

Sensores Eletroquímicos e Biossensores: Seus Princípios Básicos de Funcionamento e Algumas Aplicações

Electrochemical Sensors and Biosensors: Their Basic Working Principles and Some Applications

Eduardo M. F. Amaral,^a Jean C. B. de Andrade,^a Leandro B. de Freitas,^b Gabriella T. L. Teixeira,^b João P. L. do Nascimento,^a Rogério V. Gelamo,^{a,b,c} Natália B. Leite,^{a,b,d} Jéferson A. Moreto^{a,b,d,*}

^a Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, Avenida Doutor Randolpho Borges Júnior, Univerdecidade, CEP 38064-200, Uberaba-MG, Brasil.

^b Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, Avenida Doutor Randolpho Borges Júnior, Univerdecidade, CEP 38064-200, Uberaba-MG, Brasil.

^c Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Instituto de Ciências Tecnológicas e Exatas, Avenida Doutor Randolpho Borges Júnior, Univerdecidade, CEP 38064-200, Uberaba-MG, Brasil.

^d Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Instituto de Ciências Exatas, Naturais e Educação, Avenida Doutor Randolpho Borges Júnior, Univerdecidade, CEP 38064-200, Uberaba-MG, Brasil.

*E-mail: jeferson.moreto.ufm@gmail.com

Recebido em: 25 de Maio de 2022

Aceito em: 14 de Julho de 2022

Publicado online: 13 de Setembro de 2022

Electrochemical sensors are a class of devices in which the transducer component is the electrode. These devices are often seen as an effective tool for studying chemical and biological systems. This work offers an overview of electrochemical sensors and biosensors, as well as their basic working principles and some applications. It is expected to motivate young researchers to develop new methodologies and materials for the electrochemical sensors area, allowing the expansion of possibilities and the realization of applied and innovative research.

Keywords: Analytical chemistry; electroanalytical; electrochemical sensors; electrodes; transducer component.

1. Introdução

O desenvolvimento dos sensores eletroquímicos promoveu uma grande revolução na química analítica, permitindo a detecção de vários parâmetros físicos, químicos e biológicos. Como reportado pela literatura, mais de 2000 mil dispositivos são desenvolvidos e publicados anualmente.¹⁻⁷ E, dentre todos estes dispositivos desenvolvidos, os sensores eletroquímicos constituem a classe de maior crescimento e são utilizados no setor agrícola, alimentício, farmacêutico etc.

Um sensor químico é um dispositivo que transforma uma informação química, desde a concentração de um determinado componente da amostra até sua composição total, em um sinal que pode ser transformado em dados analisáveis. Todo e qualquer sensor é composto por duas unidades básicas, um receptor e um transdutor.^{2,3} A Figura 1 mostra uma representação esquemática de um sensor eletroquímico e suas respectivas unidades básicas. O receptor é a parte quimicamente ativa do sensor, ou seja, é responsável por transformar a informação química em uma corrente elétrica. No que diz respeito ao transdutor, ele é responsável por transformar a corrente elétrica gerada pelo receptor em uma informação mensurável, denominada sinal analítico útil.

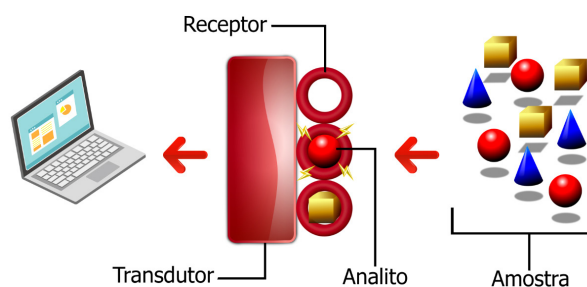


Figura 1. Representação simplificada de um sensor eletroquímico e suas unidades básicas. Os cones, as esferas e os cubos representam diferentes tipos de amostras. Fonte: Própria do Autor.

O constante desenvolvimento computacional, de instrumentação e da microeletrônica permitiu com que novos sensores pudessem ser obtidos com custos cada vez menores e com precisão cada vez maior. Dentre todos os tipos de sensores, os eletroquímicos merecem destaque,

uma vez que apresentam baixo custo de produção e uma boa detectabilidade.⁸⁻¹⁵ Os principais tipos de sensores eletroquímicos são os potenciométricos, amperométricos e condutimétricos.³⁻¹⁴ Os sensores potenciométricos permitem determinar o potencial elétrico de um eletrodo quando nenhuma corrente elétrica está presente. Por conseguinte, os sensores amperométricos medem os valores de corrente elétrica como o resultado de uma reação eletroquímica. E, finalmente, os sensores condutimétricos são baseados na medida da condutância específica de um determinado analito.¹⁴

A aplicabilidade destes sensores perpassa as áreas de análises ambientais, industriais e clínicas e, portanto, é imprescindível que a eletroanalítica seja bem desenvolvida e compreendida. Neste sentido, este trabalho tem como objetivo geral abordar as técnicas de detecção, seus princípios básicos de funcionamento e algumas aplicações, buscando contribuir com a comunidade científica envolvida nesta área de pesquisa.

2. Sensores Potenciométricos

Os sensores potenciométricos são dispositivos simples e de baixo custo. Dentre todos os sensores, os potenciométricos possuem o maior número de aplicações práticas, sendo utilizados como sensores de gases, íons e até de fármacos.¹⁵⁻¹⁸ Dentre os dispositivos potenciométricos, destaca-se o eletrodo de íon-seletivo, que é capaz de medir a atividade de uma espécie iônica em particular. O exemplo mais comum de sensor potenciométrico é o pHmetro, sendo utilizado a várias décadas devido à sua alta seletividade aos íons H⁺. Além disso, é importante mencionar o baixo custo e a simplicidade do sensor mencionado.

Uma leitura potenciométrica é a medida de uma diferença de potencial elétrico produzida entre dois eletrodos em uma célula galvânica, sem que haja a ação de correntes externas significativas. O primeiro eletrodo é chamado de eletrodo de referência (ER), cujo potencial é conhecido, constante e independente da composição da solução do analito. O eletrodo de trabalho (ET), também conhecido como indicador, é o eletrodo no qual o potencial será medido e a sua resposta é dependente da concentração do analito. Quando em conjunto, ER e ET formam uma célula eletroquímica cuja diferença de potencial elétrico será determinada pela atividade da espécie iônica de interesse. Baseado nesse princípio, os sensores potenciométricos são capazes de determinar a presença e a concentração de um determinado íon.¹⁹⁻²³

3. Sensores Amperométricos

Uma medição amperométrica consiste em registrar valores de corrente elétrica quando um determinado potencial elétrico é aplicado. Este grupo de sensores permite obter informações a partir da relação entre concentração

e corrente elétrica. Os sensores amperométricos também apresentam um custo relativamente baixo e grande seletividade. Devido a esse fato, é amplamente utilizado na indústria para detecção de gases desde os anos 1970, tanto em equipamentos fixos como portáteis, mostrando-se uma tecnologia robusta e segura.²⁴

4. Sensores Condutimétricos

O terceiro grupo de sensores eletroquímicos é a dos sensores condutimétricos, que registram a condutância da amostra. A condutância é um parâmetro recíproco à resistência, ou seja, ela mede a quantidade de corrente que passa pelo analito, por esse motivo também são chamados quimioresistores. Apesar de serem facilmente fabricados, os sensores condutimétricos apresentam uma grande complexidade na interpretação dos dados.¹²⁻²⁴

5. Eletrodos

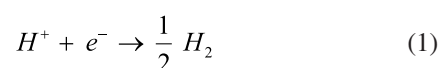
Nesta seção, proceder-se-á uma breve panorâmica sobre o conceito geral de eletrodo, bem como os principais eletrodos utilizados nas diversas técnicas eletroanalíticas para a caracterização dos materiais. De forma bastante informal, pode-se entender que o eletrodo é uma superfície sólida condutora, que quando colocado em contato com uma solução permite a troca de elétrons. Assim, quando ocorre o contato entre um condutor eletrônico (metal ou semicondutor) e um condutor iônico (solução ou óxido) tem-se a formação de um eletrodo.²⁵

5.1. Eletrodo de referência (ER)

O eletrodo de referência (ER), como o próprio nome diz, apresenta valores de potencial estáveis e bem conhecidos. Além disso, o potencial deve permanecer praticamente constante, ou seja, voltando ao seu valor inicial quando uma pequena corrente elétrica atravessa o eletrodo. O eletrodo padrão de hidrogênio, também conhecido como eletrodo normal de hidrogênio, ocupa o lugar de elemento de referência básica na eletroquímica, principalmente pelo seu valor de potencial ($E^\ominus = 0,00 \text{ V}$). Entretanto, o manuseio do eletrodo de hidrogênio é bastante difícil, fazendo com que o eletrodo de calomelano saturado (Hg, Hg₂Cl₂/KCl (sol. Saturada), $E^\ominus (25 \text{ }^\circ\text{C}) = + 0,244 \text{ V}$) e prata/cloreto de prata (Ag, AgCl/KCl (1 M), $E^\ominus (25 \text{ }^\circ\text{C}) = + 0,2224 \text{ V}$) sejam preferíveis em muitos experimentos.²⁵

5.2. Eletrodo padrão de hidrogênio (E_H)

O E_H é de importância primária na eletroquímica e é baseado na seguinte semirreação:



O E_H consiste em um fio ou placa de platina coberto com platina negra (óxido de platina) e uma solução eletrolítica contendo íons H^+ .²⁵ Todavia, o manuseio do E_H é bastante complexo, uma vez que apresenta elevada acidez (atividade unitária de íons H^+), borbulhamento de gás H_2 e ser extremamente frágil.

5.3. Eletrodo de Calomelano Saturado (ECS)

O eletrodo de calomelano saturado (ECS) foi introduzido por Ostwald em 1890, sendo um recurso valioso na eletroanalítica até os dias de hoje. A relevância deste eletrodo ocorre pela sua estabilidade e fácil manipulação, quando comparado ao E_H . O ECS é constituído de uma pasta de mercúrio/cloreto de mercúrio e cloreto de potássio distribuída em um tubo interno, conectado com uma solução de KCl presente no tubo externo.²⁵ Trata-se de um eletrodo mais robusto e com valor de potencial fixo e reproduzível face ao E_H . Além disso, a conversão de valores lidos é bastante fácil. A meia-reação para este pode ser escrita como:



5.4. Eletrodo de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl)

Este eletrodo é bastante utilizado devido a sua praticidade, confiabilidade e por apresentar uma construção bastante simples, similar ao ECS. Consiste em um fio de prata (Ag) recoberto com cloreto de prata (AgCl) e em contato com uma solução saturada de KCl. A meia-reação para este eletrodo pode ser escrita como:



5.5. Eletrodo de trabalho ou indicação (ET)

Como mencionado anteriormente, eletrodo é um condutor eletrônico em contato com um condutor iônico. O ET pode ser, portanto, qualquer material que permita a mobilidade de cargas, como um metal ou qualquer outro material de boa condutividade elétrica. O condutor iônico, na maioria das vezes, é uma solução eletrolítica. Entretanto, o termo eletrodo pode significar, em um sentido mais estreito, apenas o condutor eletrônico. De uma forma bastante simplificada, pode-se dizer que o eletrodo é um condutor imerso em uma solução eletrolítica. Os formatos mais comuns para o ET são o de disco e o esférico, entretanto, também é possível encontrar eletrodos nas mais diversas formas como cilindros, lâminas, grades, esponjas, anéis ou placas retangulares.²⁴

6. Biossensores

6.1. Definição

O biossensor é um dispositivo integrado capaz

de fornecer informações analíticas quantitativas ou semiquantitativas específicas, usando um elemento de reconhecimento biológico (receptor bioquímico), como enzimas, anticorpos, receptores de drogas ou até DNA, que é retido em contato espacial direto com um elemento de transdução eletroquímico.²⁶⁻²⁷ Devido ao reconhecimento específico entre o receptor bioquímico e a molécula a ser testada, o conversor de sinal converte a molécula alvo e seu sinal de resposta em sinais elétricos, como capacitância (C), corrente elétrica (i), potencial (E), condutividade (σ) e assim por diante. Assim, a detecção qualitativa ou quantitativa do analito alvo pode ser realizada. A detecção pode ser realizada via técnicas voltamétricas (VC, DPV e voltametria linear de varredura (LSV)).²⁸⁻²⁹

O transdutor do sensor serve para transferir o sinal de saída do sistema de reconhecimento para o domínio elétrico e, na sua forma mais básica, é um dispositivo que converte um tipo de energia em outro. O transdutor também é chamado de detector, sensor ou eletrodo e fornece uma transferência de sinal bidirecional. O principal objetivo do sistema de reconhecimento é fornecer ao sensor uma alta seletividade para que o analito seja medido. Embora, todos os biossensores sejam seletivos para um analito específico, alguns são, por projeto e construção apenas específicos de classe, uma vez que utilizam enzimas específicas ou células inteiras e, dessa forma, a resposta eletroquímica do biossensor deve ser específica para um analito de alvo específico. O tempo de resposta do biossensor eletroquímico deve ser muito pequeno para que ele possa registrar muito rapidamente quaisquer alterações que ocorram no analito alvo.²⁸

Devido à sua alta seletividade, sensibilidade, estabilidade, tempo de resposta rápido e baixo custo, os biossensores apresentam aplicações em diversos setores, tais como: alimentos (patógeno, aditivos), monitoramento ambiental (poluição tóxica) e diagnósticos clínicos (glicose no sangue, colesterol, dopamina).³⁰⁻⁴⁰ Os biossensores são ferramentas práticas e econômicas, que desempenham funções importantes na análise de compostos específicos em ensaios biológicos. Além disso, podem ser miniaturizados em pequenos dispositivos, aplicáveis para uso doméstico ou como dispositivos de auxílio na área biomédica.

A área de biossensores teve início no ano de 1962 com o projeto de biossensor de glicose oxidase (GOx), introduzido por Clark & Lyons, tornando-se amplamente conhecido como sensor de primeira geração.⁴² A GOx é uma enzima flavina típica com dinucleotídeo de flavina adenina (FAD), consistindo em duas cadeias polipeptídicas idênticas, cada uma contendo um centro redox FAD.^{43,44} A Figura 2 mostra uma representação da enzima GOx com o dinucleotídeo FAD.

A Figura 3 apresenta um desenho esquemático de um biossensor de primeira geração. Em suma, a GOx oxidaria β -D-glicose a β -D-gluconolactona, com redução simultânea de FAD a $FADH_2$ (vide Eqs. 4 e 5). Finalmente, uma diferença de potencial elétrico aplicada na superfície do

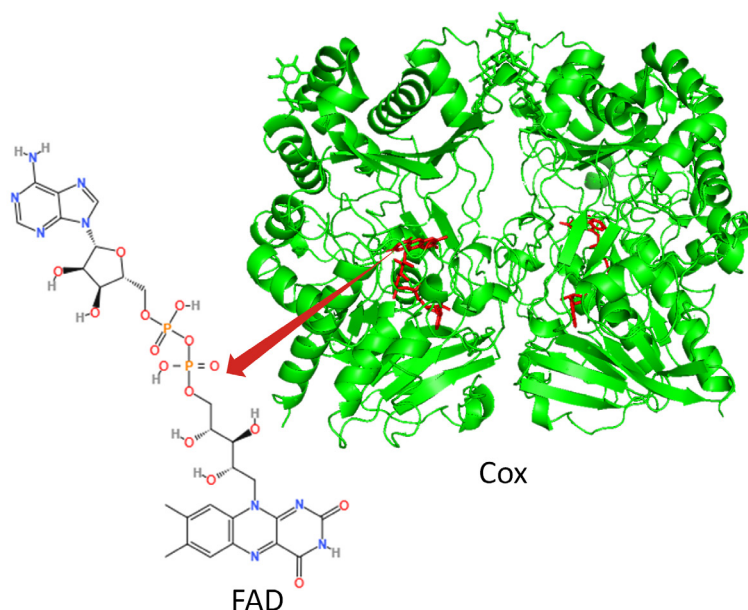


Figura 2. Imagem ilustrativa da enzima GOx e em destaque a fórmula estrutural da FAD. A imagem de GOx foi obtida pelo software PyMOL por meio de dados do Protein Data Bank (PDB).

eletrodo induziria a oxidação do H_2O_2 , produzindo um sinal elétrico. A reação que acontece na interface do eletrodo e que permite a determinação de H_2O_2 pode ser representada pela Eq. 6. Desta forma, pode-se dizer que a determinação de glicose a partir da GOx está diretamente relacionada à concentração de H_2O_2 .^{45,46}



Como reportado pela literatura, uma questão fundamental a ser considerada, no que diz respeito aos sensores de primeira geração, é a dificuldade de mensurar H_2O_2 em determinados sistemas, requerendo a utilização de valores de potenciais relativamente altos, comprometendo a seletividade dada pela catálise enzimática.^{47,48} Além disso, um sensor “ideal” seria aquele que permite a transferência de elétrons livremente entre o centro redox da proteína e o circuito.⁴⁹ Entretanto, essa situação não pode ser verificada para o caso da GOx.

Os primeiros sistemas de detecção de glicose foram baseados na enzima GOx, uma vez que a maneira mais simples de acoplar reações enzimáticas e eletroquímicas é através da detecção de um co-substrato ou subproduto de uma dada reação enzimática.⁵⁰ Todavia, com o avanço científico e tecnológico na área, descobriu-se que todos os fluidos biológicos, apresentam uma série de compostos que podem ser facilmente oxidados na platina em potenciais semelhantes, produzindo sinais falsos positivos. Assim, surgiram os sensores de segunda geração.⁵⁰ Os sensores de segunda geração são baseados na utilização de mediadores de elétrons, ou seja, no uso de materiais que possibilitam

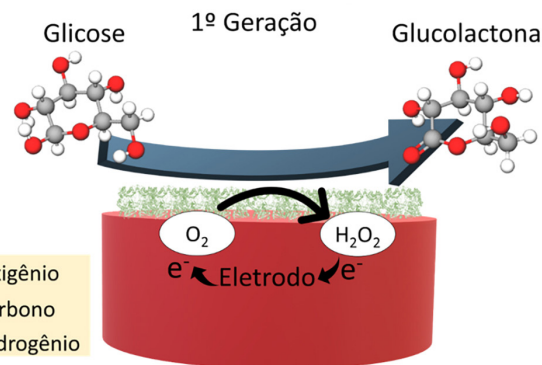


Figura 3. Esquema de biossensor de GOx, mostrando a platina como eletrodo base e a membrana de poliuretano. Fonte: Própria do Autor.

uma comunicação entre o sítio ativo da enzima e o eletrodo. A utilização de mediadores garante um gradiente de potencial adequado e uma boa estabilidade. O ferroceno ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{Fe}$) é um composto organometálico de ferro com dois anéis ciclopentadienil, sendo amplamente utilizado como mediador.⁵¹ Isso se deve ao fato de suas propriedades de reversibilidade e pelo seu potencial de oxidação de $\approx 0,4 \text{ V}$ versus E_{ECS} . Todavia, como mencionado pela literatura,⁵² esta configuração pode apresentar problemas de interferência, ou seja, sobreposição da transferência de elétrons proveniente das reações redox paralelas àquelas entre a enzima e o substrato. Além disso, o uso de mediadores solúveis torna-se inviável quando os biossensores são projetados para o uso *in vivo*. A Figura 4 mostra uma representação esquemática da transferência de elétrons em sensores amperométricos de glicose. Como será apresentado nos próximos itens deste trabalho, uma outra forma de reduzir os valores do potencial elétrico está intimamente relacionada com a imobilização

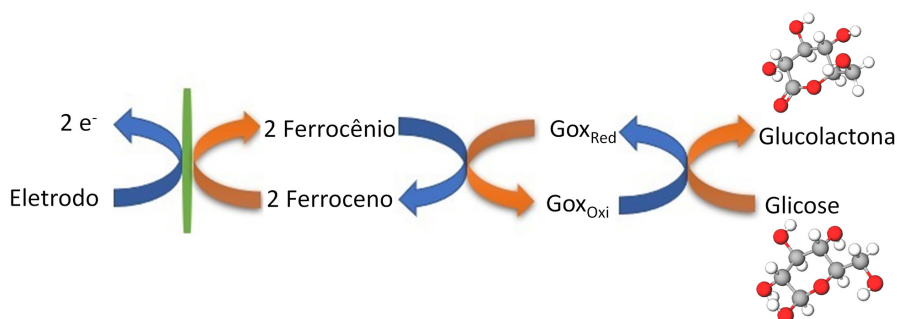


Figura 4. Representação esquemática de um biossensor de segunda geração. A imagem foi adaptada do trabalho de Kobayashi *et al.*⁵³

de enzimas em materiais nanoestruturados, o que facilitará o transporte de elétrons entre o sítio ativo da enzima e o eletrodo.

Os biossensores da terceira geração envolvem a comunicação elétrica direta entre o centro redox da enzima e o eletrodo, gerando uma resposta elétrica, apresentando alta sensibilidade e seletividade.⁵⁴ Tais características se devem ao fato de que é possível operar em uma janela de potencial mais próxima do E_{redox} da enzima e a facilidade da troca de elétrons entre o centro redox da enzima e o eletrodo.

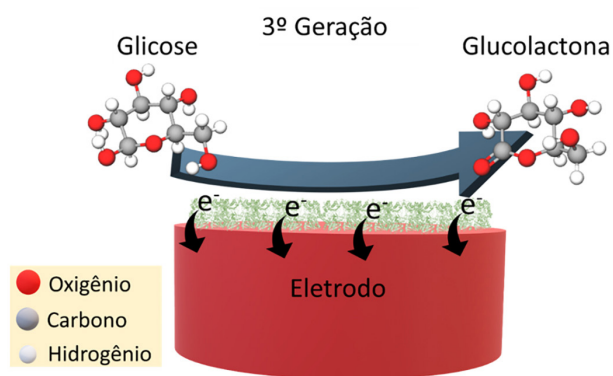


Figura 5. Mecanismo de ação de um sensor de 3ª geração. A imagem foi adaptada do trabalho de Priyanki Das *et al.*⁵⁴

7. Classificação dos Biossensores

Os biossensores podem ser classificados de acordo com a especificidade do componente biológico utilizado como receptor e pelo modo de transdução de sinal físico-químico. O elemento de reconhecimento biológico pode ser baseado em uma reação química catalisada ou em uma reação de equilíbrio com macromoléculas que foram isoladas, projetadas ou presentes em seu ambiente biológico original.²⁸ Neste último caso, o equilíbrio é geralmente atingido e não há mais reações (se houver consumo líquido de analitos pelo agente imobilizado incorporado ao sensor). Os biossensores podem ser ainda classificados de acordo com os analitos ou reações que monitoram.⁵⁵

Bioreceptores geralmente são moléculas de proteína que estão presentes na membrana celular, à qual os analitos alvo

se ligam especificamente. Como exemplos de bioreceptores pode-se citar: as enzimas, os antígenos e anticorpos, os micro-organismos ou pequenas células e o DNA.⁵⁵ Os biossensores, podem ser classificados quanto ao mecanismo de interação da molécula imobilizada com o analito, como biocatalítica ou bioafinidade.

7.1. Biocatalítico

O biossensor biocatalítico baseia-se em uma reação catalisada por macromoléculas, que estão presentes em seu ambiente biológico original e que foram isoladas anteriormente ou fabricadas. Em outras palavras⁵⁶, em plataformas biocatalíticas, uma enzima atua como um elemento sensível e um sinal elétrico é produzido através de uma reação catalítica específica. Os sensores biocatalíticos são normalmente dispositivos fáceis de usar, compactos e baratos. Além disso, também podem ser facilmente adaptados para análises clínicas automáticas e/ou industriais.⁵⁷ Nos biossensores biocatalíticos diversas reações acontecem no meio ($S + S' \rightarrow P + P'$) e para explicar as reações entre o analito e o sensor algumas estratégias podem ser adotadas.⁴³ A primeira seria por meio do consumo do co-substrato S' e seu sinal correspondente que decai de seu valor inicial. A segunda seria a reciclagem de P , um dos produtos da reação e aumento de seu sinal respectivo. A terceira estratégia ocorreria pela detecção do estado do centro ativo redox biocatalítico na presença do substrato, usando-se um mediador imobilizado que reage suficientemente rápido durante a catálise, como por exemplo o Ferroceno ($C_{10}H_{10}Fe$), complexos de Ru e Quinonas.²⁸ Essa estratégia foca em reduzir a dependência da resposta do sensor pelo co-substrato e diminuir a influência de possíveis interferências no meio. E a última estratégia constitui a transferência direta de elétrons entre o sítio ativo de uma enzima redox e o transdutor eletroquímico. As moléculas comumente utilizadas são as enzimas, células inteiras, organelas celulares e tecido animal ou vegetal.

As enzimas vêm sendo usadas na fabricação de biossensores durante décadas e na determinação da concentração de diversos analitos. Hoje, são comercializadas em altos níveis de pureza, com preços acessíveis, tornando-se atraentes para produção em massa de biossensores.

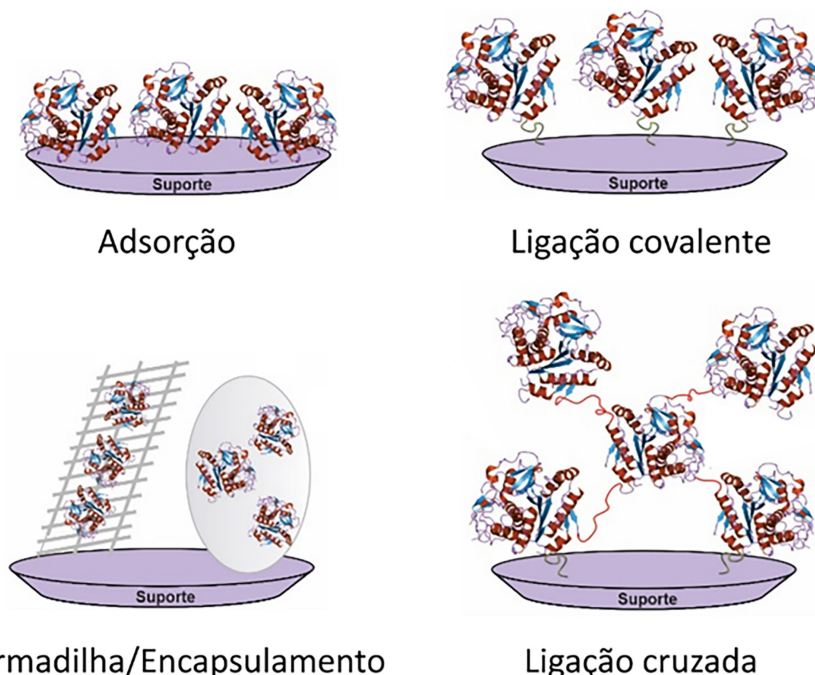


Figura 6. Alguns métodos para imobilização de enzimas na superfície de eletrodos. Fonte: Própria do Autor.

Os métodos básicos de imobilização de enzimas e outras moléculas aos receptores são: adsorção, ligação covalente, oclusão (armadilha/encapsulamento) e ligação covalente cruzada (cross-linking) (vide Figura 6).

7.1.1. Métodos para imobilização de enzimas na superfície de eletrodos

A adsorção é um método simples e rápido para a fabricação de biossensores enzimáticos, podendo ser de dois tipos: adsorção física (fisiossorção) e adsorção química (quimissorção). A fisiossorção é geralmente fraca e envolve ligações de Hidrogênio e a formação de ligações de van der Waals. A quimissorção é muito mais forte e envolve a formação de ligações covalentes. A natureza das forças envolvidas na imobilização por adsorção resulta em um processo que pode ser revertido, mudando as condições que influenciam a força da interação (pH, força iônica, temperatura ou polaridade do solvente). A imobilização por adsorção é um processo leve e fácil de realizar, e geralmente preserva a atividade catalítica da enzima. Desta maneira, os métodos citados são economicamente atraentes. O método de aprisionamento é baseado na oclusão de uma enzima dentro de uma rede polimérica, permitindo a passagem do substrato e dos produtos. Observa-se que a enzima não está ligada à matriz ou membrana. Existem diferentes abordagens para a fixação de enzimas, como a fixação de gel ou fibra e microencapsulação. O uso prático desses métodos é restrito por limitações de transferência de massa através de membranas ou géis.^{58,59}

A preparação via *cross-linking* envolve a simples precipitação (agregação física) das enzimas contidas em um tampão aquoso com um precipitante (um sal, um polímero iônico/não iônico ou um solvente orgânico). A agregação

(precipitação) de enzimas induzidas pela adição de um precipitante a uma solução aquosa de enzimas é comumente usada na purificação tradicional de proteínas. A agregação física de moléculas de enzimas em microestruturas pode ser induzida sem a desnaturação da estrutura tridimensional por adição de um precipitante. A ligação via *cross-linking* das enzimas são covalentemente conectadas umas às outras por ligações cruzadas e podem ser parcialmente categorizadas como ligações covalentes. Este método permite a formação de estruturas em miniatura que consistem em enzimas polimerizadas e agregadas com o nome de CLEAs (do inglês, *Cross-Linked Enzyme Aggregates*). Este método de imobilização é bastante simples e não requer enzimas altamente purificadas.^{58,59}

A imobilização de proteínas por métodos baseados na formação de ligações covalentes está entre as mais utilizadas. Uma grande variedade de reações é desenvolvida com base nos grupos funcionais disponíveis na matriz. Os métodos de acoplamento em geral podem ser divididos em duas classes principais: (i) ativação da matriz por adição de uma função reativa a um polímero e (ii) modificação da estrutura principal do polímero para produzir um grupo ativado. Os processos de ativação são geralmente projetados para gerar grupos eletrofílicos sobre o suporte que na etapa de acoplamento reagem com os fortes nucleófilos nas proteínas.⁵⁹ Os princípios básicos que controlam o curso do acoplamento covalente das matrizes são análogos àqueles utilizados para a modificação química das proteínas. As reações mais utilizadas envolvem: as cadeias laterais dos aminoácidos: lisina (grupo ϵ -amino), cisteína (grupo thiol), ácidos aspárticos e glutâmicos (grupo carboxílico).⁶⁰ Uma vantagem de utilização desses métodos é que, devido à natureza estável das ligações

formadas entre enzima e matriz, a enzima não é liberada na solução no momento do uso. No entanto, para alcançar altos níveis de estabilidade, os resíduos de aminoácidos essenciais para a atividade catalítica não devem estar envolvidos na ligação covalente com o suporte, o que pode ser um requisito difícil de cumprir em alguns casos. Um procedimento simples, que às vezes melhora o rendimento da atividade é realizar a reação de acoplamento na presença de análogos de substrato. Existem muitos suportes disponíveis comercialmente para a imobilização. Entretanto, a melhor escolha requer a consideração de algumas propriedades relevantes da enzima e do uso pretendido.⁵⁹⁻⁶¹

7.2. Bioafinidade

Os sensores de afinidade usam a ligação seletiva e forte de biomoléculas, como anticorpos, receptores de membrana ou oligonucleotídeos, com um analito alvo para produzir um sinal elétrico mensurável.⁵⁷ Assim, o equilíbrio é geralmente atingido e não há mais consumo líquido do analito pelo agente biocomplexante imobilizado.²⁸ Essas respostas de equilíbrio são monitoradas pelo detector integrado. Em alguns casos, essa reação biocomplexante é monitorada por si só, usando uma reação biocatalítica complementar. Sinais de estado estável ou transitório são então monitorados pelo detector integrado. Baseando-se no equilíbrio das reações, eles geralmente apresentam uma faixa de operação linear muito estreita de concentração e são muitas vezes incapazes de monitorar continuamente a concentração de analitos. Além disso, alguns desses biossensores podem ser difíceis de operar em uma matriz biológica, porque sua camada de sensoriamento deve estar em contato direto com a amostra, e porque pode não ser possível incorporar uma membrana externa para separar o elemento sensorial da matriz amostral. Um exemplo desse tipo de interação é o antígeno-anticorpo (Ag-Ac).²⁸

7.3. Anticorpo – Antígeno

O biossensor à base de anticorpos e antígenos é conhecido como imunossensor. A interação entre antígeno (Ag) a um anticorpo específico (Ac) acontece semelhante à interação de chave e fechadura, na qual o antígeno se liga ao anticorpo se tiver conformação correta. Os anticorpos podem ser monoclonais, policlonais ou recombinantes, dependendo das propriedades e síntese. A formação dos complexos Ac-Ag deve ser detectada em condições em que as interações não específicas são minimizadas.²⁸ Cada determinação Ag requer a produção de um Ac particular. Algumas das desvantagens do uso de anticorpos nos biossensores são a capacidade de ligação dos anticorpos afetados pelo pH e pelas condições de temperatura. Com o propósito de aumentar a sensibilidade dos imunossensores, filmes contendo enzimas são adicionadas no Ac ou Ag, exigindo assim etapas adicionais de síntese química.

Mesmo no caso do Ac com a adição de filmes enzimáticos, esses biossensores essencialmente operam em equilíbrio, a atividade enzimática é utilizada para quantificar a quantidade de complexo produzido. Como a constante de ligação ou afinidade é geralmente maior, tais sistemas são ou irreversíveis (biossensores de uso único), ou colocados dentro de um ambiente onde Ac pode ser regenerado por dissociação de complexos por agentes caotrópicos.^{28-29,58}

8. Transdutores

O transdutor desempenha um papel importante no processo de detecção do biossensor e converte o sinal biológico ou químico em um sinal elétrico. A escolha deles dependerá do material biológico imobilizado na superfície sensorial e das propriedades de cada amostra de interesse. Dependendo do tipo de transdutor usado, eles são classificados como eletroquímico (movimento e difusão de íons), podendo ser amperométricos, potenciométrico, condutimétrico ou impedimétrico, óptico (absorção de radiação), piezoelétrico (alteração de massa, ondas e acústica) e calorimétrico (absorção ou emissão de radiação eletromagnética).²⁸

8.1. Transdutores Eletroquímicos

Transdutores eletroquímicos têm como vantagens o baixo custo, boa sensibilidade e seletividade, possibilitando de uso em ambientes turvos e potencial de miniaturização para a detecção de diversos analitos.²⁹ A interação entre os eletrodos do sensor (transdutor) e a amostra contendo o analito, provoca mudanças no meio e movimentações de elétrons, gerando uma diferença de potencial e corrente elétrica dos quais são medidos. Pelo tipo de grandeza medida são classificados em amperométricos (corrente), potenciométricos (potencial), condutimétricos (condutância) e impedimétricos (impedância).

8.1.1. Transdutores amperométricos

Transdutores amperométricos mensuram a corrente elétrica proveniente do processo oxidativo ou redutivo de uma espécie eletroativa, no ato de transferência dos elétrons entre o substrato e o transdutor. Geralmente o processo é realizado mantendo um potencial constante em um eletrodo de trabalho (Platina (Pt), Ouro (Au) ou Carbono (C)) ou uma matriz de eletrodos em relação a um eletrodo de referência, que também pode servir como eletrodo auxiliar, se as correntes forem baixas. A corrente resultante está diretamente correlacionada com a concentração da espécie eletroativa ou sua taxa de produção ou consumo dentro da camada biocatalítica adjacente. Como as taxas de reação biocatalítica são frequentemente escolhidas para serem de primeira ordem, dependentes da concentração de analitos em massa, tais correntes de estado são geralmente proporcionais à concentração de analitos em massa.²⁸⁻²⁹

8.1.2. Transdutores potenciométricos

As medidas potenciométricas envolvem a determinação da diferença potencial entre um eletrodo indicador e um eletrodo de referência ou dois eletrodos de referência, separados por uma membrana permeável, quando não há corrente significativa fluindo entre eles. O transdutor (eletrodo indicador) pode ser um eletrodo seletivo de íons, que é um sensor eletroquímico baseado em filmes finos ou membranas seletivas com elementos de reconhecimento específicos. Os dispositivos potenciométricos mais comuns são os eletrodos de pH e vários eletrodos seletivos de íons ou gás. As diferenças potenciais entre estes eletrodos indicador e a referência são proporcionais ao logaritmo da atividade de íon ou fugacidade gasosa (ou concentração), conforme descrito pela equação Nernst-Donnan. Neste caso quando, **(i)** a seletividade da membrana ou camada é infinita, **(ii)** quando houver uma concentração constante ou suficientemente baixa de íons interferentes e **(iii)** as variações de diferenças de potencial nos limites de fase são insignificantes ou constantes.^{28,29}

8.1.3. Transdutores condutimétricos

Transdutores condutimétricos são baseados na medição de condutância, ou seja, sempre que ocorre uma mudança na concentração iônica de um analito, há uma mudança subsequente na condutividade elétrica da solução ou alterações no fluxo da corrente. Possui vantagens importantes comparados a outros transdutores eletroquímicos: não precisam do uso de um eletrodo de referência, operam em voltagem alternada de baixa amplitude, são insensíveis à luz e podem ser miniaturizados e integrados facilmente, usando uma tecnologia padrão e barata por deposição de filmes finos. No que diz respeito às limitações: o sinal obtido depende significativamente da temperatura, não são estáveis e as amostras analisadas não devem ser diluídas. Ademais, a sensibilidade do método é reduzida na presença de íons não reagentes em solução e sua baixa especificidade é incapaz de distinguir reações simultâneas.^{58,62,63}

8.1.4. Transdutores impedimétricos

Os transdutores impedimétricos são aqueles capazes de medir a impedância, $Z(\omega)$, do sistema no estado de equilíbrio. A técnica consiste, basicamente, em aplicar uma diferença de potencial alternada, $E(t)$, no eletrodo de trabalho e ter como resposta uma corrente elétrica alternada, $i(t)$. A razão $E(t)/i(t)$ é o que chamamos de $Z(\omega)$ do sistema. As medições são realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato e uma célula eletroquímica, contendo um compartimento de três eletrodos, a citar: ET, CE e ER. Como reportado pela literatura,⁶⁵⁻⁶⁸ em biossensores impedimétricos, o potencial alternado não ultrapassa o valor de $10 \text{ mV}_{\text{rms}}$ e as razões citadas são: **(i)** apenas para perturbações pequenas institui-se uma relação linear entre o potencial e a corrente elétrica, **(ii)** a camada biológica de reconhecimento do dispositivo apresenta energias de ligação da ordem de 1 a 3 eV, ou de natureza menos energética,

de modo que valores altos de potencial aplicado poderiam remover essa camada do sensor. Os espectros de impedância podem ser apresentados através dos diagramas de Nyquist e Bode que podem fornecer importantes informações sobre o sistema eletrodo-eletrólito, bem como valores das grandezas associadas a esse sistema, tais como resistência do eletrólito e do eletrodo de trabalho, capacitância da dupla camada elétrica, resistência à transferência de cargas etc.⁶⁶⁻⁶⁷

8.2. Transdutores ópticos

Os transdutores ópticos são baseados nas modificações das propriedades ópticas, permitindo quantificar a concentração do analito alvo por meio de alterações na luz observada e/ou emitida por um sistema reacional, seja biológico ou químico. Diversos fenômenos físico-químicos podem ser observados como: absorção, índice de refração, fluorescência, fosforescência e refletividade. São construídos a partir de componentes ópticos eletrônicos padrões como os diodos emissores de luz (do inglês, *light-emitting diode* - LEDs), *lasers* e detectores (fotodiodos), além de filtros e lentes. Medições de intensidade de luz podem ser lidas diretamente ou podem ser interpretadas por circuitos analógicos ou digitais padrão. Sondas de fibras ópticas com enzimas e corantes co-imobilizados nas suas pontas são utilizadas nestes sensores (transdutores).^{59,69} As sondas são constituídas de no mínimo duas fibras, sendo uma conectada a uma fonte de luz, onde é produzida uma onda de excitação e a outra é conectada a um fotodiodo que detecta a mudança da densidade óptica no comprimento de onda apropriado. Oferecem vantagens em termos de miniaturização, baixo custo, descartabilidade e sem interferência elétrica. Como os sensores de fibra são feitos de vidro, eles são ambientalmente robustos, e podem tolerar altas temperaturas, vibrações, choques e outras condições adversas. Eles também são vistos como relativamente seguros e biocompatíveis para uso dentro do corpo humano.⁶⁸⁻⁶⁹

8.3. Transdutores piezoelétricos

Os transdutores piezoelétricos são utilizados para a determinação de diversos analitos. A análise é possível através da resposta piezoelétrica determinada pela diminuição da frequência de oscilação de um cristal, resultante do processo de adsorção das moléculas à superfície do cristal quando se aplica uma corrente em sua superfície. As oscilações podem ter muitas aparências, dependendo do material e outras condições, tais como: contato elétrico, forma dos cristais etc. Tais oscilações ocorrem em ondas adiabáticas, que normalmente, se espalham sobre a massa como a acústica.⁷⁰ Em aplicações analíticas padrão, as frequências de oscilações são medidas e a interação com o impulso elétrico do cristal ou eletrodo na superfície do cristal pode servir para a determinação do analito. O sinal obtido do dispositivo piezoelétrico é

condicionado a funcionalização da superfície do cristal, favorecendo a ligação de diversos bioreceptores (anticorpos, enzimas, DNA, entre outros).^{71,72} A técnica de QCM (do inglês, *Quartz Crystal Microbalance*), da qual é baseada o efeito piezoelétrico é classificada como um transdutor acústico, detectando a mínima alteração de densidade de massa e sendo bastante eficiente no desempenho desses dispositivos, usando a equação de Sauerbrey. Além disso, a técnica é bastante precisa, podendo detectar massas nanométricas. Nesses dispositivos, células vivas são anexadas a um filme de ouro contido na superfície do cristal de quartzo e servem como elemento de sensoriamento, onde a massa celular e propriedades viscoelásticas afetam a frequência de oscilação do cristal.⁷⁰⁻⁷² As células como elemento sensor têm a vantagem de possuir uma ampla gama de propriedades resultantes da interação de seus sistemas de membrana e receptor citoesquelético-nuclear para alterar sua distribuição de massa ou propriedades viscoelásticas, devido a sinais externos ou internos. Assim, as células podem detectar uma grande variedade de mudanças em seu ambiente, desde moléculas individuais (biossensores tradicionais) até alterações mais complexas (biossensores inteligentes). Essas propriedades inteligentes podem ser exploradas quando as células são usadas como elementos de detecção.⁷⁰⁻⁷²

8.4. Transdutores calorimétricos

Os transdutores calorimétricos exploram as características básicas das reações exotérmica ou endotérmica, utilizando o transdutor para converter energia térmica em sinal elétrico.⁷³ Normalmente, os biossensores térmicos empregam um método de análise de injeção de fluxo, utilizando um reator de enzima imobilizado, juntamente com uma medição de temperatura diferencial através do reator de enzima. A configuração envolve um par de transdutores térmicos, como termistores ou termopilhas, posicionados ao longo de uma coluna compacta com enzimas imobilizadas para a conversão de determinado substrato em produto. Este

sistema de medição gera uma alta taxa de fluxo, de modo que reduz bastante os efeitos das flutuações da temperatura ambiente, permitindo a medição específica de catálise enzimática.⁷⁴ Os sinais térmicos gerados durante a reação catalítica detectada pelo termistor são proporcionais à concentração do substrato. Geralmente, as mudanças de entalpia (ΔH) para catálise enzimática são em torno de -10 a -200 kJ/mol, permitindo a determinação de concentrações do substrato em níveis clinicamente interessantes para um gama de metabólitos.⁷³⁻⁷⁵ A detecção calorimétrica é vantajosa quando várias reações estão envolvidas, uma vez que é o somatório de todas as entalpias que determina a sensibilidade do ensaio. Termistores ou termopilhas são os sensores de temperatura mais comumente usados; o termistor é um transdutor de temperatura sensível, que depende de mudanças na resistência elétrica com a temperatura a partir da qual a temperatura absoluta pode ser determinada, possuindo sensibilidade limitada. As termopilhas medem a diferença de temperatura entre duas regiões. Termopilhas são o conjunto de junções de um termopar em série fabricada a partir de metais, semicondutores e vários substratos de componentes de semicondutores.⁷³⁻⁷⁵ Dos vários transdutores empregados na fabricação de biossensores os mais utilizados são os eletroquímicos, os piezoelétricos e os óticos. A Tabela 1 apresenta diferentes sistemas de transdução, seus respectivos modos de medição e algumas aplicações típicas.

9. Biossensores e os Complexos Inorgânicos

A incorporação de metais em estruturas orgânicas permite modificar propriedades e criar diversos compostos e até estruturas para usos como sensores eletroquímicos. Estudos baseados na síntese de sílica em gel modificada com óxidos metálicos demonstraram efetividade na produção de materiais de suporte para imobilização de mediadores para transferência de elétrons.¹¹⁰ Os metais de transição, de uma forma geral, participam de reações de oxirredução, seja em espécies inorgânica ou orgânica.¹¹¹

Tabela 1. Transdutores empregados em biossensores

	Sistema de Transdução	Modo de medição	Aplicações típicas
Eletroquímico	Condutimétrico	Condutância	Reações catalisadas por enzimas ⁷⁶⁻⁷⁸
	Amperométricos	Corrente	Substratos enzimáticos ⁷⁹⁻⁸² e sistemas Imunológicos ⁸³⁻⁸⁵ (Antígeno/anticorpo)
	Potenciométrico	Voltagem	Íons, ⁸⁵⁻⁸⁷ gases, ⁸⁸⁻⁷⁰ espécies redox ⁹¹⁻⁹³
	Impedimétrico	Impedância	Imunossensores enzimáticos ⁹⁴⁻⁹⁷
Piezoelétricos (Acústico)	Cristais piezoelétricos, equipamentos de superfície acústica	Variação de massa	Gases voláteis e vapores, ⁹⁸⁻¹⁰⁰ analitos imunológicos ¹⁰¹⁻¹⁰³
Óticos	Optoeletrônicos, fibras óticas, equipamento de ondas guiadas	Variação de luminosidade (luminescência, fluorescência), Índice de refração	pH, ¹⁰⁴⁻¹⁰⁵ substratos enzimáticos e analitos imunológicos ¹⁰⁶⁻¹⁰⁹

Óxidos de metais de transição, como óxidos à base de cobalto, estanho, ouro e lantânio têm sido utilizados para produção de sensores.¹¹²⁻¹¹⁶ A nanotecnologia também vem tendo um desenvolvimento rápido, permitindo a produção de nanomateriais com estruturas heterogêneas precisas.^{116,117} Modificar a superfície do eletrodo, pode permitir a redução de sobretensões e aumentar a transferência de elétrons, fator este que é desejável para reações redox.¹¹⁸⁻¹²⁰ Além disto, eletrodos quimicamente modificados (EQM) podem ser produzidos de forma a alterar não apenas a superfície, mas a composição do eletrodo como um todo, promovendo um aumento no desempenho e aprimorando a seletividade, sensibilidade e estabilidade do dispositivo.¹¹⁸

Para Stadnik e colaboradores, óxidos de cobalto aplicados a EQM's vêm tendo grande destaque, uma vez que apresentam características como alta potência, densidade de energia, ótima capacidade de ciclagens, reversibilidade, estabilidade e outras vantagens por apresentar estrutura em camadas e uma variação nos estados de oxidação.¹²¹ Para os eletrodos de superfície modificada, a escolha do material demonstra uma importante decisão, visto que o substrato deve ter características eletroquímicas que sejam apropriadas e correspondam ao método de imobilização a ser utilizado. A grande variedade de materiais e possibilidades combinatórias faz desta área um campo abrangente de atuação, dada a possibilidade de uso em ambientes hostis, como líquidos intracelulares e aplicações como ultramicroeletrodo na área da saúde.¹¹⁰

10. Carbono e suas Nanoestruturas em Biossensores Eletroquímicos

O carbono é um dos elementos mais versáteis da Terra e tem atraído muita atenção, especificamente devido à sua capacidade de formar diferentes tipos de estados de hibridização (sp , sp^2 e sp^3), tornando-o capaz de formar uma ampla gama de alótropos como o diamante que é o material mais duro já descoberto e grafite como o mais macio. Com o surgimento da nanotecnologia e com a descoberta dos fulerenos em 1985, as “*nanoestruturas de carbono*” têm sido objeto de intensas investigações. As propriedades proeminentes dos membros da família das nanoestruturas à base de carbono incluem os nanotubos de carbono (do inglês, *carbon nanotubes* – CNT), nanopartículas de carbono (do inglês, *carbon nanoparticles* – CNPs) e o grafeno.¹²² É importante salientar, que essas nanoestruturas apresentam boas propriedades elétricas, térmicas e mecânicas, bem como boa eficiência energética quando comparados aos materiais eletrônicos baseados no silício. Além disso, sua rápida cinética de transferência de elétrons, excelente condutividade e facilidade de biofuncionalização dão origem às inúmeras aplicações dos sensores.^{122,123} Os pontos de carbono (do inglês, *carbon dots* - CDs), classificado como um nanomaterial à base de carbono com 0D, apresentam excelente propriedade de luminescência,

boa estabilidade, são fáceis de serem preparados etc. Como reportado pela literatura, os CDs veem sendo utilizados como um bom material modificado para diversas aplicações como biossensores eletroquímicos.¹²⁴ O sistema microeletromecânico à base de carbono (do inglês, *carbon microelectromechanical system* - C-MEMS) e o sistema nanoeletromecânico à base de carbono (do inglês, *carbon nanoelectromechanical system* - C-NEMS) aparecem como tecnologias promissoras para uma ampla gama de aplicações na área de biotecnologia, incluindo os sensores eletroquímicos.¹²⁵ Ademais, os biossensores desenvolvidos exibiram baixos limites de detecção e amplas faixas lineares.

As técnicas eletroquímicas possuem propriedades notáveis como alta sensibilidade, rápido tempo de resposta, baixo custo, simplicidade instrumental, possibilidade de miniaturização e integração em dispositivos portáteis. Além disso, outra característica distintiva dos sistemas eletroquímicos é sua capacidade de detectar uma ampla gama de compostos, desde moléculas orgânicas, inorgânicas, iônicas ou neutras até íons metálicos. A combinação dessas propriedades fascinantes com as CNPs resultou em poderosas plataformas de detecção eletroquímica baseadas nos chamados eletrodos modificados por CNPs que são usados para a determinação de uma ampla gama de espécies de analito. Na última década, eletrodos modificados com CNPs foram aplicados para eletroanálise de vários compostos, considerando que eles podem fornecer técnicas de quantificação relativamente baratas, rápidas, altamente sensíveis, bastante seletivas e versáteis. Referente aos CDs, uma síntese bastante simples e econômica foi proposta por Abazar e colaboradores para a modificação do eletrodo de carbono vítreo para a detecção de insulina. Os resultados mostraram que a alta área superficial e a atividade catalítica dos eletrodos CQDs e GC/CQDs levaram a uma alta sensibilidade, seletividade e estabilidade em relação à oxidação da insulina.¹²⁶

10.1. Nanotubos de carbono (CNTs)

Os CNTs são compostos de unidades de carbono sp^2 e apresentam uma estrutura especial com dimensões radiais em nanoescala, dimensões axiais em escala de micrometro e um tubo basicamente selado em ambas as extremidades. Em outras palavras, os CNTs possuem uma estrutura única com propriedades elétricas e térmicas substanciais. Além disso, são conhecidos por serem inertes, altamente estáveis em uma ampla faixa de pH e não são afetados pela luz, O_2 ou CO_2 .¹²⁷ Os CNTs possuem uma alta relação superfície-volume, permitindo a detecção de espécies biológicas em baixas concentrações.¹²⁸ Assim, a imobilização de enzimas na estrutura dos CNTs melhora a sua atividade biológica, a sensibilidade e atividade catalítica.¹²⁸

Os CNTs são compostos unicamente de átomos de carbono dispostos em uma forma hexagonal para formar um tubo coaxial redondo com várias dezenas de camadas,

que podem ser divididos em nanotubos de carbono de parede múltipla (do inglês, *Multi-Walled Nanotubes* - MWCNTs) e nanotubos de carbono de parede única (do inglês, *Single-Walled Nanotubes* - SWCNT). Os SWCNTs apresentam propriedades interessantes em termos de módulo de elasticidade e resistência à tração, enquanto os MWCNTs possuem uma alta resistência ao processo de corrosão.¹²⁹ Os CNTs têm sido amplamente usados no campo de detecção eletroquímica, uma vez que suas superfícies são facilmente funcionalizadas.¹²³ Um estudo bastante inovador e aplicado foi realizado para o reparo de defeitos ósseos.¹³⁰ Sabendo que as estratégias existentes para o reparo de defeitos ósseos são difíceis de monitoramento e que os CNTs apresentam bioatividade e condutividade elétrica promissoras, os autores criaram um sistema de monitoramento não invasivo e inteligente para o processo regenerativo. Como mencionado pelos autores, o desenvolvimento desta pesquisa tornou-se um marco bastante importante para a área de engenharia de tecidos.¹³⁰ Quando aplicado a diagnóstico de doenças, os CNTs incorporam vários grupos funcionais, incluindo grupos carboxila e hidroxila.¹³¹ Desta forma, a alta densidade de grupos funcionais contendo oxigênio nas paredes laterais e as nanopartículas finamente dispersas podem ligar-se à superfície dos MWCNTs, aumentando a área eletroativa e a sensibilidade dos sensores eletroquímicos.¹³¹

Os SWCNT são comumente usados em biossensores para o melhoramento das propriedades elétricas. Sua enorme área de superfície pode aumentar a quantidade de enzimas imobilizadas, alargar as áreas de reação entre a enzima e o substrato, facilitar a condutividade elétrica e aumentar a resposta do sinal dos biossensores. Todas essas características citadas, sugerem que os SWCNT são capazes de estimular reações de transferência de elétrons para várias moléculas biológicas. Entretanto, a insolubilidade dos SWCNT pode ser problemática em algumas aplicações biológicas. Assim, visando solucionar este problema em soluções aquosas, alguns nanocompósitos com propriedades únicas de biocompatibilidade são usados juntamente com os SWCNT. Os MWCNT compreendem múltiplas camadas de cilindros de grafeno de parede única concêntricos, cuja estrutura é suportada por forças de Van der Waals com um espaçamento entre camadas de aproximadamente 3,4 Å. Os MWCNT têm uma estrutura de parede lateral semelhante ao plano basal do grafite e apresentam uma excelente condução e características eletrocatalíticas, sendo empregados como uma estrutura modificada em eletrodos.¹³²

10.2. Grafeno

Como reportado por Reddy e colegas, o grafeno é material precursor de todas as estruturas gráficas com diferentes níveis de organização, possuindo como características principais altos valores de condutividades elétrica e térmica, grande estabilidade eletroquímica, estabilidades térmica e mecânica, grande área superficial e

propriedades elétricas ajustáveis.¹³³ A natureza hidrofóbica do grafeno torna-o passível de formar agregações não reversíveis e até mesmo múltiplas ligações devido à força de van der Waals e à forte interação da ligação π - π . O óxido de grafeno (OG) e o óxido de grafeno reduzido (rOG) aumentam a hidrofobicidade da camada de grafeno, promovendo uma melhoria na condutividade elétrica e a facilitação de modificações superficiais para a imobilização de biomoléculas.¹³⁴ De acordo com Jiang *et al*, existem várias estratégias para funcionalizar nanomateriais à base de grafeno com biomoléculas, que podem ser divididas em duas categorias principais de acordo com o princípio da interação: (i) modificação não covalente e (ii) funcionalização covalente.¹³⁵ Hoje em dia, os sensores *all-in-one*, baseados em grafeno têm recebido grande atenção, o que expandiu muito a faixa de aplicação de tais sensores e forneceu novas ideias para métodos analíticos de detecção de múltiplos alvos. Esses sensores multifuncionais fazem uma combinação de reconhecimento de vários biomarcadores e diferentes leituras de sinal. A direção do desenvolvimento futuro de biossensores baseados em grafeno deve ser mais portátil, reproduzível, miniaturizado e de alto rendimento na detecção.¹³⁶

11. Redes Metalorgânicas (*Metal Organic framework* - MOFs)

As MOFs são uma classe de materiais cristalinos porosos de estrutura modular, com grande área superficial específica e excelente estabilidade química, que têm atraído grande atenção nas áreas de conversão e armazenamento de energia.¹³⁷ A Figura 7 apresenta um esquema simplificado de uma MOF. As características citadas anteriormente ampliam a área de atuação das MOFs, levando-as a serem utilizadas em catálise e sensores. Quando utilizadas como sensores, as MOFs apresentam outras vantagens, tais como: estabilidade, sensibilidade e limite de detecção. Deve-se salientar que a ligação química metal-ligante envolvida na formação de uma MOF é de natureza predominantemente covalente do tipo ácido/base de Lewis (íon metálico e ligante, respectivamente), visto que se trata de compostos de coordenação.¹³⁸⁻¹⁴² O processo de construção das MOFs ocorre através do empacotamento destas unidades secundárias básicas (SUBs), orgânica e inorgânica, a fim de obter propriedades específicas, gerando a possibilidade de alta seletividade do sensor ao analito.^{142,143} Avanços recentes na área dos sensores eletrônicos baseados em MOFs indicam que esta é uma área bastante promissora, já que as MOFs possuem propriedades únicas e estão acompanhando perfeitamente a demanda dos designs dos novos sensores.

Um dos avanços que merece destaque é a construção de um sensor eletroquímico para detecção de triptofano usando eletrodo de carbono de vidro modificado com Cs/Ce-MOF.¹⁴⁴ Como reportado pelos autores, o sensor

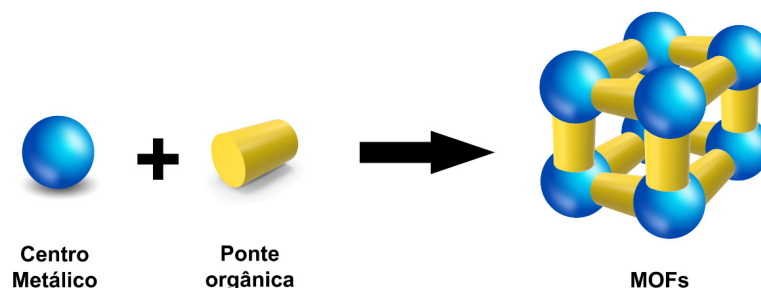


Figura 7. Esquema simplificado de uma MOF. Fonte: Própria do Autor.

eletroquímico apresentou excelente desempenho com uma ampla faixa linear (0,25–331 μM) e baixo limite de detecção (0,14 μM). De fato, os ótimos parâmetros se devem à boa capacidade de formação do filme, permeabilidade e sítios ativos ricos e acessíveis. Um outro estudo que mostra a aplicação de MOFs para a construção de sensores eletroquímicos foi desenvolvido por Liang *et al.*¹⁴⁵ No presente trabalho, os autores descreveram a fabricação de quatro tipos de estruturas via o método LBL (do inglês, *layer-by-layer*) de estruturas metalorgânicas de cobre (Cu-MOFs) no eletrodo de trabalho por eletrodeposição. Os resultados mostraram grande potencial para aplicações clínicas, podendo ser utilizado na determinação de IgG no soro humano. Usando uma estrutura metalorgânica e nanopartículas metálicas (Fe-MOF/Pt NPs), Saeb e Asadpour-Zeynali desenvolveram um sensor eletroquímico para a detecção rápida de Tinidazol.¹⁴⁶ Os resultados mostraram que o sensor eletroquímico fabricado possui boa repetibilidade, reprodutibilidade e excelente estabilidade para a determinação do Tinidazol (limite de detecção de 43 nM e faixa linear de 0,0196–524,956 μM). Ademais, como ressaltado pelos autores, o sucesso deste sensor eletroquímico está na determinação de Tinidazol em comprimidos e amostras biológicas. Estruturas bimetálicas orgânicas MnCo-MOF-74 derivadas de Co/MnO@HC permitiu a construção de um sensor eletroquímico para a determinação de glicose livre de enzimas.¹⁴⁷ O sensor apresentou uma boa atividade eletrocatalítica para a glicose na faixa de 50–900 μM e 1,9–6,9 mM com sensibilidade de 233,8 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ e limite de detecção de 1,31 μM .

Os exemplos de aplicações das MOFs demonstram, mais uma vez, a importância delas para o desenvolvimento da área de sensores eletroquímicos. No geral, como pode ser verificado neste trabalho de revisão, os sensores eletroquímicos perfazem um campo de estudo amplo e longe de ser esgotado, sendo possível o desenvolvimento de diferentes modelos de eletrodos e em diferentes materiais, cuja aplicação se amplia e o baixo valor de produção os torna um grande atrativo para pesquisa e desenvolvimento. Além disso, espera-se com este artigo de revisão, motivar os jovens pesquisadores a desenvolver novas metodologias e materiais para a área de sensores eletroquímicos, ampliando as possibilidades de análises nas mais diversas áreas do conhecimento.

12. Conclusões

Este artigo de revisão, teve como objetivo geral, apresentar ao leitor os conceitos básicos sobre sensores eletroquímicos e algumas aplicações como biossensores. Devido ao grande número de possibilidades existentes, no que se refere à fabricação de eletrodos e técnicas, a área de sensores tem sido amplamente explorada. Os avanços promovidos pela nanotecnologia, possibilitou e ainda permitirá novas tecnologias para a utilização de sensores eletroquímicos, em especial na detecção de biomoléculas e contaminantes biológicos. A miniaturização dos dispositivos, bem como sua conexão para análises em tempo real, também tem sido muito explorada, de modo a possibilitar a produção do chamado *Lab-on-chip* (ou laboratório em um dispositivo), na qual diversas análises podem ser feitas com um único sensor e os resultados de corrente elétrica e potencial enviados a computadores para o processamento das informações obtidas. Essas tecnologias possibilitarão uma diminuição dos custos dos sensores e do tempo para a obtenção dos resultados. Assim, espera-se com este artigo de revisão, motivar os jovens pesquisadores a desenvolver novas metodologias e materiais a serem empregados em sensores eletroquímicos ampliando as possibilidades de análises.

Agradecimentos

J. A. Moreto agradece o apoio financeiro recebido do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq-Brasil) (Processo: 303659/2019-0), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG-Brasil) (Processo: APQ-02276-18). N. B. Leite agradece o apoio financeiro recebido da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG-Brasil) (Processo: APQ-00554-21). Rogério V. Gelamo agradece o apoio financeiro recebido do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo: 440726/2020-4 e 302582/2021-5), FAPEMIG (Processo APQ-01359-21) e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Nanomateriais de Carbono (INCT Nanocarbono). Os autores agradecem à profa. MSc. Marta Comunello pelas correções da língua portuguesa.

Referências Bibliográficas

- Janata, J.; Peer reviewed: Centennial retrospective on chemical sensors. *Analytical Chemistry* **2001**, *73*, 150. [CrossRef]
- Hulanicki, A.; S. Glab.; F. Ingman.; Chemical sensors: definitions and classification. *Pure and Applied Chemistry* **1991**, *63*, 1247. [CrossRef]
- Stradiotto, N. R.; Yamanaka, H.; Valnice, M.; Electrochemical sensors: a powerful tool in analytical chemistry. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2003**, *14*, 159. [CrossRef]
- Karimi-Maleh, H.; Karimi, F.; Alizadeh, M.; Sanati, A. L.; Electrochemical sensors, a bright future in the fabrication of portable kits in analytical systems. *The Chemical Record* **2020**, *20*, 682. [CrossRef]
- Ramachandran, R.; Chen, T. -W.; Chen, S. -M.; Baskar, T.; Kannan, R.; Elumalai, P.; Raja, P.; Jeyapragasam, T.; Dinakaran, K.; Gnana kumar, G. P.; A review of the advanced developments of electrochemical sensors for the detection of toxic and bioactive molecules. *Inorganic Chemistry Frontiers* **2019**, *6*, 3418. [CrossRef]
- Akbar, S. A.; Dutta, P. K.; Ceramic Sensors for Industrial Applications. *Encyclopedia of Materials: Science and Technology* **2001**, 1080. [CrossRef]
- Putra, M. A.; Rivai, M.; Arifin, A.; *2018 International Seminar on Intelligent Technology and Its Applications (ISITIA)*, IEEE, 2018. [CrossRef]
- Yang, B.; Wang, C.; Xiao, R.; Yu, H.; Huang, C.; Wang, J.; Xu, J.; Liu, H.; Xia, F.; Xiao, J.; High NH₃ selectivity of NiFe₂O₄ sensing electrode for potentiometric sensor at elevated temperature. *Analytica Chimica Acta* **2019**, *1089*, 165. [CrossRef]
- Toldra-Reig, F.; Serra, J. M.; Development of potentiometric sensors for C₂H₄ detection. *Sensors* **2018**, *18*, 2992. [CrossRef]
- Baracu, A. M.; Gugoasa, L. A. D.; Recent advances in microfabrication, design and applications of amperometric sensors and biosensors. *Journal of The Electrochemical Society* **2021**, *168*, 037503. [CrossRef]
- Beitollahi, H.; Safaei, M.; Tajik, S.; Voltammetric and amperometric sensors for determination of epinephrine: A short review (2013-2017). *Journal of Electrochemical Science and Engineering* **2019**, *9*, 27. [CrossRef]
- Korotcenkov, G.; Current trends in nanomaterials for metal oxide-based conductometric gas sensors: Advantages and limitations. Part 1: 1D and 2D nanostructures. *Nanomaterials* **2020**, *10*, 1392. [CrossRef]
- Patel, V.; Kruse, P.; Selvaganapathy, P. R.; Solid state sensors for hydrogen peroxide detection. *Biosensors* **2020**, *11*, 9. [CrossRef]
- Bakker, E.; Chumbimuni-Torres, K.; Modern directions for potentiometric sensors. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2008**, *19*, 621. [CrossRef][PubMed]
- Hodgson, A. W. E.; Jacquinet, P.; Jordan, L. R.; Hauser, P. C.; Amperometric gas sensors of high sensitivity. *Electroanalysis* **1999**, *11*, 782. [CrossRef]
- Javanbakht, M.; Fard, S. E.; Mohammadi, A.; Abdouss, M.; Ganjali, M. R.; Norouzi, P.; Safaraliee, L.; Molecularly imprinted polymer based potentiometric sensor for the determination of hydroxyzine in tablets and biological fluids. *Analytica Chimica Acta* **2008**, *612*, 65. [CrossRef]
- Degler, D.; Allmendinger, F.; Barsan, N.; Ceramic Sensors for Industrial Applications. *Encyclopedia of Materials: Technical Ceramics and Glasses* **2021**, *3*, 125. [CrossRef]
- Janata, J.; Andras, B.; Chemical sensors. *Analytical Chemistry* **1988**, *60*, 62. [CrossRef]
- Sharma, N.; Mutreja, V.; Kaur, H.; Electrochemical sensors. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine* **2020**, *7*, 2020. [Link]
- Bakker, E.; Chumbimuni-Torres, K.; Modern directions for potentiometric sensors. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2008**, *19*, 621. [CrossRef][PubMed]
- McLennan, F.; Kowalski, B. R.; *Process analytical chemistry* Springer Netherlands, 1995. [CrossRef]
- Chadha, U.; Bhardwaj, P.; Agarwal, R.; Rawat, P.; Agarwal, R.; Gupta, I.; Panjwani, M.; Singh, S.; Ahuja, C.; Selvaraj, S. K.; Banavoth, M.; Sonar, P.; Badoni, B.; Chakravorty, A.; Recent progress and growth in biosensors technology: A critical review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2022**, *109*, 21. [CrossRef]
- Janata, J.; *Principles of chemical sensors*, Springer: US, 2009. [CrossRef]
- Scholz, F.; Bond, A. M.; Compton, R. G.; Fiedler, D. A.; Inzelt, G.; Kahlert, H.; Komorsky-Lovrić, Š.; Lohse, H.; Lovrić, M.; Marken, F.; Neudeck, A.; Retter, U.; Scholz, F.; Stojek, Z.; *Electroanalytical methods*. Springer Berlin: Heidelberg, 2010. [CrossRef]
- Aleixo, L. M.; Voltametria: conceitos e técnicas. *Revista Chemkeys* **2003**, *1*. [CrossRef]
- Thévenot, D. R.; Toth, K.; Durst, R. A.; Wilson, G. S.; Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Biosensors and Bioelectronics* **2001**, *16*, 121. [CrossRef]
- Komorsky-Lovrić, Š.; Em *Electroanalytical methods*; Scholz, F.; Bond, A. M.; Compton, R. G.; Fiedler, D. A.; Inzelt, G.; Kahlert, H.; Š. Komorsky-Lovrić; Lohse, H.; Lovrić, M.; Marken, F.; Neudeck, A.; Retter, U.; Scholz, F.; Stojek, Z.; Berlin: Springer, 2010, cap. 3.1. [CrossRef]
- Pacheco, W. F.; Semaan, F. S.; de Almeida, V. G. K.; Ritta, A. G. S. L.; Aucélio, R. Q.; Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. *Revista Virtual de Química* **2013**, *5*, 516. [CrossRef]
- Lima, H. R. S.; da Silva, J. S.; Farias, E. A. O.; Teixeira, P. R. S.; Eiras, C.; Nunes, L. C. C.; Electrochemical sensors and biosensors for the analysis of antineoplastic drugs. *Biosensors and Bioelectronics* **2018**, *108*, 27. [CrossRef][PubMed]
- Ivnitski, D.; Abdel-Hamid, I.; Atanasov, P.; Wilkins, E.; Biosensors for detection of pathogenic bacteria. *Biosensors and Bioelectronics* **1999**, *14*, 599. [CrossRef]
- Cesewski, E.; Johnson, B. N.; Electrochemical biosensors for pathogen detection. *Biosensors and Bioelectronics* **2020**, *159*, 112214. [CrossRef]
- Arora, P.; Sindhu, A.; Dilbaghi, N.; Chaudhury, A.; Biosensors as innovative tools for the detection of food borne pathogens. *Biosensors and Bioelectronics* **2011**, *28*, 1. [CrossRef]

33. Wang, Y.; Ye, Z.; Ying, Y.; New trends in impedimetric biosensors for the detection of foodborne pathogenic bacteria. *Sensors* **2012**, *12*, 3449. [[Crossref](#)]
34. Oliveira, A. E. F.; Pereira, A. C.; Biossensores e a Indústria Alimentar-Revisão. *Revista Virtual de Química* **2016**, *8*. [[Link](#)]
35. Barrocas, P. R. G.; de Vasconcellos, A. C. S.; Duque, S. S.; dos Santos, L. M. G.; Jacob, S. C.; Lauria-Filgueiras, A. L.; Moreira, J. C.; Biossensores para o monitoramento da exposição a poluentes ambientais. *Cadernos Saúde Coletiva* **2008**, *16*, 677. [[Link](#)]
36. Nogueira, P. R. R. B.; Pereira, M. G.; Moraes, M. C.; Silva, J. A. D.; Marques, P. R. B. O.; Saraiva, V. B.; Oliveira, M. M.; Biossensores para detecção de pesticidas: processos de imobilização da enzima acetilcolinesterase. *Revista Transdisciplinar Logos e Veritas* **2014**, *1*, 33. [[Link](#)]
37. Pei, J.; Tian, F.; Thundat, T.; Glucose biosensor based on the microcantilever. *Analytical Chemistry* **2004**, *76*, 292. [[Crossref](#)]
38. Yan, Q.; Peng, B.; Su, G.; Cohan, B. E.; Major, T. C.; Meyerhoff, M. E.; Measurement of tear glucose levels with amperometric glucose Biosensor/Capillary tube configuration. *Analytical Chemistry* **2011**, *83*, 8341. [[Crossref](#)]
39. Chen, Y.; Lu, S.; Zhang, S.; Li, Y.; Qu, Z.; Chen, Y.; Lu, B.; Wang, X.; Feng, X.; Skin-like biosensor system via electrochemical channels for noninvasive blood glucose monitoring. *Science Advances* **2017**, *3*, e1701629. [[Crossref](#)]
40. Narwal, V.; Deswal, R.; Batra, B.; Kalra, V.; Hooda, R.; Sharma, M.; Rana, J. S. Cholesterol biosensors: A review. *Steroids* **2019**, *143*, 6. [[Crossref](#)]
41. Hou, S.; Kasner, M. L.; Su, S.; Patel, K.; Cuellari, R.; Highly sensitive and selective dopamine biosensor fabricated with silanized graphene. *The Journal of Physical Chemistry C* **2010**, *114*, 14915. [[Crossref](#)]
42. Clark Jr, L. C.; Lyons, C.; Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1962**, *102*, 29. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
43. Hu, S.; Lu, Q.; Xu, Y.; Em *Electrochemical Sensors, Biosensors and their Biomedical Applications*; Zhang, X.; Ju, H.; Wang, J.; Academic Press, 2008, cap. 17. [[Crossref](#)]
44. Kang, X.; Wang, J.; Wu, H.; Aksay, I. A.; Liu, J.; Lin, Y.; Glucose Oxidase-graphene-chitosan modified electrode for direct electrochemistry and glucose sensing. *Biosensors and Bioelectronics* **2009**, *25*, 901. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
45. Chaubey, A.; Malhotra, B. D.; Mediated biosensors. *Biosensors and Bioelectronics* **2002**, *17*, 441. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
46. Farhat, H.; Célier, J.; Forano, C.; Mousty, C.; Evaluation of hierarchical glucose oxidase/Co3Mn-CO3 LDH modified electrodes for glucose detection. *Electrochimica Acta* **2021**, *376*, 138050. [[Crossref](#)]
47. Zhu, Z.; Garcia-Gancedo, L.; Flewitt, A. J.; Xie, H.; Moussy, F.; Milne, W. I.; A critical review of glucose biosensors based on carbon nanomaterials: carbon nanotubes and graphene. *Sensors (Basel)* **2012**, *12*, 5996. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
48. Guven, N.; Apetrei, R. M.; Camurlu, P.; Next step in 2nd generation glucose biosensors: Ferrocene-loaded electrospun nanofibers. *Materials Science and Engineering: C* **2021**, *128*, 112270. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
49. Turner, A. P. F.; Amperometric biosensors based on mediator-modified electrodes. *Methods in Enzymology* **1988**, *137*, 90. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
50. Karyakin, A. A.; Glucose biosensors for clinical and personal use. *Electrochemistry Communications* **2021**, *125*, 106973. [[Crossref](#)]
51. Jaffari, S. A.; Pickup, J. C.; Novel hexacyanoferrate (III)-modified carbon electrodes: application in miniaturized biosensors with potential for in vivo glucose sensing. *Biosensors and Bioelectronics* **1996**, *11*, 1167. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
52. Sotomayor, M. D. P. T.; Kubota, L. T.; Enzymeless biosensors: uma nova área para o desenvolvimento de sensores amperométricos. *Química Nova* **2002**, *25*, 123. [[Crossref](#)]
53. Kobayashi, Y.; Hoshi, T.; Anzai, J. I.; Glucose and lactate biosensors prepared by a layer-by-layer deposition of concanavalin A and mannose-labeled enzymes: electrochemical response in the presence of electron mediators. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **2001**, *49*, 755. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
54. Das, P.; Das, M.; Chinnadaiyala, S. R.; Singha, I. M.; Goswami, P.; Recent advances on developing 3rd generation enzyme electrode for biosensor applications. *Biosensors and Bioelectronics* **2016**, *79*, 386. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
55. Alhadrami, H. A.; Biosensors: Classifications, medical applications, and future prospective. *Biotechnology and applied biochemistry* **2018**, *65*, 497. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
56. Ameri, M.; Shabaninejad, Z.; Movahedpour, A.; Sahebkar, A.; Mohammadi, S.; Hosseindoost, S.; Ebrahimi, M. S.; Savardashtaki, A.; Karimipour, M.; Mirzaei, H.; Biosensors for detection of Tau protein as an Alzheimer's disease marker. *International Journal of Biological Macromolecules* **2020**, *162*, 1100. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
57. Ronkainen, N. J.; Halsall, H. B.; Heineman, W. R.; Electrochemical biosensors. *Chemical Society Reviews* **2010**, *39*, 1747. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
58. Kumar, H.; Neelam, R.; Enzyme-based electrochemical biosensors for food safety: a review. *Nanobiosensors in Disease Diagnosis* **2016**, *5*, 29. [[Crossref](#)]
59. Brena, B.; González-Pombo, P.; Batista-Viera, F.; Immobilization of enzymes: a literature survey. *Immobilization of enzymes and cells* **2013**, *15*. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
60. Basso, A.; Serban, S.; Industrial applications of immobilized enzymes—A review. *Molecular Catalysis* **2019**, *479*, 110607. [[Crossref](#)]
61. Datta, R. S.; Gutteridge, A.; Swanton, C.; Maley, C. C.; Graham, T. A.; Modelling the evolution of genetic instability during tumour progression. *Evolutionary Applications* **2013**, *6*, 20. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
62. Jaffrezic-Renault, N.; Dzyadevych, S. V.; Conductometric microbiosensors for environmental monitoring. *Sensors* **2008**, *8*, 2569. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
63. Dzyadevych, S. V.; Jaffrezic-Renault, N.; Em *Biological Identification*; Schaudies, R. P.; Woodhead Publishing, 2014, cap. 6. [[Crossref](#)]
64. Daniels, J. S.; Pourmand, N.; Label-free impedance biosensors: Opportunities and challenges. *Electroanalysis* **2007**, *19*, 1239. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]

65. Barbero, G.; Alexe-Ionescu, A. L.; Lelidis, I.; Significance of small voltage in impedance spectroscopy measurements on electrolytic cells. *Journal of Applied Physics* **2005**, *98*, 113703. [[Crossref](#)]
66. Yuan, X. -Z.; Song, C.; Wang, H.; Zhang, J.; *Electrochemical impedance spectroscopy in PEM fuel cells: Fundamentals and Applications*. Springer London, 2010. [[Crossref](#)]
67. Mehrvar, M.; Abdi, M.; Recent developments, characteristics, and potential applications of electrochemical biosensors. *Analytical sciences* **2004**, *20*, 1113. [[Crossref](#)]
68. Elshafey, R.; Tavares, A. C.; Sijaj, M.; Zourob, M.; Electrochemical impedance immunosensor based on gold nanoparticles–protein G for the detection of cancer marker epidermal growth factor receptor in human plasma and brain tissue. *Biosensors and Bioelectronics* **2013**, *50*, 143. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
69. Mehrvar, M.; Bis, C.; Scharer, J. M.; Young, M. M.; Luong, J. H.; Fiber-optic biosensors - Trends and advances. *Analytical Sciences* **2000**, *16*, 677. [[Crossref](#)]
70. Wang, G.; Dewilde, A. H.; Zhang, J.; Pal, A.; Vashist, M.; Bello, D.; Marx, K. A.; Braunhut, S. J.; Therrien, J. M.; A living cell quartz crystal microbalance biosensor for continuous monitoring of cytotoxic responses of macrophages to single-walled carbon nanotubes. *Particle and Fibre Toxicology* **2011**, *8*, 1. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
71. Pohanka, M.; The piezoelectric biosensors: Principles and applications, a review. *International Journal of Electrochemical Science* **2017**, *12*, 496. [[Crossref](#)]
72. Farka, Z.; Kovář, D.; Skládal, P.; Rapid detection of microorganisms based on active and passive modes of QCM. *Sensors* **2014**, *15*, 79. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
73. Ramanathan, K.; Danielsson, B.; Principles and applications of thermal biosensors. *Biosensors and Bioelectronics* **2001**, *16*, 417. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
74. Yakovleva, M.; Bhand, S.; Danielsson, B.; The enzyme thermistor—A realistic biosensor concept. A critical review. *Analytica Chimica Acta* **2013**, *766*, 1. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
75. Danielsson, B.; Calorimetric biosensors. *Biochemical Society Transactions* **1991**, *19*, 26. [[Crossref](#)]
76. Chouteau, C.; Dzyadevych, S.; Durrieu, C.; Chovelon, J.; A bi-enzymatic whole cell conductometric biosensor for heavy metal ions and pesticides detection in water samples. *Biosensors and Bioelectronics* **2005**, *21*, 273. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
77. Xuejiang, W.; Dzyadevych, S. V.; Chovelon, J. M.; Renault, N. J.; Ling, C.; Siqing, X.; Jianfu, Z.; Conductometric nitrate biosensor based on methyl viologen/Nafion/nitrate reductase interdigitated electrodes. *Talanta* **2006**, *69*, 450. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
78. Muhammad-Tahir, Z.; Alolijla, E. C.; A Disposable Biosensor for Pathogen Detection in Fresh Produce Samples. *Biosystems Engineering* **2004**, *88*, 145. [[Crossref](#)]
79. Brahim, S.; Narinesingh, D.; Guiseppi-Elie, A.; Amperometric determination of cholesterol in serum using a biosensor of cholesterol oxidase contained within a polypyrrole–hydrogel membrane. *Analytica Chimica Acta* **2001**, *448*, 27. [[Crossref](#)]
80. Trivedi, U. B.; Lakshminarayana, D.; Kothari, I. L.; Patel, P. B.; Panchal, C. J.; Amperometric fructose biosensor based on fructose dehydrogenase enzyme. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2009**, *136*, 45. [[Crossref](#)]
81. Li, Y.; Bai, Y.; Han, G.; Li, M.; Porous-reduced graphene oxide for fabricating an amperometric acetylcholinesterase biosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2013**, *185*, 706. [[Crossref](#)]
82. Garjonyte, R.; Yigzaw, Y.; Meskys, R.; Malinauskas, A.; Gorton, L.; Prussian Blue- and lactate oxidase-based amperometric biosensor for lactic acid. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2001**, *79*, 33. [[Crossref](#)]
83. Andriukonis, E.; Celiesiute-Germaniene, R.; Ramanavicius, S.; Viter, R.; Ramanavicius, A.; From Microorganism-Based Amperometric Biosensors towards Microbial Fuel Cells. *Sensors* **2021**, *21*, 2442. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
84. Belluzo, M. S.; Ribone, M. E.; Lagier, C. M.; Assembling Amperometric Biosensors for Clinical Diagnostics. *Sensors* **2008**, *8*, 1366. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
85. Kokkinos, C.; Economou, A.; Recent advances in voltammetric, amperometric and ion-selective (bio)sensors fabricated by microengineering manufacturing approaches. *Current Opinion in Electrochemistry* **2020**, *23*, 21. [[Crossref](#)]
86. Chen, L. -D.; Wang, W. -J.; Wang, G. -J.; Electrochemical Detection of Electrolytes Using a Solid-State Ion-Selective Electrode of Single-Piece Type Membrane. *Biosensors* **2021**, *11*, 109. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
87. Zhang, J.; Harris, A. R.; Cattrall, R. W.; Bond, A. M.; Voltammetric Ion-Selective Electrodes for the Selective Determination of Cations and Anions. *Analytical Chemistry* **2010**, *82*, 1624. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
88. Gross, P.-A.; Jaramillo, T.; Pruitt, B.; Cyclic-Voltammetry-Based Solid-State Gas Sensor for Methane and Other VOC Detection. *Analytical Chemistry* **2018**, *90*, 6102. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
89. Do, J.-S.; Chang, W.-B.; Amperometric nitrogen dioxide gas sensor based on PAN/Au/Nafion® prepared by constant current and cyclic voltammetry methods. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2004**, *101*, 97. [[Crossref](#)]
90. Zapp, E.; Brondani, D.; Vieira, I. C.; Dupont, J.; Scheeren, C. W.; Gold Nanoparticles and Hydrophobic Ionic Liquid Applied on the Development of a Voltammetric Biosensor for Polyphenol Determination. *Electroanalysis* **2011**, *23*, 1124. [[Crossref](#)]
91. Mao, S.; Yu, K.; Chang, J.; Steeber, D. A.; Ocola, L. E.; Chen, J.; Direct Growth of Vertically-oriented Graphene for Field-Effect Transistor Biosensor. *Scientific Reports* **2013**, *3*, 1. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
92. Koncki, R.; Radomska, A.; Glab, S.; Potentiometric determination of dialysate urea nitrogen. *Talanta* **2000**, *52*, 13. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
93. Motaghi, M. M.; Beitollahi, H.; Tajik, S.; Hosseinzadeh, R.; Nanostructure Electrochemical Sensor for Voltammetric Determination of Vitamin C in the Presence of Vitamin B6: Application to Real Sample Analysis. *International Journal of Electrochemical Science* **2016**, *11*, 7849. [[Crossref](#)]
94. Hu, S. -Q.; Xie, Z. -M.; Lei, C. -X.; Shen, G. L.; Yu, R. -Q.; The integration of gold nanoparticles with semi-conductive oligomer layer for development of capacitive immunosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2005**, *106*, 641. [[Crossref](#)]

95. Tlili, C.; Korri-Youssofi, H.; Ponsonnet, L.; Martelet, C.; Jaffrezic-Renault, N.; *The 13th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems, 2005. Digest of Technical Papers. TRANSDUCERS '05*. IEEE, 2005. [[Crossref](#)]
96. Li, Y.; Tang, L.; Deng, D.; He, H.; Yan, X.; Wang, J.; Luo, L.; Hetero-structured MnO-Mn₃O₄@rGO composites: Synthesis and nonenzymatic detection of H₂O₂. *Materials Science and Engineering: C* **2021**, *118*, 111443. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
97. Xue, L.; Guo, R.; Huang, F.; Qi, W.; Liu, Y.; Cai, G.; Lin, J.; An impedance biosensor based on magnetic nanobead net and MnO₂ nanoflowers for rapid and sensitive detection of foodborne bacteria. *Biosensors and Bioelectronics* **2021**, *173*, 112800. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
98. Wang, X.; Ding, B.; Sun, M.; Yu, J.; Sun, G.; Nanofibrous polyethyleneimine membranes as sensitive coatings for quartz crystal microbalance-based formaldehyde sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2010**, *144*, 11. [[Crossref](#)]
99. Shinar, R.; Liu, G.; Porter, M. D.; Graphite Microparticles as Coatings for Quartz Crystal Microbalance-Based Gas Sensors. *Analytical Chemistry* **2000**, *72*, 5981. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
100. Fauzi, F.; Rianjanu, A.; Santoso, I.; Triyana, K.; Gas and humidity sensing with quartz crystal microbalance (QCM) coated with graphene-based materials – A mini review. *Sensors and Actuators A: Physical* **2021**, *330*, 112837. [[Crossref](#)]
101. Della Ventura, B.; Iannaccone, M.; Funari, R.; Pica Ciamarra, M.; Altucci, C.; Capparelli, R.; Roperto, S.; Velotta, R.; Effective antibodies immobilization and functionalized nanoparticles in a quartz-crystal microbalance-based immunosensor for the detection of parathion. *PLoS One* **2017**, *12*, e0171754. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
102. Hampitak, P.; Jowitt, T. A.; Melendrez, D.; Fresquet, M.; Hamilton, P.; Iliut, M.; Nie, K.; Spencer, B.; Lennon, R.; Vijayaraghavan, A.; A Point-of-Care Immunosensor Based on a Quartz Crystal Microbalance with Graphene Biointerface for Antibody Assay. *ACS Sensors* **2020**, *5*, 3520. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
103. Park, H. J.; Lee, S. S.; A quartz crystal microbalance-based biosensor for enzymatic detection of hemoglobin A1c in whole blood. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2018**, *258*, 836. [[Crossref](#)]
104. Lin, J.; Recent development and applications of optical and fiber-optic pH sensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2000**, *19*, 541. [[Crossref](#)]
105. Steinegger, A.; Wolfbeis, O. S.; Borisov, S. M.; Optical Sensing and Imaging of pH Values: Spectroscopies, Materials, and Applications. *Chemical Reviews* **2020**, *120*, 12357. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
106. Rowe-Taitt, C. A.; Golden, J. P.; Feldstein, M. J.; Cras, J. J.; Hoffman, K. E.; Ligler, F. S.; Array biosensor for detection of biohazards. *Biosensors and Bioelectronics* **2000**, *14*, 785. [[Crossref](#)]
107. Bokken, G. C. A. M.; Corbee, R. J.; Knapen, F.; Bergwerff, A. A.; Immunochemical detection of *Salmonella* group B, D and E using an optical surface plasmon resonance biosensor. *FEMS Microbiology Letters* **2003**, *222*, 75. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
108. Waswa, J.; Irudayaraj, J.; DebRoy, C.; Direct detection of *E. Coli* O157:H7 in selected food systems by a surface plasmon resonance biosensor. *LWT - Food Science and Technology* **2007**, *40*, 187. [[Crossref](#)]
109. Mokhtarzadeh, A.; Eivazzadeh-Keihan, R.; Pashazadeh, P.; Hejazi, M.; Gharaatifar, N.; Hasanzadeh, M.; Baradaran, B.; de la Guardia, M.; Nanomaterial-based biosensors for detection of pathogenic virus. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2017**, *97*, 445. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
110. Pereira, A. C.; Santos, A. S.; Kubota, L. T.; Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. *Química Nova* **2002**, *25*, 1012. [[Crossref](#)]
111. Stone, A. T.; Ulrich, H.-J.; Kinetics and reaction stoichiometry in the reductive dissolution of manganese (IV) dioxide and co (III) oxide by hydroquinone. *Journal of Colloid and Interface Science* **1989**, *132*, 509. [[Crossref](#)]
112. Zhuiykov, S.; Carbon monoxide detection at low temperatures by semiconductor sensor with nanostructured Au-doped CoOOH films. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2008**, *129*, 431. [[Crossref](#)]
113. Choi, U.-S.; Sakai, G.; Shimano, K.; Yamazoe, N.; Sensing properties of au-loaded SnO₂-Co₃O₄ composites to CO and H₂. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2005**, *107*, 397. [[Crossref](#)]
114. Wang, S.; Zhao, Y.; Huang, J.; Wang, Y.; Ren, H.; Wu, S.; Zhang, S.; Huang, W.; Low-temperature CO gas sensors based on Au/SnO₂ thick film. *Applied Surface Science* **2007**, *253*, 3057. [[Crossref](#)]
115. Fukui, K.; Nakane, M.; CO gas sensor based on Au-La₂O₃ loaded SnO₂ ceramic. *Sensors and Actuators B: Chemical* **1995**, *25*, 486. [[Crossref](#)]
116. Alvarado, S. R.; Guo, Y.; T.; Ruberu, T. P. A.; Bakac, A.; Vela, J.; Photochemical versus thermal synthesis of cobalt oxyhydroxide nanocrystals. *The Journal of Physical Chemistry C* **2012**, *116*, 10382. [[Crossref](#)]
117. Park, J.; Joo, J.; Kwon, S. G.; Jang, Y.; Hyeon, T.; Synthesis of monodisperse spherical nanocrystals. *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, *46*, 4630. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
118. Murray, R. W.; *Em Molecular Design of Electrode Surfaces*; Murray, R. W., Ed.; Wiley: New York, 1992, cap. 1.
119. Mazloum-Ardakani, M.; Beitollahi, H.; Ganjipour, B.; Naeimi, H.; Nejati, M.; Electrochemical and catalytic investigations of dopamine and uric acid by modified carbon nanotube paste electrode. *Bioelectrochemistry* **2009**, *75*, 1. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
120. Bonini, J. S.; Mariani, F. Q.; Galli, A.; Marangoni, R.; Anaissi, F. J.; Partículas de CoO(OH) dispersas em pasta de carbono aplicado na eletrooxidação de compostos fenólicos. *Orbital - The Electronic Journal of Chemistry* **2015**, *7*, 318. [[Crossref](#)]
121. Stadnik, A.; Caldas, E. M.; Galli, A.; Anaissi, F. J.; Eletrodo modificado com [CoO(OH)] coloidal aplicado na detecção de ácido oxálico. *Orbital - The Electronic Journal of Chemistry* **2015**, *7*, 122. [[Crossref](#)]
122. Asadian, E.; Ghalkhani, M.; Shahrokhian, S.; Electrochemical sensing based on carbon nanoparticles: A review. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2019**, *293*, 183. [[Crossref](#)]
123. Thiha, A.; Ibrahim, F.; Muniandy, S.; Dinshaw, I. J.; Teh, S. J.; Thong, K. L.; Leo, B. F.; Madou, M.; All-carbon

- suspended nanowire sensors as a rapid highly-sensitive label-free chemiresistive biosensing platform. *Biosensors and Bioelectronics* **2018**, *107*, 145. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
124. Huang, Q.; Lin, X.; Chen, D.; Tong, Q. -X.; Carbon Dots/ α -Fe₂O₃-Fe₃O₄ nanocomposite: Efficient synthesis and application as a novel electrochemical aptasensor for the ultrasensitive determination of aflatoxin B1. *Food Chemistry* **2022**, *373*, 131415. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
 125. Forouzanfar, S.; Pala, N.; Madou, M.; Wang, C.; Perspectives on C-MEMS and C-NEMS biotech applications. *Biosensors and Bioelectronics* **2021**, *180*, 113119. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
 126. Abazar, F.; Sharifi, E.; Noorbakhsh, A.; Antifouling properties of carbon quantum dots-based electrochemical sensor as a promising platform for highly sensitive detection of insulin. *Microchemical Journal* **2022**, *180*, 107560. [[Crossref](#)]
 127. Hassan, S. A.; Nashat, N. W.; Elghobashy, M. R.; Abbas, S. S.; Moustafa, A. A.; Mahmoud, A. M.; Novel microfabricated solid-contact potentiometric sensors doped with multiwall carbon-nanotubes for simultaneous determination of bisoprolol and perindopril in spiked human plasma. *Microchemical Journal* **2022**, *178*, 107323. [[Crossref](#)]
 128. Pundir, M.; Prasher, P.; Vasić, K.; Leitgeb, M.; Kumar, A.; Prakash, R.; Knez, Ž.; Pandey, J. K.; Kumar, S.; Enzyme modified CNTs for biosensing application: Opportunities and challenges. *Colloid and Interface Science Communications* **2021**, *44*, 100506. [[Crossref](#)]
 129. Dai, B.; Zhou, R.; Ping, J.; Ying, Y.; Xie, L.; Recent advances in carbon nanotube-based biosensors for biomolecular detection. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2022**, *154*, 116658. [[Crossref](#)]
 130. Huang, Y.; Zhang, L.; Ji, Y.; Deng, H.; Long, M.; Ge, S.; Su, Y.; Chan, S. Y.; Loh, X. J.; Zhuang, A.; Ruan, J.; A non-invasive smart scaffold for bone repair and monitoring. *Bioactive Materials* **2023**, *19*, 499. [[Crossref](#)]
 131. He, Y.; Hu, C.; Li, Z.; Wu, C.; Zeng, Y.; Peng, C.; Multifunctional carbon nanomaterials for diagnostic applications in infectious diseases and tumors. *Materials Today Bio* **2022**, *14*, 100231. [[Crossref](#)]
 132. Hu, J.; Zhang, Z.; Application of electrochemical sensors based on carbon nanomaterials for detection of flavonoids. *Nanomaterials* **2020**, *10*, 2020. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
 133. Reddy, Y. V. M.; Shin, J. H.; Palakollu, V. N.; Sravani, B.; Choi, C.-H.; Park, K.; Kim, S.-K.; Madhavi, G.; Park, J. P.; Shetti, N. P.; Strategies, advances, and challenges associated with the use of graphene-based nanocomposites for electrochemical biosensors. *Advances in Colloid and Interface Science* **2022**, *304*, 102664. [[Crossref](#)]
 134. Cho, I.-H.; Kim, D. H.; Park, S.; Electrochemical biosensors: perspective on functional nanomaterials for on-site analysis. *Biomaterials Research* **2020**, *24*, 1. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
 135. Jiang, Z.; Feng, B.; Xu, J.; Qing, T.; Zhang, P.; Qing, Z.; Graphene biosensors for bacterial and viral pathogens. *Biosensors and Bioelectronics* **2020**, *166*, 112471. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
 136. Bai, Y.; Xu, T.; Zhang, X.; Graphene-based biosensors for detection of biomarkers. *Micromachines* **2020**, *11*, 60. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
 137. Lei, H.; Zhu, H.; Sun, S.; Zhu, Z.; Hao, J.; Lu, S.; Cai, Y.; Zhang, M.; Du, M.; Synergistic integration of Au nanoparticles, Co-MOF and MWCNT as biosensors for sensitive detection of low-concentration nitrite. *Electrochimica Acta* **2021**, *365*, 137375. [[Crossref](#)]
 138. Batten, S. R.; Champness, N. R.; Chen, X.-M.; Garcia-Martinez, J.; Kitagawa, S.; Öhrström, L.; O’Keeffe, M.; Suh, M. P.; Reedijk, J.; Coordination polymers, metal–organic frameworks and the need for terminology guidelines. *CrystEngComm* **2012**, *14*, 3001. [[Crossref](#)]
 139. Li, H.; Eddaoudi, M.; O’Keeffe, M.; Yaghi, O. M.; Design and synthesis of an exceptionally stable and highly porous metal-organic framework. *Nature* **1999**, *402*, 276. [[Crossref](#)]
 140. Bedia, J.; Muelas-Ramos, V.; Peñas-Garzón, M.; Almudena Gómez-Avilés; Rodríguez, J. J.; Belver, C.; A review on the synthesis and characterization of metal organic frameworks for photocatalytic water purification. *Catalysts* **2019**, *9*, 52. [[Crossref](#)]
 141. Strauss, I.; Mundstock, A.; Treger, M.; Lange, K.; Hwang, S.; Chmelik, C.; Rusch, P.; Bigall, N. C.; Pichler, T.; Shiozawa H.; Caro, J.; Metal–Organic framework co-mof-74-based Host–Guest composites for resistive gas sensing. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2019**, *11*, 14175. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
 142. Guillerm, V.; Kim, D.; Eubank, J. F.; Luebke, R.; Liu, X.; Adil, K.; Lah M. S.; Eddaoudi, M.; A supermolecular building approach for the design and construction of metal–organic frameworks. *Chemical Society Reviews* **2014**, *43*, 6141. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
 143. Ockwig, N. W.; Delgado-Friedrichs, O.; O’Keeffe, M.; Yaghi, O. M.; Reticular chemistry: Occurrence and taxonomy of nets and grammar for the design of frameworks. *Accounts of Chemical Research* **2005**, *38*, 176. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
 144. Zhang, L.; Sun, M.; Jing, T.; Li, S.; Ma, H.; A facile electrochemical sensor based on green synthesis of Cs/Ce-MOF for detection of tryptophan in human serum. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2022**, *648*, 129225. [[Crossref](#)]
 145. Liang, A.; Tang, S.; Liu, M.; Yi, Y.; Xie, B.; Hou, H.; Luo, A.; A molecularly imprinted electrochemical sensor with tunable electrosynthesized Cu-MOFs modification for ultrasensitive detection of human IgG. *Bioelectrochemistry* **2022**, *146*, 108154. [[Crossref](#)]
 146. Saeb, E.; Asadpour-Zeynali, K.; Enhanced electrocatalytic reduction activity of Fe-MOF/Pt nanoparticles as a sensitive sensor for ultra-trace determination of Tinidazole. *Microchemical Journal* **2022**, *172*, 106976. [[Crossref](#)]
 147. Zhang, Y.; Huang, Y.; Gao, P.; Yin, W.; Yin, M.; Pu, H.; Sun, Q.; Liang, X.; Fa, H. -B.; Bimetal-organic frameworks MnCo-MOF-74 derived Co/MnO@HC for the construction of a novel enzyme-free glucose sensor. *Microchemical Journal* **2022**, *175*, 107097. [[Crossref](#)]