



## **Nanotubos de carbono: conceitos gerais e aplicação em biosensores<sup>1</sup>**

Stefane Pereira Reis<sup>2</sup>, Juliane Corrêa Glória<sup>3</sup>, Maria Edilene Martins de Almeida<sup>4</sup>, Felipe Araujo<sup>5</sup>, Késsia Caroline Souza Alves<sup>3</sup>, Keila Dayane do Espírito Santo Pereira<sup>3</sup>, Lizandro Manzato<sup>6</sup>, Luís André Morais Mariúba<sup>7</sup>

*Submetido 28/09/2017 – Aceito 30/09/2017 – Publicado on-line 03/01/2018*

### **RESUMO**

Desde que foram descobertos, os nanotubos de carbono têm despertado o interesse de muitos pesquisadores devido às suas propriedades físicas, químicas e eletrônicas que possibilitam sua aplicação nas mais diversas áreas de conhecimento, incluindo aplicações biomédicas. Este trabalho buscou levantar conceitos básicos sobre estas nanopartículas, a problemática envolvendo seu uso e sua aplicação em sistemas de detecção rápida de biomoléculas.

**Palavras-chave:** Nanotecnologia, nanotubos de carbono, biosensores

**Carbon nanotubes: general concepts and application in biosensors.** Carbon nanotubes have attracted many researchers because of their physical, chemical and electronic properties that allow their application in the most diverse areas of knowledge, including biomedical applications. This study aimed to raise basic concepts of these nanoparticles, the problematic involving its use and application in rapid analyte detection systems.

**Keywords:** nanotechnology, carbon nanotubes, biosensors

---

<sup>1</sup> Parte da Revisão de Dissertação de Mestrado do primeiro autor em Saúde Sociedade e Endemias na Amazônia da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, Manaus, AM, Brasil

<sup>2</sup> Biomédica com mestrado em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia pela Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus, AM, Brasil

<sup>3</sup> Alunas de mestrado do Programa de pós-graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC) da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, Manaus, AM, Brasil.

<sup>4 e 5</sup> Bolsistas de apoio técnico no Instituto Leônidas e Maria Deane – Fundação Oswaldo Cruz, Manaus, AM, Brasil

<sup>6</sup> Coordenador do Laboratório de Síntese e Caracterização de Nanomateriais (LSCN) do IFAM, Manaus, AM, Brasil

<sup>7</sup> Tecnologista no Instituto Leônidas e Maria Deane – Fundação Oswaldo Cruz, Manaus, AM, Brasil

## 1. Introdução

Os nanotubos de carbono são nanomateriais em forma de tubo que possuem propriedades elétricas, mecânicas e ópticas ideais para aplicação em diversas áreas.

As características dos nanotubos de carbono, como a alta resistência mecânica, capilaridade e sua estrutura especial permitem as aplicações em dispositivos semicondutores em escala manométrica, dispositivos para armazenamento e conversão de energia, sensores (biossensores e biorreatores) e também como suporte em processos catalíticos (HERBST, 2004). Suas propriedades mecânicas e elétricas também abrem a possibilidade de adicionar um resultado quantitativo em testes de detecção, exigindo ou não um sistema eletrônico ou conversores adicionais (HAICK, 2013; HERBST, 2004). Além disso, estudos mostram a aplicação destes sistemas eletrônicos para quantificação do analito-alvo em testes de diagnóstico rápido (TDRs) (ABERA e CHOI, 2010).

Uma grande problemática envolvendo o uso dos nanotubos de carbono é sua alta insolubilidade em meio aquoso. Para sanar esse problema, o tratamento de nanotubos de carbono com polímeros visando sua solubilização vêm mostrando excelentes resultados. Estes trabalhos podem facilitar o uso dos nanotubos de carbono nas mais diversas aplicações, como por exemplo em biossensores e testes para detecção de biomoléculas por fluxo lateral.

## 2. METODOLOGIA

A revisão da literatura foi realizado pela busca de publicações de pesquisas na linha de imunoenaios e nanotubos de carbono, disponíveis em banco de dados eletrônicos como Lilacs, Periódicos Capes, Scopus, ScienceDirect e Derwent innovation. As palavras-chave utilizadas foram: “carbono nanotubes”, “solubilization” “lateral flow”, biossensor, “immunochromatografic”.

## 3. Estrutura dos nanotubos de carbono e suas propriedades

Os nanotubos de carbono são materiais em forma de tubo constituídos por carbono possuindo um diâmetro medido em escala nanométrica. Foram descobertos em uma pesquisa com fulereno desenvolvida por Iijima em 1991, no Japão.

Os nanotubos de carbono (NTC) podem ser visualizados como uma tira de grafeno enrolada formando um cilindro e possuem uma combinação única de rigidez e resistência quando comparados a outros materiais de fibra (HAICK, 2013).

Os nanotubos de carbono de múltiplas paredes (MWCNT) são hoje estruturas bem conhecidas, com diâmetros que variam de dois a centenas de nanômetros e comprimentos de microns. Posteriormente foram produzidos nanotubos de carbono de parede única (SWCNT) contendo apenas um único cilindro de grafite (grafeno). Tanto os nanotubos de carbono de múltiplas paredes quanto os nanotubos de carbono de parede única fazem parte de um grupo de nanotubos coaxiais com diâmetros diferentes (HAICK, 2013; HERBST, 2004).

A respeito de sua constituição, a folha de grafeno pode ser enovelada em ângulos distintos, diretamente relacionados com a estrutura do grafeno. Estas diferentes orientações do rolo de grafeno produzem alterações na superfície dos nanotubos. Cada orientação apresenta propriedades químicas, ópticas e elétricas únicas. Desta forma, estas características notáveis dos nanotubos de carbono dependem da sua geometria. Já as suas propriedades elétricas dependem do ângulo de torção.

O diâmetro e o ângulo *chiral*, ou ângulo de helicidade, definem a maioria das propriedades elétricas e mecânicas dos nanotubos de carbono. O diâmetro e o ângulo *chiral* resultam dos índices de Hamada (n,m). O vetor C chamado *chiral*, que define a posição relativa de dois sítios é definido por dois números inteiros (m,n) e pelos vetores unitários da rede hexagonal  $a_1$  e  $a_2$  ( $C = na_1 + ma_2$ ) (HERBST, 2004).

Quando m for igual a zero, estes



nanotubos são classificados como nanotubos tipo *zig-zag*. Nesta configuração as suas ligações se apresentam paralelamente em relação ao eixo do nanotubo. Quando  $n$  for igual a  $m$ , os nanotubos de carbono são classificados como nanotubos tipo *armchair*. Nesta configuração, duas ligações do carbono se apresentam perpendiculares em relação ao eixo do nanotubo de carbono. Os nanotubos *zig-zag* e os nanotubos *armchair* são nanotubos aquirais. Quando  $m$  é diferente de  $n$  e diferente de zero, estes nanotubos são do tipo *chiral* (HAICK, 2013 HERBST, 2004).

Dependendo desta orientação ao longo do eixo do tubo, o nanotubo de carbono pode ser melhor condutor do que o cobre, que é normalmente utilizado em fios elétricos e outros materiais. Em outra orientação possível, podem compartilhar propriedades elétricas semelhantes a semicondutores. Os defeitos na superfície dos nanotubos de carbono causados por essa orientação também influenciam a adesão de novos grupos moleculares à parede dos nanotubos de carbono e que podem promover uma nova funcionalização (DENG et al., 2017).

Além de suas impressionantes propriedades elétricas, os nanotubos de carbono também apresentam propriedades mecânicas especiais. Isso também está relacionado ao fato de o carbono se ligar a outros carbonos ao longo do tubo por forte ligação química e, graças a essas ligações fortes, a força dos nanotubos de carbono é uma das maiores comparadas aos demais materiais conhecidos. Estes nanotubos de carbono, principalmente os nanotubos de parede simples, são mais rígidos que o aço, sendo muito resistentes contra danos causados por força física.

### 3.1 Métodos de solubilização e funcionalização

Uma alta dispersão dos nanotubos de carbono em meio aquoso é um pré-requisito para diversas aplicações práticas em muitas pesquisas, uma vez que a agregação de nanotubos de carbono reduz significativamente as

propriedades de interesse desses materiais. Este problema é maior em nanotubos de carbono de parede única dada sua alta extensão em largura (HAICK, 2013).

O problema encontrado na solubilização dos nanotubos em água representa um viés para exploração e análise do seu uso em bioanálises, como em testes de detecção de proteínas e drogas em tecido alvo. Além da importância a obtenção de nanotubos de carbono solúveis em água, a estabilidade dos nanotubos de carbono nesta dispersão também é um parâmetro importante a ser considerado (LIU et al., 2014).

Essa preocupação com a estabilidade dos nanotubos dispersos em água foi demonstrada no estudo de Hong et al., (2005), no qual, após diversas tentativas de solubilização dos nanotubos em água eles alcançaram esta dispersão através da funcionalização dos nanotubos de carbono com o polímero Poli(N-isopropilacrilamida), mas encontrou dificuldades na manutenção desta dispersão, pois o nanotubo funcionalizado obtido apresentou ser muito sensível à mudanças da temperatura da água. Estes nanotubos de carbono quando dispersos em água formam aglomerados quando a temperatura alcança os 35°C.

Outros surfactantes também apresentaram a capacidade de tornar os nanotubos de carbono solúveis em soluções aquosas pela funcionalização destes em sua superfície. Um dos mais estudados são os nanotubos de carbono tratados com polietilenoglicol (PEG) chamados de nanotubos peguilados. Geralmente seu preparo também está associado ao tratamento com ultrassom e centrifugação. A centrifugação dos nanotubos peguilados é uma etapa importante para uma boa solubilização dos nanotubos, isso porque a concentração de PEG livre na solução influencia a dispersão dos nanotubos de carbono em soluções aquosas. Estudos sugerem que diferenças da densidade de PEG na superfície dos nanotubos de carbono interferem diretamente a capacidade de manutenção da sua dispersão

(LIU et al., 2014).

As muitas propriedades relatadas dos nanotubos de carbono dependem da sua geometria. O que leva à necessidade de solucionar o problema de sua solubilização antes que sejam empregados nas variadas metodologias nas quais podem ser aplicados. Independente do método de produção dos nanotubos de carbono, muitas populações diferentes são obtidas no final do processo de fabricação. Ao final, é obtida uma mistura de nanotubos com diâmetros, quiralidades e comprimentos diferentes. Para tentar contornar este obstáculo, são aplicados mecanismos de pós- triagem, que necessitam de nanotubos bem dispersos em um meio (HAICK, 2013).

Depois de sua produção, os nanotubos de carbono podem ser então funcionalizados. O processo de funcionalização visa melhorar sua solubilidade e biocompatibilidade em diversas aplicações, inclusive biomédicas. Os nanotubos de carbono funcionalizados são geralmente utilizados em aplicações biológicas, pois possibilitam que os nanotubos de carbono tenham moléculas aderidas à sua parede. Nos diversos métodos de funcionalização podem ser utilizados oligonucleotídeos, biomoléculas, surfactantes e polímeros para aperfeiçoar a capacidade de dispersão dos nanotubos de carbono podendo também diminuir sua citotoxicidade (LIU et al., 2014).

#### **4. Aplicações biomédicas dos nanotubos de carbono**

Como dito anteriormente, as propriedades dos nanotubos de carbono levam a novas possibilidades de aplicações futuras, o que vem provocando um aumento na utilização destes. As possíveis aplicações incluem dispositivos semicondutores em escala manométrica, dispositivos para armazenamento e conversão de energia, sensores (biossensores e biorreatores) e também como suporte em processos catalíticos (HERBST, 2004). Além dessas aplicações, os nanotubos de carbono podem ser empregados em testes de detecção de biomoléculas *in vivo*, possibilitando seu

emprego em ensaios de detecção *in vivo*, principalmente na área de medicina (JAIN, 2008; LIU et al., 2014). Sua aplicação está sendo testada para a detecção de células tumorais e eventuais aplicações terapêuticas. Estes estudos buscam uma melhor compreensão do comportamento desses nanotubos de carbono e sua distribuição *in vivo* pelos tecidos. Mesmo estando em fase inicial, os resultados encontrados se mostram promissores (JAIN, 2008; LIU et al., 2014).

##### **4.1 Biossensores**

Os nanotubos de carbono vêm sendo estudados na otimização de inúmeros processos biotecnológicos, como no desenvolvimento de biossensores para diagnóstico de doenças e medição de concentrações de biomoléculas, sistemas de liberação de fármacos, entre outros (LEE et al., 2014; SOBOLEV; GUTIÉRREZ, 2005).

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) possui um período chamado de janela imunológica, e neste período, testes de diagnóstico comuns não são capazes de detectar a presença de anticorpos contra este vírus. Ao associar nanopartículas de ouro aos nanotubos de carbono de parede múltipla, extrato acetônico de própolis e ao anticorpo anti-p24, foi possível aumentar a capacidade de detecção do teste. O teste apresentou alta sensibilidade eletroquímica para detecção de até 0,01ng/mL dos anticorpos no soro (com um limite de detecção relativamente baixo de 0.0064 ng/mL). Este número é aproximadamente 100 vezes maior que os resultados obtidos em testes convencionais de ELISA (*Enzyme Linked Immune Assay*). (KHEIRI et al., 2011).

Em outro estudo, Chaker et al., (2010) buscou desenvolver um imunossensor para detecção e determinação de  $\alpha$ -amilase salivar, utilizando nanotubos de carbono funcionalizados com anti- $\alpha$ -amilase e depositados alinhados em placa de ouro, formando assim um eletrodo. Os testes apresentaram resultados relevantes, com limite de detecção em saliva tamponada de 6 ng/mL<sup>-1</sup>. Este estudo demonstra a aplicação potencial deste nanomaterial no diagnóstico

clínico para biomarcadores expressos na saliva humana.

Ainda no campo de imunossensores, um estudo realizado por Costa e colaboradores (2017) desenvolveu um sensível biossensor eletroquímico para detecção do carcinógeno aflatoxina B1 (AFB1). Onde um eletrodo de ouro foi adaptado com uma camada de cisteína (Cys), a qual nanotubos de carbono funcionalizados foram covalentemente ligados ao anticorpo contra a AFB1 (anti-AFB1). A ligação do antígeno AFB1 ao anticorpo acoplado aos nanotubos de carbono resulta em uma mudança na condutividade elétrica. O limite de detecção deste biossensor foi de 0,79 pg. g<sup>-1</sup>. O ensaio foi utilizado para detectar concentrações de AFB1 em farinha de milho tão baixas que não podem ser medidas pelos ensaios de ELISA.

Os nanotubos de carbono também foram empregados na construção de um biossensor que utilizava probes de ssDNA de *Mycobacterium tuberculosis*, devido à sua condutividade ser significativamente diferente da cepa de referência para detecção no sensor. O teste se mostrou uma alternativa rápida, específica e sensível, em comparação com os métodos convencionais de diagnóstico de tuberculose, demonstrando assim o potencial da utilização deste composto (ZHANG et al., 2017).

Estudos têm buscado aplicar os nanotubos de carbono em testes imunocromatográficos. Como exemplo de teste imunocromatográfico figuram os testes de detecção rápida (TDRs). Os TDRs utilizam anticorpos para detectar um ou diversos antígenos presentes na amostra.

Geralmente para iniciar um teste de detecção rápida, realiza-se a punção digital, geralmente com 5 µL, colocada com auxílio de pipeta no poço de amostra do dispositivo. A amostra flui por capilaridade através de membranas porosas, saindo da zona de aplicação onde estão, geralmente, nanossensores como o ouro coloidal ou nanopartículas de carbono, acoplado com anticorpos monoclonais ou policlonais, fluindo até uma zona de reação, onde o antígeno é detectado. Na zona de reação também está à linha controle que contém

anticorpos que reconhecem os anticorpos da fase móvel do teste (na zona de aplicação), validando o teste (ABERA e CHOI, 2010; NOGUERA et al., 2011).

A aplicação de nanotubos de carbono em um teste imunocromatográfico foi descrito pela primeira vez por Abera e Choi (2010). O uso de nanotubos de carbono em substituição ao ouro coloidal pode superar dificuldades encontradas nos TDRs comerciais, dada a sua resistência mecânica, térmica e capacidade de manutenção da condutividade após a realização de testes. Podendo futuramente adicionar um resultado quantitativo aos testes rápidos (ABERA; CHOI, 2010; ODOM et al., 1998; LIANG et al., 2002; ROBERTSON et al., 1992), não excluindo a possibilidade de aumento da sensibilidade e capacidade de detecção em amostras menos invasivas, como a saliva do paciente (CHAKER, et al., 2010).

Em um estudo realizado por Yao e colaboradores (2017) foi desenvolvido um teste de fluxo lateral para de detecção de mercúrio, que é um dos contaminantes mais conhecidos entre os metais pesados (YERRAMILI; RAO, 2001). O teste demonstrou significativa melhora em relação à substituição do ouro coloidal pelos nanotubos de carbono como substrato para marcação, principalmente ao que se refere à estabilidade dos testes. A sensibilidade e especificidade também foram melhoradas.

## 5. Considerações finais

Por fim, é notável a existência de aplicações futuras promissoras dos nanotubos de carbono.

Uma grande quantidade de patentes envolvendo a utilização deste nanomaterial pode ser encontrada. Portanto, estima-se que, em breve, haverá uma grande diversidade de produtos comerciais contendo este material em sua composição.

Vale salientar ainda que há questões de biossegurança envolvendo o uso dos nanotubos de carbono, assunto não tocado nesta revisão que carecem de maiores estudos.

## Agradecimentos



Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e à Fundação de Amparo à Pesquisa no Amazonas pelas bolsas concedidas e suporte financeiro geral. Ao Instituto Leônidas e Maria Deane – Fiocruz Amazônia pela estrutura física, em particular ao grupo de pesquisa Diagnóstico e Controle de Doenças infecciosas na Amazônia. À Universidade Federal do Amazonas e ao Instituto Federal do Amazonas.

### Divulgação

Este artigo de revisão é inédito. Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, desta revisão, por meio eletrônico.

### Referências

ABERA, A., CHOI, J. Quantitative lateral flow immunosensor using carbon nanotubes as label. **Anal. Methods**, v. 2, p. 1819-1822, 2010. Doi: <http://dx.doi.org/10.1039/c0ay00412j>

CHAKER, T. et al. Single-walled carbon nanotube chemoresistive label-free immunosensor for salivary stress biomarkers. **The Analyst**, v. 135, p. 2637-2642, 2010. Doi: <http://dx.doi.org/10.1039/c0an00332h>

COSTA, M.P, et al. Impedimetric immunoassay for aflatoxin B1 using a cysteine modified gold electrode with covalently immobilized carbon nanotubes. **Microchim Acta**, v. 184, n. 9, p. 3205-3213, 2017. Doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00604-017-2308-y>

DENG, J. H. et al. Highly improved field emission from vertical graphene-carbon nanotube composites. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 723, p. 75-83, 2017.

HAICK, H. **Nanotechnology and Nanosensors: Introduction to Nanotechnology**. Haifa, Israel, 2013, 127p.

HERBST, M. H; MACEDO, M. I. F.; ROCCO, A. M. Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar; **Química Nova**; v.

27, n. 6; p. 986-992, 2004. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422004000600025>

HONG, C.; YOU, Y.; PAN, C. Synthesis of Water-Soluble Multiwalled Carbon Nanotubes with Grafted Temperature-Responsive Shells by Surface RAFT Polymerization. **Chemistry of materials**, 2005. Doi: <http://dx.doi.org/10.1021/cm048054l>

JAIN, K. K. **Handbook of Nanomedicine**. In: Nanomolar Diagnostic and Nano-Oncology. Ed. Humana Press. Estados Unidos, 2008. 84p

KHEIRI, F. et al. A novel amperometric immunosensor based on acetone-extracted propolis for the detection of the HIV-1 p24 antigen. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, p. 4457-4463, 2011. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2011.05.002>.

LEE, W. J. et al. Nitrogen-doped carbon nanotubes and graphene composite structures for energy and catalytic applications. **Chemical Communications**, v. 50, n. 52, p. 6818, 2014.

LIANG, W; BOCKRATH, M; PARK, H. Shell filling and exchange coupling in metallic single-walled carbon nanotubes. **Phys Rev Lett**, v.88, p. 12, 2002. Doi: <http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevLett.88.126801>.

LIU, S. et. al. Water dispersed multi-walled carbon nanotubes modified by tannin acid. **Materials Letters** v. 123, p. 44-47, 2014. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2014.02.075>.

NOGUERA, P, et al. Carbon nanoparticles in lateral flow methods to detect genes encoding virulence factors of Shiga toxin-producing Escherichia coli. **Anal Bioanal Chem**, v. 399, n. 2, p. 831-838, 2011. Doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-010-4334-z>

ODOM, T. W. et al. Atomic structure and electronic properties of single-walled carbon nanotubes. **Nature**, v. 391, p. 62-64, 1998. Doi: <http://dx.doi.org/10.1038/34139>.

YAO, L, et al. MWCNTs based high sensitive lateral flow strip biosensor for rapid determination of aqueous mercury ions.



**Biosens Bioelectron**, 15, n. 85, p. 331-336, 2016. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2016.05.031>

YERRAMILI, A; RAO, R. V. S. Application of APDC coupled polyurethane foam sorbent for the removal and recovery of toxic heavy metals Hg, Cd and Pb from industrial effluents. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**. v. 79,

p. 71 – 79, 2010. Doi: <http://dx.doi.org/10.1002/cjce.5450790111>.

ZHANG, X, et al. Selection of a new Mycobacterium tuberculosis H37Rv aptamer and its application in the construction of a SWCNT/aptamer/Au-IDE MSPQC H37Rv sensor. **Biosens Bioelectron**, v. 15, n. 98, p. 261-266,2017. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2017.05.043>