

Plataforma Modular para Sensores Químicos

Guilherme Matsuo
Faculdade de Eng. Elétrica
PUC Campinas
Campinas - Brasil
guilherme.matsuo@gmail.com

André Okihara
Faculdade de Eng. Elétrica
PUC Campinas
Campinas – Brasil
andreokihara@gmail.com

Renata Kelly Mendes
Mestrado em Sistemas de
Infraestrutura Urbana
PUC Campinas
Campinas – Brasil
renatavalente@puc-
campinas.edu.br

Frank Herman Behrens
Mestrado em Eng. Elétrica
PUC Campinas
Campinas – Brasil
frank@puc-campinas.edu.br

Abstract— The cyclic voltammetry procedure requires the use of expensive professional apparatus. The objective of this work is to develop low cost electronic modules capable of composing an electrochemical measuring equipment, called potentiostat, that serves as an interface for analog-digital preprocessing for signals captured from chemical sensors. This equipment, coupled with a suitable microcontroller module and software, is a platform that allows performing precision cyclic voltammetry procedures, serving as an interface to chemical sensors in applications that require simple, portable and low cost equipment.

Keywords— *potentiostat; cyclic voltammetry; electronic modules; chemical sensors.*

I. INTRODUÇÃO

Atualmente, existem oportunidades bastante interessantes e promissoras no desenvolvimento de sensores químicos, que necessitam de um circuito eletrônico específico de interface para o pré-processamento analógico-digital e que, muitas vezes, precisa ser projetado ou adaptado ao sensor em uso.

Sensores eletroquímicos podem ter uma molécula biológica como elemento de reconhecimento e, nestes casos, são denominados de biossensores, que permitem a determinação da concentração de uma determinada substância em meio líquido através da técnica de voltametria utilizando-se um instrumento conhecido como potenciostato [1].

O problema que é apresentado neste trabalho visa o desenvolvimento de um módulo eletrônico para o pré-processamento analógico-digital de sinais captados de biossensores.

Com base nesse módulo eletrônico, operando sob o controle de um microcontrolador, torna-se possível a obtenção de um potenciostato miniaturizado que seja portátil, de baixo consumo de energia, peso reduzido, baixo custo e que tenha uma arquitetura modular quanto à conexão de diferentes submódulos para adaptá-la a diferentes técnicas de medidas.

II. FUNDAMENTAÇÃO

Estudos recentes relatam o uso de componentes eletrônicos miniaturizados e tecnologias de microfabricação para a construção de biossensores compactos e totalmente integrados.

Baraket et al. desenvolveram uma plataforma para um biossensor eletroquímico totalmente integrada, para a detecção de citocinas em pequenas concentrações. O trabalho descreve um arranjo com eletrodo de referência duplo (RE), um contra-eletrodo central (CE) entre os dois REs e dois grupos de quatro microeletrodos de trabalho de ouro (WEs) de cada lado dos REs. Usando oito WEs de ouro, este projeto maximiza a sensibilidade da detecção, diminui o tempo de medição e permite a detecção simultânea de biomarcadores de citocinas variáveis. A plataforma biossensora foi fabricada utilizando a tecnologia de microfabricação, apresentando uma estrutura multi-eletrodo conectável a um potenciostato comercial para realizar experimentos, validar a funcionalidade do sensor e executar medidas de aplicação [2].

O trabalho de Derkus revisa três tipos diferentes de dispositivos de detecção microfabricados que são desenvolvidos usando técnicas de micro e nano litografia, tecnologia microfluídica e tecnologia baseada em sistemas de microelectromecânica (MEMS). Ele discute a adaptação necessária da tecnologia de sensores atual às técnicas clínicas humanas. Os sistemas propostos devem lidar com amostras biológicas reais, como urina, sangue, líquido cefalorraquidiano ou tecido canceroso. A telemedicina baseada na tecnologia dos *smartphones* também pode ser utilizada junto com biossensores portáteis para transmitir medições clínicas através da rede de telecomunicações para qualquer local [3].

De acordo com Pruna et al., a disponibilidade de potenciostatos miniaturizados de baixo custo, com boas características de medição (por exemplo, largura de banda, determinação de contribuição capacitiva ou indutiva para a impedância do sensor e rastreamento paralelo) ainda é um desafio não resolvido em bioeletrônica. No seu trabalho, a combinação de circuitos analógicos simples juntamente com microcontroladores para a implementação de filtros digitais é apresentada como uma alternativa às arquiteturas complexas e incompletas relatadas na literatura. Foi desenvolvido e validado um sistema eletrônico de aquisição de baixo custo totalmente integrado a uma plataforma de biossensores, contendo oito microeletrodos de trabalho (WEs) em ouro, eletrodo de referência (RE) e contra-eletrodo (CE).

O custo de fabricação do protótipo foi mantido abaixo de 300 dólares. O desempenho do dispositivo proposto foi comparado com um analisador de impedância comercial através da análise eletroquímica considerando um caso de aplicação de biossensor altamente sensível. Os resultados mostraram-se muito promissores para o desenvolvimento de sistemas eletroquímicos de baixo custo, portáteis e miniaturizados, para diagnóstico e meio ambiente [4].

No trabalho de Ramfos et al., são apresentados a arquitetura e o projeto de um potenciostato multiplexado híbrido compacto, multicanal para realizar medições eletroquímicas em matrizes de eletrodos continuamente polarizados. A arquitetura proposta utiliza uma combinação de medidas sequenciais e paralelas, para permitir um alto desempenho, mantendo o sistema compacto e de baixo custo. A precisão da leitura do sinal é mantida seguindo uma abordagem de multiplexação especial, que assegura a polarização contínua de todos os eletrodos de trabalho da matriz. Após a amostragem dos resultados, uma técnica de calibração digital cancela erros de imprecisões dos componentes. Um protótipo de placa de circuito impresso (PCB) foi projetado e construído usando componentes disponíveis comercialmente para a medição em tempo real do sinal de 48 eletrodos. A operação e o desempenho da PCB foram avaliados e caracterizados dentro de uma ampla gama de condições de teste, que apresentou alta linearidade ($R^2 > 0.999$) e uma resolução de 400 pA [5].

III. METODOLOGIA

O presente trabalho propõe o projeto e construção de uma plataforma para biossensores, que seja capaz de fazer a interface adequada com o conjunto de eletrodos da microcélula eletroquímica e os circuitos eletrônicos necessários para estímulo e medidas de tensão e corrente de acordo com as técnicas de voltametria e amperometria. O módulo de interface com o sensor é construído de forma similar aos citados na literatura por Dobbelaere et al. [6] e Dryden [7], sendo diretamente conectado ao módulo processador, composto por um conjunto de circuitos eletrônicos que realiza a função de um potenciostato ou galvanostato. O módulo processador contém ainda um microcontrolador que realiza o controle dos vários submódulos internos e o sequenciamento das medidas, de acordo com os parâmetros previamente definidos, sendo também responsável pela comunicação com o meio externo via USB. Os dados capturados são processados num computador através de um aplicativo que permite a definição dos parâmetros de controle do módulo processador e a visualização dos resultados das medidas de forma gráfica ou numérica dependendo da análise realizada.

Iniciou-se por replicar o projeto de potenciostato e galvanostato controlado por USB descrito por Dobbelaere et al. [6]. Este projeto apresentou dificuldades de reprodução pela indisponibilidade de componentes no Brasil, então optou-se pela utilização de um módulo microcontrolado Arduino Due [8], pois este possui dois conversores digital-analógicos (DAC) e dois conversores analógico-digitais (ADC), ambos com 12-bits, com resolução de 4096 pontos para a geração da tensão aplicada e para a medida da corrente.

O primeiro problema encontrado na utilização do DAC presente no Arduino Due foi sua tensão de referência de 3,3V, pois o projeto base foi definido para uma tensão de referência de 5V. Outro problema refere-se à faixa de atuação do DAC, que apenas trabalha entre 1/6 e 5/6 da tensão de referência 3,3V, conseqüentemente iniciando em 0,55 V e atingindo um máximo em 2,75 V.

Surgiu, também, a oportunidade de se desenvolver um conector mais confiável para conexão aos eletrodos utilizados, e acopla-lo a uma caixa para comportar toda a interface eletrônica. Para a confecção do conjunto, foi utilizado como padrão um eletrodo comercial já utilizado com um equipamento comercial, e através do software de modelagem 3D Autodesk Inventor 2018, um modelo da caixa foi criado. Através de uma impressora 3D, a caixa do protótipo foi impressa e realizada a montagem do módulo Arduino Due e do respectivo módulo de interface (Fig. 1 e 2).



Fig. 1. Montagem do potenciostato



Fig. 2. Interface completa do potenciostato

A. O circuito em módulos

Com base no circuito apresentado em [6], foi possível criar um diagrama esquemático para o circuito potenciostato conforme apresentado na Fig. 3, sendo que o mesmo foi dividido em seis partes principais. O desenvolvimento da placa de circuito impresso (PCB) (Fig. 4) para o circuito foi realizado utilizando-se a ferramenta de software Autodesk Eagle. Quatro versões do PCB foram realizadas para se chegar ao circuito mais otimizado, conforme pode ser visto na Fig. 5.

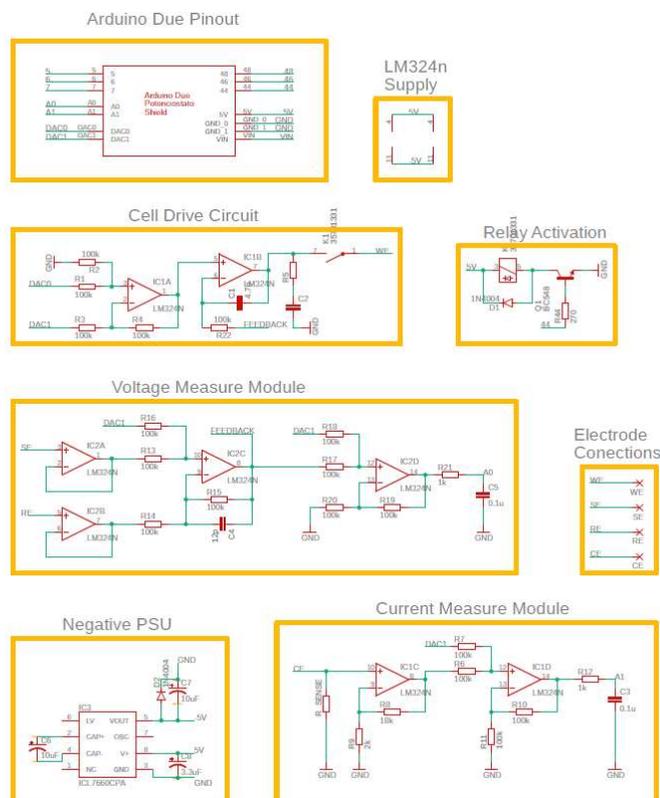


Fig. 3. Diagrama completo do módulo potenciostato.

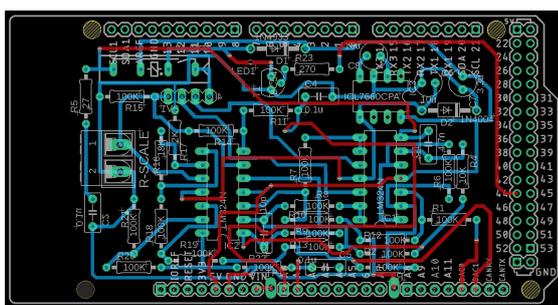


Fig. 4. Layout da PCB, desenvolvida do software Autodesk Eagle

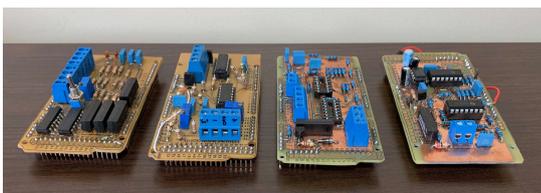


Fig. 5. Todas as versões dos protótipos de circuitos eletrônicos desenvolvidos durante a pesquisa.

Os terminais utilizados do módulo Arduino Due foram os seguintes:

- 5V – Utilizado para a alimentação de todo o modulo potenciostato.
- GND – Referência de tensão de todos os circuitos.
- DAC0 – Conversor digital-analógico de 12-bits, para aplicar a tensão necessária à célula eletroquímica, com resolução de 4096 pontos resultando em incrementos de 537 μ V.
- DAC1 - Conversor digital-analógico de 12-bits, utilizado para configurar uma tensão de *offset*, referida como V_{Ref} .
- Pino A0 – Entrada para o conversor analógico-digital de 12-bits, utilizado para a medida da tensão aplicada à célula eletroquímica.
- Pino A1 - Entrada para o conversor analógico-digital de 12-bits, utilizado para a medida indireta da corrente que flui pela célula eletroquímica através de um resistor *sense* de precisão.
- Pino 44 – Saída digital utilizada para acionamento de um relé para ligar e desligar a célula eletroquímica de todo o circuito.

O módulo Arduino Due foi utilizado para realizar o procedimento de varredura da tensão aplicada à célula eletroquímica e medição da corrente e da tensão, armazenando localmente os dados obtidos no processo para posteriormente envia-los via USB a um computador externo, assim protegendo o intervalo total das medidas de qualquer interferência externa, garantindo que a velocidade de varredura configurada seja constante durante o ciclo de medida.

B. Fonte negativa

Sabendo-se da necessidade de uma tensão negativa de alimentação devido a utilização de fontes simétricas para os amplificadores operacionais, foi desenvolvido um módulo capaz de gerar tal tensão a partir de uma fonte de tensão positiva (alimentação de 5V obtida pela conexão USB, ou utilização de uma bateria de 9V). Optou-se por desenvolver uma fonte negativa com base no circuito integrado ICL7660 [9], cujo diagrama esquemático está mostrado na Fig. 6.

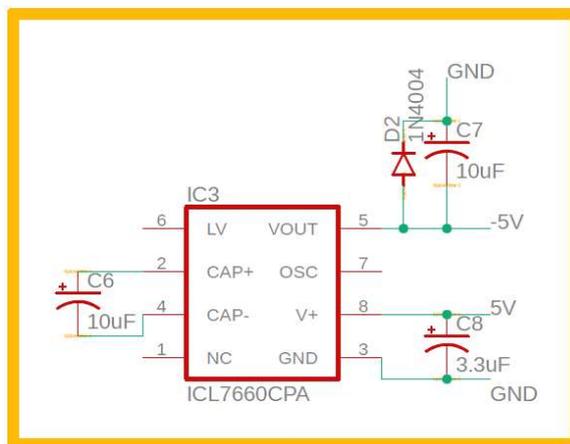


Fig. 6. Diagrama esquemático do circuito fonte negativa

A fonte negativa é obtida por meio de uma fonte chaveada, que funciona invertendo a tensão positiva de entrada com um comutador. A velocidade de comutação do circuito integrado ICL7660 é de 10 kHz. O circuito pode suprir até 100 mA com uma queda de tensão inferior a 0,65V.

C. Relé de Isolamento

As células eletroquímicas são sensíveis a corrente elétrica. Logo, é necessário desconectá-las do circuito para que não haja nenhuma reação química enquanto o procedimento de voltametria não esteja em andamento. Isso se faz com a utilização de um relé. A conexão do circuito com a célula eletroquímica é realizada em um tempo determinado pelo procedimento (normalmente alguns segundos), a fim de estabilizar a substância logo antes de se iniciar o procedimento de voltametria. O circuito mostrado na Fig. 7 é acionado pelo pino 44 do Arduino Due configurado como saída digital.

D. Circuito driver de tensão

Os DACs do módulo Arduino Due são capazes de gerar apenas tensões positivas, sendo que os procedimentos de voltametria requerem a liberdade de excursão entre tensões positivas e negativas. O circuito *driver*, mostrado na Fig. 8, é responsável por criar um *offset* de tensão, sendo utilizado para gerar tensões negativas na célula eletroquímica.

Para conseguir aplicar tensões negativas à célula eletroquímica, foi utilizado um Amp Op (IC1A) configurado como subtrator de tensão, já que os DACs do módulo Arduino Due conseguem gerar apenas tensões positivas. O primeiro estágio do circuito faz a subtração de 1,65V (configurável pelo *firmware* via DAC1), conseguindo um potencial de varredura ajustável na faixa de -1,1V à +1,1V. O segundo estágio do circuito apresenta um Amp Op (IC1B) como *buffer* e filtro analógico, também recebe um *feedback* da tensão sendo aplicada na célula para cancelar a queda de tensão no resistor de medição de corrente (resistor *sense*).

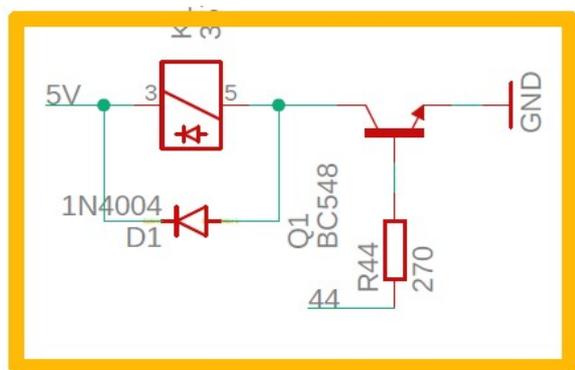


Fig. 7. Diagrama esquemático do circuito relé de isolamento

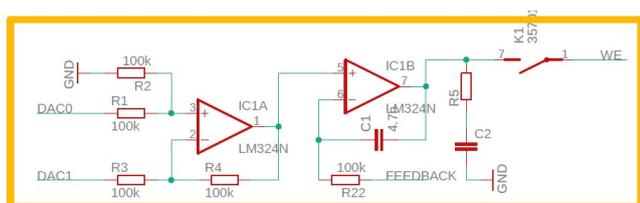


Fig. 8. Diagrama esquemático do circuito *driver* de tensão

Pode-se notar também a chave normalmente aberta do relé de isolamento (K1), ligada ao terminal do eletrodo de trabalho (WE). O terminal WE é ligado diretamente a um dos eletrodos da célula eletroquímica e aplica a tensão desejada à substância.

E. Circuito de medição de tensão

A varredura de tensão aplicada à célula eletroquímica é configurada no módulo Arduino Due via porta serial por um *script* em linguagem Python [10] rodando em um computador externo. Assim, o terminal DAC0 aplica ciclos de tensão no terminal WE, mas para a confirmação da real tensão sobre a célula, é também realizada a medida da tensão no momento que é a corrente é medida. Ambos os valores (corrente e tensão) são armazenados na memória do Arduino Due para serem transmitidos via serial para o *script* Python.

Os terminais dos eletrodos de *sense* (SE) e de referência (RE) do circuito (Fig. 9) são conectados diretamente à célula eletroquímica, para a realização da voltametria cíclica. O terminal SE é também conectado a WE, que aplica a rampa de tensão provida pelo DAC0 do módulo Arduino Due.

O circuito da Fig. 9 apresenta dois *buffers* de ganho unitário e alta impedância de entrada nas conexões dos eletrodos SE e RE. Esta característica impede que o circuito drene corrente da célula eletroquímica, garantindo a passagem de corrente apenas pelo resistor *sense* de medição corrente.

Devido à possibilidade das tensões na célula eletroquímica serem negativas, é necessário um circuito somador de tensão para elevar as tensões, pois os conversores analógico-digitais (ADCs) do Arduino Due apenas conseguem capturar tensões positivas. Isso é realizado com o auxílio de um Amp Op configurado como somador (IC2D), de modo que a tensão somada neste estágio é a mesma subtraída no circuito *driver*.

Resumindo, as tensões produzidas pelo módulo Arduino Due recebem um *offset* para baixo antes de serem aplicadas na célula eletroquímica e, para a realização das medições, as tensões recebem o mesmo *offset*, só que desta vez para cima, possibilitando os ADCs realizarem corretamente as medições de tensão.

F. Circuito de medição de corrente

Para realizar a medição de corrente que flui através da substância analisada, é utilizado um resistor *sense* de precisão conectado entre o contra-eletrodo (CE) e o terra do circuito, de modo que a corrente que flui por esse resistor é a mesma que flui através da célula eletroquímica. A tensão medida sobre o resistor *sense* é proporcional ao valor de corrente, seguindo a lei de Ohm.

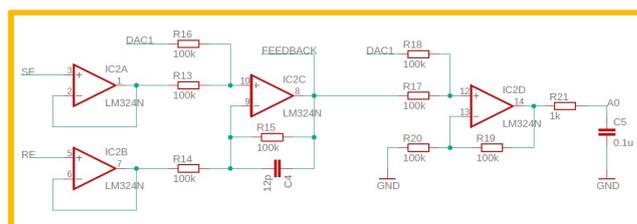


Fig. 9. Diagrama esquemático do circuito de medição de tensão

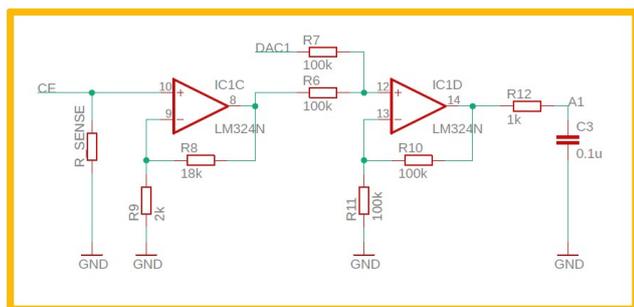


Fig. 10. Diagrama esquemático do circuito de medição de corrente

O valor do resistor representado na Fig. 10 por R_SENSE pode ser alterado para ajustar a faixa de corrente que se pretende medir, a fim de compreender na leitura analógica a maior resolução possível, aumentando a precisão com que o instrumento trabalha. O valor de tensão é multiplicado por um ganho 10 pelo Amp Op IC1C.

Com já dito, podem haver correntes negativas através da célula eletroquímica, logo a tensão sobre o resistor R_SENSE pode também ser negativa. Para fazer a leitura de tal tensão pelo Arduino Due, é necessário que se acrescente um *offset*, realizado pelo Amp Op IC1D na forma de somador de tensão. Este circuito soma o mesmo valor que foi subtraído pelo circuito *driver*, fazendo com que possa se realizar a leitura de tensões puramente positivas.

G. Software

Para o desenvolvimento do *firmware* foi utilizada a plataforma IDE Arduino [8], já que o microcontrolador escolhido se baseia nesta plataforma. Após verificar o procedimento de voltametria cíclica em um aparelho comercial, foram estipuladas algumas variáveis no processo que são fundamentais para o estudo, sendo elas: tensão mínima (V), tensão máxima (V), velocidade de varredura (V/s), quantidade de ciclos e o tempo de estabilização pré-procedimento, em segundos (s). Tendo como base estes parâmetros, foi planejado fluxograma da Fig. 11.

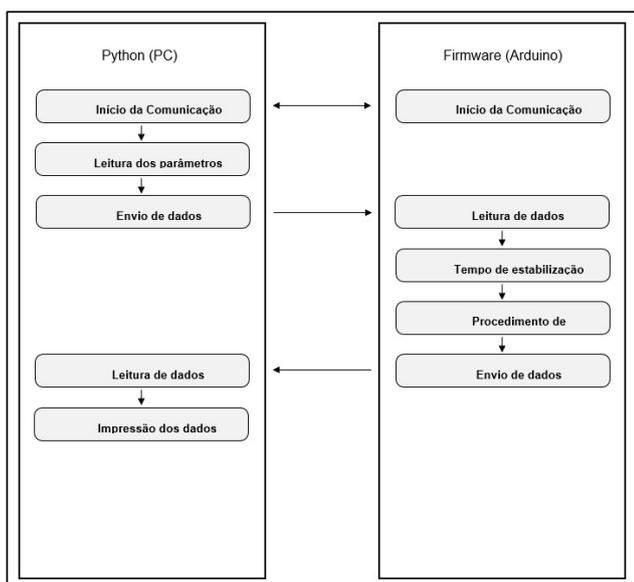


Fig. 11. Fluxograma de Comunicação

O fluxograma da Fig. 11 pode ser acompanhado passo a passo para entender como o *firmware* atua no microcontrolador e realiza todo o procedimento. Primeiramente é feita a comunicação entre o *software* Python e o módulo Arduino Due via porta serial. Após aberta a comunicação, o *script* em Python pede ao usuário as informações necessárias para realizar o procedimento, ao inserir a última variável, o *script* envia os dados para o *firmware* presente no Arduino e espera o retorno dos dados obtidos pela voltametria cíclica.

Para realizar a leitura e interpretação dos dados, foi escolhido utilizar a comunicação serial USB e manipular os dados na forma de texto em um computador. Futuramente pode-se escolher apresentar os dados no próprio módulo potenciostato com a integração de um *display* gráfico.

H. Firmware do Arduino Due

O Arduino Due realiza a configuração das variáveis e inicia o procedimento de medidas. Durante o período em que o procedimento de voltametria cíclica é realizado, o módulo Arduino Due fica incomunicável, não sendo possível realizar outra tarefa no microcontrolador. Após o término do procedimento, os dados capturados pelo Arduino são enviados para um PC via comunicação serial.

IV. RESULTADOS

A substância utilizada para os testes foi o Ferrocianeto de Potássio ($K_4Fe(CN)_6$). Esta substância, quando utilizada em voltametria cíclica, apresenta uma reação de oxirredução reversível e pode ser reutilizado sem perder suas características. Inicialmente, foi utilizado um potenciostato comercial da marca AUTOLAB, modelo PGSTAT101 [11], como referência para comparação dos resultados práticos obtidos com a plataforma de biossensores desenvolvida neste trabalho.

A solução comercial apresenta os resultados ao usuário na forma de gráfico de tensão x corrente (Fig. 12), e para realizar da análise dos resultados da voltametria, é preciso verificar em que valores de tensão ocorrem os picos de corrente.

As configurações em ambas análises foram as mesmas, com tensão mínima de -550mV, máxima de +150mV, velocidade de varredura de 50mV/s, 2 ciclos completos, e 5 segundos de estabilização.

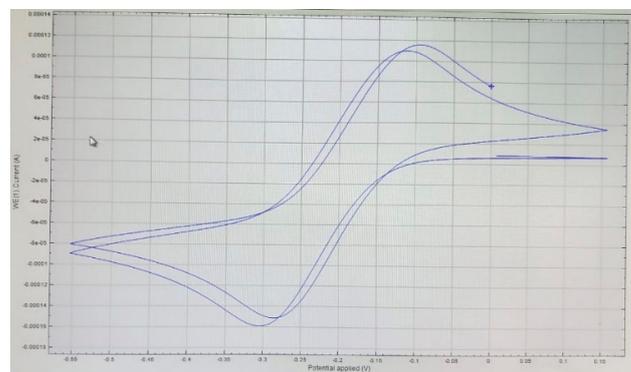


Fig. 12. Medida voltamétrica de Ferrocianeto de Potássio utilizando PGSTAT101.

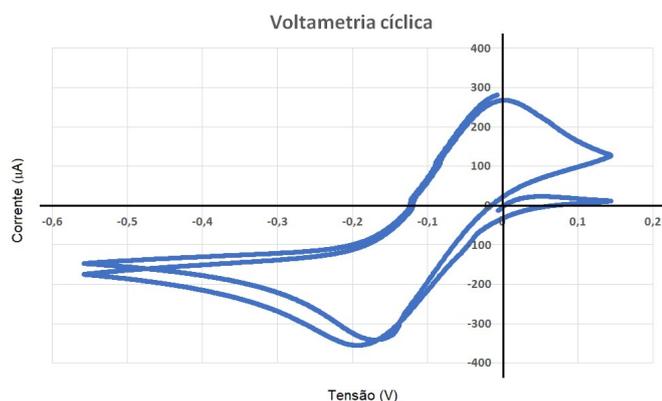


Fig. 13. Medida voltamétrica de Ferrocianeto de Potássio utilizando o potenciostato desenvolvido

Nas medidas realizadas com o protótipo do potenciostato em desenvolvimento, buscou-se apresentar o mesmo tipo de resultado do aparelho comercial. Os dados capturados foram importados como tabela em formato texto para a ferramenta Microsoft Excel e, assim, foi possível visualizar as medidas na forma de um gráfico (Fig. 13).

Observando-se a Fig. 12, os valores de tensão onde ocorrem os picos de corrente da substância analisada (Ferrocianeto de Potássio) valem $-0,3\text{mV}$ e $+0,1\text{mV}$ com valores de corrente de $-160\mu\text{A}$ e $+115\mu\text{A}$, respectivamente. Comparando-se os mesmos pontos de interesse na Fig. 13, é possível notar um pequeno desvio horizontal nos valores de tensão, fato cuja causa ainda não foi investigada.

Comparando-se o potenciostato profissional e o equipamento desenvolvido neste projeto, pode-se notar uma grande semelhança nas curvas voltamétricas, pois os valores de tensão onde se encontram os picos de corrente são aproximadamente equivalentes, mostrando que o projeto desenvolvido neste trabalho conseguiu alcançar seus objetivos.

V. CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi desenvolvido um potenciostato de baixo-custo, baseado no trabalho de Dobbelaere [6] e que foi objeto de desenvolvimento por meio de módulos eletrônicos e produção de um *software* capaz de realizar o procedimento de voltametria cíclica. O custo do projeto pode chegar a ser cem vezes mais barato que as soluções comerciais, o que pode ajudar pesquisas de menor porte que não fazem o uso completo das funcionalidades de um potenciostato profissional.

Os módulos foram devidamente criados e adaptados para o propósito aplicado, dando ao aparelho produzido capacidade de realizar testes no modo potenciostato conforme a solução

encontrada comercialmente. Para alcançar o objetivo de baixo-custo, algumas renúncias foram feitas, como a precisão em que o instrumento trabalha e funcionalidades extras, mas que para o objetivo e o tipo de análise buscado, são mais que suficientes e apresentam resultados compatíveis com os observados em um aparelho profissional.

Sendo assim, o projeto teve sucesso em alcançar seu objetivo e contribuiu para o desenvolvimento de um módulo potenciostato baixo-custo, leve e portátil, útil portanto à pesquisa na área da química e bioquímica com a análise de substâncias a partir da voltametria cíclica.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa com o apoio de bolsa PIBIC/CNPq. À Pontifícia Universidade Católica de Campinas pelo financiamento da pesquisa com o apoio de bolsa de Iniciação Científica FAPIC/Reitoria.

REFERÊNCIAS

- [1] R. K. Mendes, "Determination of Chlorophenol in Environmental Samples Using a Voltammetric Biosensor Based on Hybrid Nanocomposite", *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 28, No. 7, pp. 1212-1219, 2017.
- [2] A. Baraket et al., "A fully integrated electrochemical biosensor platform fabrication process for cytokines detection", *Biosensors and Bioelectronics*, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2016.09.023>
- [3] B. Derkus, "Applying the miniaturization Technologies for biosensor design", *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.01.033>
- [4] R. Pruna et al., "A low-cost and miniaturized potentiostat for sensing of biomolecular species such as TNF- α by electrochemical impedance spectroscopy", *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.09.049>
- [5] I. Ramfos et al., "A compact hybrid-multiplexed potentiostat for real-time electrochemical biosensing applications", *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.03.068>
- [6] T. Dobbelaere, P. M. Vereecken and C. A. Detavernier, "A USB-controlled potentiostat/galvanostat for thin-film battery characterization", *HardwareX*, Elsevier, 2017, <https://doi.org/10.1016/j.ohx.2017.08.001>
- [7] M. D. M. Dryden and A. R. Wheeler, "DStat: a versatile, open-source potentiostat for electroanalysis and integration", *PLOS One*, <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0140349> Acessado em 10 de setembro de 2019.
- [8] Arduino. capturado *on-line* em 01/08/ 2019 de <https://www.arduino.cc/>
- [9] ICL 7660, capturado *on-line* em 01/08/2019 de <https://datasheets.maximintegrated.com/en/ds/ICL766>
- [10] Python Tutorial, capturado *on-line* em 01/08/2019 <https://www.w3schools.com/python/default.asp>
- [11] Autolab PGSTAT101. Disponível em: <https://www.metrohm.com/pt-br/produtos-geral/eletoquimica/autolab-linha-compacta/PGSTAT101>