria Danielly**, por acreditarem em mim, me guiarem em uma linha de pesquisa inovadora, promissora e importante na sociedade. Por todas as conversas e ensinamentos compartilhados.*

*Ao **Prof. Dr. Octavio Franco**, da Universidade Católica de Brasília, pela parceria e fornecimento do peptídeo BotrAMP14.*

*A **Prof. Dr. Glaucia Maria**, da Universidade Federal de Pernambuco, pela parceria e fornecimento dos microrganismos utilizados nesse trabalho.*

*Aos meus sogros, **Carla e Luciano**, pelas risadas, carinho e apoio. E ao meu cunhado **Pedro**, que me motiva até nos jogos – prometo que ainda vou vencê-lo no Fall Guys. As minhas avós do coração **Dona Ana e Naná** por todo o cuidado, proteção e acolhimento.*

*Aos grandes divulgadores científicos, **Emerson e Roberta**, que tive a honra de conhecer, aprender e explorar o interior de Pernambuco, levando ciência e diversão a cada jornada. Sou grata por todas as aventuras compartilhadas e, especialmente, por terem salvado minha vida, literalmente, durante o nosso acidente de viagem.*

*Às minhas grandes amigas **Winne e Raíssa**, que caminham ao meu lado desde a graduação e tornaram essa jornada muito mais leve. Winne, minha mentora e guia na área que escolhi seguir, sempre generosa com seus conselhos e atenta às minhas dúvidas e inseguranças. E Raíssa, com seu carinho constante e as*

*incontáveis risadas que tornaram os dias mais fáceis e felizes. Sou profundamente grata por ter vocês comigo.*

*À minha amiga **Emilly**, com quem divido profissão, casa e trabalho, e que sempre sabe como me animar com um simples: “Vamos comer um hambúrguer?”. Obrigada por estar sempre ao meu lado.*

*À todos os **meus alunos**, por suas vivências compartilhadas e por me fazerem sentir segura e amada.*

*Aos colegas do **Laboratório de Biodispositivos Nanoestruturados (Bionano)**, pelo auxílio no desenvolvimento desta pesquisa e acolhimento no grupo.*

*À **FACEPE**, pelo apoio financeiro que viabilizou a execução deste projeto tão significativo.*

*Aos docentes, equipe e estudantes do **Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica (PPGIT)** e do **Departamento de Bioquímica**.*

*A todos que me permitiram ser quem sempre desejei ser. Pois, ao desejar ser, algo em mim já é. Que este seja apenas o começo de uma longa trajetória de liderança pelo exemplo, pois sei que, me organizando, posso desorganizar.*

**“Através dos outros, nos tornamos nós mesmos.”**

**- Vygotsky**

## RESUMO

A crescente preocupação do sistema de saúde com os impactos das infecções causadas por microrganismos evidencia a urgência por métodos de detecção que sejam rápidos, sensíveis e confiáveis. Biossensores eletroquímicos com nanomateriais oferecem diagnóstico rápido, sensível, específico e de baixo custo, sendo alternativas promissoras aos métodos tradicionais. Este estudo propôs o desenvolvimento de um biossensor eletroquímico baseado no peptídeo antimicrobiano (PAM) BotrAMP14 para a detecção de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*, bactérias virulentas e principais causadoras de infecções resistentes. A plataforma foi construída utilizando monocamadas automontadas de Cisteína (Cys), seguidas pela deposição de um nanocomplexo formado por Óxido de Grafeno (GO)/Quantum dots de Telureto de Cádmio (QDs CdTe) e imobilização do PAM sobre o eletrodo de ouro. A seleção desses compostos foi fundamentada em suas propriedades: a Cys com alta afinidade por superfícies metálicas via grupo tiol; o GO aumenta a área superficial; os QDs CdTe amplificam a resposta eletroquímica; e o PAM BotrAMP14, com estrutura  $\alpha$ -helicoidal e natureza policatiônica, promove interação eletrostática com as membranas bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas. A caracterização eletroquímica demonstrou a efetividade da construção da plataforma por meio de Voltametria Cíclica (VC) e Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE), considerando que os voltamogramas mostraram a redução da corrente anódica com o aumento da concentração bacteriana, e a EIE indicou aumento significativo da resistência à transferência de carga ( $R_{ct}$ ). O sensor apresentou limites de detecção de  $10^1$  UFC/mL para todas as cepas testadas, com uma resposta linear entre  $10^1$  e  $10^5$  UFC/mL, com coeficientes de determinação superiores a 0,90 para todas as curvas de calibração. O grau de recobrimento ( $\theta$ ) aumentou proporcionalmente à concentração bacteriana, corroborando a interação microrganismo-sensor. A plataforma foi submetida a uma análise complementar por Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para verificar a presença dos grupos funcionais presentes na solução de Cys/GO, validando a plataforma como uma alternativa promissora para o diagnóstico de microrganismos.

**Palavras-chave:** Biossensor; Eletroquímica, Infecções bacterianas; Nanotecnologia; Peptídeos antimicrobianos.

## ABSTRACT

The growing concern within the healthcare system regarding the impact of infections caused by microorganisms highlights the urgent need for detection methods that are rapid, sensitive, and reliable. Electrochemical biosensors integrated with nanomaterials offer fast, sensitive, specific, and low-cost diagnostics, standing out as promising alternatives to traditional methods. This study proposed the development of an electrochemical biosensor based on the antimicrobial peptide (AMP) BotrAMP14 for the detection of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae*—virulent bacteria and major causes of resistant infections. The platform was constructed using self-assembled monolayers of cysteine (Cys), followed by deposition of a nanocomposite composed of graphene oxide (GO) and cadmium telluride quantum dots (CdTe QDs), with subsequent immobilization of the AMP on a gold electrode. The selection of these components was based on their specific properties: Cys exhibits high affinity for metal surfaces via thiol groups; GO increases surface area; CdTe QDs enhance the electrochemical signal; and BotrAMP14, with its  $\alpha$ -helical structure and polycationic nature, promotes electrostatic interaction with both Gram-positive and Gram-negative bacterial membranes. Electrochemical characterization demonstrated the successful construction of the platform using Cyclic Voltammetry (CV) and Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS). The voltammograms showed a decrease in anodic current with increasing bacterial concentration, while EIS indicated a significant increase in charge transfer resistance ( $R_{ct}$ ). The biosensor exhibited detection limits of  $10^1$  CFU/mL for all tested strains and maintained a linear response from  $10^1$  to  $10^5$  CFU/mL, with determination coefficients ( $R^2$ ) above 0.90 for all calibration curves. The surface coverage ( $\theta$ ) increased proportionally with bacterial concentration, confirming effective microorganism-sensor interaction. The platform underwent further analysis using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) to verify the presence of functional groups in the Cys/GO solution, validating the platform as a promising alternative for the diagnosis of microorganisms.

**Keywords:** Biosensor; Electrochemistry; Bacterial infections; Nanotechnology; Antimicrobial peptides.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 01:** Fatores predisponentes às infecções microbianas.

**Figura 02:** Ilustração da composição da parede celular de bactérias Gram-positivas **(A)** e Gram-negativas **(B)**.

**Figura 03:** Principais métodos tradicionais de diagnóstico microbiológico.

**Figura 04:** Esquematização do funcionamento de um biossensor.

**Figura 05:** Vantagens da aplicação de biossensores.

**Figura 06:** Representação dos componentes essenciais para a realização de experimentos com biossensores.

**Figura 07:** Sistemas eletroquímicos com dois eletrodos **(A)**, três eletrodos **(B)** e quatro eletrodos **(C)**, onde *W/WS* representa o eletrodo de trabalho (*Working Electrode / Working Sense Electrode*), *R* representa o eletrodo de referência (*Reference Electrode*) e *C* representa o contra-eletrodo (*Counter Electrode*).

**Figura 08:** Onda de potencial em voltametria cíclica **(A)** e voltamograma gerado por um sistema reversível **(B)**.

**Figura 09:** Ilustração do vetor (fasor) de impedância  $Z$ , destacando a interação entre o valor absoluto da impedância ( $|Z|$ ), o ângulo de fase ( $\phi$ ) e as componentes real ( $Z_{re}$ ) e imaginária ( $Z_{im}$ ), representadas nos respectivos eixos.

**Figura 10:** Funcionamento de um biossensor impedimétrico.

**Figura 11:** Diagrama de Nyquist **(A)** e circuito equivalente de Randles **(B)**.

**Figura 12:** Esquematização representando os elementos que resultam na formação da dupla camada elétrica na interface entre o eletrodo e a solução.

**Figura 13:** Elementos de um equipamento de FTIR.

**Figura 14:** Dimensões comparativas de objetos comuns na escala nanométrica.

**Figura 15:** Representação esquemática da classificação dos nanomateriais.

**Figura 16:** Ilustração da estrutura do óxido de grafeno, destacando exemplos de grupos funcionais que podem se ligar à sua superfície - OH: Hidroxila, COOH: Carboxila, C-O-C: Epóxi e C=O: Carbonila.

**Figura 17:** Emissão de cores por pontos quânticos em função do seu tamanho.

**Figura 18:** Esquematisação da estrutura de uma MAM em um eletrodo de ouro.

**Figura 19:** Esquematisação da estrutura da cisteína.

**Figura 20:** Principais características estruturais de peptídeos antimicrobianos.

**Figura 21:** Principais peptídeos antimicrobianos descritos na literatura.

**Figura 22:** Mecanismos de ação dos PAM nas membranas.

**Figura 23:** Estrutura tridimensional do BotrAMP14.

**Figura 24:** Peptídeo BotrAMP14 análogo à batroxidina.

**Figura 25:** Esquematisação da plataforma sensora Cys/GO/QD\_BotrAMP14.

**Figura 26:** Espectro FTIR-ATR da solução de Cys/GO.

**Figura 27:** Voltamograma resultante do processo de eletrodeposição de Cys/GO.

**Figura 28 A-B:** Voltamograma cíclico **(A)** e gráfico de Nyquist referentes às etapas de construção do biossensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14. **(B)**. Inserção: Circuito equivalente de Randles modificado.

**Figura 29 A-C:** Voltamograma do biossensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14 antes e após a interação com diferentes concentrações ( $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL) das bactérias *S. aureus* **(A)**, *P. aeruginosa* **(B)** e *K. pneumoniae* **(C)**. A análise foi realizada utilizando uma solução 10mM de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  (1:1) preparada em tampão fosfato (PBS, pH 7.4) como sonda redox e taxa de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

**Figura 30 A-C:** Diagramas de Nyquist do Biossensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14 após a interação com as bactérias em diferentes concentrações ( $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL): *S. aureus* **(A)**, *P. aeruginosa* **(B)** e *K. pneumoniae* **(C)**.

**Figura 31:** Circuito equivalente de Randles utilizado para o ajuste dos resultados obtidos pela EIE.

**Figura 32:** Gráfico de colunas com os valores da variação do Rct ( $\Delta R_{ct}$ ) em função das diferentes concentrações das bactérias analisadas ( $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL).

**Figura 33:**  $\Delta R_{ct}$  para o sistema sensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14 após exposição com as diferentes concentrações das bactérias *S. aureus* (A), *P. aeruginosa* (B) e *K. pneumoniae* (C), apresentando as curvas de calibração.

**Figura 34:** Gráfico de barras 3D representando o grau de recobrimento superficial do sensor eletroquímico ( $\theta$ ) após o contato com as diferentes concentrações das cepas: *S. aureus* (laranja), *P. aeruginosa* (verde) e *K. pneumoniae* (vermelho).

**Figura 35:** Respostas eletroquímicas da plataforma sensora BotrAMP14 para a detecção de diferentes bactérias em concentrações que variam de  $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL: (A) voltamogramas e (B) gráficos de Nyquist, obtidos após a remoção do peptídeo BotrAMP14 usando uma solução de NaOH 5 mM.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Classificação dos biossensores quanto ao elemento de transdução.

**Tabela 2:** Aplicação de biossensores em diferentes áreas.

**Tabela 3:** Exemplo de biodispositivos desenvolvidos para o diagnóstico clínico.

**Tabela 4:** Deslocamento anódico e  $\Delta I$  do biossensor modificado Cys/GO/QD\_BotrAMP14 após exposição a diferentes concentrações ( $10^1$  -  $10^5$  UFC/mL) das bactérias.

**Tabela 5:** Dados obtidos a partir das interações com os microrganismos de interesse.

**Tabela 6:** Elementos de biorreconhecimento utilizados na montagem de biossensores.

**Tabela 7:** Valores de  $\theta$  após o contato com as diferentes concentrações ( $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL) das cepas.

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

**ATCC** Coleção de Culturas do Tipo Americano (do inglês *American Type Culture Collection*)

**BGE** Eletrodo de ouro Limpo (do inglês *Bare Gold Electrode*)

**CdTe** Telureto de Cádmio

**CE** Contra-eletrodo

**Cys** Cisteína

**Cys/GO** Cisteína e Óxido de Grafeno

**EDC** 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

**EIE** Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

**ER** Eletrodo de Referência

**ET** Eletrodo de Trabalho

**EUA** Estados Unidos da América

**FMOC** N-9-fluorenilmetiloxycarbonil

**FTIR** Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

**GO** Óxido de Grafeno

**HPLC** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

**I<sub>a</sub>** Corrente de pico anódica

**I<sub>b</sub>** Corrente de pico catódica

**IRAS** Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde

**MAM** Monocamadas automontandas

**NaOH** Hidróxido de Sódio

**NHS** N-Hidroxisuccinimida

**PAM** Peptídeo Antimicrobiano

**PDR** Porcentagem de Desvio Relativo

**QD** Pontos quânticos

**RAM** Resistência antimicrobiana

**R<sub>ct</sub>** Resistência à Transferência de Carga

**RMS** Raiz quadrada média da rugosidade

**Rq** Rugosidade quadrática média

**VC** Voltametria Cíclica

**UTI** Unidade de Terapia Intensiva

## LISTA DE SÍMBOLOS

**(|Z|)** Valor absoluto da impedância

**( $\phi$ )** Ângulo de fase

**(Z<sub>im</sub>)** Componente imaginário da impedância

**(Z<sub>re</sub>)** Componente real da impedância

**A** Ampere

**Ag/AgCl** Prata/Cloreto de Prata

**Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>** Alumina

**C<sub>d</sub>** Capacitância da camada dupla elétrica

**COOH** Grupo carboxila

**°C** Grau Celsius

**g/mol** Gramas por mol

**kHZ** Quilohertz

**kV** Kilovolts

**(K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>])** Ferricianeto de potássio

**(K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>])** Ferrocianeto de potássio

**mg/mL** Miligramas por mililitro

**mHZ** Milihertz

**mL** Mililitro

**mM** Milimolar

**mV** Milivolts

**mV s<sup>-1</sup>** Milivolts por segundo

**µg/mL** Microgramas por mililitro

**µL** Microlitro

**µM** Micromolar

**nm** Nanômetro

**$\Omega$**  Ohm

**pH** Potencial Hidrogeniônico

**PKa** Logaritmo negativo da constante de acidez

**R<sup>2</sup>** Coeficiente de determinação

**R<sub>Ω</sub>** Resistência da solução eletrolítica

**S** Segundos

**θ** Theta (Coeficiente de recobrimento)

**UFC** Unidade Formadora de Colônia

**V** Volts

**W** Elemento de Warburg

**ΔEp** Variação de potencial de pico

**ΔI** Variação da corrente anódica

**ΔRct** Variação relativa do Rct

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>20</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>22</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>23</b>
3.1 INFECÇÕES CAUSADAS POR MICRORGANISMOS.....	23
3.1.1 Microrganismos prevalentes nas infecções microbianas.....	25
3.1.2 Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.....	25
3.2 PATÓGENOS BACTERIANOS DE RELEVÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA.....	27
3.2.1 Bactérias multirresistentes.....	27
3.2.2 Resistência antimicrobiana.....	29
3.3 MÉTODOS TRADICIONAIS DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO.....	29
3.4 BIOSSENSORES.....	31
3.4.1 Propriedades dos biossensores.....	33
3.4.2 Classificação dos biossensores.....	33
3.4.2.1 Quanto ao tipo de biorreceptor.....	33
3.4.2.2 Quanto ao transdutor.....	35
3.4.3 Áreas de aplicação dos biossensores.....	36
3.4.4 Limitações e avanços na utilização de biossensores no diagnóstico clínico....	37
3.5 ELETROQUÍMICA.....	39
3.5.1 Métodos eletroanalíticos.....	41
3.5.1.1 Potenciométricos.....	42
3.5.1.2 Coulométricos.....	42
3.5.1.3 Voltamétricos.....	42
3.5.1.4 Impedimétricos.....	43
3.6 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA.....	43
3.6.1 Voltametria Cíclica.....	43
3.6.2 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica.....	45
3.6.2.1 Circuito equivalente.....	48
3.6.2.2 Dupla camada elétrica.....	50
3.7 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER.....	51
3.8 NANOMATERIAIS.....	53
3.8.1 Categorização conforme a dimensionalidade.....	54
3.8.2 Óxido de grafeno e suas propriedades.....	55
3.8.3 Quantum dots de Telureto de Cádmio.....	56
3.9 MODIFICAÇÃO DO ELETRODO.....	58
3.9.1 Monocamadas automontadas (MAM).....	58
3.9.2 Cisteína.....	59
3.10 PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS.....	60
3.10.1 Classificação estrutural e tipos de peptídeos antimicrobianos.....	61
3.10.2 Mecanismos de interação dos peptídeos antimicrobianos com	

membranas biológicas.....	63
3.10.2.1 Hidrofobicidade.....	63
3.10.2.2 Carga.....	64
3.10.2.3 Anfipaticidade.....	64
3.10.2.4 Ângulo Polar.....	64
3.10.3 Aplicações dos Peptídeos Antimicrobianos.....	65
3.11 CATELICIDINAS.....	65
3.11.1 Batroxidina: Propriedades e estrutura.....	66
3.11.2 BotrAMP14.....	66
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>68</b>
4.1 MATERIAIS.....	68
4.2 PREPARO DAS BACTÉRIAS SELECIONADAS.....	68
4.3 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS FUNCIONALIZADAS.....	69
4.4 CONSTRUÇÃO DA PLATAFORMA SENSORA.....	69
4.5 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA.....	70
4.6 CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER.....	71
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>71</b>
5.1 PLATAFORMA SENSORA CYS/GO/QD_BotrAMP14.....	71
5.2 ANÁLISE ESTRUTURAL DO BIOSSENSOR.....	71
5.2.1 Análise por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	71
5.3 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DA PLATAFORMA SENSORA Cys/GO/QD_BotrAMP14.....	72
5.4 DESEMPENHO ANALÍTICO DA PLATAFORMA SENSORA.....	75
<b>6 REUSABILIDADE.....</b>	<b>87</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>89</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>90</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Infecções desencadeadas por microrganismos presentes em água e alimentos contaminados são uma das causas do alarmante número de mortalidade em países subdesenvolvidos. O clima tropical e fatores ambientais favorecem a proliferação dessas espécies patogênicas, problema que se agrava pelo aumento no número de espécies resistentes a antimicrobianos (Rieger et al., 2021). A saber, algumas bactérias como *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.*, microrganismos que compõem o acrônimo ESKAPE, são conhecidos pela patogenicidade e por “escaparem” da ação de antibióticos com facilidade, representando um problema de saúde pública (Ma et al., 2020).

Compreende-se que a técnica padrão-ouro para o diagnóstico microbiológico é a coloração de Gram. Contudo, embora métodos convencionais, como cultivo, e técnicas moleculares, como o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) e a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), sejam amplamente utilizados e eficazes, eles ainda enfrentam desafios significativos, como tempo prolongado de processamento de amostras, limites de detecção elevados, sensibilidade variável, falsos negativos e riscos durante o manuseio das amostras (Franco et al., 2019). A crescente necessidade de detecção de patógenos destaca a importância de ferramentas ágeis e inovadoras para aprimorar o diagnóstico bacteriano. Assim, os biossensores surgem como uma alternativa diagnóstica inovadora devido às suas excelentes propriedades, baixo custo, alta sensibilidade, entre outras vantagens.

Biossensores são ferramentas analíticas biodiagnósticas que convertem interações bioquímicas em sinais interpretáveis, sendo os mais utilizados aqueles desenvolvidos com base na eletroquímica, por causa das suas propriedades vantajosas como alta sensibilidade, especificidade e resposta rápida (Altalhi et al., 2022). A estrutura de um biossensor eletroquímico consiste em um receptor de origem biológica específico para o analito-alvo, um transdutor que converte a interação sensor-analito em um sinal elétrico mensurável e um sistema de processamento de dados (De Campos et al., 2020).

A caracterização de biodispositivos por meio das técnicas eletroquímicas espectroscopia de Impedância eletroquímica e voltametria cíclica possibilitam verificar as reações que ocorrem na interface da superfície sensora em tempo real, favorecendo a miniaturização e aplicação em pontos de atendimento (POC), contribuindo para avanços na saúde, bem como em outros setores, como ambiental e industrial (Amaral et al., 2023). Nesse contexto, a observação dos deslocamentos nos picos de corrente anódica e catódica por meio VC, assim como das variações na resistência à transferência de carga refletidas nas alterações do diâmetro do semicírculo no diagrama de Nyquist da EIE, permite o monitoramento em tempo real de processos interfaciais em superfícies eletroativas (Da Silva et al., 2020; Lucena et al., 2022).

A modificação da superfície do eletrodo por monocamadas automontadas (MAM) apresenta-se como uma estratégia eficaz no desenvolvimento de biossensores, permitindo modificações controladas da sua superfície. Essas estruturas resultam da adsorção de moléculas orgânicas em substratos sólidos, possibilitando a formação de filmes organizados que proporcionam estabilidade e condutividade quando utilizados em sensores, por exemplo (Singh; Kaur; Comini, 2020). Dentre os principais compostos utilizados para formação das SAMs, destaca-se a cisteína devido à alta afinidade do grupamento tiol ao ouro por superfícies metálicas, especialmente ouro, e sua ampla utilização na funcionalização de nanomateriais (Singh et al., 2023).

Nanomateriais têm sido amplamente aplicados em biossensores devido às suas propriedades e capacidade de implementação na composição desses sistemas. Nanocomplexos de Óxido de Grafeno/ Quantum dots de Telureto de Cádmio têm se destacado como componentes-chave em alguns desses dispositivos devido às suas propriedades ópticas, condutivas e biocompatíveis (Shahriari et al., 2021). Outros estudos exploraram a aplicação de nanopartículas e verificaram seu potencial em aumentar a sensibilidade da plataforma sensora, relatando um aumento na área de superfície para a imobilização de múltiplos bioreceptores, aprimorando a identificação do analito (Jeong et al., 2022).

Peptídeos antimicrobianos são oligopeptídeos presentes no sistema imunológico inato dos organismos. Eles possuem amplo espectro de atividade, ação

rápida, inibição do crescimento bacteriano, ação microbicida e alguns com atividade antibiofilme contra bactérias encapsuladas, como *K. pneumoniae* (Oliveira et al., 2020). Os PAMs interagem com as bactérias inicialmente por meio da atração eletrostática entre sua superfície catiônica e a membrana bacteriana aniônica, permitindo o biorreconhecimento pelos biossensores (Pardoux et al., 2020). O PAM BotrAMP14 possui uma estrutura favorável para análises eletroquímicas de interação com bactérias devido à sua conformação  $\alpha$ -helicoidal.

BotrAMP14 (KRWKKFFRKVIKFF-NH<sub>2</sub>), derivado da víbora *Bothrops atrox*, uma serpente pertencente à família *Viperidae*, apresenta uma estrutura  $\alpha$ -helicoidal. Ao se ligar a membranas lipídicas aniônicas, promove a transição de uma estrutura desordenada em solução aquosa para uma configuração anfifílica  $\alpha$ -helicoidal, facilitando a interação efetiva com a membrana do microrganismo e possibilitando a identificação do analito-alvo pelo biossensor. Este PAM é policatiônico e fortemente atraído pela superfície eletronegativa dos microrganismos (Lima, 2023).

O presente estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar um biossensor eletroquímico composto por uma monocamada de Cys, GO, QD CdTe e o PAM BotrAMP14 para a identificação de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A combinação desses nanomateriais representa um avanço significativo na área de diagnóstico microbiológico, proporcionando uma alternativa promissora para a identificação rápida e eficiente de patógenos bacterianos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolvimento de uma plataforma biossensora eletroquímica baseada em monocamadas de cisteína, nanocomplexo óxido de grafeno/quantum dots e peptídeo antimicrobiano BotrAMP14 para a detecção de bactérias Gram-Negativas e Gram-Positivas.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter monocamadas de Cys associadas ao nanocomplexo GO/QD CdTe e ao PAM BotrAMP14 sobre a superfície do eletrodo de trabalho;

- Utilizar da técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica para caracterização da interação dos microrganismos frente ao sistema sensor;
- Determinar e avaliar o limite de detecção e faixa linear obtido pelo biossensor;
- Determinar a capacitância da dupla camada elétrica através de cálculos teóricos via resultados experimentais e da resistência à transferência de carga;
- Determinar as correntes de pico anódicas e catódicas das diferentes etapas de modificação do eletrodo de trabalho por meio da técnica de voltametria cíclica;
- Verificar a presença dos grupos funcionais presentes na solução de Cys/GO por Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

### **3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

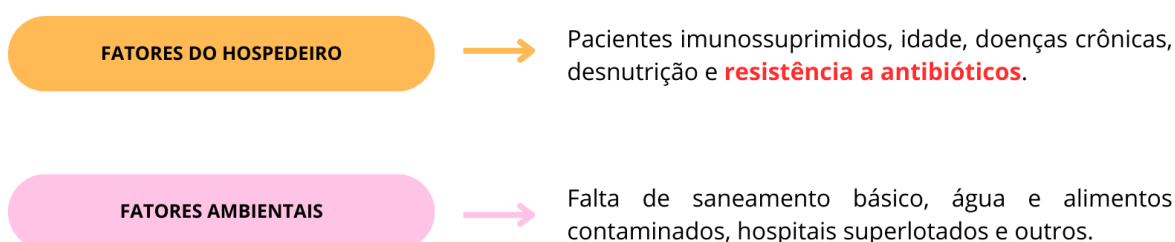
#### **3.1 INFECÇÕES CAUSADAS POR MICRORGANISMOS**

As infecções causadas por microrganismos, como aquelas provenientes de água e alimentos contaminados, falta de saneamento básico e Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), representam um problema significativo no campo da saúde pública. A resistência antimicrobiana (RAM), resultante do uso indiscriminado de antibióticos, é um dos principais fatores agravantes do cenário atual (Euzébio et al., 2021). De acordo com um estudo publicado na *The Lancet* em 2022, das 13,7 milhões de mortes relacionadas a infecções, 7,7 milhões foram atribuídas a patógenos bacterianos, destacando a necessidade de maior atenção e busca por soluções para melhorar a saúde pública (Murray et al., 2022).

Diante disso, fatores predisponentes individuais e ambientais a essas infecções são apresentados na Figura 1 e, em conjunto, contribuem para o agravamento do atual e complexo cenário da saúde pública. Portanto, fatores do hospedeiro, como imunossupressão, idade avançada, doenças crônicas, desnutrição e uso indevido de antibióticos, são os principais contribuintes para a construção de um ambiente favorável à proliferação de microrganismos

patogênicos, considerando que a resposta imune comprometida dificulta a eliminação desses patógenos, tornando o tratamento mais difícil e podendo resultar no aumento dos índices de morbidade e mortalidade dos pacientes (Prates et al., 2020).

**Figura 1:** Fatores predisponentes às infecções microbianas.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Outrossim, os fatores ambientais também desempenham um papel determinante na disseminação de patógenos, visto que a falta de infraestrutura básica, como saneamento, água tratada e moradia digna, assim como o acúmulo de lixo e a superlotação urbana, expõem os indivíduos a agentes infecciosos (Da Silva et al., 2024). Dessa forma, essas condições complexas podem resultar em surtos e dificultar o controle das infecções, principalmente em áreas de vulnerabilidade socioeconômica, cujo acesso é restrito aos serviços de saúde e há ausência da difusão de informações científicas, resultando no aumento da subnotificação de casos e uso irracional de antibióticos, levando a resistência antimicrobiana (Euzébio et al., 2021).

Diante do exposto, fica evidente a necessidade de investimentos em tecnologias inovadoras para detecção bacteriana, considerando que a identificação precoce dessas cepas está diretamente relacionada a melhorias no manejo dessas infecções dentro do âmbito clínico, possibilitando um diagnóstico rápido e um tratamento mais eficaz. Nesse contexto, a integração de ferramentas auxiliares aos atuais métodos diagnósticos convencionais, especialmente aquelas baseadas em nanotecnologia — como os biossensores —, é de suma importância para mitigar os impactos negativos desses agentes patogênicos e contribuir para a melhoria da saúde pública.

### 3.1.1 *Microrganismos prevalentes nas infecções microbianas*

As infecções microbianas podem ser ocasionadas por um conjunto amplo de agentes etiológicos, como bactérias, fungos, vírus e protozoários, associados a ambientes que carecem de infraestrutura e hospitais (Da Silva et al., 2024). Nesse sentido, as principais cepas bacterianas encontradas nesses ambientes são *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, considerando o alto índice de proliferação dessas bactérias e a capacidade de evoluir para formas multirresistentes, dificultando o tratamento clínico eficiente. Portanto, a identificação precoce do microrganismo causador é essencial para o diagnóstico eficaz e o tratamento adequado, considerando que cada microrganismo possui mecanismos específicos de patogenicidade, interferindo diretamente na gravidade e na evolução da infecção (Mesquita et al., 2023).

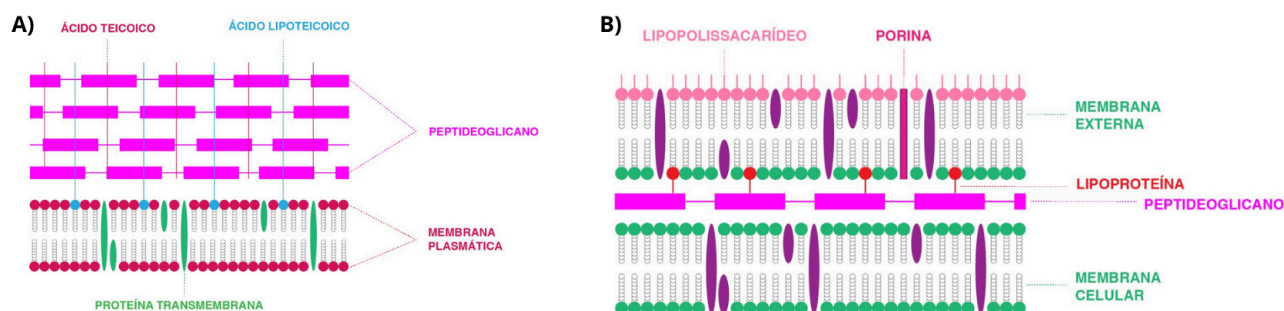
Além das infecções ocasionadas por bactérias, as doenças microbianas também podem ser causadas por vírus, protozoários e fungos, contudo em menor proporção quando comparadas (De souza et al., 2020). Diante disso, as estruturas, os mecanismos de ação e evasão dos sistema imunológico adotados por esses agentes patogênicos, destacam a importância de abordagens específicas, visando melhorar o manejo e controle de sua disseminação, considerando seus impactos negativos na saúde pública. Nesse cenário, torna-se evidente a necessidade de políticas públicas que implementem medidas preventivas e invistam em tecnologias diagnósticas, educação em saúde e na vigilância sanitária, contribuindo para o controle da proliferação desses agentes, principalmente em comunidades vulneráveis (Sartor et al., 2022).

### 3.1.2 *Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas*

De acordo com a coloração de Gram, técnica convencional de diagnóstico bacteriano, as bactérias são classificadas com base na estrutura da sua parede celular em dois grupos: Gram-positivas e Gram-negativas, representados na figura 02. Desenvolvida por Hans Christian Gram em 1884 e considerada padrão ouro devido à ampla utilização até os dias atuais. Essa técnica utiliza corantes específicos que ao reagirem com as bactérias, apresentam colorações distintas,

possibilitando a identificação e um tratamento antimicrobiano direcionado (Castle, et al., 2021).

**Figura 02:** Ilustração da composição da parede celular de bactérias Gram-positivas (A) e Gram-negativas (B).



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

As bactérias Gram-positivas apresentam como característica principal uma parede celular espessa e composta por múltiplas camadas de peptidoglicano, sendo a estrutura responsável por conferir carga elétrica positiva e reter o corante cristal violeta, adotando a coloração roxa que é característica desse grupo ao aplicar a técnica de Gram (Miquelleto et al., 2023). Nesse sentido, essas cepas também apresentam componentes estruturais e bioquímicos essenciais, como o ácido teicoico e lipoteicoico, para rigidez da parede celular, adesão a superfícies e ativação da resposta imune do hospedeiro, conferindo maior resistência a condições ambientais adversas e suscetíveis a antibióticos que inibem o peptidoglicano, como penicilina, cefalosporinas e outros (Gomes, 2022).

Em contrapartida, as Gram-negativas são compostas por uma fina camada de peptidoglicano localizada entre duas membranas lipídicas, onde a externa por ser rica em lipopolissacarídeos (LPS) lhe confere a carga elétrica negativa e dificulta a penetração de muitos antibióticos, resultando em cepas mais resistentes (Mesquita et al., 2023). Além disso, essas bactérias possuem sistemas de efluxo ativos com a capacidade de liberar substâncias tóxicas, e enzimas como betalactamases que degradam antibióticos, contribuindo para evasão do sistema imunológico e alta disseminação (Miquelleto et al., 2023).

Portanto, compreender as diferenças na composição estrutural e bioquímica das paredes bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas é fundamental para a elaboração de estratégias de prevenção e tratamento mais eficazes, contribuindo para a redução da morbidade e mortalidade associadas a infecções causadas por esses agentes patogênicos. Outrossim, fornece uma compreensão clara e objetiva sobre os diferentes mecanismos de resistência e ação antimicrobiana de cada grupo, colaborando para o desenvolvimento de novos fármacos, pesquisas, entre outras aplicações.

### **3.2 PATÓGENOS BACTERIANOS DE RELEVÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA**

#### **3.2.1 Bactérias multirresistentes**

As bactérias multirresistentes constituem um dos maiores desafios contemporâneos no campo da saúde pública e da medicina clínica. Essas bactérias são caracterizadas pela capacidade de resistir a múltiplas classes de antimicrobianos, o que dificulta o tratamento das infecções e contribui para o aumento da morbimortalidade (Karakonstantis et al., 2020).

Além da resistência adquirida, essas bactérias possuem mecanismos genéticos complexos, como bombas de efluxo, mutações nas proteínas-alvo e produção de enzimas inativadoras, o que as torna especialmente resilientes (Ribeiro et al., 2024). Diante disso, compreende-se que a presença das cepas *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em unidades de terapia intensiva (UTI), em pacientes críticos ou imunossuprimidos, está associada a altas taxas de mortalidade e prolongamento das internações hospitalares (Euzébio et al., 2021).

*K. pneumoniae*, uma bactéria Gram-negativa e oportunista, é reconhecida como um importante agente etiológico devido à sua capacidade de adquirir e acumular mecanismos de resistência ao longo do tempo, dificultando o controle de sua rápida disseminação e o tratamento das infecções que causa (Karakonstantis et al., 2020). Um dos seus mecanismos de virulência mais conhecidos é a presença de uma cápsula polimérica, juntamente com uma parede celular espessa com lipopolissacarídeos, que contribuem para a evasão do sistema imunológico, levando ao aumento das taxas de mortalidade e morbidade dos pacientes, enfatizando a

necessidade de diagnóstico rápido e tratamento adequado para reduzir esses números (Petrosillo et al., 2022).

*P. aeruginosa*, outra bactéria Gram-negativa, compartilha desafios semelhantes aos de *Klebsiella pneumoniae*, especialmente devido à sua multirresistência e capacidade de causar infecções graves. Reconhecida por sua virulência intrínseca, *P. aeruginosa* possui diversos fatores patogênicos, como formação de biofilme, produção de exotoxinas e bombas de efluxo, que aumentam sua capacidade de evasão das respostas imunológicas e dos antibióticos. Sua adaptabilidade a ambientes hospitalares e alta morbidade, especialmente em pacientes imunocomprometidos, tornam o tratamento complexo. Tanto *P. aeruginosa* quanto *K. pneumoniae* ressaltam a necessidade urgente de terapias direcionadas para combater sua resistência e virulência (Tuon et al., 2022).

Outro patógeno altamente virulento é a bactéria Gram-positiva *S. aureus*, responsável por uma ampla gama de infecções, desde infecções de pele até doenças invasivas graves, como pneumonia e bacteremia. Sua patogenicidade é atribuída à produção de diversas toxinas e fatores de evasão imune, que facilitam a colonização e infecção do hospedeiro. A resistência a antibióticos, particularmente no caso do *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), representa um grande desafio para a saúde pública, aumentando a morbidade e a mortalidade. A crescente prevalência de cepas virulentas e resistentes destaca a urgência de estratégias eficazes de diagnóstico e tratamento para o controle dessas infecções (Cheung et al., 2021).

As principais consequências clínicas das infecções causadas por bactérias multirresistentes incluem falhas terapêuticas, necessidade de tratamentos mais agressivos e caros, e aumento da carga sobre os sistemas de saúde (De Carvalho et al., 2021). A resposta institucional envolve programas que visem o monitoramento do uso de antimicrobianos, dos constantes surtos hospitalares e a implementação de medidas rigorosas de controle de infecção, tais como isolamento de pacientes, reforço nas práticas de higienização e sensibilização da população quanto a gravidade da problemática.

### 3.2.2 Resistência antimicrobiana

A resistência antimicrobiana (RAM), em conjunto com o alto índice das infecções bacterianas, representam um dos maiores desafios atuais para o setor da saúde pública, sendo o principal agravante o manejo inadequado, excessivo e desinformado de antibióticos pela população, tanto em ambientes clínicos quanto na comunidade (Da Silva Machado, 2021). Nesse sentido, a prevalência da prática de automedicação pelos indivíduos favorece a adaptação e seleção de microrganismos resistentes, dificultando o tratamento e contribuindo para a disseminação dessas cepas.

Além disso, a ausência de políticas públicas que promovam uma difusão científica de sensibilização da sociedade acerca dos impactos negativos associados a resistência antimicrobiana é um agravante da problemática, considerando que nem todo o corpo social compreende a diferença entre vírus e bactérias, por exemplo, resultando no uso indiscriminado de antibióticos para tratar infecções virais (Maia et al., 2021). Outrossim, a RAM impacta também na economia dos sistemas de saúde, pois pacientes infectados por esses agentes resistentes necessitam de tratamentos mais longos, internações prolongadas e uso de medicamentos de maior custo, resultando no aumento dos gastos hospitalares em até 20 vezes, dependendo do patógeno envolvido e infecção (De Oliveira; Do Nascimento Ortega, 2021).

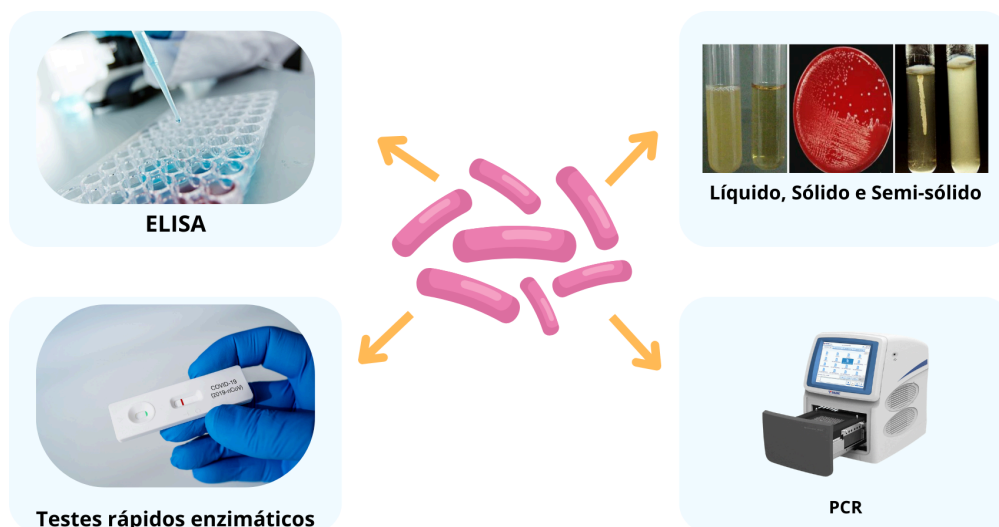
De acordo com um estudo publicado no *The Lancet*, a RAM foi responsável diretamente por aproximadamente 1,27 milhões de mortes e associada a cerca de 4,95 milhões de óbitos no mundo apenas no ano de 2019, sendo agravada pela pandemia da Covid-19 (Murray et al., 2021). Portanto, esses dados reforçam a importância de uma abordagem integrada e urgente, envolvendo políticas públicas de controle, vigilância epidemiológica contínua e incentivo à pesquisa para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, visando a diminuição dos impactos econômicos, sociais e clínicos causados pela RAM.

## 3.3 MÉTODOS TRADICIONAIS DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Os métodos tradicionais de diagnóstico microbiológico são fundamentais para a identificação rápida e eficaz das diferentes infecções, principalmente as bacterianas, considerando o aumento no índice de mortalidade, morbidade e

internações (Murray et al., 2022). Desse modo, diferentes técnicas têm sido utilizadas e desenvolvidas ao longo dos anos, como cultura em diferentes meios (sólidos, líquidos e semissólidos), testes rápidos enzimáticos, Ensaio de Imunoabsorção Enzimático (ELISA) e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), conforme ilustrado na figura 03.

**Figura 03:** Principais métodos tradicionais de diagnóstico microbiológico.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Contudo, esses métodos apesar de serem eficazes na detecção específica, enfrentam desafios relacionados ao prolongado tempo de resposta, sensibilidade, alto custo dos reagentes, possibilidade de falso-positivos, necessidade de instalações laboratoriais adequadas e profissionais capacitados (Karbelkar; Furst, 2020). Diante disso, essas limitações estão impulsionando a pesquisa por métodos diagnósticos auxiliares e inovadores. A técnica padrão ouro, por exemplo, a coloração de Gram, apesar de ser amplamente utilizada, eficiente e sensível, requer de 48 a 72 horas para fornecer resultados, tornando esse método ineficiente para pacientes imunossuprimidos que necessitam de um diagnóstico precoce, visando a diminuição do tempo de internamento e um tratamento personalizado (Castle, et al., 2021).

Por outro lado, os testes rápidos enzimáticos representam uma alternativa viável para a detecção de microrganismos através da análise bioquímica, considerando que são rápidos, práticos e utilizam substratos fixados em cartões que

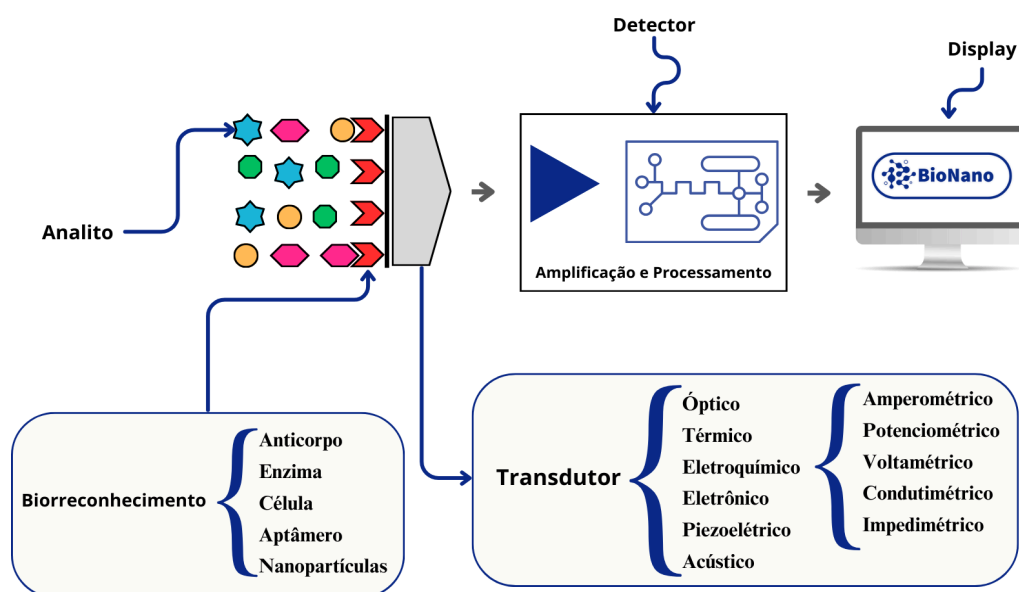
permitem a identificação de enzimas específicas relacionadas a certos patógenos (Franco-Duarte et al., 2019). Contudo, apesar das suas vantagens, esses testes além da possibilidade de apresentarem resultados falso-positivos, possuem alcance limitado devido à quantidade registrada de microrganismos que podem ser identificados e um alto custo de reagentes, limitando a sua aplicação em larga escala, como hospitais e clínicas (Rizal et al., 2020).

Dessa forma, o método ELISA, apesar de demonstrar precisão e sensibilidade na identificação de agentes infecciosos, resultante da ligação entre antígeno-anticorpo e da utilização de reações enzimáticas para detecção, necessita de um alto investimento, considerando os equipamentos complexos e os reagentes utilizados (Hosseini et al., 2017). Além disso, embora a PCR seja uma das técnicas moleculares mais utilizadas para detecção de bactérias, devido a sua sensibilidade, capacidade de detecção em mínimas concentrações, e de amplificação do DNA dos microrganismos-alvo, esta também exige equipamentos caros, reagentes específicos, mão de obra especializada e ainda tempo de análise variável de horas a dias (Rossen; Friedrich; Moran-Gilad, 2018).

### **3.4 BIOSSENSORES**

Compreende-se que biossensores são dispositivos desenvolvidos para detecção de analitos específicos através da transformação de sinais biológicos produzidos pela interação com moléculas-alvo em sinais elétricos quantificáveis, permitindo a obtenção de dados precisos que serão traduzidos em resultados mensuráveis (Chadha et al., 2022). Nesse sentido, esses biodispositivos são compostos por cinco elementos principais: analito, biorreceptor, transdutor, sistema eletrônico e visor eletrônico, onde cada um desempenha uma função específica e contribui para o funcionamento do sistema sensor, conforme representado na figura 04.

**Figura 04:** Esquematização do funcionamento de um biossensor.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

O elemento de biorreconhecimento é fundamental para a detecção do analito, considerando que representa biomoléculas com alta especificidade, como enzimas, anticorpos, ácidos nucleicos, peptídeos antimicrobianos e outros, cuja adsorção na superfície desses biodispositivos pode ser realizada por técnicas de imobilização, como ligação covalente, microencapsulamento ou ligação cruzada, considerando a importância da estabilidade para a eficiente interação com o microrganismo alvo (Velusamy et al., 2022).

Após a interação e o biorreconhecimento do analito, o transdutor é responsável por converter a resposta produzida em um sinal físico, como variações de massa ou carga, que é transformado em sinais elétricos mensuráveis, utilizando diferentes princípios que podem ser eletroquímicos, piezoelétricos, ópticos ou calorimétricos, consoante a natureza do sistema (Wadhera et al., 2019). Nesse sentido, o circuito eletrônico amplifica e processa esse sinal elétrico produzido pelo transdutor em dados de fácil interpretação que podem ser apresentados em diferentes dispositivos, como monitores ou telas LCD, permitindo a visualização das informações obtidas através de gráficos ou valores numéricos (Purohit, et al., 2020).

### 3.4.1 *Propriedades dos biossensores*

Os biossensores se destacam como excelentes alternativas auxiliares para a detecção microbiológica devido às suas atraentes propriedades que são responsáveis por garantir o seu desempenho e confiabilidade, sendo seis principais: especificidade, sensibilidade, linearidade, reprodutibilidade, estabilidade e possibilidade de reutilização, influenciando diretamente a precisão e eficiência do biodispositivo na detecção do analito-alvo (Velusamy et al., 2022). Dessa forma, a avaliação coletiva dessas propriedades é fundamental para o desenvolvimento eficiente desses biodispositivos.

Nesse sentido, a especificidade está relacionada com a capacidade do sensor de reconhecer especificamente a sua molécula-alvo, mesmo em meio à presença de outras substâncias, onde o comprometimento dessa propriedade pode ocasionar uma detecção equivocada de outras moléculas similares e resultar em falsos positivos (Chada et al., 2022). Por outro lado, a sensibilidade desses sistemas consiste na habilidade de detectar concentrações mínimas do analito, sendo analisada através da intensidade do sinal gerado em função da quantidade presente na amostra (Altalhi, et al., 2022).

A linearidade é a proporcionalidade entre a concentração do analito e o sinal elétrico gerado, podendo ser descrita pela equação matemática  $y = mx + c$ , onde “y” representa o sinal elétrico medido, “m” corresponde a sensibilidade do sistema sensor, “x” é a concentração do analito, e “c” representa a constante de correção (Velusamy et al., 2022). Portanto, quanto maior for a linearidade, maior será a detecção, sendo responsável pela manutenção da precisão de um biossensor em diferentes faixas de concentração. Diante disso, a estabilidade desses sistemas está relacionada a integridade do biorreceptor, garantindo a reprodutibilidade em outros sensores semelhantes e a possível reutilização (Amaral et al., 2022).

### 3.4.2 *Classificação dos biossensores*

#### 3.4.2.1 *Quanto ao tipo de biorreceptor*

Os biossensores podem ser classificados em biocatalíticos e de bioafinidade, de acordo com o seu biorreceptor utilizado (Naresh e Lee, 2021). Desse modo, os biocatalíticos são aqueles que utilizam enzimas imobilizadas na superfície do

transdutor, onde o sinal quantificado depende dos produtos gerados na reação enzimática e da adesão deles na superfície (Singh et al., 2021). Por outro lado, os de bioafinidade baseiam-se nas interações específicas entre o analito e a biomolécula que podem ser proteínas, anticorpos, fragmentos de DNA ou RNA (aptâmeros), peptídeos antimicrobianos e outras que permitem uma eficiente detecção (Naresh e Lee, 2021; Singh et al., 2023).

Portanto, a escolha do tipo de biorreceptor depende da natureza do analito a ser detectado e do nível de precisão desejado na análise, por exemplo. No estudo de Junior et al. (2018), o PAM Clavanin A e as nanopartículas de ouro (AuNPs) foram utilizados como componentes para construção de um biossensor eletroquímico que foi avaliado pelas técnicas eletroquímicas voltametria cíclica (VC) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS), apresentando um limite de detecção (LOD) de  $10^1$  UFC/mL e detectando as bactérias *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

Por outro lado, Da Silva-Junio et al (2022), utilizaram o PAM Temporin-PTA em uma plataforma composta por ácido-mercaptop-benzóico (MBA) e nanopartículas magnéticas de óxido de ferro recobertas por ouro ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}$ ). A análise também foi realizada pelas técnicas VC e EIS, resultando em um LOD de  $10^1$  UFC/mL e possibilitando a detecção dos microrganismos *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *B. subtilis*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis*.

Em outro estudo de Da Silva Junior et al (2022), um biossensor utilizando o PAM Synoeca-MP foi imobilizado em uma plataforma composta por  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (óxido de ferro), quitosana e sílica funcionalizada. Essa plataforma também foi analisada por VC e EIS devido a sensibilidade dessas técnicas ao avaliar as modificações na superfície do eletrodo, apresentando um LOD de  $10^1$  UFC/mL na detecção dos microrganismos *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *C. tropicalis*.

Além disso, um estudo mais recente realizado por Santos et al. (2024) desenvolveu um biodispositivo impedimétrico com base no PAM HP-MAP1, utilizando nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs). O dispositivo sensor apresentou alta sensibilidade, com LOD de ( $10^1$  UFC/mL), sendo eficaz na detecção de *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* e *P. aeruginosa*.

### 3.4.2.2 Quanto ao transdutor

Os biossensores também podem ser categorizados com base no tipo de transdutor utilizado, considerando que este componente é de suma importância para conversão do reconhecimento biológico em um sinal mensurável (Altalhi, et al., 2022). Assim, a natureza do transdutor define o princípio físico utilizado nesse processo de transdução do sinal, relacionando-se diretamente com a sensibilidade e aplicabilidade do dispositivo (Wadhera et al., 2019). Com base nesses princípios, esses biodispositivos podem ser classificados em diferentes categorias, como eletroquímicos, ópticos, piezoelétricos e calorimétricos, sendo definidos e diferenciados na tabela 1.

**Tabela 1:** Classificação dos biossensores quanto ao elemento de transdução.

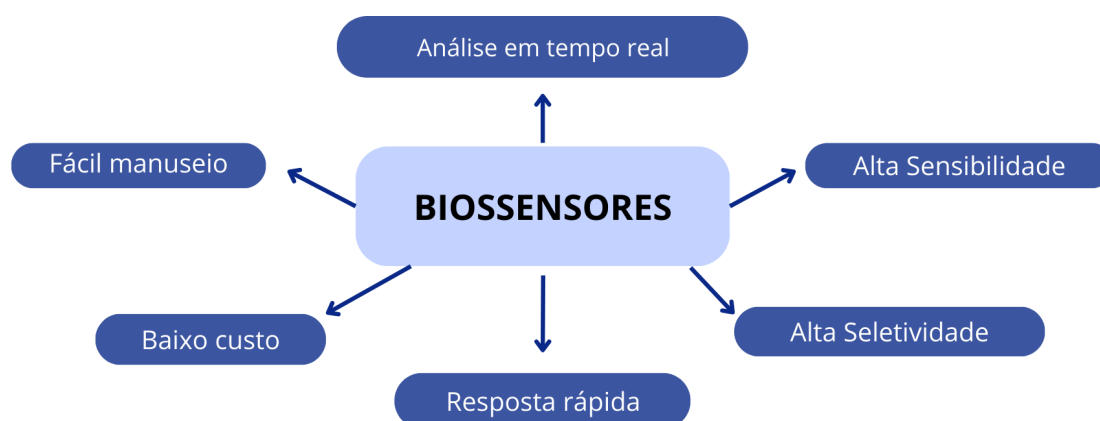
<b>Classificação</b>	<b>Funcionamento</b>	<b>Subclassificações</b>	<b>Referência</b>
Eletroquímicos	Detecção das variações de corrente elétrica ou potencial gerada pela interação analito-eletrodo.	Amperometria; potenciometria; condumetria e impedância eletroquímica.	Huang, Zhu e Kianfar, 2021.
Ópticos	Detecção de alterações nas propriedades da luz.	Fluorescência; luminescência; cristal fotônico e outras.	Huang, Zhu e Kianfar, 2021; Singh et al., 2023.
Piezoelétricos	Detecção da mudança de massa resultante da ligação do analito à superfície sensora.	Ausente	Velusamy et al., 2022.
Calorimétricos	Detecção das variações térmicas resultantes de reações endotérmicas ou exotérmicas.	Ausente	Amaral et al., 2022; Velusamy et al., 2022.

**Fonte:** Próprio autor, 2025.

### 3.4.3 Áreas de aplicação dos biossensores

Os biossensores surgem como uma tecnologia inovadora que apresenta potencial para aplicação em diferentes áreas, considerando que seu baixo custo, fácil manuseio e tempo rápido de resposta oferecem benefícios significativos (Verma et al., 2022). De acordo com a Fig. 05, esses biodispositivos também se destacam por sua alta sensibilidade e seletividade, possibilitando análises em tempo real sem precisar de materiais laboratoriais complexos sem necessidade de testes no ponto de atendimento (POC, do inglês *Point-of-care*) ou de pré-tratamento de amostras, tornando-os ideais para aplicação no diagnóstico clínico, por exemplo (Amaral et al., 2022).

**Figura 05:** Vantagens da aplicação de biossensores.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Desse modo, as características desses dispositivos ampliam suas possibilidades de adoção em outros setores como controle de alimentos, monitoramento ambiental, pecuária e biomedicina, levando em consideração a sua utilidade na detecção desde contaminantes e patógenos até parâmetros fisiológicos e resíduos químicos, contribuindo para melhorias na saúde pública, segurança alimentar, vigilância sanitária e preservação ambiental (Verma et al., 2022). A tabela 2 apresenta as diferentes aplicações dos biossensores de acordo com a área de atuação.

**Tabela 2:** Aplicação de biossensores em diferentes áreas.

Área	Aplicação	Referência
Pecuária	Detecção de resíduos de antibióticos em leite de bovinos.	Ribeiro et al., 2021.
Monitoramento ambiental	Detecção de pesticidas organofosforados por biossensores à base de acetilcolinesterase.	Costa et al., 2021.
Indústria alimentícia	Monitoramento da deterioração de alimentos frescos com biossensores ópticos.	Vasconcelos et al., 2022.
Biomedicina	Diagnóstico de Covid-19.	De Souza Silva et al., 2023.

**Fonte:** Próprio autor, 2025.

#### 3.4.4 Limitações e avanços na utilização de biossensores no diagnóstico clínico

A concretização dos biossensores como uma tecnologia cotidiana pode revolucionar a maneira como a saúde funciona. Ao observar a implementação de tecnologias diversas em outros cenários e contextos, pode-se perceber que o uso da tecnologia nos cuidados relacionados à saúde representa uma anomalia comportamental (Wadhera et al., 2019). Segundo, a Demografia Médica no Brasil, em média, uma pessoa em saúde plena – ou seja, não acometida por nenhuma enfermidade – tende a ir ao médico uma vez ao ano (Scheffer et al., 2023). Como causa dessa disparidade, desponta a inexistência de sensores que possam acompanhar e monitorar em tempo real o estado do corpo humano.

A ausência dessas tecnologias se dá por conta dos desafios enfrentados no seu desenvolvimento e implementação, como a dificuldade na reprodutibilidade dos resultados, sensibilidade das técnicas analíticas, padronização de sistemas, conservadorismo – associado à crença de que estes dispositivos substituiriam métodos convencionais de diagnóstico, quando na verdade atuariam de maneira complementar – e o excesso de critérios regulamentares, que dificultam ou impossibilitam em diversas instâncias a aplicação em larga escala desses

dispositivos (De Sá Genezini, 2022). Para efeitos de comparação, pode-se observar o caso do último expoente no campo dos biossensores: o glicosímetro, cujo desenvolvimento levou mais de 40 anos e que, ainda hoje, apresenta dificuldades limitantes quanto ao uso (Fachinelli et al., 2017).

Nesse contexto, a combinação dos biossensores com a nanotecnologia tem se destacado como um caminho viável, uma solução inovadora no diagnóstico clínico, oferecendo resultados ágeis, precisos e direcionados para identificar infecções bacterianas, possibilitando melhorias no âmbito da saúde pública (Verma et al., 2022). Uma vez desenvolvidos e devidamente aplicados, os biossensores poderiam mudar a relação do cuidado com a saúde, provendo um acompanhamento contínuo do estado do corpo, o que facilitaria estudos patológicos e o diagnóstico precoce de doenças e infecções, o que poderia acarretar no desestresse das redes públicas de saúde e nos sistemas previdenciários ao redor do mundo (Castle et al., 2020).

Isto posto, compreende-se que, apesar dos desafios, o desenvolvimento desses dispositivos é de suma importância, considerando que características como capacidade de miniaturização, baixo custo, monitoramento em tempo real, a dispensa de instrumentos laboratoriais complexos e de profissionais altamente capacitados impulsionam a urgência da sua implementação na saúde pública, possibilitando um atendimento mais inclusivo e acessível aos pacientes (Nakhjavani et al., 2024).

Além disso, com a chegada agregacional de outras tecnologias, como inteligência artificial (IA) e internet das coisas (IoT), a ampliação das aplicações de biossensores em abordagens personalizadas e no ponto de atendimento, foi privilegiada, o que pode impulsionar o seu desenvolvimento (Hosain et al., 2024). Desse modo, a integração dessas tecnologias possibilita o processamento de uma grande massa de dados, facilitando a interpretação, o monitoramento em tempo real e a conectividade desses dispositivos com outras plataformas digitais e sistemas de saúde, por exemplo. Na tabela 3 são apresentados alguns biodispositivos voltados para o diagnóstico clínico.

**Tabela 3:** Exemplo de biodispositivos desenvolvidos para o diagnóstico clínico.

Biodispositivo	Componentes da plataforma	Alvo	Referência
Biossensor eletroquímico	Peptidoglicano e nanocubo de platina-níquel-cobre	Bactérias Gram-positivas	Han et al., 2020.
Biossensor eletroquímico	Ácido tiofenoacético + indolicidina	Bactérias patogênicas	Oliveira et al., 2020.
Biossensor eletroquímico	MXene@Au com pré-tratamento por nanopartículas magnéticas	MRSA ( <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilicina)	Li et al., 2023.
Biossensor eletroquímico	Ti <sub>3</sub> AlC <sub>2</sub> MAX funcionalizado com polidopamina	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Goel et al., 2024.

**Fonte:** Próprio autor, 2025.

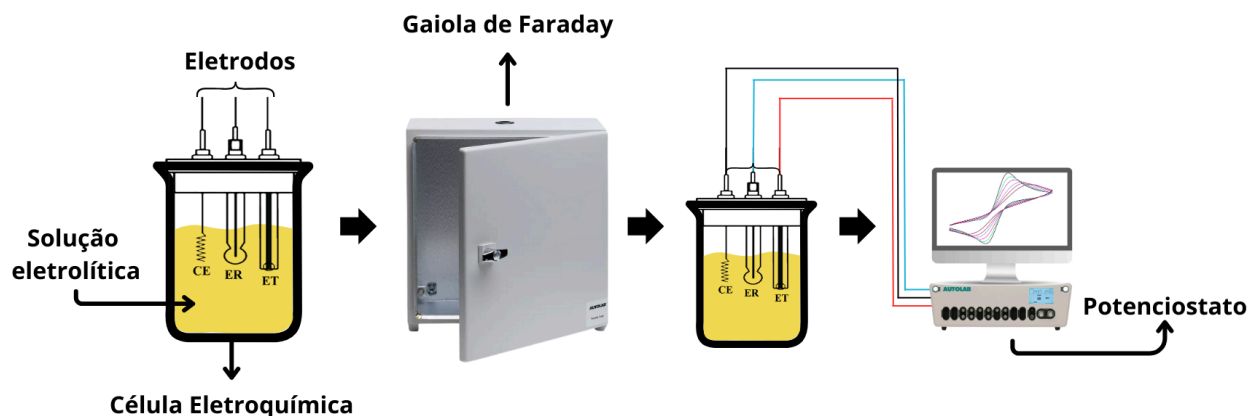
### 3.5 ELETROQUÍMICA

Segundo Clarke e D'Orazio (2020), o ramo da química dedicado a estudar as reações de oxidação e redução que ocorrem entre o eletrodo (condutor elétrico) e o eletrólito (condutor iônico) através da transferência de elétrons, é conhecido como eletroquímica. Adicionalmente, essas reações também podem ser conhecidas como redox e são essenciais para a produção de corrente elétrica através da conversão de energia química em elétrica, utilizando técnicas eletroquímicas baseadas em parâmetros como potencial, corrente, condutividade e impedância (Zhu e Shi, 2019).

Nesse sentido, no intuito de melhor descrever as reações redox ocorridas em biossensores eletroquímicos, é relevante entender o funcionamento e a organização da célula eletroquímica onde elas ocorrem, considerando sua integração em um sistema coordenado para execução dos experimentos, conforme representado na figura 06. Portanto, a célula eletroquímica é composta pelos eletrodos, superfícies condutoras onde as reações ocorrem e os elétrons sofrem transferência, e pelos eletrólitos que atuam como meio iônico, possibilitando a mobilidade das cargas

entre os eletrodos. Esses elementos podem ser dispostos em compartimentos de vidro temperado ou teflon, conferindo o isolamento e a estrutura durante as análises (Zhu e Shi, 2019).

**Figura 06:** Representação esquemática dos componentes essenciais para a realização de experimentos com biossensores.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

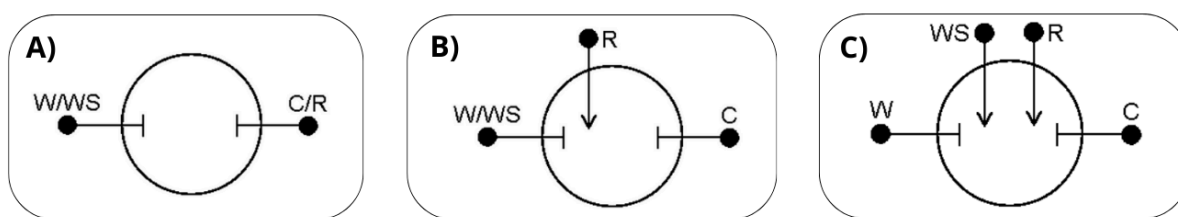
Adicionalmente, para proteger o experimento de interferências externas, a célula pode estar inserida dentro de uma gaiola de Faraday, que protege o sistema de ruídos eletromagnéticos. Por último, o potenciostato, equipamento essencial neste arranjo, é o responsável pela especificação do potencial e da corrente aplicada entre os eletrodos, possibilitando a realização do registro das respostas eletroquímicas com precisão (Magar; Hassan; Mulchandani, 2021).

Nesse sentido, em uma célula eletroquímica, cada eletrodo é responsável por assegurar a qualidade dos dados obtidos. O eletrodo de trabalho (ET), normalmente produzido de materiais inertes como o ouro, prata, ou carbono, serve de base para as reações eletroquímicas a serem estudadas e construção da plataforma sensora. Adicionalmente, o eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo (CE), normalmente de platina, e com área maior que a do eletrodo de trabalho, é importante para o fechamento do circuito e a continuidade da corrente. Por fim, o eletrodo de referência (ER) é utilizado para manutenção de um potencial fixo, isto é, reduzir interferências, sendo necessário para adequar o potencial aplicado para o sistema. Dentre os mais

utilizados está o Ag/AgCl (saturado com cloreto de potássio), que possui um potencial bem definido e reprodutível durante as análises (Clarke e D'Orazio, 2020).

Além disso, conforme apresentado na fig. 07, a configuração dos eletrodos em uma célula eletroquímica se altera dependente da natureza da amostra, do analito que se deseja detectar e os parâmetros eletroquímicos que se deseja avaliar. A configuração mais simples é dada pelo sistema de dois eletrodos, composta por apenas um ET e um contra eletrodo CE, sendo normalmente utilizada em testes preliminares ou como dispositivos portáteis, como baterias, supercapacitores e sensores de uso rápido (Magar; Hassan; Mulchandani, 2021).

**Figura 07:** Sistemas eletroquímicos com dois eletrodos **(A)**, três eletrodos **(B)** e quatro eletrodos **(C)**, onde *W/WS* representa o eletrodo de trabalho (Working Electrode / Working Sense Electrode), *R* representa o eletrodo de referência (Reference Electrode) e *C* representa o contra eletrodo (Counter Electrode).



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Nesse contexto, em um sistema de três eletrodos, mais amplamente utilizado para em biossensores, é adicionado o ER que controla com precisão o potencial aplicado na interface do ET, contribuindo para medições eletroquímicas mais assertivas. Por fim, o sistema de quatro eletrodos é utilizado em situações que exigem medições de alta precisão, como em soluções com elevada resistência iônica ou na caracterização de membranas, pois é acrescentado um segundo eletrodo de referência, possibilitando a avaliação da condutividade e da resistência de interfaces (Naresh e Lee, 2021).

### 3.5.1 Métodos eletroanalíticos

Os métodos eletroanalíticos se classificam conforme o tipo de sinal elétrico que produzem, permitindo sua divisão em métodos potenciométricos, coulométricos, voltamétricos e impedimétricos. Dessa forma, cada um desses métodos contempla

a interação entre um sistema eletroquímico e a interface eletrodo/solução, favorecendo a detecção e quantificação do analito através das repostas elétricas. Essa multiplicidade metodológica representa uma contribuição à versatilidade dos biossensores eletroquímicos, permitindo a sua aplicação em uma vasta gama de analitos e cenários analíticos (Magar; Hassan; Mulchandani, 2021).

#### *3.5.1.1 Potenciométricos*

Os métodos potenciométricos fundamentam-se na medição do potencial elétrico entre dois eletrodos em ausência de uma corrente significativa. Essa diferença de potencial é dependente da atividade iônica do meio e, normalmente, tem sido explorada em sensores de pH, ou, eletrodos íon-seletivos, cuja seletividade é dada pelas membranas sensíveis a diferentes íons. Esses dispositivos têm grande aplicabilidade em análises clínicas, ambientais e industriais devido a sua simplicidade e estabilidade, possibilitando, ainda, medições em tempo real e não destrutivas (De Campos et al., 2023).

#### *3.5.1.2 Coulométricos*

Os métodos coulométricos possibilitam calcular a quantidade de uma substância mensurando-se a corrente elétrica (em coulombs) requerida para oxidar ou reduzir totalmente um analito em uma célula eletrolítica (Monteiro; Santos; Sussuchi, 2020). Dessa forma, a carga transferida é diretamente proporcional à concentração do analito, possibilitando uma quantidade exata e sensível mesmo em baixas concentrações. Essa forma de abordagem garante uma seletividade alta, uma vez que no eletrodo de trabalho somente ocorre uma reação eletroquímica, sendo desprezadas as interferências. Portanto, em biossensores, é utilizado para detectar reações específicas, sendo utilizado para diagnósticos e para monitoramento ambiental (De Campos et al., 2023).

#### *3.5.1.3 Voltamétricos*

Os métodos voltamétricos baseiam-se na medição da corrente elétrica gerada pela aplicação controlada de um potencial ao eletrodo, induzindo reações redox na interface eletrodo/solução e permitindo a detecção e quantificação das espécies eletroativas. Nesse sentido, voltametria cíclica, de onda quadrada e de pulso

diferencial, entre outras, são técnicas com diferentes resoluções e sensibilidades, sendo amplamente utilizadas em sistemas analíticos e biossensores. Os dados são apresentados em curvas corrente-potencial, chamadas voltamogramas, que são capazes de mostrar o comportamento eletroquímico dos analitos analisados (Magar; Hassan; Mulchandani, 2021).

#### 3.5.1.4 Impedimétricos

Os métodos impedimétricos medem a resistência total de um sistema à passagem de uma corrente alternada. Desse modo, a Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) pode estudar propriedades tanto capacitivas quanto resistivas da interface eletrodo/solução, sendo uma técnica eficiente para investigar alterações na superfície do eletrodo, como a imobilização de biomoléculas. Os resultados são interpretados em diagramas como Nyquist ou Bode em conjunto com os dados numéricos extraídos do circuito equivalente de Randles, que simula os elementos eletroquímicos do sistema (Magar; Hassan; Mulchandani, 2021).

### 3.6 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA

#### 3.6.1 Voltametria Cíclica

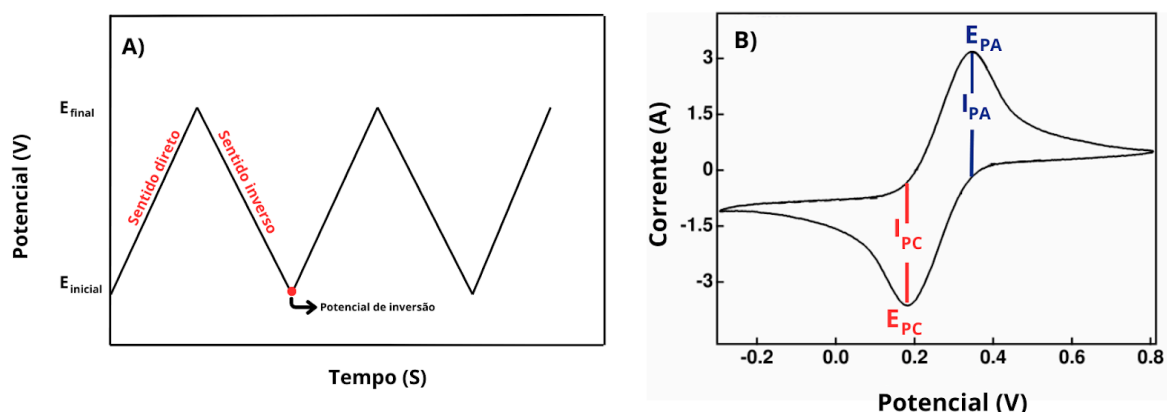
A Voltametria é uma técnica eletroquímica que investiga e expressa uma corrente medida em função do potencial aplicado, derivando da palavra “Voltamperometria” e produzindo um gráfico a partir das curvas geradas por essa função chamado de voltamograma que possibilita a análise das reações de oxidação e redução em um sistema, levando em consideração os fenômenos que ocorrem na interface entre o eletrodo e a solução (Tsai et al., 2021). Diversas formas de voltametria surgiram a partir dos princípios da polarografia, sendo as principais: voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial, cuja a escolha da técnica depende do objetivo da análise, do tipo de amostra e da complexidade do sistema (Fahmy Taha; Ashraf; Caesarendra, 2020).

Dentre as várias modalidades de voltametria, a voltametria cíclica (VC) se destaca pelo fácil manuseio, menor custo, rapidez e ampla aplicabilidade na obtenção de dados acerca dos fenômenos eletroquímicos, detectando informações acerca da termodinâmica dos processos redox, de reações heterogêneas com transferência de

elétrons, e reações químicas resultantes de processos adsorptivos na superfície do eletrodo. Dessa forma, o procedimento voltamétrico é realizado através de uma célula eletroquímica que opera com três eletrodos: um de trabalho, um de referência e um contra eletrodo, possibilitando a compreensão acerca da relação entre a voltagem, corrente e o tempo, durante a reação de eletrólise (Costentin; Fortage; Collomb, 2020).

Durante um experimento voltamétrico, um potencial inicial é aplicado e, em seguida, é progressivamente alterado para regiões mais negativas (catódica) a fim de promover a redução do composto em solução, resultando em um pico de corrente que está diretamente ligado à concentração do analito (Figura 8A). Após atingir o valor máximo em sua redução, o potencial é revertido, sendo varrido no sentido oposto, das regiões de potencial negativo para potencial positivo (anódica), permitindo a oxidação do analito reduzido até que retorne para o mesmo potencial inicial, gerando um segundo pico de corrente (Figura 8B).

**Figura 08:** Onda de potencial em voltametria cíclica **(A)**; Voltamograma gerado por um sistema reversível **(B)**.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

A varredura na voltametria cíclica geralmente apresenta a forma de um triângulo isósceles, o que gera uma vantagem significativa, pois o produto formado na reação redox durante a varredura direta (ida) pode ser reavaliado na varredura revertida (volta). Essa característica torna a técnica especialmente valiosa em estudos exploratórios, pois as análises voltamétricas podem ser utilizadas para descrever o comportamento redox dos compostos, identificar reações químicas que ocorrem antes ou depois dos processos eletroquímicos, estudar a cinética de transferência

eletrônica e analisar quantitativamente os dados obtidos (Avelino et al., 2021; Lucena, et al., 2022).

Na VC, dois parâmetros fundamentais são considerados: o potencial ( $E$ ) que é inicialmente aplicado e controlado ao longo do experimento, e a corrente ( $I$ ), que é coletada como resposta deste sistema. Nesse sentido, o voltamograma resultante da relação entre esses dois parâmetros corresponde à corrente transferida pelos elétrons, quando ocorre o processo de oxirredução (equação 1), sendo diretamente proporcional à quantidade de espécie analítica presente na superfície do eletrodo imerso na célula eletroquímica (Da Silva Junior et al., 2022).



**Eq. 1**

Onde  $O$  representa a forma oxidada da espécie eletroativa,  $R$  corresponde à sua forma reduzida, e  $ne^{-}$  indica o número de elétrons transferidos durante a reação de oxirredução.

Sensores voltamétricos têm se destacado por sua simplicidade, rapidez e capacidade de fornecer informações detalhadas sobre os processos redox de espécies eletroativas, favorecendo o monitoramento da corrente gerada pela transferência de elétrons. Mohamed et al. (2017) reportaram um novo compósito baseado em nanotubos de carbono, óxido de grafeno e pirogalol que apresentou melhora na sensibilidade de biodispositivos. De modo semelhante, Gürsu, Gençten e Şahin (2017) descreveram a preparação eletroquímica em uma única etapa de eletrodos de grafite revestidos por grafeno, por meio da voltametria cíclica, para utilização em baterias redox de vanádio, ressaltando o potencial desses materiais para melhoria do desempenho eletroquímico.

### *3.6.2 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica*

A Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE), também conhecida como impedância por corrente alternada, é uma técnica eletroanalítica que encontra-se amplamente utilizada nos últimos anos, devido à sua eficiência e sensibilidade em

caracterizar sistemas eletroquímicos complexos. Desse modo, ao utilizar o potencial de corrente alternada (AC) em função do tempo, o método é capaz de medir a corrente resultante e analisar a resposta do sistema em diferentes frequências (Magar; Hassan; Mulchandani, 2021).

Nesse contexto, o sistema eletroquímico é interpretado como uma combinação de elementos em um circuito passivo, composto por resistência, capacitância e indutância, onde a resposta é interpretada com base na Lei de Ohm que é dada pela razão entre a tensão aplicada (V) e a intensidade que a corrente (I) flui pelo elemento resistivo (Lucena, et al., 2022). Portanto, a impedância diz respeito à resistência de um circuito elétrico ao fluxo de corrente alternada, sendo realizada em faixas de frequências diferentes para distinguir os fenômenos físicos e químicos, com base nas constantes de tempo, fornecendo informações sobre os processos interfaciais.

Adicionalmente, essa técnica permite investigar a forma como as moléculas se comportam no processo de desenvolvimento dos biossensores, baseando-se na análise das variações das correntes elétricas ao longo das etapas de imobilização e reconhecimento do analito. A técnica pode ser conduzida por meio de dois processos: Faradaico e não-Faradaico. No processo não-Faradaico, não ocorre movimentação de elétrons entre os eletrodos, considerando que o objetivo é detectar as mudanças da capacitância na dupla camada elétrica (CDE) próxima à superfície do eletrodo de trabalho, sendo utilizada para analisar a ligação de biomarcadores aos eletrodos funcionalizados com os elementos de reconhecimento biológico (Magar; Hassan; Mulchandani, 2021).

Em contrapartida, os processos Faradaicos utilizam eletrólitos ricos em espécies redox que podem ser participantes de reações de oxidação e de redução desencadeadas pelo potencial aplicado ao sistema, possibilitando uma transferência eficiente de elétrons na interface eletrodo/eletrólito (Da Silva et al., 2020). Uma das sondas redox mais empregadas neste caso, é o sistema ferro/ferricianeto ( $K_3[Fe(CN)_6]$ )( $K_4[Fe(CN)_6]$ ), o qual é reconhecido pela sua elevada estabilidade e por possuir um comportamento redox bem definido nas soluções aquosas, possibilitando o acompanhamento das variações da superfície do eletrodo (Lai et al., 2020).

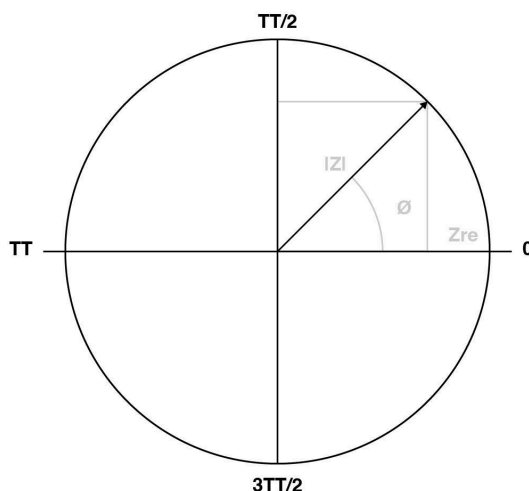
Aplicando a relação de Euler, o gráfico da impedância pode ser obtido na forma das funções trigonométricas, que expressam a dependência do ângulo de fase (Lvovich, 2012; Lai et al., 2020), como demonstrado na expressão a seguir:

$$Z = |Z| (\cos\phi + j \sin\phi) = Z_{re} + j Z_{im}$$

**Eq. 2**

A equação apresentada indica que a impedância é um número complexo que possui uma parte real ( $Z_{re}$ ) e uma parte imaginária ( $Z_{im}$ ) que correspondem a projeções do módulo da impedância nos eixos de um sistema cartesiano. Assim, a impedância pode ser representada no plano complexo como um vetor, também conhecido como fasor (Fig. 9).

**Figura 9:** Ilustração do vetor (fasor) de impedância  $Z$ , destacando a interação entre o valor absoluto da impedância ( $|Z|$ ), o ângulo de fase ( $\phi$ ) e as componentes real ( $Z_{re}$ ) e imaginária ( $Z_{im}$ ), representadas nos respectivos eixos.

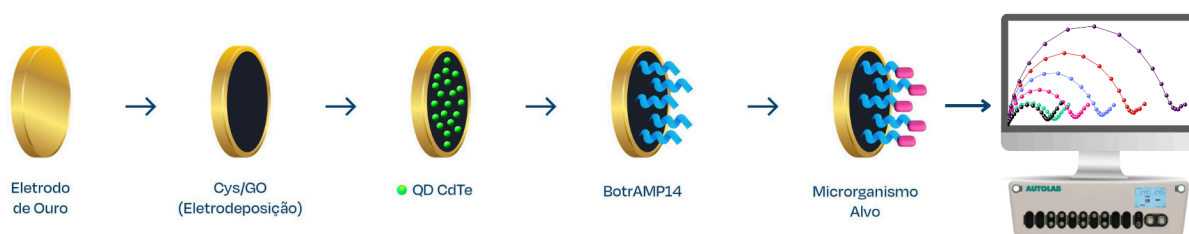


**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Os biossensores impedimétricos, isto é, aqueles caracterizados por EIE, destacam-se por sua capacidade de realizar análises sensíveis e específicas sem a necessidade de marcadores químicos, simplificando o processo e reduzindo custos, sendo conhecidos como “label-free” (Da Silva et al., 2020). Ademais, ao utilizar biorreceptores específicos, esses dispositivos garantem alta seletividade na detecção de analitos variados, tornando-se uma ferramenta promissora para aplicações em diagnóstico clínico, monitoramento ambiental e segurança alimentar

(Verma et al., 2022). A Figura 10 ilustra as diferentes etapas de construção de um biossensor impedimétrico em um experimento de EIE, destacando a interação entre o analito presente na amostra e o elemento de biorreconhecimento imobilizado na superfície do eletrodo.

**Figura 10:** Funcionamento de um biossensor impedimétrico.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

### 3.6.2.1 Circuito equivalente

Para a interpretação dos dados experimentais da Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE), são utilizados circuitos equivalentes que consistem em combinações de resistores, capacitores, indutores e demais elementos típicos de células eletroquímicas, em série ou paralelo (Rodenburg e Ngene, 2020). O circuito de Randles modificado está entre os modelos mais usados e muito aplicado em sistemas aquosos, condutores e iônicos, possibilitando correlacionar e ajustar os dados da EIE, além de estimar parâmetros elétricos associados à concentração do analito (Lai et al., 2020; Saxena e Srivastava, 2019).

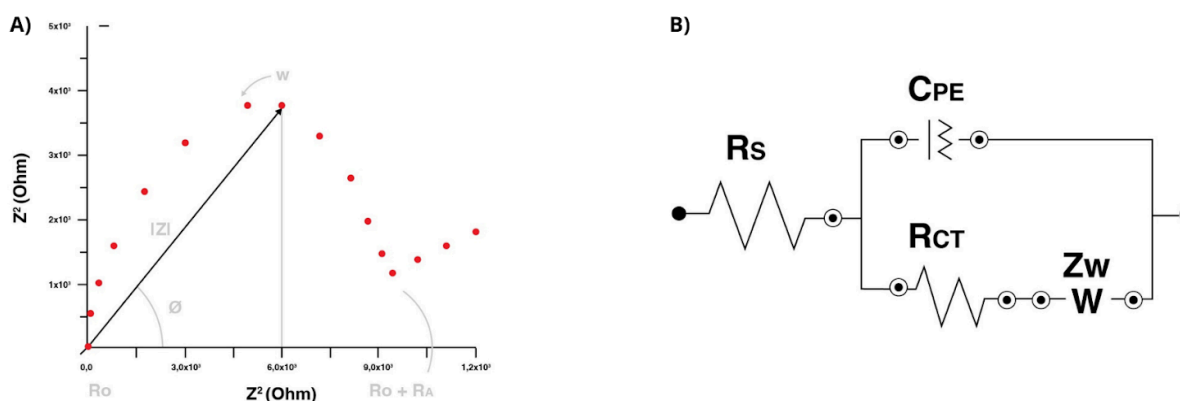
No contexto dos biossensores, o circuito de Randles é utilizado não apenas para ajustar os dados experimentais de impedância, mas também para a extração de parâmetros que contribuem para a interpretação do diagrama de Nyquist obtido por EIE. Sua estrutura inclui a resistência à transferência de carga ( $R_{ct}$ ), resistência da solução ( $R_{\Omega}$ ) e a capacitância da dupla camada elétrica ( $C_{dl}$ ). Dessa forma, os componentes real e imaginário da impedância  $Z$  para o circuito de Randles podem ser avaliados conforme as equações abaixo (Magar; Hassan; Mulchandani, 2021):

$$Z' = R_{\Omega} + \frac{R_{ct}}{1 + \omega^2 C_{dl}^2 R_{ct}^2}$$

$$-Z'' = \frac{\omega Cdl R^2 ct}{1 + \omega^2 C^2 dl R^2 ct}$$

Na EIE, a frequência é um parâmetro fundamental, sendo os dados frequentemente expressos como o módulo da impedância em função da frequência, a fim de representar o espectro de impedância (Magar; Hassan; Mulchandani, 2021). Outra forma bastante utilizada é o diagrama de Nyquist (Figura 11A), no qual são plotadas a parte real da impedância ( $Z'$ ), no eixo X, e a parte imaginária negativa ( $-Z''$ ), no eixo Y. Cada ponto do gráfico corresponde à resposta do sistema a uma determinada frequência, representando a magnitude e a direção do vetor de impedância (Lai et al., 2020; Saxena e Srivastava, 2019).

**Figura 11:** Diagrama de Nyquist (A) e Circuito equivalente de Randles (B).



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Os semicírculos apresentados no gráfico de Nyquist correspondem a resposta de circuitos elétricos, que podem ser tais como representados por modelos matemáticos conhecidos sob a forma de circuitos equivalentes, dos quais o circuito mais utilizado é o circuito de Randles (Fig. 11B), sendo amplamente utilizado em experimentos e simulações numéricas de EIE (Lai et al., 2020; Saxena e Srivastava, 2019). Esse modelo descrevem os principais fenômenos eletroquímicos que ocorrem na interface eletrodo/solução, permitindo a extração de parâmetros fundamentais para a caracterização do sistema analisado.

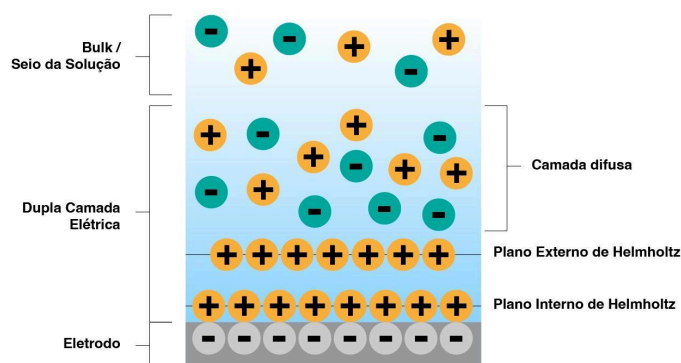
### 3.6.2.2 *Dupla camada elétrica*

A dupla camada elétrica (DCE) é uma estrutura interfacial que se desenvolve devido aos potenciais de Galvani entre dois condutores de fases distintas, normalmente na interface entre o eletrodo e a solução eletrolítica, que resulta no acúmulo de cargas de sinais opostos, próximas e paralelas entre si e consequente separação ordenada de íons. Por exemplo, se a superfície do eletrodo apresentar carga negativa, os cátions da solução serão atraídos e organizados na camada superficial do eletrodo, enquanto os ânions ficarão dispersos em certa distância à sua frente (Magar; Hassan; Mulchandani, 2021).

A DCE geralmente apresenta uma espessura fina, que varia entre 0,1 e 0,4 nm, podendo chegar até 1nm, dependendo das características do eletrodo, ou atingir mais de 10nm em meios de baixa força iônica (Da Silva et al., 2020). Seu perfil de potencial elétrico cresce linearmente na parte compacta (PIH) e decai exponencialmente na camada difusa. Funcionalmente, ela pode ser considerada como um capacitor, armazenando carga elétrica e permitindo que essa carga constitua outro caminho para a corrente elétrica além da transferência eletrônica. Por isso, técnicas como espectroscopia de impedância e voltametria são fundamentais para a caracterização das reações eletroquímicas do eletrodo (Upadhyay et al., 2024).

Além disso, a DCE é constituída por duas regiões principais: o plano interno de Helmholtz (PIH), que forma uma camada compacta de íons diretamente adsorvidos na superfície do eletrodo, e a camada difusa, modelada pelo modelo de Gouy-Chapman, onde se localizam os íons móveis dispostos em função do gradiente de potencial, conforme representado na figura 12. O tamanho desta camada difusa depende diretamente da força iônica do meio, isto é, da concentração do eletrólito presente em solução, o que pode impactar, em grande medida, a cinética dos processos eletroquímicos, como as reações de oxirredução (Da Silva et al., 2020).

**Figura 12:** Esquematização dos elementos que compõem a dupla camada elétrica na interface entre o eletrodo e a solução.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Portanto, compreender a estrutura e a organização da DCE é essencial para o desenvolvimento e a aplicação em biossensores, visto que esta interface atua diretamente no comportamento eletroquímico do sistema. Desse modo, mudanças nas concentrações de analitos ou na composição das amostras levam a alterações na DCE, resultando em sinais detectáveis nos processos de transdução analítica. Adicionalmente, esse conhecimento favorece a otimização da sensibilidade e seletividade desses sistemas, uma vez que influencia diretamente o design dos eletrodos e a escolha de materiais a serem utilizados no seu revestimento (Da Silva et al., 2020).

### 3.7 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

A Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica analítica fundamental na caracterização de materiais, especialmente na identificação de grupos funcionais e na análise da composição química de compostos orgânicos e inorgânicos. No contexto do desenvolvimento de biossensores, o FTIR é utilizado para confirmar a presença de ligantes, polímeros, nanomateriais e biomoléculas na superfície funcionalizada do sensor, assegurando a correta modificação da interface e a eficácia da plataforma sensora (Magalhães; Goodfellow; Nunes, 2021).

Além disso, a técnica tem sido amplamente aplicada na caracterização de filmes finos e no acompanhamento de processos de imobilização molecular, permitindo analisar a estabilidade e o desempenho do biodispositivo em tempo real. Um trabalho realizado por Bold et al. (2020) demonstrou uso de superfícies de germânio analisadas por FTIR como plataformas eficientes para a detecção de proteínas, destacando o potencial da técnica. Ademais, o uso combinado de FTIR com outras técnicas de caracterização, como a AFM, apresenta-se como uma estratégia promissora, permitindo uma análise topográfica e química dos componentes do sensor (Félix, 2022).

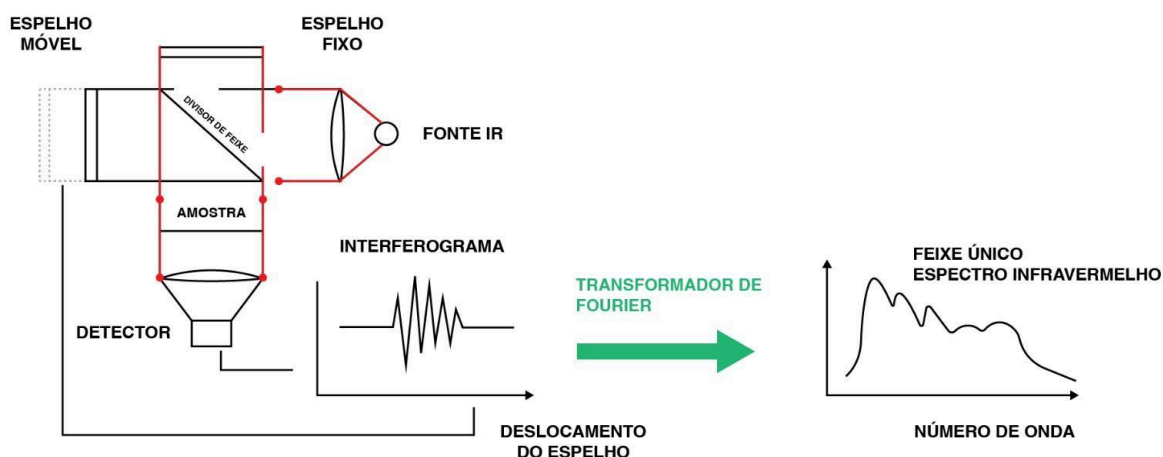
O princípio de funcionamento do FTIR é baseado na relação da radiação infravermelha com as ligações químicas presentes nas amostras, resultando em um espectro de absorção ou emissão que depende do estado físico da amostra (Abidi, 2021). Diante disso, o espectro resultante funciona como uma identificação molecular para cada amostra analisada, permitindo uma identificação específica de seus componentes. Após essa interação, emprega-se o cálculo matemático conhecido como Transformada de Fourier para converter os dados brutos do interferograma no espectro final (Magalhães; Goodfellow; Nunes, 2021).

O contato direto entre o material analisado e o cristal permite que a radiação infravermelha seja direcionada por um elemento óptico de alta refração, chamado IRE, o qual interage com a amostra por meio de uma onda evanescente (Abidi, 2021). O espectro IR gerado é dividido em três regiões principais: próxima ( $13000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ), média ( $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ) e distante (menos de  $400 \text{ cm}^{-1}$ ), sendo a presente entre  $1800 - 900 \text{ cm}^{-1}$  amplamente utilizada em estudos de biomoléculas, pois nela ocorrem bandas de absorção específicas (Magalhães; Goodfellow; Nunes, 2021).

Outrossim, o FTIR apresenta diferentes modos de amostragem que podem ser utilizados, os quais incluem transflexão, transmissão e reflexão total atenuada (ATR), abordagens que podem ser aplicadas em ensaios com células, tecidos e biofluidos, demonstrando a versatilidade da técnica (Abidi, 2021). Dessa forma, apesar dos métodos de transflexão e transmissão não serem destrutivos, eles necessitam de uma preparação prévia das amostras e apresentam uma relação sinal-ruído (SNR) baixa, enquanto o ATR-FTIR se destaca pelo fácil manuseio e

pela alta SNR (Blond et al., 2020). Uma ilustração dos componentes do equipamento de FTIR está apresentada na fig. 13.

**Figura 13:** Elementos de um equipamento de FTIR.

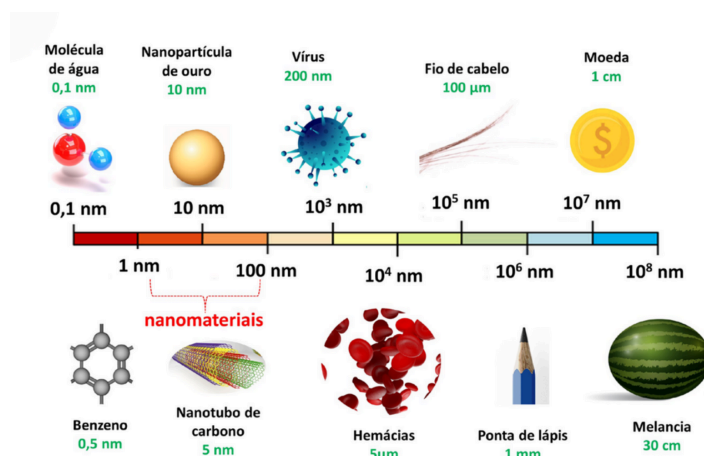


**Fonte:** Próprio autor, 2025.

### 3.8 NANOMATERIAIS

Nanomateriais são estruturas que possuem uma das suas dimensões na escala nanométrica (1-100 nm) e podem ser classificados também de acordo com a morfologia, estado e composição química, conforme a normativa ISO TS 27687 (2008). Dessa forma, a redução do tamanho dessas estruturas influencia diretamente nas suas propriedades químicas, elétricas, ópticas e mecânicas, tornando-as atrativas e únicas devido ao aumento da razão entre área da superfície e volume (Sanya et al., 2024). Como exemplo, a Fig.14 demonstra a análise comparativa de objetos comuns na escala nanométrica. Nesse contexto, a área responsável pela aplicação tecnológica desses nanomateriais é conhecida como nanotecnologia e o estudo das características deles é realizado pela nanociência, viabilizando a manipulação a nível atômico ou molecular para o desenvolvimento de novos dispositivos e materiais (Saleh, 2020).

**Figura 14:** Dimensões comparativas de objetos comuns na escala nanométrica.



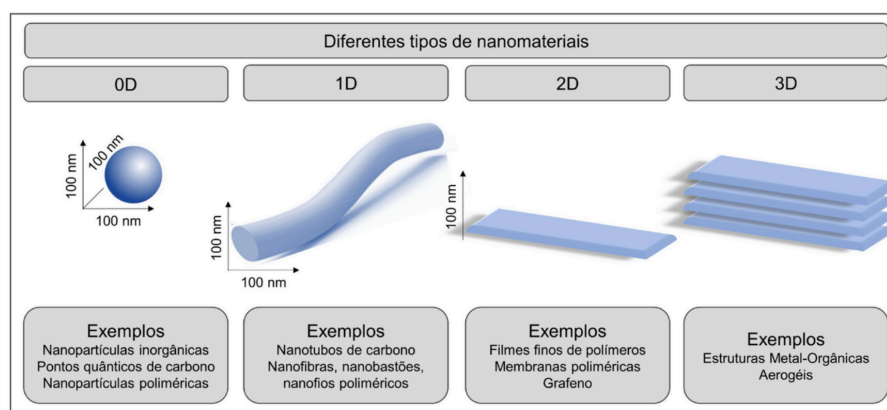
**Fonte:** Adaptado de Sanfelice; Pavinatto; Corrêa, 2021.

As características desses nanomateriais despontam como uma via interessante para uso em diversos campos, a saber, eletrônica, biomedicina e a engenharia de materiais (Saleh, 2020). No âmbito da biomedicina por exemplo, nanomateriais como os QDs e o GO vêm sendo empregados na construção de biossensores voltados para o diagnóstico, visando otimizar a performance desses sensores e possibilitar resultados mais rápidos, precisos e eficazes ao combinar as propriedades de cada um desses componentes, fomentando progressos notáveis na melhoria da saúde pública (Jeong et al., 2022; Singh et al., 2023).

### 3.8.1 Categorização conforme a dimensionalidade

De acordo com Sanfelice, Pavinatto e Corrêa (2022), os nanomateriais podem ser classificados de acordo o número de dimensões que se mantém dentro da escala nanométrica, a classificação está apresentada na Fig. 15, sendo essa categorização de suma importância, pois auxilia em uma melhor compreensão sobre suas propriedades e aplicações. Por exemplo, os nanomateriais de zero dimensão (0D), como os pontos quânticos, têm todas as suas medidas — altura, largura e profundidade — na escala dos nanômetros, o que os torna ideais para aplicações que exigem alta precisão em escala muito reduzida (Fechine, 2020).

**Figura 15:** Representação esquemática da classificação dos nanomateriais.



**Fonte:** Adaptado de Sanfelice; Pavinatto; Corrêa, 2022.

Já os nanomateriais de uma dimensão (1D), como os nanotubos de carbono e as nanofibras, possuem apenas uma dimensão maior que a nanoescala, o que lhes confere uma estrutura alongada e propriedades interessantes para condução elétrica e aplicações em sensores. Os nanomateriais bidimensionais (2D), por sua vez, têm duas dimensões fora da nanoescala, como é o caso dos filmes finos, que oferecem uma grande área superficial e são muito utilizados em revestimentos funcionais e dispositivos eletrônicos (Sanfelice; Pavinatto; Corrêa, 2022).

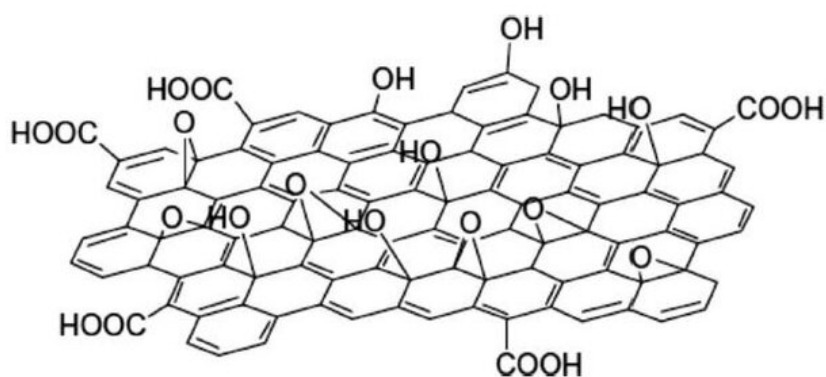
Por fim, os nanomateriais tridimensionais (3D) são formados pela união de diferentes tipos de estruturas nanométricas — como 0D, 1D e 2D — ou por estruturas porosas 3D (Sanfelice; Pavinatto; Corrêa, 2022). Apesar de atingirem tamanhos micro ou macroscópicos, esses materiais mantêm as propriedades típicas de suas nanoestruturas constituintes, sendo representados por dispersões de nanopartículas, filmes compostos por múltiplas camadas e outros (Fechine, 2020).

### 3.8.2 Óxido de grafeno e suas propriedades

Os nanomateriais à base de carbono se destacam, especialmente, no desenvolvimento de biossensores eletroquímicos devido às suas propriedades físico-químicas atrativas. Nesse sentido, entre esses materiais, o GO, se destaca por possibilitar o aumento na área superficial, atividade eletrocatalítica e rápida cinética de elétrons, tornando-o promissor para a construção de biodispositivos ao favorecer uma excelente detecção (Singh et al., 2023). O GO apresenta uma estrutura bidimensional derivado do grafeno, apresentada na Fig. 16, rica em grupos

oxigenados como hidroxilas, epóxis e carboxilas, conferindo uma maior dispersão em soluções aquosas e consequentemente uma facilidade na manipulação e modificação química (Amaral et al., 2022).

**Figura 16:** Ilustração da estrutura do óxido de grafeno, destacando exemplos de grupos funcionais que podem se ligar à sua superfície - OH: Hidroxila, COOH: Carboxila, C-O-C: Epóxi e C=O: Carbonila.



**Fonte:** Adaptado de Camargos; De Oliveira Semmer; Da Silva, 2017.

Outro aspecto importante é capacidade de funcionalização do GO com aminoácidos, como a L-cisteína, melhorando sua estabilidade química e aprimorando suas propriedades de sensibilidade, biocompatibilidade e seletividade quando integrado ao desenvolvimento de biossensores, por exemplo, permitindo o reconhecimento eficiente de diferentes analitos, favorecendo a aplicação desses dispositivos analíticos com excelente performance em diferentes áreas como biomédicas, ambientais e estruturais, atendendo as demandas e reforçando a multifuncionalidade da utilização do GO (Singh et al., 2023).

### 3.8.3 Quantum dots de Telureto de Cádmio

Os pontos quânticos (do inglês, “*Quantum dots*”) são nanocristais semicondutores, com tamanhos que variam entre 2 e 10 nanômetros e apresentam excelentes propriedades ópticas e eletrônicas, provenientes da carga que confinam em seu interior (Jeong et al., 2022). Além disso, apresentam emissão de fluorescência ajustável conforme o tamanho da partícula, tornando-os atrativos para utilização em bioimagem, proporcionando imagens com maior resolução; biossensores eletroquímicos devido às suas propriedades de aumento da condutividade elétrica e biocompatibilidade com outros nanomateriais; e dispositivos

eletrônicos, possibilitando materiais flexíveis e miniaturizados, além de um menor custo de energia e alta eficiência luminosa (Agarwal et al., 2023).

Os QDs podem ser sintetizados por diferentes processos como síntese coloidal, métodos hidrotérmicos e técnicas baseadas em microemulsões, sendo a escolha do processo de suma importância, pois influencia diretamente no tamanho, cristalinidade e estabilidade desses nanomateriais, fatores que determinam suas diversas propriedades e possíveis aplicações (Agarwal et al., 2023). Ademais, a forma de síntese também pode impactar a toxicidade e funcionalização da superfície dos QDs, sendo necessário o desenvolvimento contínuo de técnicas inovadoras de encapsulamento e modificação superficial que ampliem a segurança do uso desses nanomateriais.

Conforme discutido por Jeong et al. (2022), o CdTe, um quantum dots carboxilado com emissão de fluorescência amarela e representado na Fig. 17, tem sido amplamente explorado na construção de plataformas sensoras devido às suas propriedades atrativas para a integração desses sistemas, como amplificação do sinal eletroquímico, possibilidade de funcionalização e alta condutividade em sua área de superfície, permitindo uma detecção mais sensível do analito-alvo. Outrossim, os QDs de CdTe também se mostram promissores na aplicação em terapias fotodinâmicas e sistemas de entrega de fármacos, graças à sua biocompatibilidade e à capacidade de serem direcionados a tecidos específicos (Elmizadeh; Bardajee; Moaddeli, 2023).

**Figura 17:** Emissão de cores por pontos quânticos em função do seu tamanho.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

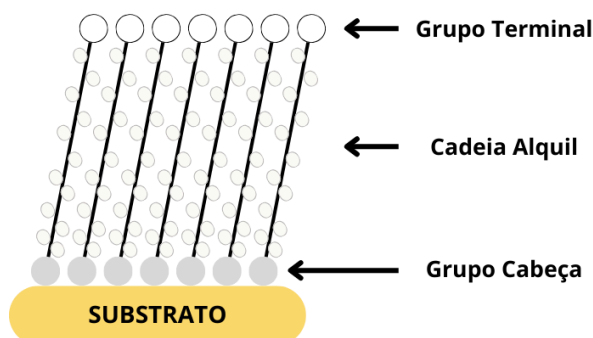
### 3.9 MODIFICAÇÃO DO ELETRODO

#### 3.9.1 Monocamadas automontadas (MAM)

As monocamadas automontadas (MAM) são sistemas moleculares organizados sobre diferentes superfícies, formadas por moléculas com grupos funcionais específicos que interagem por meio da adsorção de moléculas orgânicas nas fases líquida ou gasosa, resultando na formação de filmes de compostos químicos em uma ampla variedade de substratos (Andradade et al., 2024). Nesse sentido, essa técnica permite a modificação controlada de superfícies, possibilitando a criação de interfaces funcionais com alta precisão molecular e o acoplamento eficiente de elementos de biorreconhecimento em biossensores, por exemplo. Além disso, as MAM destacam-se pelas suas principais vantagens: simplicidade operacional e baixo custo (Singh; Kaur; Comini, 2020).

A obtenção de filmes por monocamadas podem ocorrer por dois meios principais: o primeiro utiliza a técnica de Langmuir-Blodgett, onde o filme pré-montado é transferido de uma interface ar-água para um substrato sólido, já o segundo meio se dá pela montagem espontânea de uma substância anfifílica e um substrato, através da imersão (SINGH; KAUR; COMINI, 2020). A MAM apresenta uma estrutura dividida em três regiões: o grupo cabeça que é responsável pela fixação ao substrato; a cadeia hidrocarbonada, que promove estabilidade por meio das forças de Van der Waals; e o grupo terminal, funcionalizado de acordo com a aplicação desejada. Uma esquematização da sua estrutura está representada na fig. 18.

**Figura 18:** Esquematização da estrutura de uma MAM em um eletrodo de ouro.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

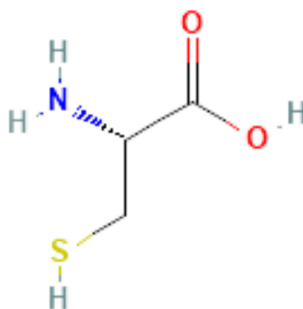
Essa organização molecular confere às MAM alta estabilidade, afinidade entre moléculas funcionalizadas, flexibilidade, reprodutibilidade e controle na espessura dos filmes, sendo utilizadas no desenvolvimento de biossensores nanoestruturados e na detecção de diferentes analitos, contribuindo para um diagnóstico rápido e eficiente (Junior et al., 2020). Superfícies metálicas como o ouro são amplamente utilizadas na formação de MAM devido à sua excelente biocompatibilidade, resistência à oxidação (material inerte) e a forte afinidade com grupos tiol ( $-SH$ ), favorecendo a formação de filmes organizados e estáveis, permitindo a integração de nanomateriais e biomoléculas, sem comprometer a integridade da resposta eletroquímica (Dibo, 2022).

### 3.9.2 Cisteína

A cisteína (Cys) tem se destacado na funcionalização de superfícies metálicas, principalmente em eletrodos de ouro, sendo utilizada na formação de monocamadas automontadas devido à alta afinidade do grupamento tiol ( $-SH$ ) por essas superfícies, o que resulta em ligações covalentes estáveis após a desprotonação do enxofre e possibilita a formação de camadas organizadas e estáveis (Franco et al., 2024). Além da interação pelo grupamento tiol, a Cys também pode estabelecer ligações secundárias através dos grupos funcionais amina e carboxila, ampliando as possibilidades de integração sobre superfícies metálicas e suas aplicações (Olgaç; Sahin; Liv, 2022).

A Cys é composta por um grupo amina primário ( $-NH_2$ ), um grupo carboxila ( $-COOH$ ) e uma cadeia lateral contendo um grupamento tiol ( $-SH$ ), todos ligados a um carbono central quiral, o que contribui para a sua versatilidade em aplicações e funcionalização, conforme representado na fig. 19 (Tabut; Stishenko; Calatayud, 2025). Entre as principais propriedades físico-químicas da Cys, destacam-se os valores de  $pK_a$  (1.71, 8.33 e 10.78), que comprovam sua capacidade de doar ou receber prótons em diferentes condições de pH, resultando em maior estabilidade e funcionalidade de sistemas sensores. Ainda, a cadeia lateral apolar e a presença do grupamento tiol conferem à Cys um caráter hidrofóbico, favorecendo interações específicas com biomoléculas e íons metálicos (Olgaç; Sahin; Liv, 2022).

**Figura 19:** Esquemática da estrutura da cisteína.



**Fonte:** PubChem

No contexto de desenvolvimento de biodispositivos eletroquímicos, compreende-se que a cisteína apresenta características favoráveis que facilitam a formação de monocamadas automontadas sobre diferentes eletrodos. Essa organização molecular resulta em interfaces funcionais adequadas para a imobilização de biomoléculas e detecção de diferentes analitos, devido à sensibilidade e seletividade dessas plataformas (Tabut; Stishenko; Calatayud, 2025). Além disso, a fácil funcionalização química da Cys, bem como sua integração com outros nanomateriais, contribui para a sua adaptação a diferentes sistemas de detecção, ampliando seu uso em aplicações de diagnóstico e monitoramento, tanto em contextos ambientais quanto clínicos (Singh; Kar, 2023).

### 3.10 PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS

O aumento da resistência antimicrobiana aos antibióticos convencionais representa um dos maiores desafios da saúde pública global, uma vez que esses fármacos estão se tornando progressivamente ineficazes no tratamento de infecções. Com a eficácia comprometida, o manejo de doenças anteriormente consideradas simples tornou-se motivo de preocupação, por representarem ameaças graves, exigirem terapias prolongadas, complexas e de alto custo, nem sempre bem-sucedidas, além de contribuírem para o aumento dos índices de morbidade e mortalidade (Da Silva Machado, 2021).

Portanto, é essencial o incentivo contínuo à pesquisa por novas moléculas que apresentem potencial antimicrobiano e capacidade de combater esses microrganismos multirresistentes, considerando a contribuição na diminuição dos

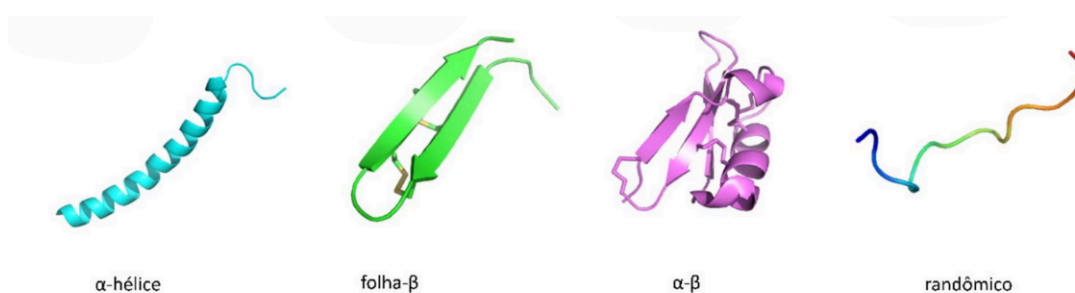
impactos negativos ocasionados por esses patógenos na saúde pública. Nesse sentido, os Peptídeos Antimicrobianos (PAMs) são compostos por sequências curtas de aminoácidos, variando de 10 a 50 resíduos, e destacam-se como uma excelente alternativa devido ao seu amplo espectro de ação, à sua ampla atividade biológica, diferentes cargas de acordo com o pH da solução em que se encontram e estrutura anfipática que favorece a interação com as membranas dos microrganismos (Oliveira et al., 2020).

Outrossim, os PAMs apresentam um papel crucial na imunidade inata dos diferentes grupos em que têm sido identificados, como animais, fungos, plantas e outros, podendo também ser sintetizados em laboratório, atuando como barreiras moleculares contra infecções (Pardoux et al., 2020). Ainda, a diversidade estrutural e funcional desses peptídeos amplia as possibilidades de estudos e aplicação nos âmbitos terapêutico e biotecnológico. Nesse contexto, no desenvolvimento de biossensores, esses peptídeos vêm sendo explorados como elementos de biorreconhecimento, considerando sua baixa toxicidade e alta seletividade molecular, resultando em uma eficiente detecção microbiológica (Boyer et al., 2021).

### 3.10.1 Classificação estrutural e tipos de peptídeos antimicrobianos

Os PAMs podem ser agrupados, de acordo com sua estrutura, em quatro grupos:  $\alpha$ -hélice, folha- $\beta$ , estrutura em loop e peptídeos estendidos, sendo alguns representados na figura 20. Nesse contexto, cada conformação tridimensional confere características físico-químicas específicas, como carga, hidrofobicidade, estabilidade e outras propriedades que controlam sua afinidade e seu potencial de ação com relação às moléculas-alvo (Souza e Silva et al., 2022).

**Figura 20:** Principais características estruturais de peptídeos antimicrobianos.

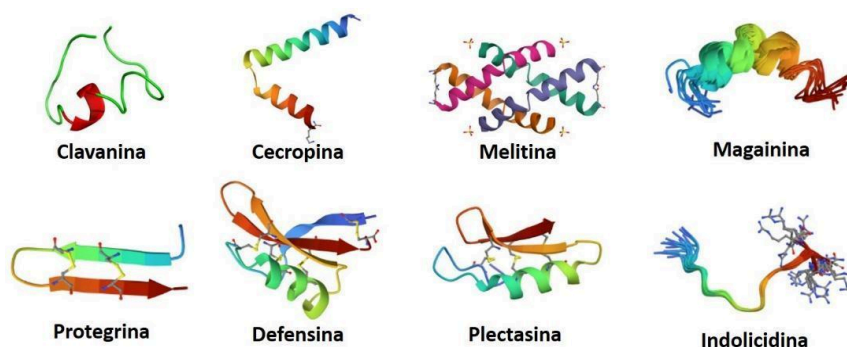


**Fonte:** Adaptado de Lima, 2023.

Os PAMs com a estrutura do tipo  $\alpha$ -hélice, como magaininas, cecropinas e clavaninas, apresentam como principal mecanismo de ação a sua inserção em membranas lipídicas, promovendo sua desestabilização. Em contrapartida, os estruturados em folha- $\beta$ , como defensinas e protegrinas, destacam-se por sua rigidez estrutural devido às pontes dissulfeto, o que os torna mais estáveis em ambientes aquosos. Nesse sentido, esses peptídeos podem romper membranas bacterianas por meio da formação de poros ou outros mecanismos de ação (Zhang e Yang, 2022). Uma esquematização dos principais peptídeos antimicrobianos descritos na literatura é apresentada na fig. 21.

Adicionalmente, os PAMs em loop, como a tanatina, e os do tipo estendidos, como a estatina salivar, também apresentam propriedades antimicrobianas. Diante disso, a tanatina se destaca por sua estabilidade estrutural conferida pelas pontes dissulfeto, que mantém a sua conformação, tornando-a resistente à degradação enzimática e eficaz na desnaturação das membranas bacterianas. Por outro lado, os estendidos, embora ricos em resíduos de prolina, arginina, histidina e triptofano, não apresentam um mecanismo de ação bem definido, considerando que muitos desses do grupo demonstram baixa atividade em membranas (Zhang et al., 2021).

**Figura 21:** Principais peptídeos antimicrobianos descritos na literatura.

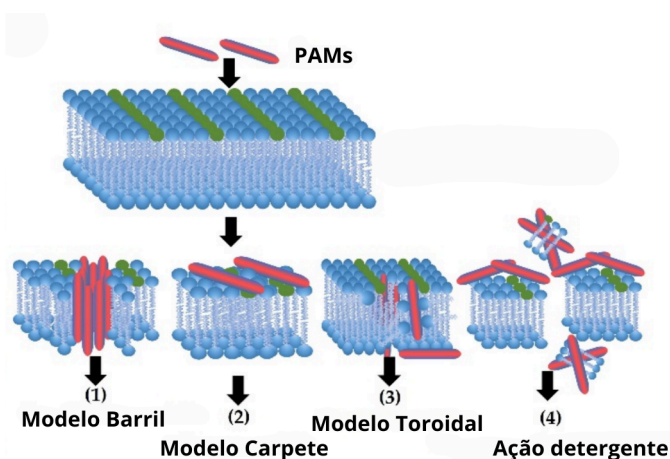


**Fonte:** PDB (Protein Data Bank, <https://www.rcsb.org/>).

Os PAMs interagem com membranas biológicas por meio de forças eletrostáticas entre suas cargas positivas e os fosfolipídios aniônicos das membranas microbianas (Souza e Silva et al., 2022). Após essa atração inicial, os PAMs se inserem na bicamada lipídica, desorganizando sua estrutura. Esse processo pode formar poros, levar à lise celular ou comprometer a integridade da

membrana. Os mecanismos mais comuns são os modelos de “tapete”, “barril-cunha” e “carpete”, representados na figura 22. Todos resultam em permeabilização da membrana e morte celular, onde a seletividade decorre da diferença de composição entre membranas microbianas e de células humanas (Huan et al., 2020).

**Figura 22:** Mecanismos de ação dos PAM nas membranas.



**Fonte:** Adaptado de Zhang e Yang, 2022.

### 3.10.2 Mecanismos de interação dos peptídeos antimicrobianos com membranas biológicas

Compreende-se que a eficácia da interação dos peptídeos antimicrobianos com fosfolipídios está diretamente relacionada às suas propriedades anfipáticas, considerando que elas possibilitam a sua associação com as membranas biológicas dos microrganismos. Portanto, sua atividade antimicrobiana é influenciada por diversos fatores estruturais independentes, como a estrutura tridimensional, a hidrofobicidade, a carga, a anfipaticidade e o ângulo polar (Huan et al., 2020).

#### 3.10.2.1 Hidrofobicidade

A hidrofobicidade está diretamente relacionada à afinidade dos peptídeos pelas regiões lipídicas das membranas celulares. Um nível balanceado de hidrofobicidade favorece a inserção dos PAMs na bicamada lipídica, permitindo a penetração e o subsequente desarranjo estrutural das membranas bacterianas. Por outro lado, níveis excessivos de hidrofobicidade podem resultar em citotoxicidade

para células do hospedeiro e comprometer a seletividade dos peptídeos (Tan; Fu; Ma, 2021).

### *3.10.2.2 Carga*

Grande parte dos peptídeos antimicrobianos (PAMs) catiônicos apresenta uma carga positiva que varia entre +2 e +9, determinada pelos aminoácidos presentes na ligação peptídica é essencial para que ocorram interações eletrostáticas, através da diferença de carga entre o PAM e a membrana fosfolipídica dos microrganismos, como bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Além disso, essa carga positiva facilita o reconhecimento seletivo desses patógenos, diferenciando-os das células do hospedeiro e contribuindo para a especificidade da ação antimicrobiana (Souza e Silva et al., 2022).

### *3.10.2.3 Anfipaticidade*

A anfipaticidade, por sua vez, é definida pela presença de regiões simultaneamente hidrofílicas e hidrofóbicas no mesmo peptídeo, uma característica que facilita a formação de estruturas em hélice ou folhas  $\beta$  que interagem com as membranas celulares. Essa propriedade permite que os PAMs se organizem em estruturas que desestruturam as bicamadas lipídicas, provocando a formação de poros e subsequente lise celular. Dessa forma, a estrutura mais comum é  $\alpha$ -hélice anfipática, considerando que desempenha um papel importante na interação com membranas lipídicas, facilitando a inserção do PAM nessas estruturas. Além disso, a anfipaticidade pode ser quantificada por meio da soma vetorial das hidrofobicidades dos aminoácidos individuais organizados em uma hélice ideal, sendo importante para determinar a porcentagem de hidrofobicidade desses PAMs (Huan et al., 2020).

### *3.10.2.4 Ângulo Polar*

O ângulo polar representa a relação geométrica entre as regiões polares e apolares da molécula peptídica, sendo um fator determinante na forma como o peptídeo se insere e se orienta na membrana, contribuindo para a eficácia do mecanismo de ação dos PAMs e possibilitando o rompimento da bicamada lipídica. Nesse sentido, alterações no ângulo polar impactam diretamente na afinidade do

peptídeo pelos diferentes tipos de membranas, influenciando sua seletividade por células-alvo e sua toxicidade em células hospedeiras (Huan et al., 2020).

### *3.10.3 Aplicações dos Peptídeos Antimicrobianos*

Os PAMs são amplamente utilizados em diferentes áreas devido, principalmente, ao seu potencial de combater bactérias patogênicas, mas também por causa das suas atividades antitumorais, antifúngicas e antiparasitárias, sendo cruciais para o melhor manejo das doenças relacionadas (Oliveira et al., 2020). No âmbito clínico, os PAMs são utilizados no combate à disseminação de microrganismos resistentes e para o melhor tratamento das infecções relacionadas a esses agentes, contribuindo para melhorias na saúde pública e na qualidade de vida dos pacientes (Da Silva Machado, 2021).

Além disso, alguns PAMs vêm apresentando atividade antitumoral, possibilitando a identificação e destruição específica de células tumorais com menor toxicidade do que os métodos convencionais utilizados no tratamento para o câncer, como a quimioterapia (Chu et al., 2015). Outrossim, na indústria alimentícia, esses peptídeos são responsáveis pela inibição do crescimento bacteriano, prolongar a durabilidade dos produtos e reduzir o uso de corantes artificiais, desenvolvendo produtos mais seguros e sustentáveis (Anumudu, et al., 2021).

Enquanto que na indústria farmacêutica, os PAMs representam uma excelente alternativa para o desenvolvimento de novas classes de antibióticos que sejam eficientes contra bactérias multirresistentes, mitigando os desafios causados pela resistência antimicrobiana (Pardoux et al., 2020). Ainda, os PAMs podem ser aplicados no desenvolvimento de biossensores como elementos de biorreconhecimento biológico, contribuindo para a detecção microbiológica, possibilitando diagnósticos mais rápidos e um monitoramento ambiental de patógenos (Malvano; Pilloton; Albanese, 2020).

## **3.11 CATELICIDINAS**

As catelicidinas são codificadas pelo gene CAMP e formam uma família de peptídeos antimicrobianos amplamente utilizados, que são encontrados em uma variedade de organismos vertebrados e distribuídos em vários tecidos e fluidos corporais diferentes (Oliveira Junior, 2018). Esses PAMs desempenham um papel

crucial na imunidade inata de muitos organismos, ao exercer funções antimicrobianas e imunomoduladoras, além de agir como substâncias quimiotáticas, cicratizantes e anti-inflamatórias (Oliveira et al., 2020).

Os peptídeos derivados das catelicidinas apresentam uma pré-região comum e conservada na porção N-terminal, composta pela sequência peptídica de sinal e pelo domínio catelina. Adicionalmente, também apresentam sequências peptídicas maduras que são liberadas após clivagem por proteases e ficam localizadas na região C-terminal (Zhao et al., 2008). Essas sequências peptídicas podem apresentar variedade de comprimento e sequência, podendo assumir diferentes estruturas com amplo espectro de atividade contra muitos tipos de microrganismos, como bactérias, fungos e protozoários (Pardoux et al., 2020). Portanto, devido às suas excelentes propriedades, as catelicidinas estão sendo utilizadas como precursoras de outros peptídeos antimicrobianos com maior estabilidade e seletividade.

#### 3.11.1 *Batroxicidina: Propriedades e estrutura*

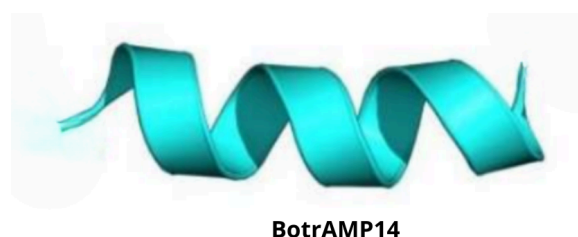
A batroxicidina (15KKRVKKFFRKPRVIGVTFPF34) é um peptídeo de origem animal que foi isolado do veneno de serpentes do gênero *Bothrops*, caracterizando-se pelo seu potencial de ação contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (Lima, 2023). Sua natureza catiônica (carga positiva) e estrutura anfipática são características favoráveis para interação com membranas celulares, resultando na desestruturação da bicamada lipídica por meio de uma conformação  $\alpha$ -hélice que facilita a sua inserção (Oliveira et al., 2020). Além disso, a batroxicidina também apresenta baixa toxicidade em células humanas, apresentando-se como um potencial agente terapêutico para o desenvolvimento de novos fármacos derivados ou modificados de sua sequência aminoacídica específica (Oliveira Junior, 2018).

#### 3.11.2 *BotrAMP14*

O BotrAMP14 é um peptídeo sintético desenvolvido como análogo da batroxicidina, visando melhorar suas propriedades antimicrobianas e reduzir efeitos citotóxicos (Oliveira et al., 2020). Composto por 14 aminoácidos, o BotrAMP14

apresenta estrutura helicoidal, catiônica e anfipática, características essenciais para sua interação com membranas bacterianas, conforme representado na figura 23.

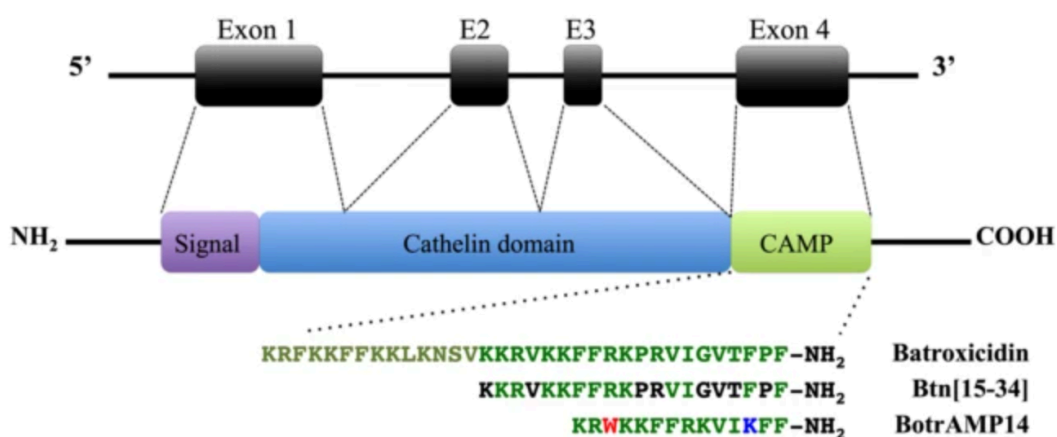
**Figura 23:** Estrutura tridimensional do BotrAMP14.



**Fonte:** Adaptado de Júnior, 2018.

Desse modo, a sua estrutura foi modificada para manter a eficácia da batroxidina, mas com maior estabilidade e seletividade, baseando-se na substituição e adição de aminoácidos, representado na Fig. 24 (Oliveira et al., 2020). Além disso, o peptídeo apresenta atividade contra bactérias multirresistentes e baixa toxicidade em células humanas, sendo considerado promissor como agente terapêutico alternativo (Lima, 2023).

**Figura 24:** Peptídeo BotrAMP14 análogo à batroxidina.



**Fonte:** Adaptado de Oliveira, 2020.

Ao interagir com membranas, o BotrAMP14 assume uma conformação  $\alpha$ -hélice, facilitando sua inserção na bicamada fosfolipídica e permitindo interações eficientes com a estrutura da membrana (Lima, 2023). Essa característica estrutural torna-o uma alternativa promissora como elemento de biorreconhecimento em

biossensores. Nesse sentido, sua estrutura  $\alpha$ -helicoidal e sua carga positiva favorecem a interação eletrostática com as membranas bacterianas de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas — especialmente com as Gram-negativas, cuja a superfície é carregada negativamente, tornando-a aniônica (Oliveira et al, 2020). Além disso, na literatura, o BotrAMP14 também pode atuar como elemento de biorreconhecimento para fungos quando aplicado em biossensores (Lima, 2023).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAIS

O ferricianeto ( $K_3[Fe(CN)_6]$ ) e o ferrocianeto de potássio ( $K_4[Fe(CN)_6]$ ) foram obtidos da VETEC (Brasil). N-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida (EDC), N-hidroxisuccinimida (NHS), quantum dots (QD) de Telureto de Cádmio ( $CdTe-COOH$ ), Cisteína (Cys) e Óxido de grafeno (GO) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). O processo de síntese do peptídeo BotrAMP14 ( $KRWKKFFRKVIKFF-NH_2$ ) baseou-se na técnica N-9-fluorenilmetiloxycarbonil (Fmoc), com 95% de pureza, pela *Peptide 2.0* (EUA) e purificado por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Todos os reagentes químicos e solventes foram de grau analítico e utilizados como recebidos, sem purificação adicional. A água ultrapura utilizada foi obtida a partir de um sistema de purificação Milli-Q (Billerica, EUA).

### 4.2 PREPARO DAS BACTÉRIAS SELECIONADAS

As cepas bacterianas utilizadas foram cedidas pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). As cepas foram cultivadas em meio ágar nutriente. Após o semeio, a incubação ocorreu a  $35^\circ C \pm 2^\circ C$  durante 24h. Em seguida, duas colônias isoladas foram coletadas, lavadas com solução salina ( $NaCl$  0.9 g/L), centrifugadas, suspensas em tampão fosfato (PBS) pH 7,0 e analisadas pela técnica MALDI-ToF-MS.

As suspensões bacterianas de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* foram avaliadas imediatamente em estudos eletroquímicos. Diferentes concentrações ( $10^1$ - $10^5$  unidades formadoras de colônia UFC/mL) foram preparadas, sendo obtidas segundo a escala de McFarland por meio de

espectrofotometria UV-VIS (Genesys 10 S, Thermo Scientific) com uma densidade óptica em 600 nm ( $OD_{600}$ ) e absorbância ajustada para 0,08 a 0,1.

#### 4.3 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS FUNCIONALIZADAS

A solução de Cys/GO foi preparada com base no protocolo descrito por Jeong et al. (2022), apresentando diferenças relacionadas à concentração de cisteína, concentração de óxido de grafeno, tempo de ultrasonicação e condições de armazenamento. Especificamente, a concentração de cisteína foi ajustada para 35 mM, enquanto a de óxido de grafeno foi padronizada em 10  $\mu\text{g/mL}$ , com o objetivo de melhorar a funcionalização e dispersão do material.

O tempo de ultrasonicação estabelecido foi de 1 hora para garantir uma mistura homogênea e eficiente. Por fim, a solução foi armazenada a  $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , preservando sua estabilidade até o momento do uso. Essas modificações foram implementadas para otimizar a funcionalização do óxido de grafeno e garantir sua eficácia na aplicação pretendida.

#### 4.4 CONSTRUÇÃO DA PLATAFORMA SENSORA

Inicialmente o eletrodo de trabalho foi submetido a um processo de limpeza envolvendo um polimento com um feltro contendo alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), seguido por outro polimento com lixa porosa e, por fim, um novo polimento com lixa suave contendo  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , realizando movimentos circulares de quarenta ciclos em cada etapa de polimento. Em seguida, foi realizada uma varredura por voltametria cíclica (VC), até a obtenção de um voltamograma com resposta padrão para o eletrodo de ouro limpo (Da Silva Junior et al., 2022).

Posteriormente, o eletrodo foi imerso em 10  $\mu\text{L}$  da solução de Cys/GO, onde foi realizada a eletrodeposição por VC, no intervalo de potencial entre 0 V e +1,5 V (vs. Ag/AgCl) por 10 ciclos, com uma taxa de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , resultando na formação de uma monocamada automontada sobre a superfície do eletrodo (Franco et al., 2024; Xiao et al., 2017).

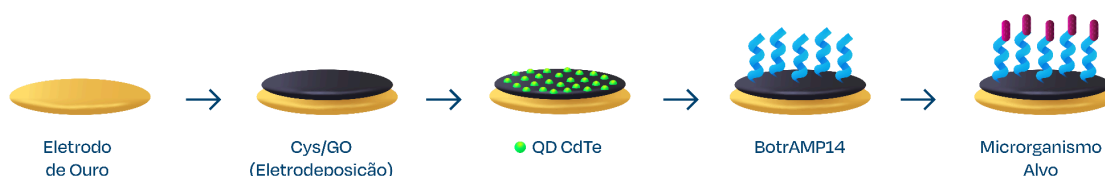
Em seguida, foram adicionados 2  $\mu\text{L}$  de QD CdTe, permanecendo em contato com a superfície por 5 minutos. Após essa etapa, os grupos carboxílicos livres (COOH) do QD CdTe foram ativados pelos agentes de acoplamento EDC/NHS, utilizando concentrações de 0,4 M e 0,1 M, respectivamente, na proporção 1:1 (v:v).

Assim, 2  $\mu\text{L}$  da solução foram adsorvidos sobre a monocamada de Cys/GO, permanecendo em incubação por 10 minutos.

O peptídeo BotrAMP14 (500  $\mu\text{M}$ ) foi adsorvido na superfície do eletrodo por meio da pipetagem de 2  $\mu\text{L}$  da solução, sendo incubado à temperatura ambiente por 20 minutos para permitir a interação adequada com a superfície funcionalizada. Para validação, a plataforma sensora Cys/GO/QD\_BotrAMP14 construída foi submetida a testes frente a diferentes cepas bacterianas, visando avaliar sua eficiência na detecção dos microrganismos-alvo. As etapas de construção do biossensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14 estão representadas na figura 25.

Foram analisadas as seguintes espécies bacterianas: *K. pneumoniae* (ATCC 13883), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) e *S. aureus* (ATCC 25923) em diferentes concentrações ( $10^1 - 10^5$  UFC/mL). O eletrodo de trabalho modificado foi submetido a um período de imersão nas concentrações de 5 minutos antes da análise por VC e EIE.

**Figura 25:** Esquematisação da plataforma sensora Cys/GO/QD\_BotrAMP14.



**Fonte:** Próprio autor, 2024.

#### 4.5 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA

As medidas de VC e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) foram realizadas por meio de um potenciostato/galvanostato Autolab (Metrohm, Holanda) interfaceado pelo software NOVA 1.11. Uma célula eletroquímica foi utilizada, onde uma solução 10mM de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  (1:1) preparada em tampão fosfato (PBS, pH 7,4) foi utilizada como sonda redox. Três eletrodos foram imersos na sonda redox, dentre eles o eletrodo de trabalho com superfície de ouro (ET) onde foi montada a plataforma biossensora, fio de platina como contra-eletrodo (CE) e Ag/AgCl (saturado com KCl) como eletrodo de referência (ER).

A VC foi realizada com um potencial entre 0,7 e -0,2 V a uma taxa de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>. Os espectros de impedância foram registrados a uma faixa de frequência de 100 mHz a 100 kHz em uma amplitude do potencial de onda senoidal de 10 mV. O software OriginPro9 foi utilizado na montagem e análise dos voltamogramas e gráficos de Nyquist (referentes aos experimentos conduzidos pela técnica de EIE).

#### 4.6 CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi realizada na região IR média (500 cm<sup>-1</sup> a 4000 cm<sup>-1</sup>) com resolução de 2 cm<sup>-1</sup>. Foi utilizado um espectrômetro FTIR Agilent Cary 630 (Agilent Technologies, Rowville, Austrália), equipado com acessório de reflexão total atenuada (ATR) com cristal de diamante, sendo a amostra um eletrodo de ouro com a superfície modificada pela eletrodeposição da solução Cys/GO.

### 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.1 PLATAFORMA SENSORA CYS/GO/QD\_BotrAMP14

A imobilização do peptídeo BotrAMP14 foi realizada por meio da modificação da superfície de ouro BGE (do inglês *Bare Gold Electrode*) do eletrodo de trabalho, com a formação de uma monocamada automontada de Cisteína e Óxido de Grafeno (Cys/GO). A combinação desse sistema com pontos quânticos (QD) de telureto de cádmio (CdTe) resultou na formação de um nanocomplexo Óxido de Grafeno/Quantum dots (GO/QD). Esse processo viabilizou a adsorção eficiente do elemento de bioreconhecimento BotrAMP14.

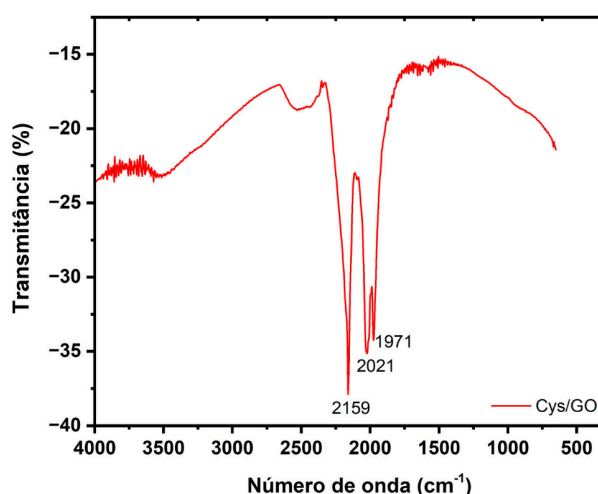
#### 5.2 ANÁLISE ESTRUTURAL DO BIOSSENSOR

##### 5.2.1 *Análise por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)*

As análises foram feitas na faixa do infravermelho médio (4.000 a 500 cm<sup>-1</sup>) para identificar os grupos funcionais presentes na solução Cisteína/Óxido de grafeno (Cys/GO). A Fig.26 apresenta o espectro de FTIR-ATR obtido. No espectro, observa-se uma banda de absorção entre 3000-3500 cm<sup>-1</sup>, que está relacionada ao

estiramento da ligação O-H, indicando a possível presença de grupos hidroxila que podem ser provenientes do GO e da molécula de água liberada na reação de condensação durante a deposição eletroquímica da solução (Zurnansyah et al., 2024; Jeong et al., 2022). Além disso, os picos entre 1971 e 2021  $\text{cm}^{-1}$  podem estar relacionados à presença de grupos carbonila (C=O), característicos tanto do GO quanto da Cys (Gharagulyan et al., 2023). Outro pico notável é observado em 2159  $\text{cm}^{-1}$ , podendo ser associado à vibração do grupo tiol (SH) presente na Cys (Calvillo et al., 2022). Dessa forma, a análise do espectro confirma a presença dos grupos funcionais O-H, C=O e SH, destacando a funcionalização do GO pela Cys e suas interações.

**Figura 26:** Espectro FTIR-ATR da solução de Cys/GO.

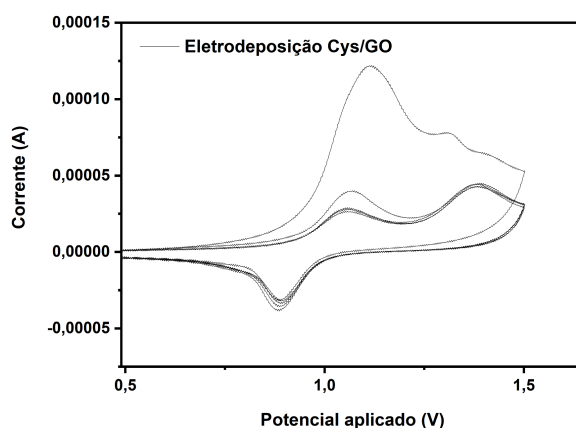


**Fonte:** Próprio autor, 2025.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DA PLATAFORMA SENSORA Cys/GO/QD\_BotrAMP14.

O voltamograma resultante do processo de eletrodeposição de Cys/GO é apresentado na Figura 27. Durante a varredura inicial, observaram-se processos redox característicos, com um pico anódico em aproximadamente +1,5 V e um pico catódico na varredura reversa, evidenciando a interação eletroquímica dos grupos funcionais do GO e da Cys. Com o avanço dos ciclos, as respostas de corrente aumentaram progressivamente, indicando o crescimento sucessivo do filme eletrodepositado na superfície do eletrodo (Xiao et al., 2017).

**Figura 27:** Voltamograma resultante do processo de eletrodeposição de Cys/GO.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

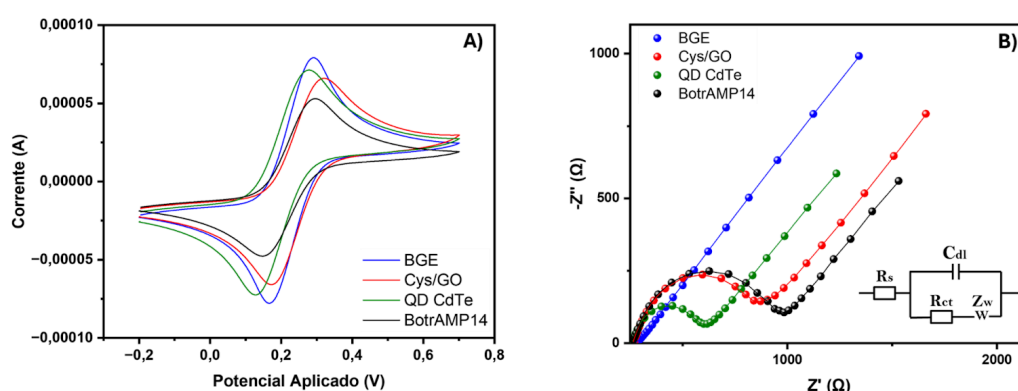
A deposição eletroquímica promoveu a formação de ligações covalentes entre os grupos amina da Cys e carboxila do GO por meio de reações de acoplamento amida. Esse processo ocorre através de uma reação de condensação, na qual o grupo carboxila ( $-\text{COOH}$ ) do GO reage com o grupo amina ( $-\text{NH}_2$ ) da Cys, resultando na formação de uma ligação amídica ( $-\text{CO-NH-}$ ) com liberação de uma molécula de água (Monteiro et al., 2019).

Esse acoplamento pode ser facilitado por agentes de ativação, como EDC e NHS, que convertem o grupo carboxila em um intermediário altamente reativo, favorecendo a formação de ligações covalentes. Essas ligações possibilitam uma maior estabilidade da monocamada ao longo de todo o processo de caracterização das etapas de construção do sensor e da interação com os analitos devido à afinidade do grupo tiol ( $-\text{SH}$ ) da Cys por superfícies metálicas e a biocompatibilidade com outros nanomateriais, como GO (Franco et al., 2024; Calvillo et al., 2022).

Além disso, interações eletrostáticas e pontes de hidrogênio entre os componentes presentes no sistema contribuem para a estabilidade do material depositado, garantindo melhor adesão e organização da monocamada na superfície do eletrodo. Esses efeitos resultaram em uma monocamada automontada, homogênea e bem aderida ao ET, proporcionando uma interface favorável para interações bioeletroquímicas (Jeong et al., 2022).

As análises eletroquímicas foram realizadas utilizando VC com  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  como sonda redox para caracterizar as etapas de modificação da superfície do eletrodo na construção do biossensor. A análise por VC mostrou que o eletrodo BGE apresentou um comportamento reversível da sonda redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ , com picos anódico e catódico simétricos e  $\Delta E_p$  de 59 mV, indicando uma transferência de elétron eficiente. Nesse sentido, a alta corrente de pico anódica de 7,99 A, observada no voltamograma azul da Figura 28A, indica uma superfície condutora que facilita a transferência de elétrons e acelera as reações redox.

**Figura 28:** Voltamograma cíclico **(A)** e diagrama de Nyquist referentes às etapas de construção do biossensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14. **(B)**. Inserção: Circuito equivalente de Randles modificado.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Após a eletrodeposição da solução Cys/GO, houve uma redução na corrente máxima para 6,48 A, conforme indicado no voltamograma vermelho da Fig. 28A. Essa diminuição na corrente é atribuída à modificação da superfície do eletrodo de trabalho, onde o filme de Cys/GO dificulta a transferência de elétrons entre a sonda redox e o eletrodo (Singh; Kar, 2023).

A adição de pontos quânticos de CdTe melhorou a condutividade do sensor, elevando a resposta voltamétrica para 7,05 A (voltamograma verde da Figura 28A). Esse resultado está de acordo com o observado por Jeong et al., 2022, onde os pontos quânticos de CdTe podem atuar como mediadores de transferência de elétrons, facilitando a troca de elétrons entre a sonda redox e o eletrodo.

A ligação do BotrAMP14 ao complexo Cys/GO/QD ocorreu devido ao uso prévio do EDC:NHS, por meio da geração de um éster intermediário ativo, desenvolvendo uma ligação amida e a imobilização do peptídeo no eletrodo de ouro previamente modificado, resultando em nova redução da corrente para 6,67 A (voltamograma preto) (Majhi; Arora; Mishra, 2019).

As análises impedimétricas, representadas pelos diagramas de Nyquist (Fig. 28B), evidenciam o aumento progressivo da resistência à transferência de carga ( $R_{ct}$ ) ao longo das modificações na superfície. O eletrodo limpo apresentou um  $R_{ct}$  inicial de 11,6  $\Omega$  (semicírculo azul), indicando baixa resistividade no sistema. A eletrodeposição de Cys/GO resultou em um aumento no  $R_{ct}$  para 478  $\Omega$  (semicírculo vermelho), evidenciando a formação da monocamada adsorvida na superfície do eletrodo, que atua como barreira na transferência de elétrons na interface com a sonda redox.

A adição dos QDs CdTe reduziu a resistência à transferência de carga ( $R_{ct}$  = 295  $\Omega$ ), conforme apresentado no semicírculo verde na Fig 28B. Esse efeito se deve à capacidade dos pontos quânticos de CdTe de facilitar a coleta e o transporte de elétrons, melhorando a condutividade da interface (Jeong et al., 2022). Por fim, a imobilização do BotrAMP14 resultou em um aumento significativo da resistência interfacial ( $R_{ct}$  = 686  $\Omega$ ), conforme indicado na Fig 28B. Esse aumento confirma o acoplamento do peptídeo à superfície do eletrodo, atribuído às interações específicas entre o BotrAMP14 e os sítios ativos do eletrodo (Avelino et al., 2021).

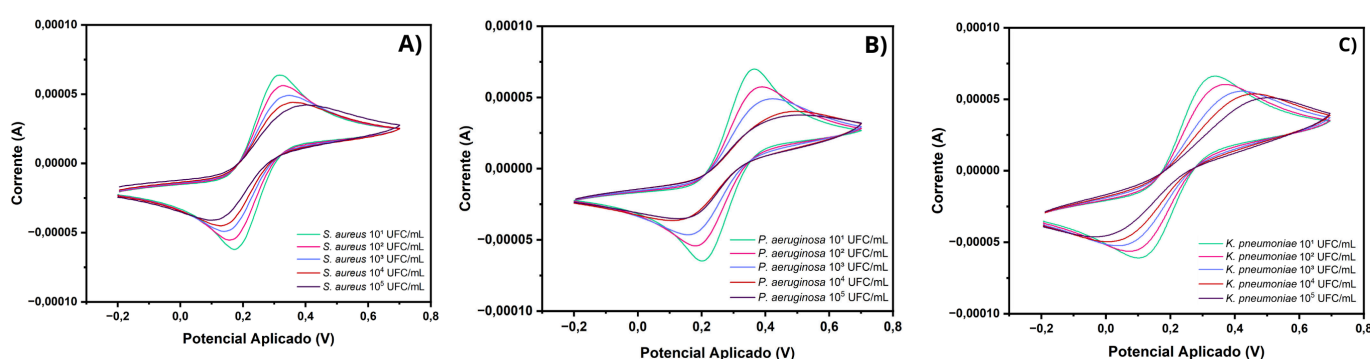
Devido à sua maior estabilidade, capacidade de interação com diferentes espécies microbianas e baixa toxicidade, o novo peptídeo BotrAMP14 se destaca como uma excelente alternativa para o biorreconhecimento de cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva), *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas* (Gram-negativas) (Oliveira et al., 2020).

#### 5.4 DESEMPENHO ANALÍTICO DA PLATAFORMA SENSORA

Os voltamogramas cíclicos e os diagramas de Nyquist do biossensor em resposta a diferentes concentrações bacterianas estão apresentados nas **Figuras 29 e 30**, respectivamente. A **Figura 29** ilustra a variação da resposta eletroquímica do biossensor frente a concentrações de  $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL. Após a modificação da

superfície do eletrodo com o PAM BotrAMP14, observou-se uma redução progressiva nos picos anódicos e catódicos, proporcional ao aumento da concentração bacteriana, variando do limite mínimo de detecção ( $10^1$  UFC/mL) até o máximo detectável ( $10^5$  UFC/mL).

**Figura 29:** Voltamograma do biossensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14 antes e após a interação com diferentes concentrações ( $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL) das bactérias *S. aureus* (A), *P. aeruginosa* (B) e *K. pneumoniae* (C). A análise foi realizada utilizando uma solução 10mM de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  (1:1) preparada em tampão fosfato (PBS, pH 7.4) como sonda redox e taxa de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

O grau de biorreconhecimento bacteriano no experimento de VC pode ser avaliado por meio da porcentagem de desvio relativo (PDR) na variação da corrente anódica ( $\Delta I$ ), calculada utilizando a equação da PDR, conforme demonstrado abaixo (Da Silva Junior et al., 2022):

$$\Delta I (\%) = \frac{(1/I_b) - (1/I_a)}{(1/I_b)} \times 100$$

**Eq. 5**

Com base nos resultados da resposta voltamétrica após o contato com *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, a corrente de pico anódica ( $I_a$ ) representa a corrente máxima observada na plataforma do sensor, enquanto ( $I_b$ ) indica a corrente anódica máxima após a interação com as bactérias (tabela 4). Assim, os valores de  $\Delta I$  estão diretamente correlacionados com a concentração bacteriana, aumentando à medida que a contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) cresce no ensaio.

**Tabela 4:** Deslocamento anódico e  $\Delta I$  do biossensor modificado Cys/GO/QD\_BotrAMP14 após exposição a diferentes concentrações ( $10^1$  -  $10^5$  UFC/mL) das bactérias.

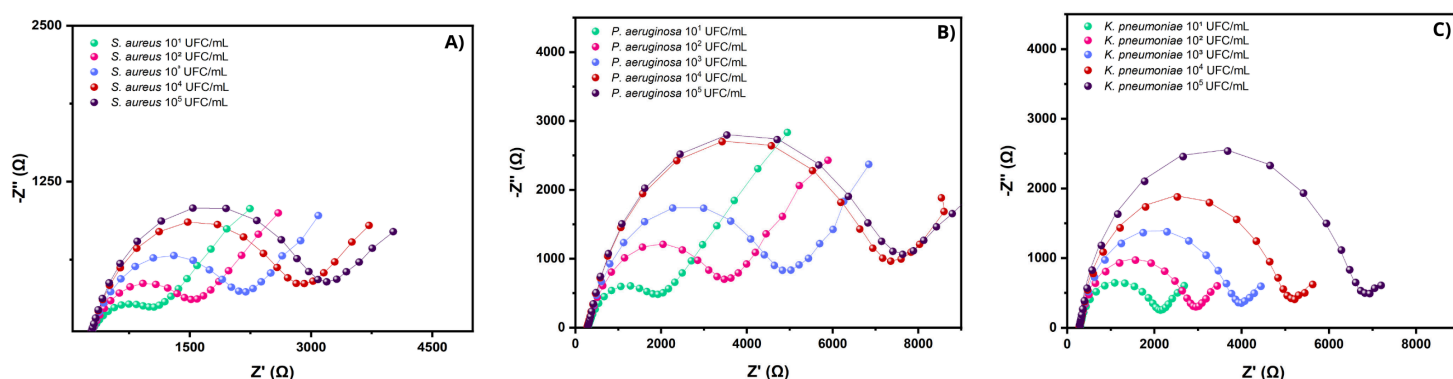
Modificação do eletrodo	UFC/mL	Antes ( $I_b$ $\mu A$ )	Depois ( $I_a$ $\mu A$ )	$\Delta I$ (%)
Cys/GO/QD_BotrAMP14	-	$6,67 \pm 0,05$	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	$10^1$	-	$5,42 \pm 0.02$	18,75%
	$10^2$	-	$4,81 \pm 0.02$	27,90%
	$10^3$	-	$4,06 \pm 0.01$	39,17%
	$10^4$	-	$3,60 \pm 0.01$	46,05%
	$10^5$	-	$3,16 \pm 0.01$	52,62%
<i>P. aeruginosa</i>	$10^1$	-	$5,74 \pm 0.02$	13,94%
	$10^2$	-	$5,23 \pm 0.02$	21,61%
	$10^3$	-	$4,09 \pm 0.01$	38,70%
	$10^4$	-	$2,61 \pm 0.01$	60,89%
	$10^5$	-	$2,39 \pm 0.01$	64,17%
<i>S. aureus</i>	$10^1$	-	$6,32 \pm 0.03$	5,25%
	$10^2$	-	$5,44 \pm 0.02$	18,44%
	$10^3$	-	$4,57 \pm 0.02$	31,49%
	$10^4$	-	$3,96 \pm 0.01$	40,65%
	$10^5$	-	$3,57 \pm 0.02$	46,49%

**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Em conjunto com as medidas de VC, as respostas impedimétricas fornecidas pela EIE também foram utilizadas para avaliar a interação microrganismo-sensor, sendo representadas na Fig. 30. Ao comparar os resultados, a caracterização impedimétrica demonstrou um alinhamento com o obtido na VC. Os experimentos com VC e EIE foram conduzidos em triplicatas para determinação do intervalo de detecção do eletrodo e do tempo ideal de adsorção do PAM. Sistemas sensores

baseados em PAMs têm sido investigados utilizando a técnica de EIS (Da Silva et al., 2021). Neste estudo, o diagrama de Nyquist foi utilizado para analisar a capacidade de biodeteção de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* (Fig. 30), considerando que são bactérias de interesse clínico.

**Figura 30:** Diagramas de Nyquist do Biossensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14 após a interação com as bactérias em diferentes concentrações ( $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL): *S. aureus* (A), *P. aeruginosa* (B) e *K. pneumoniae* (C).



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Ao analisar as respostas impedimétricas resultantes das análises com as cepas *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*, observou-se uma maior resposta quando comparada com a apresentada para *Staphylococcus aureus*. Isso pode ser explicado pela maior afinidade do peptídeo BotrAMP14 com a parede celular de bactérias gram-negativas, considerando que a membrana dessas bactérias é composta por lipopolissacarídeos (LPS) que apresentam fortes cargas negativas (aniônicos), em contraste com as do grupo gram-positivo, que apresentam alta quantidade de ácido lipoteicóico (LTA), conferindo carga positiva (catiônico) (Da Silva Junior et al., 2022). Esses componentes da membrana, devido à sua carga negativa, são mais propensos a interagir eletrostaticamente e a formar ligações de hidrogênio com a região N-terminal do BotrAMP14, que é um peptídeo catiônico.

Após os testes com as bactérias, os diagramas de Nyquist apresentaram um aumento no diâmetro do semicírculo de Cole-Cole à medida que a concentração bacteriana aumentava. Os valores de  $R_{ct}$  apresentados na tabela 5 também mostraram uma relação proporcional entre a concentração bacteriana e os valores

de Rct. Esses resultados atestam a sensibilidade do biossensor proposto para realizar a análise quantitativa dos microrganismos, sendo semelhantes aos obtidos nos estudos de Silva et al. (2024) e Da Silva Junior et al. (2022). Outrossim, na tabela 5, observa-se uma variação nos valores da capacitância da dupla camada elétrica (CPE), a qual diminui devido ao aumento da adesão microbiana sobre a superfície do eletrodo, resultando na ocupação progressiva dos sítios ativos disponíveis.

**Tabela 5:** Dados obtidos a partir das interações com os microrganismos de interesse.

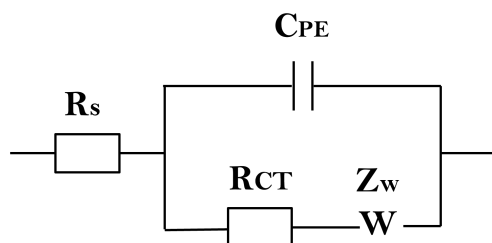
Microrganismo	UFC/mL	Rct ( $\Omega$ )	Rs (k $\Omega$ )	CPE ( $\mu$ Mho)	W ( $\mu$ Mho)	N
<i>K. pneumoniae</i>	$10^1$	1.490 $\pm$ 0,028	0,241 $\pm$ 0,044	0,005 $\pm$ 0,003	0,001 $\pm$ 0,001	0,788 $\pm$ 0,004
	$10^2$	2.050 $\pm$ 0,028	0,244 $\pm$ 0,045	0,005 $\pm$ 0,003	0,001 $\pm$ 0,002	0,794 $\pm$ 0,003
	$10^3$	3.675 $\pm$ 0,035	0,216 $\pm$ 0,008	0,005 $\pm$ 0,001	0,367 $\pm$ 0,518	0,770 $\pm$ 0,001
	$10^4$	4.595 $\pm$ 0,035	0,262 $\pm$ 0	0,003 $\pm$ 0,001	0,001 $\pm$ 0,001	0,804 $\pm$ 0,006
	$10^5$	5.080 $\pm$ 0,028	0,295 $\pm$ 0,026	0,001 $\pm$ 0	0,454 $\pm$ 0,640	0,865 $\pm$ 0,001
<i>P. aeruginosa</i>	$10^1$	1.425 $\pm$ 0,035	0,294 $\pm$ 0,035	0,006 $\pm$ 0,006	0,540 $\pm$ 0,627	0,790 $\pm$ 0,001
	$10^2$	1.525 $\pm$ 0,021	0,291 $\pm$ 0,031	0,004 $\pm$ 0,003	0,548 $\pm$ 0,618	0,808 $\pm$ 0,009
	$10^3$	1.950 $\pm$ 0,028	0,291 $\pm$ 0,033	0,003 $\pm$ 0,002	0,553 $\pm$ 0,621	0,823 $\pm$ 0,007
	$10^4$	2.325 $\pm$ 0,035	0,294 $\pm$ 0,036	0,002 $\pm$ 0,002	0,557 $\pm$ 0,604	0,832 $\pm$ 0,006
	$10^5$	2.675 $\pm$ 0,035	0,283 $\pm$ 0,020	0,003 $\pm$ 0,001	0,301 $\pm$ 0,229	0,815 $\pm$ 0,003

<i>S. aureus</i>	$10^1$	$872 \pm 0,008$	$0,281 \pm 0,037$	$0,012 \pm 0,012$	$0,877 \pm 0,144$	$0,730 \pm 0,001$
	$10^2$	$1.160 \pm 0,028$	$0,283 \pm 0,031$	$0,007 \pm 0,006$	$0,926 \pm 0,074$	$0,767 \pm 0,007$
	$10^3$	$1.265 \pm 0,035$	$0,285 \pm 0,031$	$0,007 \pm 0,006$	$0,963 \pm 0,031$	$0,788 \pm 0,004$
	$10^4$	$1.500 \pm 0,028$	$0,291 \pm 0,041$	$0,005 \pm 0,002$	$0,001 \pm 0,002$	$0,800 \pm 0,002$
	$10^5$	$1.825 \pm 0,035$	$0,306 \pm 0,061$	$0,004 \pm 0,002$	$0,485 \pm 0,685$	$0,804 \pm 0,002$

**Fonte:** Próprio autor, 2025.

O modelo de circuito de Randles foi utilizado para ajustar os dados de impedância e determinar os parâmetros elétricos relacionados às concentrações dos analitos-alvo. O circuito é composto pela resistência da solução eletrolítica ( $R_s$ ), capacitância da camada dupla elétrica ( $CPE$ ), resistência à transferência de carga ( $R_{ct}$ ) e o elemento de Warburg ( $W$ ) (Randviir; Banks, 2022). Esses componentes fornecem informações sobre as reações eletroquímicas, como mostrado na tabela 5 e na Figura 31.

**Figura 31:** Circuito equivalente de Randles utilizado para ajustar os resultados obtidos pela EIE.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

O BotrAMP14, ao interagir com a membrana bacteriana, inicia um processo de permeabilização. Este processo começa com a atração eletrostática do peptídeo,

que possui uma carga positiva total de +8 devido à abundância de aminoácidos básicos em sua sequência (KRWKKFFRKVIKFF-NH<sub>2</sub>). Especificamente, a presença de 4 resíduos de lisina (K) e 4 resíduos de arginina (R), ambos com carga positiva em pH fisiológico, confere essa característica ao peptídeo. Essa alta carga positiva facilita a interação eletrostática do BotrAMP14 à superfície aniônica da membrana bacteriana, favorecendo a inserção e permeabilização da parede celular bacteriana (Oliveira et al., 2020).

Dentre os mecanismos de ação para a permeabilização da membrana bacteriana, a formação de poros do tipo "barril" é o mais provável para o BotrAMP14, considerando que sua estrutura  $\alpha$ -helicoidal anfipática facilita a organização das moléculas em um arranjo cilíndrico, característico do modelo Barril. Isso resulta na formação de um canal transmembrana que desestabiliza a membrana devido à passagem descontrolada de água e íons, levando à lise celular (Zhang et al., 2021). A tabela 6 apresenta alguns exemplos de biossensores desenvolvidos com o uso de PAMs e outros elementos como biorreceptores para detecção de microrganismos.

**Tabela 6:** Elementos de biorreconhecimento utilizados na montagem de biossensores.

Biorreceptor	Plataforma sensora	Transdutor	LOD	Alvo microbiano	Referência
PAM (Clavanin A)	AuNPs	VC e EIS	10 <sup>1</sup> UFC/mL	<i>S. typhimurium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i>	Junior et al., 2018.
Enzima Lacase	Lac_(PLLY) CA-GR_GCE	VC, DPV e EIE	1,3 x 10 <sup>-13</sup> mol/mL	17 $\beta$ -Estradiol	Wang et al., 2019.
Anticorpo Anti-HEV	Ab-N_SGQD@AuNP_PAni	VC e EIE	0,8 fg/mL <sup>-1</sup>	Hepatite E	Chowdhury et al., 2019.

PAM (Nisin)	Eletrodo de ouro	EIS	$\sim 1.5 \times 10^1$ UFC/mL	<i>Salmonella spp</i>	Malvano; Pilloton; Albanese, 2020.
PAM (Temporin – PTA)	MBA_Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @Au_T-PTa	VC e EIS	10 <sup>1</sup> UFC/mL	<i>K. pneumoniae</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i>	Da Silva-Junior et al., 2022.
PAM (Synoeca-MP)	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -Chit-SynoecaMP	VC e EIS	10 <sup>1</sup> UFC/mL	<i>E. faecalis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. tropicalis</i>	Da Silva Junior et al., 2022.
cDNA	AUNPs_SiNPs_GA_cDNA	DPV	1,1513 x 10 <sup>-13</sup> µg/µL	<i>V. cholerae</i>	Futra et al., 2023.
crRNA/Cas13a + MXene–AuNP modificados	Eletrodo de ouro modificado com MXene e AuNPs	EIE	1 fM	<i>RNA do SARS-CoV-2 com mutação L452R</i>	Chen et al., 2023.

PAM (HP-MAP1)	MWCNTs	EIS	10 <sup>1</sup> UFC/mL	<i>K. pneumo niae, E. coli, S.aureus , P. aerugino sa</i>	Silva et al., 2024.
BotrAMP14	Cys/GO/QD CdTe	VC E EIS	10 <sup>1</sup> UFC/mL	<i>K.pneum oniae, P. aerugino sa, S. aureus</i>	Este trabalho

Fonte: Próprio autor, 2025.

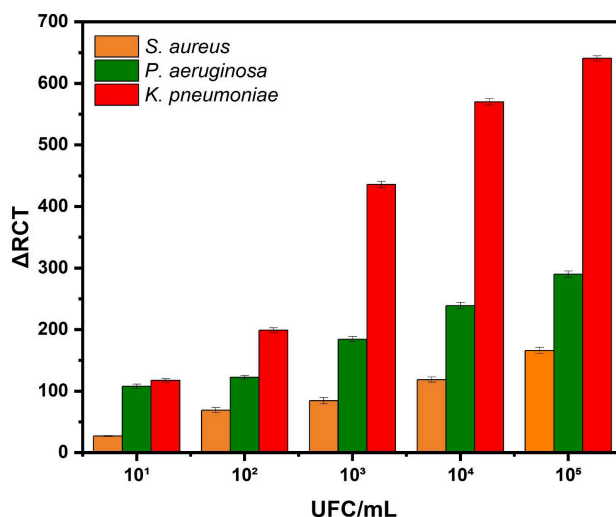
Os resultados descritos anteriormente demonstram o biorreconhecimento do BotrAMP14 pelas bactérias selecionadas, confirmando o potencial do biossensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14 para detecção microbiológica, com base na análise dos elementos do circuito equivalente de Randles. Com a finalidade de caracterizar o seu desempenho analítico, o sistema de sensor desenvolvido foi analisado através da variação relativa de *Rct* ( $\Delta Rct$ ), conforme mostrado na equação 6. O valor do *Rct* (*biossensor*) representa a resposta inicial do sistema sensor (Cys/GO/QD\_BotrAMP14), enquanto *Rct* (*microrganismo*) corresponde à resistência à transferência de carga medida após a interação com as bactérias *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* (Lucena et al., 2022).

$$\Delta Rct = \frac{Rct (microrganismo) - Rct (biossensor)}{Rct (biossensor)} \times 100$$

Eq. 6

A Figura 32 ilustra a relação entre a concentração dos microrganismos analisados e a variação do  $\Delta Rct$ . Observa-se que o aumento na quantidade de células bacterianas resulta em um crescimento proporcional dos valores de  $\Delta Rct$ , evidenciando a capacidade do biossensor de detectar e quantificar as diferentes cepas testadas.

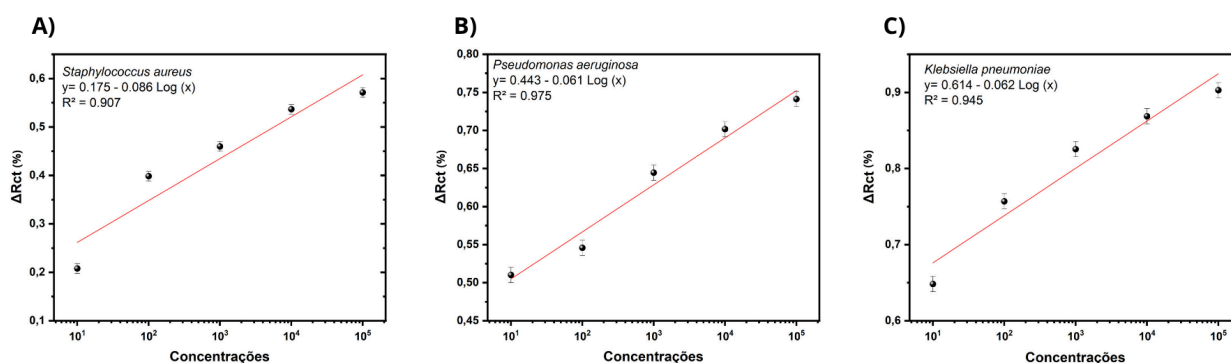
**Figura 32:** Gráfico de colunas com os valores da variação do *Rct* ( $\Delta Rct$ ) em função das diferentes concentrações das bactérias analisadas (10<sup>1</sup> a 10<sup>5</sup> UFC/mL).



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Os resultados obtidos na tabela 5 indicam uma relação proporcional entre a concentração dos microrganismos analisados e os valores de Rct medidos. A resposta eletroquímica variou conforme a espécie bacteriana testada, demonstrando a capacidade do biossensor de detectar patógenos mesmo em baixas concentrações. A eficácia do sensor foi avaliada por meio da variação relativa do  $\Delta R_{ct}$ , conforme descrito na equação 6 (Lucena et al., 2022), com os dados descritos. Ao traçar a reta da curva de calibração, obteve-se um coeficiente de determinação  $R^2$  superior a 0,90 para as espécies analisadas, conforme demonstrado na figura 33.

**Figura 33:**  $\Delta R_{ct}$  para o sistema sensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14 após exposição com as diferentes concentrações das bactérias *S. aureus* (A), *P. aeruginosa* (B) e *K. pneumoniae* (C), apresentando as curvas de calibração.



**Fonte:** Próprio autor, 2025.

Os resultados demonstram uma relação direta entre a concentração bacteriana e a cepa testada, evidenciando um perfil de reconhecimento linear. No gráfico de  $\Delta R_{ct}$ , é possível observar que a bactéria *S. aureus* apresentou um valor menor em comparação com *P. aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*.

A diferença na resposta do  $\Delta R_{ct}$  entre *K.* e *P. aeruginosa* está relacionada às diferenças estruturais de suas paredes celulares. *K. pneumoniae* possui uma parede celular altamente carregada negativamente, favorecendo a interação com peptídeos catiônicos e resultando em maior resposta, conforme observado por Oliveira et al., 2020. Em contraste, *P. aeruginosa* apresenta uma parede celular mais fina e uma membrana externa complexa, caracterizada por lipopolissacarídeos atípicos, porinas de baixa permeabilidade e sistemas de efluxo eficientes. Essa complexidade estrutural e funcional atua como uma barreira à interação com o peptídeo, resultando em uma resposta eletroquímica reduzida (De Andrade; Da Costa Darini, 2020).

A plataforma de sensora Cys/Go/QD\_BotrAMP14 demonstrou boa sensibilidade na identificação do analito alvo dentro de uma faixa linear de  $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL, com excelente tempo de resposta (5 minutos). Sabe-se que a reprodutibilidade, sensibilidade e especificidade são critérios essenciais na avaliação da capacidade analítica de biossensores. Assim, os dados obtidos demonstram a confiabilidade e a precisão do biossensor diante de diferentes concentrações da cepa bacteriana (Verma et al., 2022). Além disso, a partir da análise do grau de cobertura superficial ( $\theta$ ), foram obtidos dados adicionais sobre como os sítios de ligação do sensor são preenchidos após a adesão microbiana, conforme detalhado abaixo (equação 7):

$$\theta = 1 - \left( \frac{R_{ct} (Biossensor)}{R_{ct} (Bactéria)} \right)$$

**Eq. 7**

No biossensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14,  $R_{ct} (Biossensor)$  representa a resistência à transferência de carga da plataforma sensora, enquanto  $R_{ct} (Bactéria)$  indica os valores de resistência à transferência de carga após o contato com a espécie microbiana, os valores de teta estão representados na tabela 7 e ilustrados na Figura 34, demonstrando um aumento proporcional à concentração microbiana, expressa em UFC/mL (Avelino et al., 2021).

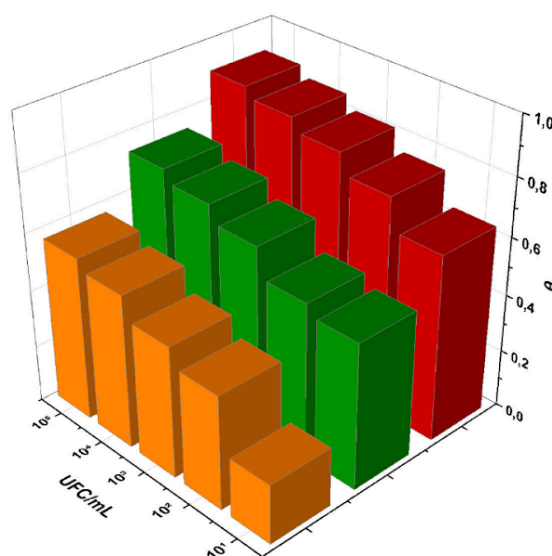
**Tabela 7:** Valores de  $\theta$  após o contato com as diferentes concentrações ( $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL) das cepas.

Microrganismo	UFC/mL	Rct (Biossensor)	Rct (Bactéria)	$\theta$
Cys/GO/QD_BotrAMP14	-	686 $\Omega$	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	$10^1$	-	1.490 K $\Omega$	0,539
	$10^2$	-	2.050 K $\Omega$	0,665
	$10^3$	-	3.675 K $\Omega$	0,813
	$10^4$	-	4.595 K $\Omega$	0,851
	$10^5$	-	5.080 K $\Omega$	0,865
<i>P. aeruginosa</i>	$10^1$	-	1.425 K $\Omega$	0,518
	$10^2$	-	1.525 K $\Omega$	0,550
	$10^3$	-	1.950 K $\Omega$	0,648
	$10^4$	-	2.325 K $\Omega$	0,705
	$10^5$	-	2.675 K $\Omega$	0,743
<i>S. aureus</i>	$10^1$	-	872 $\Omega$	0,213
	$10^2$	-	1.160 K $\Omega$	0,408
	$10^3$	-	1.265 K $\Omega$	0,458
	$10^4$	-	1.500 K $\Omega$	0,543
	$10^5$	-	1.825 K $\Omega$	0,624

**Fonte:** Próprio autor, 2025.

A cepa *K. pneumoniae* apresentou o maior valor de  $\theta$  (0,865) na concentração de  $10^5$  UFC/mL, refletindo maior recobrimento da superfície eletroquímica, em comparação às demais espécies devido à presença do seu capsídeo espesso e maior quantidade de lipolissacarídeos em sua membrana, conferindo maior resistência na interação com a plataforma sensora (Oliveira et al., 2020). Por fim, a análise dos resultados através de  $\Delta R_{ct}$  e  $\theta$  demonstraram que a camada de biorreconhecimento foi efetivamente preenchida pelas amostras bacterianas, destacando respostas eletroquímicas específicas baseadas nas características estruturais presentes na parede celular das bactérias patogênicas.

**Figura 34:** Gráfico de barras 3D representando o grau de recobrimento superficial do sensor eletroquímico ( $\theta$ ) após o contato com as diferentes concentrações ( $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL) das cepas: *S. aureus* (laranja), *P. aeruginosa* (verde) e *K. pneumoniae* (vermelho).



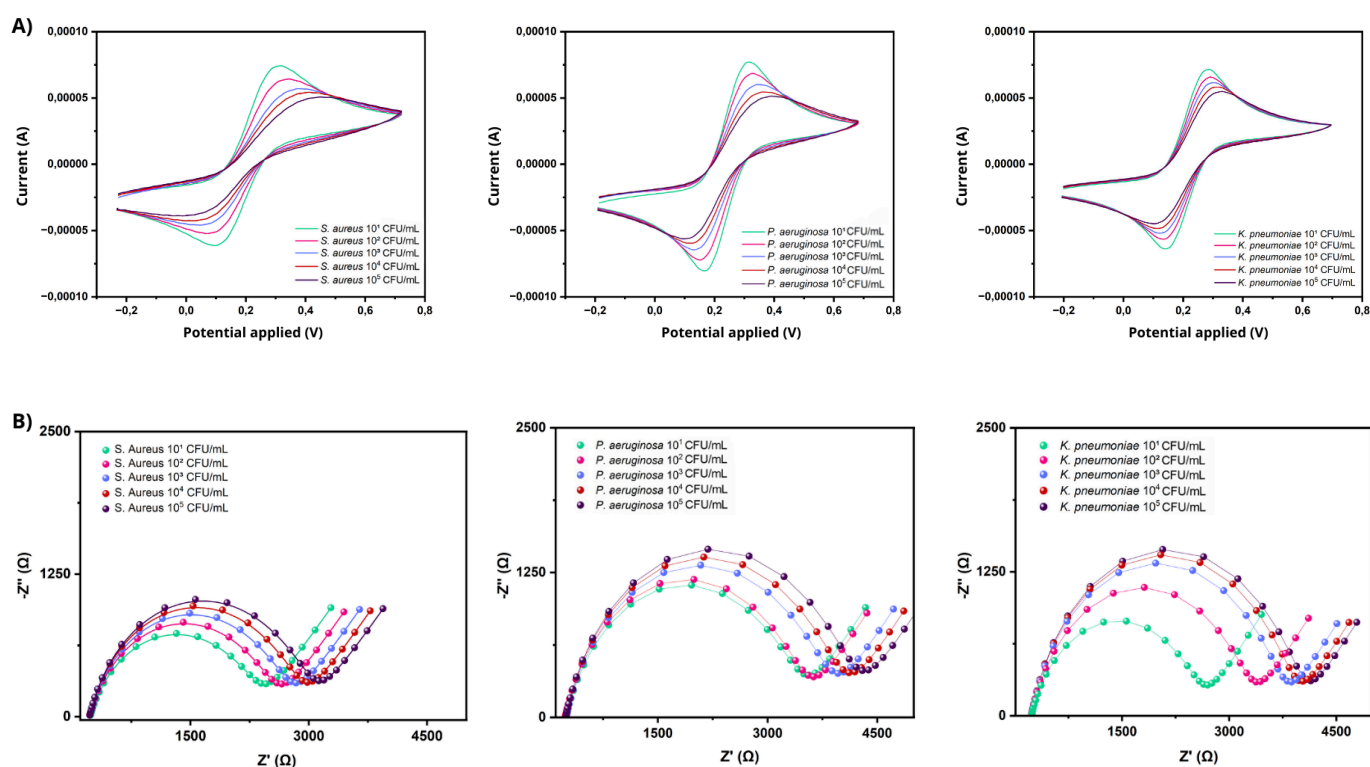
**Fonte:** Próprio autor, 2025.

## 6 REUSABILIDADE

A reutilização da plataforma sensora Cys/GO/QD\_BotrAMP14 foi avaliada através da imersão numa solução de hidróxido de sódio (5 mM) durante cinco minutos para remover o péptido BotrAMP14. Este procedimento foi repetido nos ensaios para as três espécies bacterianas selecionadas para o estudo: *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* em diluições de  $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL (Fig. 35). Através desta estratégia,

foi possível observar a estabilidade e reutilização do biossensor desenvolvido. Assim, o sensor Cys/GO/QD\_BotrAMP14 provou ser uma plataforma fácil de operar e estável para a detecção rápida dos patógenos testados.

**Figura 35:** Respostas eletroquímicas da plataforma sensora BotrAMP14 para a detecção de diferentes bactérias em concentrações que variam de  $10^1$  a  $10^5$  UFC/mL: **(A)** voltamogramas e **(B)** gráficos de Nyquist, obtidos após a remoção do peptídeo BotrAMP14 usando uma solução de NaOH 5 mM.



Fonte: Próprio autor, 2025.

## 7 CONCLUSÃO

Um biossensor eletroquímico baseado em monocamadas automontadas de cisteína, no nanocomplexo Óxido de Grafeno/Quantum dots de Telureto de Cádmio e no PAM BotrAMP14 foi desenvolvido para detecção de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas de relevância clínica, apresentando-se como uma estratégia inovadora para o diagnóstico microbiológico. Adicionalmente, foi realizada uma análise acerca dos grupos funcionais presentes na solução Cys/Go por FTIR e técnicas eletroquímicas, as quais evidenciaram a imobilização progressiva e bem-sucedida dos componentes sobre a superfície do eletrodo de ouro. A interação microrganismo-sensor foi avaliada através da EIE, a qual evidenciou aumentos significativos no  $R_{ct}$  após o reconhecimento bacteriano. Ainda, os voltamogramas resultantes da VC apresentaram uma diminuição na corrente anódica ao longo das análises com as diferentes concentrações bacterianas, demonstrando o biorreconhecimento.

O biossensor apresentou excelente desempenho analítico, com um baixo limite de detecção de  $10^1$  UFC/mL para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*, mantendo resposta linear entre  $10^1$  e  $10^5$  UFC/mL, com coeficientes de linearidade ( $R^2$ ) superiores a 0,90 e resposta rápida (5 minutos). Além disso, o grau de recobrimento da superfície ( $\theta$ ) aumentou proporcionalmente à concentração bacteriana, validando a eficiência da interface sensora no processo de biorreconhecimento. Entre as perspectivas futuras, está prevista a validação do biossensor utilizando amostras clínicas reais, a avaliação de sua seletividade frente a outras cepas bacterianas e fúngicas, e a expansão da plataforma para uma multianálise, considerando o potencial do novo peptídeo BotrAMP14 como elemento de biorreconhecimento.

Testes adicionais mostram-se necessários para comercialização do biodispositivo, como, por exemplo, avaliações da estabilidade do peptídeo frente a variações de temperatura e em diferentes meios. Ademais, a miniaturização e integração da tecnologia em dispositivos portáteis poderia permitir a sua utilização em ambientes de ponto de atendimento (POC), corroborando para diagnósticos precoces, principalmente em locais com disponibilidade mais limitada de infraestruturas laboratoriais.

## REFERÊNCIAS

ABIDI, Nouredine. FTIR Microspectroscopy. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 2021.

ALTALHI, Tariq et al. (Ed.). Biosensors Nanotechnology. John Wiley & Sons, 2023.

Amaral, Eduardo M. F.; Andrade, Jean C. B.; Freitas, Leandro B.; Teixeira, Gabriella T. L.; Nascimento, João P. L.; Gelamo, Rogério V.; Leite, Natália B.; Moreto, Jéfeson A. (2022). Sensores eletroquímicos e biossensores: Seus princípios básicos de funcionamento e algumas aplicações. Revista Virtual de Química. <http://static.sites.sbg.org.br/rvq.sbg.org.br/pdf/RVq130922-a3.pdf>

ANDRADE, Karina Luzia et al. Monocamadas automontadas poliméricas e filmes finos poliméricos: propriedades e aplicações biomédicas. MATERIAIS POLIMÉRICOS, p. 120.

ANUMUDU, C. et al. Recent advances in the application of the antimicrobial peptide nisin in the inactivation of spore-forming bacteria in foods. Molecules, v. 26, n. 18, 2021.

Avelino KYPS, Dos Santos GS, Frías IAM, Silva-Junior AG, Pereira MC, Pitta MGR, de Araújo BC, Errachid A, Oliveira MDL, Andrade CAS. Plataforma de sensor nanoestruturada baseada em polímero orgânico conjugado a nanopartícula metálica para a detecção impedimétrica de SARS-CoV-2 em vários estágios da infecção viral. J Pharm Biomed Anal. 2021 Nov 30;206:114392. DOI: 10.1016/j.jpba.2021.114392. Epub 2021 24 de setembro. PMID: 34607201; PMCID: PMC8462052.

BOYER, Alexandre; BOUVIER, Florent; DUCASSE, Laurent; et al. Antimicrobial peptides: Mechanism of action and lipid-mediated effects. Faraday Discussions, v. 232, p. 283-303, 2021. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/fd/d0fd00041h>. Acesso em: 4 abr. 2025.

BLOND, Pascale et al. Superfícies de germânio prontas para uso para o desenvolvimento de biossensores baseados em FTIR para proteínas. *Langmuir*, v. 36, n. 40, p. 12068-12076, 2020.

BINNIG, G.; QUATE, C. F.; GERBER, C. Atomic Force Microscope. *Physical Review Letters*, v. 56, n. 9, p. 930–934, 1986.

CALVILLO SOLÍS, Jonathan J. et al. Electrografting ap-Propylaniline/L–Cys Nanofilm onto a Glassy Carbon Electrode Resulting in Enhanced Electrosensing of Cd (II), Pb (II) and Hg (II). *ChemistrySelect*, v. 7, n. 45, p. e202203592, 2022.

CAMARGOS, Juliana Sofia Fonseca; DE OLIVEIRA SEMMER, Adriana; DA SILVA, Sidney Nicodemos. Características e aplicações do grafeno e do óxido de grafeno e as principais rotas para síntese. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, v. 3, n. 8, p. 1118-1130, 2017.

CARVALHO, Ana PG et al. Effect of graphene vs. reduced graphene oxide in gold nanoparticles for optical biosensors—a comparative study. **Biosensors**, v. 12, n. 3, p. 163, 2022.

CASTLE, L. M. et al. Electrochemical Sensors to Detect Bacterial Foodborne Pathogens. *ACS Sensors*, v. 6, n. 5, p. 1717–1730, 2021.

CHADHA, Utkarsh et al. (2022). Recent progress and growth in biosensors technology: A critical review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 109, 21–51. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2022.02.010>

CHEUNG, Gordon YC; BAE, Justin S.; OTTO, Michael. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, v. 12, n. 1, p. 547-569, 2021.

CHEN, Zhi et al. CRISPR-Cas13a-powered electrochemical biosensor for the detection of the L452R mutation in clinical samples of SARS-CoV-2 variants. **Journal of nanobiotechnology**, v. 21, n. 1, p. 141, 2023.

CHOWDHURY, Ankan Dutta et al. Electrical pulse-induced electrochemical biosensor for hepatitis E virus detection. **Nature communications**, v. 10, n. 1, p. 3737, 2019.

CHU, Hung-Lun et al. Novel antimicrobial peptides with high anticancer activity and selectivity. *PloS one*, v. 10, n. 5, p. e0126390, 2015.

CLARKE, W.; D'ORAZIO, P. Electrochemistry. In: *Contemporary Practice in Clinical Chemistry*, p. 159-170, 2020. [https://doi.org/ 10.1016/B978-0-12- 815499-1.00009-0](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815499-1.00009-0)

COSTA, Andressa RC et al. Biossensores à Base de Acetilcolinesterase para Detecção de Pesticidas organofosforados: Tendências e Perspectivas. *Revista Virtual de Química*, 2021.

COSTENTIN, C.; FORTAGE, J.; COLLOMB, M. N. Electrophotocatalysis: Cyclic Voltammetry as an Analytical Tool. *Journal of Physical Chemistry Letters*, v. 11, n. 15, p. 6097–6104, 2020.

DA SILVA, Leonardo M. et al. Reviewing the fundamentals of supercapacitors and the difficulties involving the analysis of the electrochemical findings obtained for porous electrode materials. **Energy storage materials**, v. 27, p. 555-590, 2020.

DA SILVA JUNIOR, Alberto G. et al. Electrochemical detection of gram-negative bacteria through mastoparan-capped magnetic nanoparticle. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 160, p. 110088, 2022.

DA SILVA-JUNIO, Alberto G. et al. Electrochemical biosensor based on Temporin-PTA peptide for detection of microorganisms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 216, p. 114788, 2022.

DA SILVA MACHADO, Caroline. Resistência antimicrobiana e os impactos na sociedade. *Saúde e Desenvolvimento Humano*, v. 9, n. 1, 2021.

DE ANDRADE, Leonardo Neves; DA COSTA DARINI, Ana Lúcia. Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos. 2020.

DE CAMPOS, Daniel Ananias R. et al. Biossensores Eletroquímicos Baseados em Peroxidase: Revisão. 2023.

DE CARVALHO, Juliana Jeanne Vieira et al. Bactérias multirresistentes e seus impactos na saúde pública: Uma responsabilidade social. Research, Society and Development, v. 10, n. 6, p. e58810616303-e58810616303, 2021.

DE OLIVEIRA SILVA, Tiago; DO NASCIMENTO ORTEGA, Luis. A resistência antimicrobiana e custos de cuidado de saúde: uma revisão sistemática. In: Colloquium Vitae. ISSN: 1984-6436. 2021. p. 25-39.

DEENA, T.; SAMUEL, E. J. J.; ROOPAN, S. M. Nanoparticle characterization techniques. [s.l.] Elsevier Inc., 2019.

DE SÁ GENEZINI, Bianca. TECNOLOGIAS, DESAFIOS E BARREIRAS PARA A TRANSFORMAÇÃO DIGITAL NA SAÚDE: UMA REVISÃO DE LITERATURA. Revista Valore, v. 7, p. 23-38, 2022.

DE SOUZA SILVA, Bruno Eduardo Andrade et al. Avaliação da aplicação de biossensores no diagnóstico da Covid-19. Brazilian Journal of Health Review, v. 6, n. 6, p. 33178-33187, 2023.

DE SOUZA, Helen Paredes et al. Doenças infecciosas e parasitárias no Brasil de 2010 a 2017: aspectos para vigilância em saúde. Revista panamericana de salud publica, v. 44, p. e10, 2020.

DIBO, Vitória Soares. Monocamada de 1, 4-benzenoditiol sobre ouro contendo nanopartículas de ouro funcionalizadas com um derivado de manose: uma proposta para detecção de Escherichia coli. 2022.

DONG, Liangliang et al. Membranas de óxido de grafeno reguladas por  $\text{NH}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$  com nanocanais laminares bem definidos para dessalinização de soluções de corantes. *Desalination*, v. 476, p. 114227, 2020.

ELMIZADEH, Hamideh; BARDAJEE, Ghasem Rezanejade; MOADDELI, Ali. Ultrasensitive and rapid detection of methamphetamine in forensic biological fluids using fluorescent apta-nanobiosensors based on CdTe quantum dots. *Microchemical Journal*, v. 189, p. 108519, 2023.

EMBRAPA. Introdução à nanotecnologia. Brasília, DF: Embrapa, 2022. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1148352/1/P-INTRODUC-AO-A-NANOTECNOLOGIA.pdf>. Acesso em: 04 mar. 2025.

EUZÉBIO, Diana Matos et al. Perfil epidemiológico das infecções relacionadas à assistência à saúde em Unidade de Terapia Intensiva no período de 2019 a 2020. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 17, p. e2101724926-e2101724926, 2021.

Fachinelli, J., Hermes, D. M., Pase, D. & Rosa, D. A. Comparative Study of Glucose Measured in Glucometer and. *Rev. UNINGÁ* 53(1) 51-55 53, 51–55 (2017).

FAHMY TAHA, Mohamed Husien; ASHRAF, Hager; CAESARENDRA, Wahyu. Uma breve descrição de um biossensor de glicose não enzimático baseado em transdutor de voltametria cíclica utilizando eletrodos de grafeno sintetizados. *Applied System Innovation*, v. 3, n. 3, p. 32, 2020.

FECHINE, Pierre Basílio Almeida. Avanços no desenvolvimento de nanomateriais. 2020.

FÉLIX, A. M. Aplicações da espectroscopia de infravermelho em nanobiotecnologia. *Revista de Ciências Tecnológicas*, v. 28, n. 3, p. 112-124, 2022.

FERREIRA, Antonio Aparecido Pupim; YAMANAKA, Hideko. Microscopia de força atômica aplicada em imunoenaios. **Química Nova**, v. 29, p. 137-142, 2006.

FRANCO, Vanina Gisela et al. Novel mixed self-assembled monolayers of L-cysteine and methanol on gold surfaces under ambient conditions. *Nanoscale*, v. 16, n. 32, p. 15366-15380, 2024.

FRANCO-DUARTE, R. et al. Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms—from past to present. *Microorganisms*, v. 7, n. 5, 2019.

FUTRA, Dedi et al. An ultrasensitive voltammetric genosensor for the detection of bacteria *Vibrio cholerae* in vegetable and environmental water samples. **Biosensors**, v. 13, n. 6, p. 616, 2023.

GE, M. et al. Deep learning analysis on microscopic imaging in materials science. *Materials Today Nano*, v. 11, 2020.

GHARAGULYAN, H. et al. Essential L-amino acid-functionalized graphene oxide for liquid crystalline phase formation. *Materials Science and Engineering: B*, v. 295, p. 116564, 2023.

GOEL, Himanshi et al. Biossensor eletroquímico Ti<sub>3</sub>AlC<sub>2</sub> MAX funcionalizado com polidopamina para detecção precoce e sensível de *Mycobacterium tuberculosis*. *Microchemical Journal*, v. 197, p. 109899, 2024.

GOMES, Rafaella Caetano. Bactérias e parasitas intestinais encontrados em transporte público: uma revisão bibliográfica. 2022.

GUO, Shi et al. Controlando a química covalente em óxido de grafeno. *Nature Reviews Physics*, v. 4, n. 4, p. 247-262, 2022.

GÜRSU, Hürmüş; GENÇTEN, Metin; ŞAHİN, Yücel. One-step electrochemical preparation of graphene-coated pencil graphite electrodes by cyclic voltammetry and their application in vanadium redox batteries. *Electrochimica Acta*, v. 243, p. 239-249, 2017.

HAN, Daobin et al. Um novo biossensor eletroquímico baseado em peptidoglicano e nanocubo de platina-níquel-cobre para detecção rápida de bactérias Gram-positivas. *Microchimica Acta*, v. 187, p. 1-10, 2020.

HIDAYANTI, F.; HARNOVAN, A. A. Application of Scanning Electron Microscopy: A Review. *International Journal of Applied Science and Engineering Review*, v. 1, n. 6, p. 91–95, 2020.

HOSAIN, Md Najmul et al. IoT-enabled biosensors for real-time monitoring and early detection of chronic diseases. *Physical Activity and Nutrition*, v. 28, n. 4, p. 60, 2024.

HOSSEINI, S. et al. Advantages, Disadvantages and modifications of conventional ELISA. In: *Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. [s.l.] Springer Singapore, 2017. p. 67–115.

HUANG, X.; ZHU, Y.; KIANFAR, E. Nano Biosensors: Properties, applications and electrochemical techniques. *Journal of Materials Research and Technology*, v. 12, p. 1649–1672, 1 maio 2021.

ISO/TS 27687:2008 Nanotechnologies — Terminology and definitions for nano-objects nanofibre and nanoplate. Stand. Recomm. S.R. CEN ISO/TS 27687:2009 2009, 7.

ISHIDA, Naoyuki; CRAIG, Vincent SJ. Direct measurement of interaction forces between surfaces in liquids using atomic force microscopy. *KONA Powder and Particle Journal*, v. 36, p. 187-200, 2019.

JEONG, B. et al. Novel electrochemical PMI marker biosensor based on quantum dot dissolution using a double-label strategy. *Scientific Reports*, v. 12, n. 1, p. 1–8, 2022.

JUNIOR, Alberto G. Silva et al. A simple nanostructured impedimetric biosensor based on clavanin a peptide for bacterial detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 255, p. 3267-3274, 2018.

JUNIOR, AG SILVA et al. PLATAFORMA BIOSSENSORA NANOESTRUTURADA PARA A DETECÇÃO DO ANTICORPO DA ONCOSTATINA M (OSM-R). INOVAÇÕES PARA O ENFRENTAMENTO DA COVID-19, p. 129, 2020.

KARAKONSTANTIS, Stamatis; KRITSOTAKIS, Evangelos I.; GIKAS, Achilleas. Treatment options for *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii* co-resistant to carbapenems, aminoglycosides, polymyxins and tigecycline: an approach based on the mechanisms of resistance to carbapenems. *Infection*, v. 48, n. 6, p. 835-851, 2020.

KARBELKAR, A. A.; FURST, A. L. Electrochemical Diagnostics for Bacterial Infectious Diseases. *ACS Infectious Diseases*, v. 6, n. 7, p. 1567–1571, 2020.

KESTENBAC, H.J.; BOTA FILHO W.J. Microscopia eletrônica transmissão e varredura. São Paulo: ABM, 1994.

KUMAR, Harsh et al. Detection of bacterial pathogens and antibiotic residues in chicken meat: a review. *Foods*, v. 9, n. 10, p. 1504, 2020.

LAI, Chih-Yu et al. Aptasensing impedimétrico usando um modelo de circuito de Randles simétrico. **Electrochimica Acta** , v. 337, p. 135750, 2020.

LI, Weiqiang et al. Biossensor eletroquímico à base de MXene@ Au com pré-tratamento por nanopartículas magnéticas para determinação de MRSA em amostras clínicas. *Journal of Hazardous Materials* , v. 457, p. 131823, 2023.

LIMA, Letícia Ferreira et al. Produção do peptídeo antimicrobiano BotrAMP14 de interesse na pecuária para mastite bovina. 2023.

LVOVICH, V. F. Impedance Analysis of Complex Systems. *Impedance Spectroscopy: Applications to Electrochemical and Dielectric Phenomena*, p. 113–161, 2012.

LUCENA, R. P. S. et al. Application of concanavalin A as a new diagnostic strategy for SARS-COV-2 spike protein. Universidade de São Paulo, v. 201, n. June 2023, p. 1–111, 1 jul. 2022.

LUNARDI, Claire N. et al. Métodos experimentais em engenharia química: potencial zeta. **The Canadian Journal of Chemical Engineering** , v. 99, n. 3, p. 627-639, 2021.

MA, Y. X. et al. Considerations and Caveats in Combating ESKAPE Pathogens against Nosocomial Infections. *Advanced Science*, v. 7, n. 1, 2020.

MAIA, Priscila Lobato Campos et al. Atenção farmacêutica: uma abordagem sobre a resistência antimicrobiana e o uso inadequado na vida cotidiana. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 4, p. 43347-43362, 2021.

MAGALHÃES, S.; GOODFELLOW, B. J.; NUNES, A. FTIR spectroscopy in biomedical research: how to get the most out of its potential. *Applied Spectroscopy Reviews*, v. 56, n. 8–10, p. 869–907, 2021.

MAGAR, H. S.; HASSAN, R. Y. A.; MULCHANDANI, A. Electrochemical impedance spectroscopy (Eis): Principles, construction, and biosensing applications. *Sensors*, v. 21, n. 19, 2021.

MAJHI, Sasmita; ARORA, Ankita; MISHRA, Abhijit. Imobilização de superfície de um peptídeo antimicrobiano curto (AMP) como um revestimento antibacteriano. *Materialia* , v. 6, p. 100350, 2019.

MALVANO, F.; PILLOTON, R.; ALBANESE, D. Label-free impedimetric biosensors for the control of food safety—a review. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 100, n. 4, p. 468–491, 2020.

MARCOMINI, Emilli Karine. BIOTECNOLOGIA PARA O DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAIS. *Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente*, v. 2, n. 3, p. 8-8, 2021.

MENTOR, S.; CUMMINGS, F.; FISHER, D. Preparation of biological monolayers for producing high-resolution scanning electron micrographs. *PloS One*, v. 17, n. 7, e0266943, 2022. DOI: 10.1371/journal.pone.0266943.

MESQUITA, Amanda Silva Sampaio et al. Infecção relacionada à assistência à saúde em Unidade de Terapia Intensiva. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, v. 23, n. 8, p. e13099-e13099, 2023.

MIQUELETTTO, Juliana Aparecida et al. Perfil bacteriano, resistência antimicrobiana e infecções secundárias em pacientes com Covid-19: revisão integrativa. *Arquivos de Ciências da Saúde*, v. 30, 2023.

MONTEIRO, Mayra KS et al. Novel cork-graphite electrochemical sensor for voltammetric determination of caffeine. ***Journal of Electroanalytical Chemistry***, v. 839, p. 283-289, 2019.

MONTEIRO, M. D. S.; SANTOS JÚNIOR, J. C.; SUSSUCHI, E. M. Eletroquímica: Eletrodos Modificados e suas Potencialidades. *Revista Virtual Química*, v. 12, p. 1145, 2020.

MOHAMED, Mona A. et al. Novel MWCNTs/graphene oxide/pyrogallol composite with enhanced sensitivity for biosensing applications. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 89, p. 1034-1041, 2017.

MURRAY, Christopher JL et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The lancet*, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.

NAKHJAVANI, Sattar Akbari et al. Advances in biosensor technologies for infectious diseases detection. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, p. 117979, 2024.

Naresh, Varnakavi; Lee, Nohyun. (2021). A Review on Biosensors and Recent Development of Nanostructured Materials-Enabled Biosensors. *Sensors*, 21, 1109. <https://doi.org/10.3390/s21041109>

NGASHANGVA, Lightson et al. Emerging bioanalytical devices and platforms for rapid detection of pathogens in environmental samples. *Micromachines*, v. 13, n. 7, p. 1083, 2022.

Oliveira<sup>1</sup>, J. M. Et Al. Nanosensor Eletroquímico A Base De Ácido Tiofeno Acético E Indolicidina Para A Identificação De Bactérias Patogênicas. *Inovações Para O Enfrentamento Da Covid-19*, P. 110, 2020.

OLIVEIRA JÚNIOR, Nelson Gomes de. Potencial antimicrobiano de catelicidinas de serpente e seus derivados. 2018.

OLIVEIRA, Nelson GJ et al. Physicochemical-guided design of cathelicidin-derived peptides generates membrane active variants with therapeutic potential. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 9127, 2020.

OLGAÇ, Nursel; ŞAHİN, Yücel; LİV, Lokman. Development and characterisation of cysteine-based gold electrodes for the electrochemical biosensing of the SARS-CoV-2 spike antigen. *Analyst*, v. 147, n. 20, p. 4462-4472, 2022.

PRATES, Fernanda I.F. et al. Agravos provocados pela resistência bacteriana: um problema de saúde mundial. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR*. Vol.32,n.2,pp.131-138, 2020.

PARDOUX, É.; BOTURYN, D.; ROUPIOZ, Y. Antimicrobial peptides as probes in biosensors detecting whole bacteria: A review. *Molecules*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute , 2020.

PALLARES-RUSIÑOL, Arnau et al. Advances in exosome analysis. *Advances in Clinical Chemistry*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, v. 112, p. 69-117, 2023.

PETROSILLO, Nicola; GRANATA, Guido. Gram negativos e resistência antimicrobiana: duas faces da mesma moeda. *Revista de Medicina Clínica*, v. 11, n. 19, p. 5574, 2022.

PUROHIT, B. et al. Biosensor nanoengineering: Design, operation, and implementation for biomolecular analysis. *Sensors International*, v. 1, n. July, p. 100040, 2020.

RANDVIIR, Edward P.; BANKS, Craig E. Uma revisão da espectroscopia de impedância eletroquímica para sensores bioanalíticos. *Analytical Methods*, v. 14, n. 45, p. 4602-4624, 2022.

RIBEIRO, Brayan Viana. Biossensores para detecção de resíduos de antibióticos em leite de bovinos: contextualização. 2021.

RIEGER, R. A.; PENHA, D. DE L. B.; TEIXEIRA, E. C. Waterborne diseases, basic sanitation, and health: Perspectives for Brazil's legal Amazon. *Review of Regional Studies*, v. 51, n. 1, p. 89–104, 2021.

RIZAL, N. S. M. et al. Advantages and limitations of 16S rRNA next-generation sequencing for pathogen identification in the diagnostic microbiology laboratory: perspectives from a middle-income country. *Diagnostics*, v. 10, n. 10, 2020.

RODENBURG, Hendrik P.; NGENE, Peter. DECiM: Determination of equivalent circuit models. **SoftwareX**, v. 27, p. 101807, 2024.

ROSSEN, J. W. A.; FRIEDRICH, A. W.; MORAN-GILAD, J. Practical issues in implementing whole-genome-sequencing in routine diagnostic microbiology. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 24, n. 4, p. 355–360, 2018.

SALEH, T. A. Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environmental Technology and Innovation*, v. 20, p. 101067, 2020.

SALOMÃO, Pedro Emílio Amador. Produção e Aplicação de Biossensores: Uma Breve Revisão. *Research, Society and Development*, v. 7, n. 3, p. e1373282-e1373282, 2018.

SANFELICE, Rafaela C.; PAVINATTO, Adriana; CORRÊA, Daniel S. Introdução à nanotecnologia. 2022.

SANTOS, Stella Ricardo dos. Avaliação da sensibilidade e especificidade de um biossensor para detecção de *Escherichia coli* em água. TCC (Bacharelado em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia) - Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, 2023.

SANYAL, Arka et al. Development in Biosensor-Based Diagnostics for Bacterial Diseases: Opportunities and Challenges. *Functional Smart Nanomaterials and Their Theranostics Approaches*, p. 197-239, 2024.

SARTOR, Elisiane de Bona et al. Emergência e ressurgimento de doenças infecciosas: Os desafios das fronteiras sanitárias. *Visão Acadêmica*, v. 23, n. 3, 2022.

SAXENA, Rahul; SRIVASTAVA, Sudha. Uma visão sobre o imunossensor impedimétrico e seu circuito elétrico equivalente. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 297, p. 126780, 2019.

SCHEFFER, M. et al. Demografia Médica no Brasil 2023. São Paulo, SP: FMUSP, AMB, 2023. 344 p. ISBN: 978-65-00-60986-8.

SHAHRIARI, Shiva et al. Graphene and Graphene Oxide as a Support for Biomolecules in the Development of Biosensors. *Nanotechnology, Science and Applications*, p. 197-220, 2021.

SHI, X. et al. Atomic force microscopy - Scanning electrochemical microscopy (AFMSECM) for nanoscale topographical and electrochemical characterization: Principles, 128 applications and perspectives. *Electrochimica Acta*, v. 332, 2020.

Singh, Amit Kumar; Mittal, Sweta; Das, Mangal; Saharia, Ankur; Tiwari, Manish. (2023). Optical biosensors: a decade in review. *Alexandria Engineering Journal*, 67, 673-691. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110016822008249>

Singh, Anoop et al. (2021). Recent Advances in Electrochemical Biosensors: Applications, Challenges, and Future Scope. *Biosensors*, 11, 336. <https://doi.org/10.3390/bios11090336>

SILVA, Winne FSM et al. Nanosensor based on HP-MAP1 and carbon nanotubes for bacteria detection. *Biotechnology Progress*, p. e3510.

SINGH, Rajan; KAR, Rajiv K. Propriedades dinâmicas do óxido de grafeno funcionalizado com L-cisteína. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 127, n. 35, p. 17438-17453, 2023.

SINGH, M.; KAUR, N.; COMINI, E. Role of Self-Assembled Monolayers in Electronic Devices. *Journal of Materials Chemistry C*, v. 8, n. 12, p. 3938–3955, 2020

SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA (SBQ). Esquema ilustrativo de um biossensor. SBQ, 2016. Disponível em: <http://qint.sbg.org.br>. Acesso em: 05 mar. 2025.

SOUZA E SILVA, P. et al. Synthetic peptides bioinspired in temporin-PTa with antibacterial and antibiofilm activity. *Chemical Biology and Drug Design*, v. 100, n. 1, p. 51–63, 1 jul. 2022.

TABUT, Mary; STISHENKO, Pavel V.; CALATAYUD, Monica. Modeling the self-assembly of L-cysteine molecules on the Au (111) surface: A lattice model approach. *Surface Science*, v. 757, p. 122740, 2025.

TAN, P.; FU, H.; MA, X. Design, optimization, and nanotechnology of antimicrobial peptides: From exploration to applications. *Nano Today*, v. 39, 2021.

TSAL, Wan-Yu et al. Sondando eletroquímica local por meio de curvas de voltametria cíclica mecânica. **Nano Energy**, v. 81, p. 105592, 2021.

TUON, Felipe Francisco et al. Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: a review. *Pathogens*, v. 11, n. 3, p. 300, 2022.

UPADHYAY, Jnanendra et al. Fabrication of flexible supercapacitor of Polypyrrole nanotubes embedded with Ruthenium oxide nanoparticles for enhanced electrochemical performance. ***Electrochimica Acta***, v. 503, p. 144858, 2024.

Velusamy, Karthik et al. (2022). Biosensor for heavy metals detection in wastewater: A review. *Food Chem Toxicol*, 168. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113307>

VASCONCELOS, Helena Catarina Araújo Soares Guedes et al. Development of optical biosensors for monitoring the deterioration fresh foodstuff. 2022.

VERMA, D. et al. Internet of things (IoT) in nano-integrated wearable biosensor devices for healthcare applications. *Biosensors and Bioelectronics: X*, v. 11, n. November 2021, p. 100153, 2022.

Wadhera, Tanu et al. (2019). Recent Advances and Progress in Development of the Field Effect Transistor Biosensor: A Review. *J. Electron. Mater.*, 48, 7635–7646. <https://doi.org/10.1007/s11664-019-07705-6>

WANG, A. et al. A novel electrochemical enzyme biosensor for detection of 17 $\beta$ estradiol by mediated electron-transfer system. *Talanta*, v. 192, p. 478–485, 2019.

XIAO, Jianliang et al. L-cysteine-reduced graphene oxide/poly (vinyl alcohol) ultralight aerogel as a broad-spectrum adsorbent for anionic and cationic dyes. *Journal of Materials Science*, v. 52, p. 5807-5821, 2017.

YAMADA, Hirohisa et al. Voltametria cíclica parte 1: fundamentos. *Electrochemistry*, v. 90, n. 10, p. 102005-102005, 2022.

ZHANG, Chunye; YANG, Ming. Antimicrobial peptides: from design to clinical application. *Antibiotics*, v. 11, n. 3, p. 349, 2022.

ZHANG, G. et al. Lateral force calibration for atomic force microscope cantilevers using a suspended nanowire. *Nanotechnology*, v. 31, n. 47, 2020.

ZHANG, Qi-Yu et al. Antimicrobial peptides: mechanism of action, activity and clinical potential. *Military Medical Research*, v. 8, p. 1-25, 2021.

ZHAO, H.; GAN, T. X.; LIU, X. D.; JIN, Y.; LEE, W. H.; SHEN, J. H.; ZHANG, Y. Identification and characterization of novel reptile cathelcidins from elapid snakes. *Peptides* 29 (10), 1685–1691. 2008.

ZHU, X.; SHI, L. Electrochemistry. In: *Nano-Inspired Biosensors for Protein Assay with Clinical Applications*, p. 209-236, 2019.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815053-5.00009-X>

ZURNANSYAH, Zurnansyah et al. Microstructural and optical properties of green-synthesized rGO utilizing *Amaranthus viridis* extract. In: *Materials Science Forum*. Trans Tech Publications Ltd, 2024. p. 3-8.