

NANOFIBRAS ELETROFIADAS DE PVP/QUITOSANA/ ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO PARA APLICAÇÃO EM BIOSENSORES

Adriana Pavinatto^{1,2}, Luiza A. Mercante¹, Murilo H.M. Facure^{1,3}, Luiz H.C. Mattoso^{1,3}, Daniel S. Correa^{1,3}

¹Nanotechnology National Laboratory for Agriculture (LNNA), Embrapa Instrumentation, São Carlos, SP, Brazil.

²Science and Technology Institute of Brazil University, Brazil University, São Paulo, SP, Brazil.

³PPGQ, Department of Chemistry, Center for Exact Sciences and Technology, Federal University of São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brazil.

adrianapavinatto@universidadebrasil.edu.br

Classificação: desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados.

Resumo

O presente trabalho teve como principal objetivo o desenvolvimento de uma plataforma sensorial baseada em nanofibras poliméricas eletrofiadas para uso como biossensor eletroquímico através da imobilização da enzima Lacase. Esta enzima catalisa o processo de oxidação do hormônio sintético 17 α -Ethinilestradiol (EE2) que é analito alvo, resultando num sinal elétrico mensurável. As nanofibras eletrofiadas foram formadas pelos polímeros poli(vinil pirrolidona) (PVP) e quitosana (Qui) com óxido de grafeno reduzido (GOr) e caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). A enzima Lacase foi imobilizada na plataforma através de *cross-linking* promovido por glutaraldeído e caracterizada por medidas de impedância eletroquímica e voltametria cíclica. Resultados preliminares mostram que a nova plataforma sensorial desenvolvida é promissora na detecção de EE2.

Palavras-chave: Óxido de grafeno reduzido; Nanofibras eletrofiadas; PVP; Quitosana; Biossensor.

ELECTROSPUN NANOFIBERS OF PVP/CHITOSAN/ REDUCED GRAPHENE OXIDE FOR APPLICATION IN BIOSENSORS

Abstract

The present work aims the development of a sensorial platform based on polymeric nanofibers for use as electrochemical biosensor through the immobilization of the enzyme Lacase. This enzyme catalyzes the oxidation process of the synthetic hormone 17 α -Ethinylestradiol (EE2), which is the target analyte, resulting in a measurable electrical signal. The nanofibers was formed by Poly(vinylpyrrolidone) (PVP) and chitosan (Chi) polymers with reduced graphene oxide (GOr) and characterized by scanning electron microscopy (SEM) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The enzyme Lacase was immobilized on the platform through cross-linking promoted by glutaraldehyde and characterized by electrochemical impedance and cyclic voltammetry measurements. Preliminary results showed that the novel sensory platform developed is promising for EE2 detection.

Keywords: Reduced graphene oxide, Electrospun nanofibers; PVP; Chitosan; Biosensor.

1 INTRODUÇÃO

A escolha e emprego de materiais que constituem a plataforma sensorial no desenvolvimento dos biossensores, tem papel fundamental no seu desempenho. Sendo assim, diferentes nanomateriais vêm sendo amplamente estudados e empregados no desenvolvimento de sensores eletroquímicos, inclusive para detecção de contaminantes químicos (GOVINDHAN et al., 2014). Tais materiais são utilizados em conjunto e atuam em sinergia para eficácia da imobilização do componente biológico e detecção de analitos alvo, atuando como meio eletroativo. Além dos nanomateriais, as técnicas de nanoestruturação empregadas para formação da plataforma sensorial, como a de eletrofição (BHARDWAJ et al., 2010) por exemplo, configuram importante ferramenta na formação da

plataformas adequadas. Nanofibras poliméricas tem sido utilizadas na modificação de eletrodos por apresentarem excelentes propriedades para o sensoriamento. Dentre as propriedades, destacam-se a elevada razão área superficial/volume das fibras, e possibilidade de funcionalização química com materiais eletroativos e condutores, etc. incluindo a adsorção de nanopartículas e/ou funcionalização com componente biológico (enzimas, antígenos, etc.) podendo assim atuar como biossensores. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de plataforma sensorial para biossensor utilizando a técnica de eletrofição na produção da plataforma híbrida de PVP/quitosana/óxido de grafeno para posterior imobilização da enzima Lacase e detecção do hormônio sintético EE2.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As nanofibras eletrofiadas foram produzidas a partir de soluções poliméricas de PVP em etanol (4% m/v), quitosana em solução aquosa de ácido acético e GOr. A obtenção das nanofibras e os parâmetros de eletrofição foram otimizados e o diâmetro médio calculado através das imagens de MEV e software Image J (100 fibras aleatórias). Espectros FTIR foram adquiridos espectrômetro da Bruker Vertex 70 na região espectral entre 4000 e 800 cm^{-1} e um total de 64 varreduras por espectro foram coletados com resolução de 2 cm^{-1} . A enzima Lacase foi imobilizada sobre as nanofibras através de gotejamento de 20 μL de solução da enzima em tampão fosfato salino pH 7,0 (0,1M). A imobilização da enzima foi confirmada através de caracterização eletroquímica.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Imagens de MEV das nanofibras produzidas, apresentadas na Figura 1, mostraram a formação de nanofibras homogêneas, sem porosidade e defeitos superficiais, com diâmetro médio de 210 ± 20 nm para PVP e 179 ± 25 nm para PVP/Qui. Espectros FTIR obtidos apresentaram as principais bandas de deformação dos materiais impregnados confirmando a presença de ambos na composição da mesma. Medidas de impedância eletroquímica, mostradas na Figura 2, comprovam a imobilização da enzima. O diâmetro do semicírculo formado nos gráficos de Nyquist é igual a resistência à transferência de carga (R_{ct}) do eletrodo. Assim, o menor valor R_{ct} foi para a placa de FTO (27Ω) por se tratar de vidro recoberto com um óxido condutor. Para os eletrodos modificados, observou-se que a adição das nanofibras de PVP ao eletrodo aumentou a resistência para 331Ω devido à sua natureza isolante. Já a adição de quitosana resultou em uma diminuição da resistência devido ao seu caráter de polieletrólito (107Ω) e redução ainda maior foi observada ao se adicionar as placas de GOr (40Ω), devido a maior facilidade no transporte de elétrons. Após a imobilização da Lacase observou-se o aumento na resistência (74Ω) à transferência de carga devido à presença da enzima, que dificulta o processo de difusão de íons entre a interface do eletrodo e a solução. Tal aumento evidencia a imobilização da enzima na plataforma do biossensor. Medidas de voltametria cíclica também confirmaram a presença da enzima nas nanofibras sendo possível observar o par redox do centro metálico de cobre da enzima.

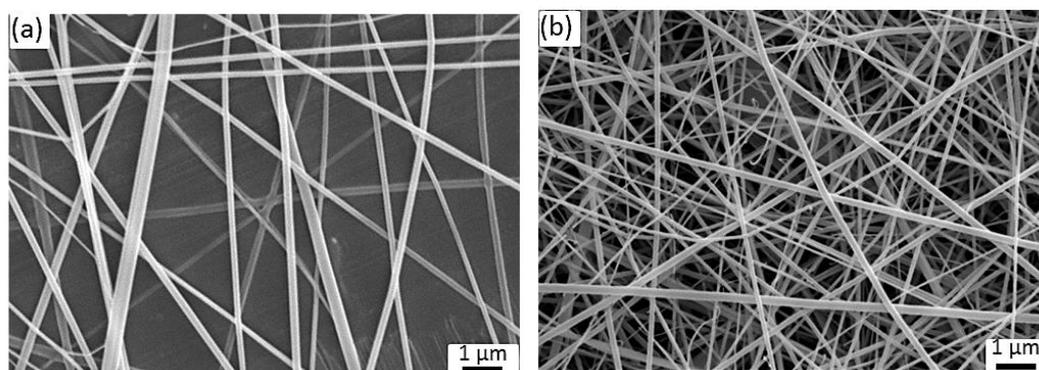


Figura 1. Imagens de MEV para as nanofibras de PVP (a) e PVP/Qui (b).

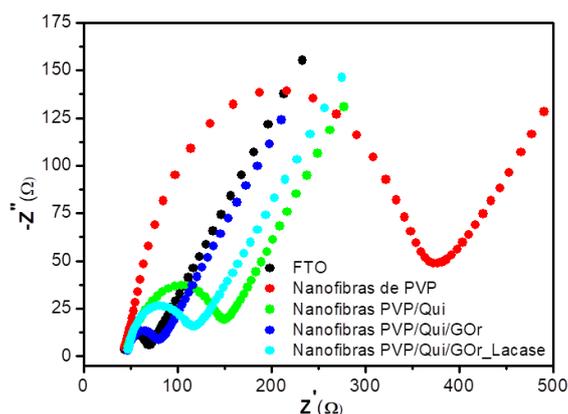


Figura 2. Gráficos de Nyquist para o eletrodo de FTO, nanofibras de PVP, PVP/Qui, PVP/Qui/GOr e de PVP/Qui/GOr_Lacase em solução de $5 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl.

4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi desenvolvida nova plataforma (bio)sensorial através da formação de nanofibras eletrofiadas dos polímeros PVP/Quitosana e óxido de grafeno reduzido (GOr). As fibras mostraram-se homogêneas e adequadas para imobilização da enzima Lacase através de ligações cruzadas entre os grupamentos hidroxila do grafeno e os amina da enzima. Medidas de voltametria cíclica e impedância eletroquímica confirmaram a imobilização da enzima na plataforma sensorial, a qual será empregada para detecção do hormônio EE2.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a EMBRAPA e a FAPESP - processo: 2013/26712-7, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

GOVINDHAN, M.; ADHIKARI, B.; CHEN, A. Nanomaterials-Based Electrochemical Detection of Chemical Contaminants. *RSC Advances*, v. 4, p. 63741–63760, 2014.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique. *Biotechnology Advances*, v. 28, n. 3, p. 325–347, 2010.