

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio
Anais do V Workshop 2009**

Odílio Benedito Garrido de Assis
Wilson Tadeu Lopes da Silva
Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Editores

Embrapa Instrumentação Agropecuária
São Carlos, SP
2009

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação Agropecuária

Rua XV de Novembro, 1452
Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: (16) 2107 2800
Fax: (16) 2107 2902
<http://www.cnpdia.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Membros: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,
Dr. João de Mendonça Naime,
Dr. Washington Luiz de Barros Melo
Valéria de Fátima Cardoso
Membro Suplente: Dr. Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Capa: Manoela Campos e Valentim Monzane
Imagem da Capa: Imagem de AFM de nanofibra de celulose - Rubens Bernardes Filho
Edição eletrônica: Manoela Campos e Valentim Monzane

1ª edição

1ª impressão (2009): tiragem 200

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Instrumentação Agropecuária**

Anais do V Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao
agronegócio 2009 - São Carlos: Embrapa Instrumentação
Agropecuária, 2009.

Irregular
ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia - Evento. I. Assis, Odílio Benedito Garrido de.
II. Silva, Wilson Tadeu Lopes da. III. Mattoso, Luiz Henrique
Capparelli. IV. Embrapa Instrumentação Agropecuária

© Embrapa 2009



BIOSSENSORES ENZIMÁTICOS BASEADOS EM NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS

Juliano Elvis de Oliveira^{1,3}, Valtencir Zucolotto², Luiz Henrique Capparelli Mattoso^{3*}

¹PPGCEM, Depto. de Materiais - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

²Grupo de Biofísica- IFSC, USP, 13560-970, São Carlos/SP

³Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP *mattoso@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC2

Plano de Ação: 01.05.1.01.02.02

Resumo

Com o crescimento da produção agropecuária duas importantes vertentes que vêm se destacando são o monitoramento de glicose e a detecção de pesticidas organofosforados a partir de biossensores. Neste projeto, visamos o estudo de novos biossensores contendo enzimas oxireductases (acetilcolinesterase e glicose oxidase) imobilizadas sobre diferentes nanocompósitos poliméricos (poli(o-metoxianilina) e quitosana) contendo nanotubos de carbono pela técnica de automontagem. No caso da quitosana também será investigado a forma de nanofibras eletrofiadas.

Palavras-chave: nanocompósitos, biossensores, poma, quitosana, glicose, pesticidas.

Introdução

A nanotecnologia envolve o estudo, manipulação, desenvolvimento e utilização de materiais, dispositivos e sistemas com pelo menos uma dimensão de até 100 nm (KUCHIBHATLA, 2007). A literatura (KUCHIBHATLA, 2007; JIARONG, 2004) já reporta novas propriedades obtidas por materiais nanoestruturados, que leva a uma revolução tanto científica quanto tecnológica. Porém muito ainda precisa ser compreendido sobre o comportamento de materiais na escala nanométrica. Assim, muitos materiais, fenômenos e aplicações vem atualmente sendo estudados com o objetivo de se compreender os fundamentos e leis na escala nanométrica (KUCHIBHATLA, 2007; JIARONG, 2004). Por exemplo, o primeiro nanocompósito baseado na incorporação de nanotubos de carbono em uma matriz polimérica foi reportado por Ajayan e colaboradores em 1994 (SCHAEFER, 2007). Desde então a literatura reportou uma melhoria nas propriedades mecânicas, térmicas e elétricas dos

nanocompósitos em relação ao polímero empregado como matriz (SCHAEFER, 2007; MONIRUZZAMAN, 2006). Estas propriedades únicas dos nanotubos de carbono combinadas a propriedades apresentadas pelos materiais poliméricos tornam estes nanocompósitos excelentes candidatos em biossensores (ZAO, 2002).

Biossensores são dispositivos que se utilizam de entidades biológicas para a detecção de espécies químicas ou biológicas. O principal benefício dos biossensores é o de apresentar alta sensibilidade e seletividade, fácil manuseio e resposta imediata para análises em campo envolvendo em baixas concentrações. O emprego de materiais nanoestruturados em biossensores permite o desenvolvimento de dispositivos mais sensíveis e seletivos, revolucionando o campo da análise química e biológica em tempo real (ZAO, 2002; GARCIA, 2003). Neste trabalho será dada ênfase ao estudo da influência do tipo e arquitetura do nanocompósito presente no eletrodo modificado na resposta eletroanalítica dos biossensores.

Materiais e métodos

As soluções poliméricas de POMA, PSS, CH e nanotubos de carbono de parede simples funcionalizados com COOH serão preparadas em solução aquosa pH=4,0 na concentração de 0,5 mg/mL de acordo com metodologias prévias apresentadas pela literatura (PATERNO, 2001; SIQUEIRA, 2008; CASELI, 2006). O crescimento dos filmes será acompanhado por espectroscopia UV-VIS. As interações entre os polieletrólitos e o nanotubos de carbono serão investigadas pelas técnicas de FTIR e RAMAN. A morfologia dos filmes será observada por microscopia de força atômica. Finalmente as propriedades eletroquímicas dos filmes nanoestruturados serão avaliadas por voltametria cíclica.

Também serão preparadas nanofibras das blendas de PVA/CH 60/40 v/v utilizando-se as diferentes soluções de PVA (14%, 16% e 18% m/v). Os parâmetros de eletrofição serão 10 cm de distância agulha-coletor, vazão de 0,5 mL/h, rotação do coletor de 300 RPM e potencial de 35 KV. A viscosidade das soluções será investigada por reometria de placas paralelas. A tensão superficial e a condutividade das soluções serão monitoradas com o auxílio de um tensiômetro e de um condutivímetro, respectivamente. As nanofibras serão caracterizadas por MEV, DRX, DSC e FTIR. AS enzimas serão imobilizadas por casting e automontagem nos eletrodos de ITO modificados com estes nanocompósitos.

Resultados e discussão

A eletroatividade dos materiais poliméricos se relaciona com a capacidade destes de sofrerem processos de oxidação quando submetidos a um determinado potencial elétrico. As técnicas eletroanalíticas permitem se relacionar estes processos de oxidação com outras características do material como presença de grupamentos eletro reativos, condutividade elétrica, cristalinidade, porosidade e espessura do filme e desta forma obter informações quantitativas a respeito da concentração de espécies químicas ou biológicas em solução. A fim de estudar o efeito da adição de nanotubos de carbono na eletroatividade da matriz polimérica foram realizados experimentos de voltametria cíclica para diferentes números de bicamadas dos filmes de (POMA/PSS ou SWCNT) e (CH/PSS ou SWCNT). Os voltamogramas podem ser observados na Figura 1.

Pelos resultados obtidos pode-se notar que a adição de nanotubos de carbono de parede simples funcionalizados com COOH leva a uma aumento nos picos de oxidação e redução da POMA. Já no caso da quitosana, os filmes automontados alternados com PSS não apresentam eletroatividade. a adição de nanotubos leva, neste caso leva ao aparecimento de um processo de oxidação do nanocompósito. Os valores das correntes e potenciais de pico obtidos neste estudo se encontram na Tabela 1.

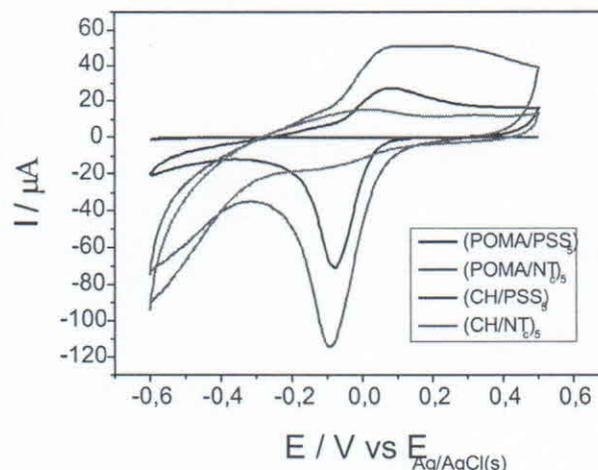


Fig. 1. Voltamogramas obtidos para os sistemas contendo filmes automontados em estudo

Tabela 1. Valores de correntes e potenciais de pico

Sistema	Sistema Corrente de pico catódica (µA)	Potencial de pico catódico (mV)
(POMA/PSS) ₅	27,3	81,5
(POMA/SWCNT) ₅	50,9	99,1
(CH/PSS) ₅	---	---
(CH/SWCNT) ₅	15,51	19

A eletrofição depende de uma série de fatores como características geométricas, propriedades reológicas e da carga elétrica as quais a solução polimérica apresenta. As cargas elétricas são transportadas na solução através dos íons e dependem diretamente de parâmetros geométricos do jato. Ao se aplicar um potencial suficientemente alto as forças elétricas vencem o efeito da tensão superficial e ocorre a formação de um jato (THOMPSON, 2007; THERON, 2004). A morfologia final das fibras depende também do comportamento viscoelástico da solução. Os resultados obtidos mostram que um aumento na concentração de PVA em solução leva a um aumento na viscosidade acarretando no desaparecimento dos beads. As micrografias ilustrando o efeito da viscosidade das soluções na morfologia final das fibras se encontram na Figura 2. Outro ponto interessante a ser ressaltado é que ao se aumentar a concentração total de polímero em solução temos um aumento no diâmetro médio das fibras, além do efeito da redução do número de beads.

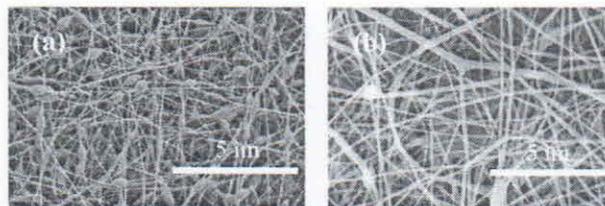


Fig. 2. Micrografias de nanofibras de blendas 60/40 v/v pva/quitosana: (a) 10% de pva e (b) 18% de pva em solução

Na Figura 3 são apresentadas as viscosidades obtidas em função da taxa de cisalhamento para diversas composições de blendas.

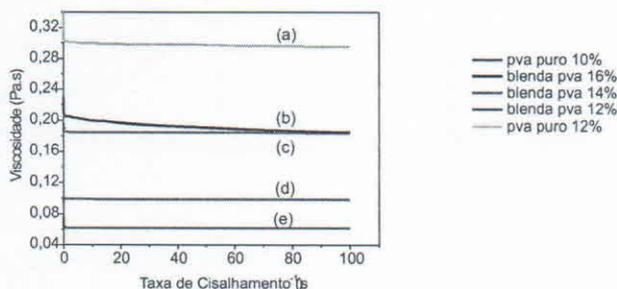


Fig. 3. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para as blendas 60/40 v/v pva/quitosana: (a) PVA 12% , (b) blenda PVA 16%, (c) PVA 10%, (d) blenda PVA 14%, (e) blenda PVA 16%.

Nota-se que a adição da solução de 2mg/mL de quitosana à solução de PVA leva a uma redução significativa em sua viscosidade. Essa redução dificulta a formação das fibras durante a eletrofiação e permite o aparecimento dos beads.

Conclusões

Foi possível obter, eletrodos modificados com as nanoestruturas poliméricas propostas no trabalho. No caso dos filmes automontados, os experimentos realizados indicam que os eletrodos modificados apresentam eletroatividade e podem ser empregados como mediadores redox em biossensores baseados em enzimas oxireduases. A adição de nanotubos de carbono trouxe uma melhora na corrente de pico catódica para os filmes de POMA e CH.

Em relação as nanofibras de quitosana obtidas por eletrofiação até o presente momento foi possível eletrofiar-se diretamente em eletrodos de ITO. Como próximos passos pretende-se imobilizar enzimas sobre estes eletrodos modificados com nanofibras ou filmes nanoestruturados e destas forma realizar os estudos de caracterização e otimização destes biossensores.

Agradecimentos

CNPq, FINEP, FIPAI, EMBRAPA, Grupo de Polímeros Bernard Gross, Prof. Dr. Éliton Souto Medeiros.

Referências

- KUCHIBHATLA, S. V. N. T. et al. **Progress in Materials Science**, [S. l.], v. 52, p. 699-913, 2007.
- JIARONG, C. et al. **Biotechnology Advances**, New York, v. 22, p. 505-518, 2004.
- SCHAEFER, D.W.; JUSTICE, R. S. **Macromolecules**, Easton, v. 40, p. 8501-8517, 2007.
- MONIRUZZAMAN, M.; WINEY, K. I. **Macromolecules**, Easton, v. 39, p. 5194-5205, 2006.
- ZAO, I. Q. et al. **Electroanalysis**, New York, v. 14, p. 1609-1613, 2002.
- GARCIA, M. N. V.; MOTTRAM, T. **Biosystems Engineering**, London, v. 84, n. 1, p. 1-12, 2003.
- PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C. **J. Applied Polymer Science**, New York, v. 83, p. 1309-1316, 2001.
- SIQUEIRA, Jr, J. R. et al. **J. Phys. Chem. C**, Washington, v. 112, p. 9050-9055, 2008.
- CASELI, L. et al. **J. of Colloid and Interface Sci.**, New York, v. 303, p. 326-331, 2006.
- THOMPSON, C. J. et al. **Polymer**, [S. l.], v. 48, p. 6913-6922, 2007.
- THERON, S. A.; ZUSSMAN, E.; YARIN, A. L. **Polymer**, [S. l.], v. 45, p. 2017-2030, 2004.