

LÍNGUA ELETRÔNICA BASEADA EM NANOFIBRAS ELETROFIADAS DE POLIMERO CONDUTOR PARA DETECÇÃO DE TETRACICLINA

Vanessa P. Scagion^{1,2}, Luiza A. Mercante¹, Karine Y. Sakamoto^{1,2}, Juliano E. Oliveira³,
Fernando J. Fonseca⁴, Luiz H. C. Mattoso^{1,2}, Marcos D. Ferreira^{1,2} e Daniel S. Correa^{1,2}

¹ Laboratório Nacional de Nanotecnologia no Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação,
13560-970, São Carlos, SP, Brasil.

² Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), 13565-
905, São Carlos, SP, Brasil.

³ Engenharia de Materiais, Departamento de Engenharia, Universidade Federal de Lavras (UFLA),
37200-000, Lavras, MG, Brasil.

⁴ Escola Politécnica, Universidade de São Paulo (EPUSP), 05508-010, São Paulo, SP, Brasil.
*vanessa.scagion@gmail.com

- **Classificação:** Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados

Resumo

O desenvolvimento de novos e portáteis sensores químicos voltados para a indústria de alimentos é de primordial importância para questões de segurança alimentar, e a escolha cuidadosa do material de detecção é essencial para a obtenção de sensores de alto desempenho, como as empregadas em línguas eletrônicas (e-tongue). Neste trabalho, desenvolveu-se uma e-tongue impedimétrica baseada em microeletrodos interdigitados de ouro (IDEs) modificados com nanofibras eletrofiadas de poliamida 6 / polianilina (PA6 / PANI) usadas para detectar resíduos de tetraciclina (TC) em amostras de leite integral e desnatado. Ao analisar os dados de resistência elétrica coletados pela e-tongue, e tratados pela Análise de Componentes Principais (PCA), a língua eletrônica foi capaz de identificar a presença de resíduos TC (de 1 a 300 ppb) em amostras de leite com diferentes teores de gordura, sem pré-tratamento prévio.

Palavras-chave: Leite; Língua eletrônica; Nanofibras; Eletrofição.

AN ELECTRONIC TONGUE BASED ON CONDUCTING ELECTROSPUN NANOFIBERS FOR DETECTING TETRACYCLINE IN MILK SAMPLES

Abstract

The development of novel and portable chemical sensors aimed at the food industry is of prime importance for food safety issues, and the careful choice of the sensing material is essential for achieving high performance sensor arrays, such as those employed in nanostructured electronic tongues (e-tongues). In the current work, an impedimetric e-tongue based on gold interdigitated microelectrodes (IDEs) modified with polyamide 6/polyaniline (PA6/PANI) electrospun nanofibers was developed and used to detect tetracycline (TC) residue in fat and skimmed milk samples. By analyzing the electrical resistance data collected by the e-tongue, which were treated by Principal Component Analysis (PCA), the e-tongue was able to identify the presence of TC residues (from 1 to 300 ppb) in fat and skimmed milk samples without any prior pre-treatment.

Keywords: Milk; Electronic tongue; Nanofibers; Electrospinning.

Publicações relacionadas: Scagion, V. P.; Mercante, L. A.; Sakamoto, K. Y.; Oliveira, J. E.; Fonseca, F. J.; Mattoso, L. H. C.; Ferreira, M. D. e Correa, D. S. An electronic tongue based on conducting electrospun nanofibers for detecting tetracycline in milk samples. (DOI: [10.1039/C6RA21326J](https://doi.org/10.1039/C6RA21326J) (Paper) *RSC Adv.*, 2016, **6**, 103740-103746).

1 INTRODUÇÃO

Os problemas de segurança alimentar, especialmente aqueles causados pela contaminação dos alimentos, receberam grande atenção dos pesquisadores, decorrente de seus efeitos deletérios à saúde humana. Por exemplo, a presença de resíduos de antibióticos nos gêneros alimentícios gera um risco potencial ao consumidor e, pode causar várias consequências como a resistência bacteriana e casos alérgicos. As tetraciclinas (TC), uma classe de antibiótico eficaz e de amplo espectro de abrangência, são constantemente empregadas na medicina e decorrente disso, ela vem se tornando uma das maiores preocupações em relação aos contaminantes de alimentos.¹ Atualmente, uma variedade de métodos analíticos foram desenvolvidos para a detecção de resíduos de TC em leite, como cromatografia líquida de alto desempenho.² No entanto, alguns desses métodos são demorados e exigem aparelhos caros. Portanto, o desenvolvimento de métodos simples, de baixo custo, sensíveis e rápidos para detectar resíduos de TC em leite é um requisito importante para o monitoramento de segurança alimentícia.

A língua eletrônica (e-tongue) vem sendo utilizada para avaliar a qualidade de uma variedade de alimentos,⁵ sendo composta por uma matriz de sensores não específicos ou de baixa seletividade (unidades sensoriais) que exibem alta sensibilidade cruzada. Na última década, materiais e metodologias inovadoras foram propostas para essa tarefa, dentre elas destacamos a modificação das superfícies eletrodos com nanofibras². A notável área de superfície e a grande porosidade tornam as nanofibras eletrofiadas altamente atraentes para o design sensores ultra-sensíveis. Em particular, nanofibras baseadas em polímeros condutores são candidatos potenciais para aplicações em dispositivos de sensoriamento,³ devido à sua alta condutividade elétrica. Dentre os polímeros condutores destaca-se a polianilina (PANI) devido à sua facilidade de síntese, estabilidade ambiental e reação redox intrínseca. Já como polímero de suporte, destaca-se a poliamida 6 (PA6), a qual forma nanofibras uniformes e de fácil obtenção. Sendo assim o uso de ambos os polímeros é uma excelente estratégia para a obtenção de nanofibras por meio da eletrofição. Assim, neste trabalho, relatamos o desenvolvimento de um conjunto de microeletrodos interdigitados (IDEs) de ouro com nanofibras de PA6 e PA6 / PANI, que foi usado como um sistema de e-tongue impedimétrica. Os dados experimentais foram tratados por meio da técnica estatística de análise de componentes principais (PCA), o que permitiu a identificação de resíduos de TC leites UHT com diferentes teores de gordura.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Tetraciclina 98% (TC), polianilina (PANI) (base de esmeralda, $M=20\ 000\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$), Poliamida 6 (PA6, $M=20\ 000\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) e 1,1,1,3,3,3-hexa-uoro-2-propanol (HFIP) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Os microeletrodos interdigitados de ouro (IDEs) foram fabricados por fotolitografia convencional na Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (EPUSP).

As soluções de PA6 e PA6 / PANI foram preparadas por dissolução dos polímeros em HFIP sob agitação durante 5 h, à temperatura ambiente. A solução de PA6 foi preparada em concentrações de 5% (m/v em relação ao solvente), enquanto as soluções de PA6 / PANI foram preparadas usando 5% de PA6 (m/v em relação ao solvente) e concentrações distintas de PANI: 0,25, 0,5, 1, 2,5 e 5% (m/m em relação a PA6), produzindo as amostras denominadas PA6 / PANI. As nanofibras foram obtidas por meio da técnica de eletrofição usando uma taxa de alimentação de $0,01\ \text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$, tensão elétrica de 16 kV, à uma distância de trabalho de 5 cm. As nanofibras foram depositadas aleatoriamente na superfície dos IDEs à uma velocidade rotativa de 300 rpm, com um tempo de coleta otimizado de 45s.

Leites UHT com diferentes teores de gordura (desnatados e gordurosos) foram comprados de um fornecedor local. As amostras de leite foram preparadas diluindo 25 mL de cada amostra de leite em 100 mL de água destilada. A contaminação das amostras de leite foi realizado misturando quantidades adequadas de TC nas amostras de leite, atingindo concentrações mássicas de 1, 5, 25, 50, 100, 200 e 300 ppb.

A língua eletrônica foi composto por sete unidades de sensoriais: um IDE sem nenhuma modificação, um IDE com nanofibras de PA6 e o restante dos IDEs com nanofibras de PA6 / PANI 0,25%, PA6 / PANI 0,5%, PA6 / PANI 1,0%, PA6 / PANI 2,5%, PA6 / PANI 5,0%, respectivamente. Para medição das amostras de leite não contaminadas e contaminadas, os eletrodos ficaram submersos

nas respectivas soluções por 10 minutos, para garantir a estabilização deste no meio e após esse tempo iniciou-se a aquisição de dados.

A avaliação das amostras de leite com diferentes teores de gordura (desnatadas e integrais) e contendo distintas concentrações de TC (1-300 ppb) foi realizada por meio de medidas de impedância elétrica e os dados de resistência elétrica foram coletados a 1 kHz. O tratamento desses dados foi realizado por meio da PCA, que converte um grupo de observações de provável variáveis correlacionadas em um grupo de valores de variáveis linearmente não-correlacionadas (chamadas componentes principais).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os gráficos de PCA obtidos a partir das medidas com as unidades sensoriais modificadas para amostras de leite integral são apresentadas na Figura 1 (a). Nessa é possível perceber que houve, claramente, a distinção entre as soluções contaminadas e não contaminadas, mesmo em concentrações muito baixas (1 ppb). Por exemplo, pode-se observar que a amostra de leite puro está localizada no lado positivo do PC1 e no lado negativo do PC2. As amostras contaminadas com TC estão correlacionadas com o PC2, onde as amostras contaminadas com altos níveis de TC estão localizadas no lado negativo do PC2, enquanto as amostras com baixas concentrações de TC são agrupadas no lado positivo do PC2. A variação de dados foi, em grande parte, contabilizada pelo PC1 + PC2 (80%).

A Figura 1 (b) mostra o gráfico PCA obtido para amostras de leite desnatado. Os gráficos para cada amostra de leite indicaram que a amostra não contaminada também pode ser distinguida das amostras contaminadas. Além disso, as amostras podem ser separadas pela concentração, indicando que o conjunto proposto de sensores não se limita a um único tipo de leite. Além disso, a variação de dados foi contabilizada principalmente pelos dois componentes principais, onde (PC1 + PC2) correspondem a 83% da informação total coletada. (Figura 1).

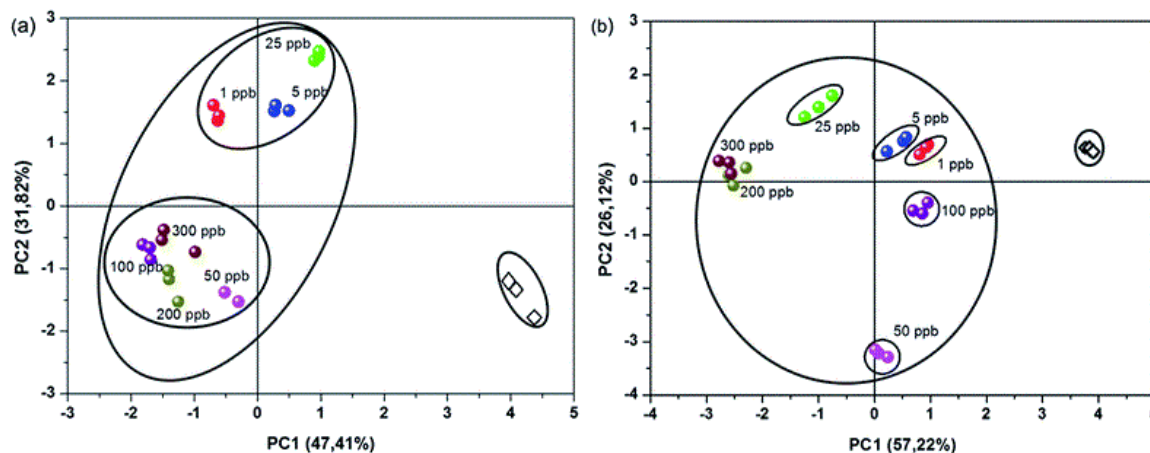


Figura 1. Gráficos de PCA obtidos a partir de valores de resistência elétrica a 1 kHz e 200 mV para amostras de leite: (a) integral e (b) desnatado não contaminado (losango aberto) e contaminado com TC em diferentes concentrações - de 1 a 300 ppb (círculos coloridos). A variável de dados para PC1 e PC2 está incluída na figura. Figura adaptada de Scagion, V. P et al, 2016 – Fig.5).

Portanto, pode-se concluir que a língua eletrônica proposta foi capaz de distinguir amostras de leite com diferentes concentrações de tetraciclina. Esta matriz de sensores mostra uma alta sensibilidade, capaz de detectar concentrações de 1 ppb de tetraciclina, que é comparável aos resultados alcançados por outras técnicas analíticas sofisticadas, como HPLC.⁴

4 CONCLUSÃO

Uma nova plataforma nanoestruturada com base em nanofibras eletrofiadas de PA6 / PANI foi elaborada de maneira satisfatória em IDEs e, utilizados como unidades sensoriais de uma língua

eletrônica impedimétrica, visando análises de amostras de leite. A detecção de tetraciclina em leites integrais e desnatados, em níveis de concentração abaixo do máximo permitido para TC (100 ppb) pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA)¹² foi devidamente demonstrada.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao apoio financeiro da FAPESP (2014 / 16789-5 e 2012 / 23880-3), CNPq, CAPES, MCTI-SisNano, Rede Agronano e Embrapa do Brasil.

REFERÊNCIAS

ENGTSSON, B. et al. [Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows](#). *Veterinary Microbiology*, v.136, p.142-149, 2009.

OLIVEIRA, J. E. et al. [Modification of electrospun nylon nanofibers using layer-by-layer films for application in flow injection electronic tongue: Detection of paraoxon pesticide in corn crop](#). *Sensors and Actuators B*, v.171-172, p. 249-255, 2012.

[MERCANTE, L. A.](#) et al. Electrospinning-based (bio)sensors for food and agricultural applications: A review. *Trends in Analytical Chemistry*, v. x, p. 1-13, 2017.

MARTINS-JUNIOR, Helio A. et al. A rapid method to determine antibiotic residues in milk using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 18, n. 2, p. 397-405, 2007