

## SISTEMA MATRICIAL DE SENSORES: POTENCIAL PARA DIAGNÓSTICO NÃO INVASIVO PARA DIABETES

E. A. T. Dirani<sup>\*,\*\*</sup>, M. R. Cavallari<sup>\*\*</sup>, G. S. Braga<sup>\*\*</sup>, F. H. S. Rocha<sup>\*</sup>, L. G. Paterno<sup>\*\*\*</sup>, M. F. P. da Silva<sup>\*\*</sup>, F. J. Fonseca<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>PEPG Engenharia Biomédica, PUC-SP, São Paulo, Brasil

<sup>\*\*</sup>LME, PSI, Escola Politécnica da USP, São Paulo, Brasil

<sup>\*\*\*</sup>Instituto de Química da UnB, Brasília, Brasil

e-mail: dirani@puccsp.br

**Resumo:** Métodos não invasivos, tais como a análise da respiração, são bastante promissores para o diagnóstico de doenças. Compostos orgânicos voláteis ou COVs são exalados durante a respiração como resultado de diferentes processos metabólicos e podem fornecer informações para o diagnóstico de doenças. Este trabalho apresenta um sistema multivariável (SM), desenvolvido a partir de uma matriz de sensores químicos, para detecção de COVs presentes na respiração humana. O sistema emprega sensores químicos, não específicos, desenvolvidos a partir de filmes nanoestruturados de materiais sensíveis, tais como polímeros semicondutores e compósitos de óxido de grafeno. A resposta elétrica em regime AC foi registrada na presença de substâncias voláteis de interesse biomédico, tais como acetona, etanol, metanol e amônia, injetadas em quantidades controladas em uma câmara de ensaios própria. As respostas foram processadas com o auxílio de ferramentas de análise multivariada de dados. Resultados mostraram sensibilidade e seletividade dos arranjos de sensores para COVs tanto na fase líquida (língua eletrônica), como na fase gasosa (nariz eletrônico).

**Palavras-chave:** sensores, nariz eletrônico, língua eletrônica, diagnóstico não invasivo, diabetes.

**Abstract:** *Non-invasive methods such as breath analysis should have promising applications. Volatile organic compounds or VOC's are exhaled during respiration as a result of different metabolic process and can give information for clinical diagnosis. This work shows a multivariate system, using chemical sensor array for detection of VOCs present in human breath. The system employs a set of non-specific chemical sensors developed from nanostructured films of sensitive materials, such as semiconducting polymers and graphene oxide composite films. The electrical response in AC regime was recorded in the presence of volatile substances of biomedical interest, such as acetone, ethanol, methanol and ammonia injected into a chamber of controlled trials own quantities. Responses were processed with the aid of multivariate data analysis tools. Results have shown sensitivity and selectivity of the sensor array for VOCs even in liquid (e-tongue) and gas phase (e-nose).*

**Keywords:** *sensors, electronic nose, electronic tongue, non-invasive diagnosis, diabetes.*

### Introdução

Diabetes é uma das doenças sistêmicas mais comuns em todo o mundo, com mais de 380 milhões de doentes, e o número de pacientes diagnosticados continua a crescer significativamente, segundo dados publicados pela Federação Internacional de Diabetes [1]. No entanto, mais da metade dos afetados desconhece estar com a doença por falta de diagnóstico. O Brasil ocupa a quarta posição no mundo em incidência de diabetes, com cerca de 11,9 milhões de indivíduos na faixa etária entre 20 e 79 anos. Atualmente, o diagnóstico do diabetes baseia-se fundamentalmente no exame de sangue através de medições de alterações da glicose plasmática de jejum ou após uma sobrecarga de glicose por via oral [2]. O problema reside justamente na necessidade da realização de exames invasivos para o diagnóstico ou controle da glicemia. Embora existam pesquisas para desenvolver técnicas não invasivas de diagnóstico como o uso da respiração [3], saliva [4], ou lágrima [5], entre outros, ainda não há um produto confiável e disponível comercialmente. Uma das técnicas mais promissoras para a realização deste exame é através da análise dos gases exalados pela respiração, pois nela estão presentes compostos orgânicos voláteis (COVs) em concentrações correlacionadas à sua presença no sangue, geralmente em concentrações de partes por milhão (ppm) [6]. Esses COVs resultam de processos metabólicos do organismo e alguns destes podem ser correlacionados com determinadas doenças, servindo como biomarcadores [7]. A acetona é um marcador biológico para diabetes [8].

Neste trabalho são apresentados os resultados de um estudo de matrizes de sensores, desenvolvidos com filmes nanoestruturados de polímeros semicondutores e compósitos de óxido de grafeno, empregados para detectar acetona, amônia, etanol e metanol. Os testes foram realizados nas fases gasosa e líquida.

### Materiais e Métodos

Os sensores utilizados no trabalho foram preparados a partir de filmes ultrafinos de material semicondutor

depositados sobre lâminas de vidro contendo microeletrodos interdigitados de ouro (50 pares de dígitos com comprimento 5 mm, largura de 10  $\mu\text{m}$  e espaçamento de 10  $\mu\text{m}$ ), definidos por fotolitografia, como os estudados por Wiziack et al. [9]. Os filmes ultrafinos de polímeros semicondutores e de óxido de grafeno e seus compósitos, mostrados na Tabela 1, foram depositados pela técnica de automontagem e por imersão, descrita em detalhes em trabalho anterior [10]. Para filmes de polímeros conjugados, foram empregados materiais disponíveis comercialmente, a saber: de polianilina (PANI), polipirrol (PPI), poli (3,4-etilenodioxiti-feno) (PEDOT) e poli (o-etoxianilina) (POEA). O óxido de grafeno (GO), óxido de grafeno reduzido (RGO) e respectivos compósitos com óxido de cério ( $\text{CeO}_2$ ), óxido de zircônio ( $\text{ZrO}_2$ ) e ciclodextrina (CD) foram preparados em solução aquosa de acordo com o procedimento publicado anteriormente [11]. A posição S1 na matriz foi ocupada por um sensor de referência, chamado branco, sem material depositado.

O aparato utilizado para as medidas na fase líquida foi composto por um recipiente de vidro (50 mL) com uma solução de água destilada e o analito de interesse em diferentes proporções de volume. Na fase gasosa, a matriz de sensores foi acondicionada em uma câmara selada, de aço inoxidável (500 mL), dotada de sistema de vácuo e acessórios apropriados que permitem o seu preenchimento com diferentes concentrações de analito durante cada medida. O gás diluente e de purga utilizado foi o  $\text{N}_2$ . As medidas elétricas dos sensores foram realizadas por espectroscopia de impedância utilizando um impedancímetro HP, modelo 4263A, com valor de tensão de 1 Vpp e frequência de 1 kHz.

Tabela 1: Disposição dos sensores no arranjo matricial e materiais utilizados.

Sensor	1ª. série	2ª. série	3ª. Série	4ª. série
S1	Branco	Branco	Branco	Branco
S2	GO	RGO	RGO	RGO
S3	Pani:PSS+Pani	GO:PEDOT	GO:PEDOT	GO:PEDOT
S4	POEA:PSS	GO:CeO <sub>2</sub>	GO:CeO <sub>2</sub>	GO:CeO <sub>2</sub>
S5	PAH:PPI	GO:CD	GO:ZrO <sub>2</sub>	GO:ZrO <sub>2</sub>
S6				GO:CD

## Resultados

A primeira série de medidas foi realizada na fase líquida e o arranjo matricial de sensores foi composto por três sensores de material polimérico, um sensor branco e apenas um de grafeno. As concentrações de acetona diluída em água destilada foram de 5.000 e 20.000 partes por milhão (ppm).

O desempenho de cada sensor para as concentrações estudadas é mostrado na Figura 1. Observa-se que o sensor com filme de GO apresentou comportamento elétrico distinto, contribuindo para a discriminação dos

resultados e aumentando a seletividade do conjunto de sensores.

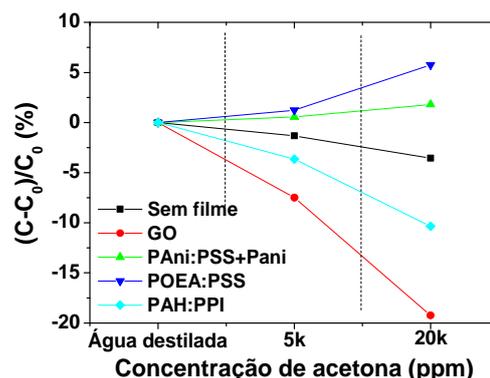


Figura 1 – Curvas de variação relativa da capacitância em função da concentração de acetona na fase líquida.

Na Figura 2 é apresentado o gráfico da Análise das Componentes Principais (PCA) para o conjunto de medidas realizadas na fase líquida com o arranjo de sensores da série 1. Os resultados mostram que a matriz de sensores discrimina as respostas para água pura e para concentrações de 5000 ppm e 20000 ppm de acetona.

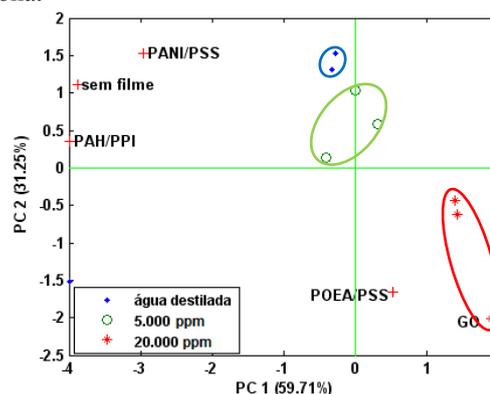


Figura 2 – Gráfico do PCA da primeira série de sensores para a avaliação de acetona na fase líquida em duas concentrações (5.000 e 20.000 ppm).

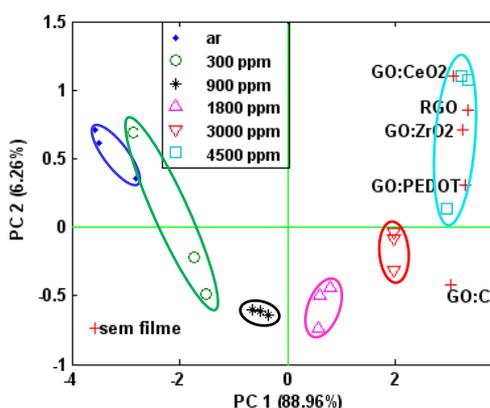


Figura 3 - Gráfico do PCA da segunda série de sensores de grafeno com cinco concentrações de acetona na fase gasosa (300, 900, 1800, 3000 e 4500 ppm).

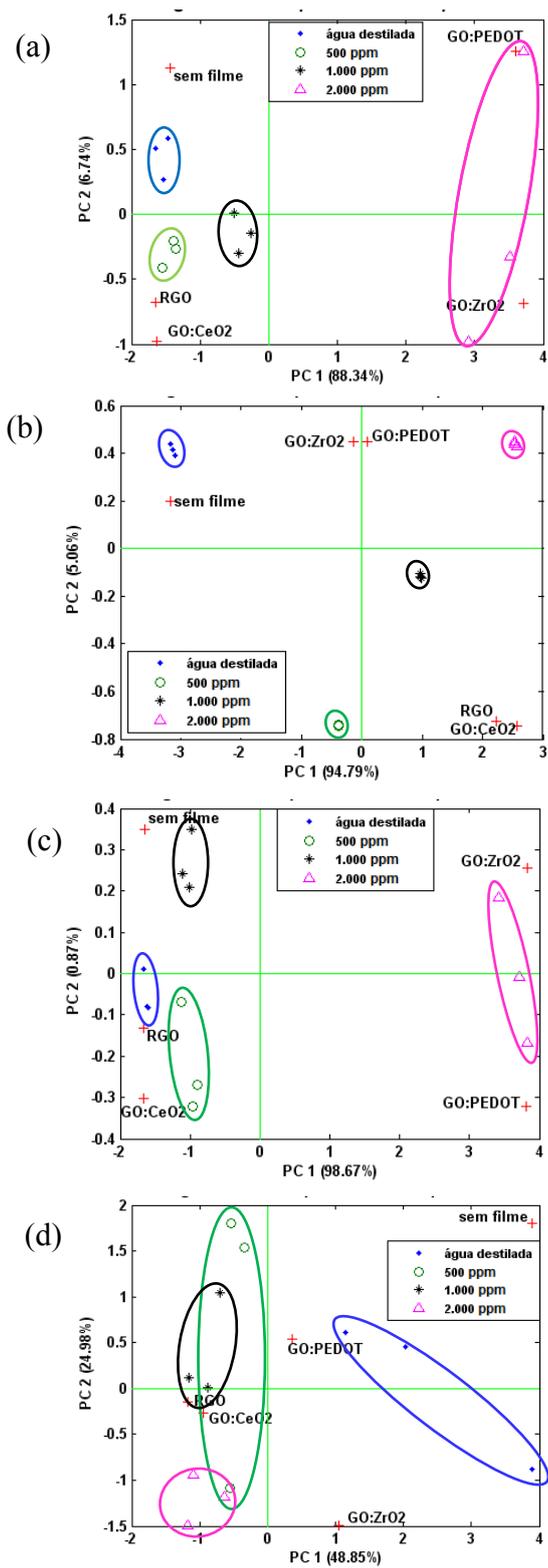


Figura 4 - Gráfico do PCA da terceira série de sensores para medidas na fase líquida para (a) acetona, (b) amônia, (c) metanol e (d) etanol.

Em razão do sensor de grafeno ter contribuído para a discriminação das respostas dos sensores, um segundo arranjo, baseado apenas em filmes de grafeno, foi utilizado. Nas medidas na fase gasosa, mostradas na

Figura 3, o novo conjunto de sensores também discrimina as concentrações de acetona, indicando um aumento da esquerda para a direita do gráfico.

No terceiro conjunto de sensores o objetivo foi avaliar amônia, metanol e etanol, presentes na respiração humana e que são considerados interferentes para acetona. As medidas foram realizadas na fase líquida e a concentração de cada analito foi reduzida em uma ordem de grandeza em relação à concentração de acetona utilizada na primeira série. A discriminação para diferentes concentrações (Figura 4) de acetona, amônia e metanol é clara, mas o mesmo não ocorre para etanol, em que há sobreposição entre as amostras, principalmente para as de menor concentração.

A Figura 5 apresenta o gráfico do PCA para todos os interferentes em conjunto. Como a seletividade para amônia é muito maior que para os demais analitos, não é perceptível a discriminação das respostas da matriz de sensores.

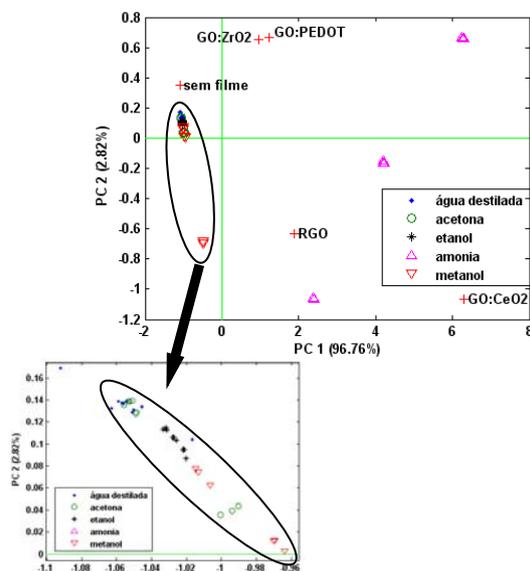


Figura 5 - Gráfico do PCA da terceira série de sensores para medidas na fase líquida para acetona, amônia, metanol e etanol (500, 1.000 e 2.000 ppm). No detalhe, a ampliação da região do PCA.

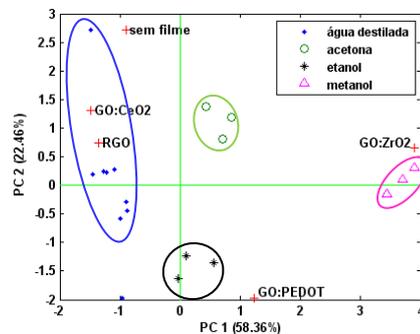


Figura 6 - Gráfico do PCA da terceira série de sensores para medidas na fase líquida para acetona, metanol e etanol.

Retirando os dados relativos à amônia (Figura 6), é possível verificar que a matriz de sensores da terceira

série apresenta boa discriminação entre acetona e os interferentes etanol e metanol na fase líquida. No gráfico são apresentadas as medidas para uma concentração fixa de 1.000 ppm para os três analitos.

Considerando o desempenho desta matriz de sensores para as medidas com acetona e interferentes na fase líquida, foram realizadas medidas na fase gasosa com estes mesmos interferentes (Figura 7), acrescentando o sensor de óxido de grafeno com ciclodextrina (GO:CD), para tentar melhorar a discriminação. Observa-se que a matriz de sensores apresentou seletividade para a acetona na presença dos interferentes etanol e metanol (300 ppm). Os resultados na presença de amônia não são mostrados porque na fase gasosa a seletividade para amônia também é muito maior que para os demais analitos e, desta forma, a discriminação das respostas para os outros analitos não é perceptível.

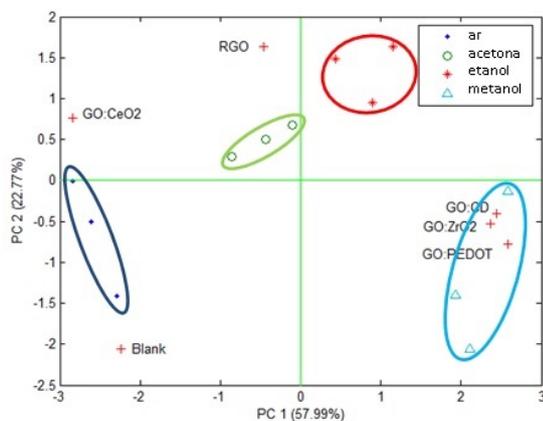


Figura 7 - Gráfico do PCA da quarta série de sensores para medidas na fase gasosa para acetona, metanol e etanol.

## Discussão

Observou-se que todos os conjuntos apresentaram sensibilidade e seletividade para a acetona. O primeiro conjunto empregou sensores não específicos de materiais poliméricos e de óxido de grafeno, com a qual foi possível discriminar a água destilada das soluções aquosas de acetona. Repetindo o ensaio em fase líquida (terceira série) com uma matriz de sensores baseada unicamente em filmes de grafeno e seus compósitos, observou-se que a discriminação também ocorre, mesmo para valores de concentração de centenas de ppm, isto é, inferiores uma ordem de grandeza em relação ao primeiro experimento. Esta mesma matriz de sensores também conseguiu discriminar acetona na presença de interferentes como etanol e metanol. Estes resultados também foram alcançados na fase gasosa, como no segundo conjunto de sensores que identificou diferentes concentrações de acetona (centenas de ppm) e no quarto conjunto que discriminou acetona na presença dos interferentes etanol e metanol em 300 ppm.

## Conclusão

As matrizes de sensores de filmes ultrafinos de polímeros semicondutores e compósitos de óxido de grafeno mostraram-se sensíveis a acetona, discriminando diferentes concentrações desta substância química, tanto na fase líquida quanto na gasosa, e seletivos, discriminando a acetona na presença de interferentes (etanol e metanol). Estes resultados, primeira exigência para a utilização de tais sensores para a detecção e quantificação de acetona, abrem perspectivas para a utilização destes sistemas matriciais de sensores como instrumento não invasivo para o diagnóstico clínico de diabetes.

## Agradecimentos

Fapesp (Proc. 2011/17184-1), CEPE – PUC-SP.

## Referências

- [1] International Diabetes Federation, Diabetes Atlas, 6th ed., International Diabetes Federation, Brussels, 2012.
- [2] Gross et al.; Diabetes Melito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. Arq. Bras. Endocrinol. Metab. 2002; 46(1): 16-26.
- [3] Cao W, Duan Y; Breath Analysis: potencial for clinical diagnosis and exposure assessment. Clinical Chem. 2006; 52(5): 800–11.
- [4] Feng J et al. Nanoscale Plasmonic Interferometers for Multispectral, High-Throughput Biochemical Sensing. Nano Lett. 2012; 12 (2): 602–609.
- [5] O'Donnell C, Efron N; Diabetes and contact lens wear. Clin Exp Optom 2012; 95(3): 328-37.
- [6] Shaji J, Jadhav D; Breath biomarker for clinical diagnosis and different analysis technique. RJPBCS. 2010; 1(3): 639-653.
- [7] Capelozzi VL. Entendendo o papel de marcadores biológicos no cancer de pulmão. J. Bras Pneumol. 2001; 27(6): 321-28.
- [8] Miekisch W, Schubert JK, Noeldge-Schomburg GFE; Diagnostic potencial of breath analysis-focus on volatile organic compounds. Clinica Chimica Acta 2004; 347: 25–39.
- [9] Wiziack NKL, Paterno LG, Fonseca FJ, Mattoso LHC; Effect of film thickness and different electrode geometries on the performance of chemical sensors made of nanostructured conducting polymers films. Sens. Actuators B, Chem. 2007; 122: 484.
- [10] Braga GS et al.; Influence of the deposition parameters on the morphology and electrical conductivity of PANI/PSS self-assembled films. Mat. Sc. and Eng. C 2008; 28: 555–562.
- [11] da Silva MFP, et al. Synthesis and characterization of CeO<sub>2</sub>-graphene composite. J. of Thermal Anal. Calorim., 2012; 107: 257-263.