



FILMES NANOESTRUTURADOS CONTENDO QUITOSANA PARA APLICAÇÃO COMO PLATAFORMA DE BIOSENSOR ELETROQUÍMICO

A. Pavinatto¹, L.A. Mercante¹, D.S. Correa¹

Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP,
adrianapavinatto@yahoo.com.br, lamercante@gmail.com, daniel.correa@embrapa.br

Resumo: Filmes nanoestruturados contendo quitosana têm apresentado bom desempenho como plataforma sensorial devido, principalmente, à facilidade na formação de filmes automontados e a afinidade com biomoléculas, possibilitando sua imobilização. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo a fabricação de filmes nanoestruturados através da técnica de automontagem (LbL) formados pelo polieletrólito catiônico quitosana (Qui) e os polieletrólitos aniônicos poli(3,4-etilenodioxitiofeno) - poli(estirenosulfonato) (Pedot:PSS) e Ftalocianina de Cu II tetrasulfonada (Ft), para posterior uso como plataforma de biossensor eletroquímico. A formação dos filmes foi monitorada por espectroscopia na região do UV-Vis e infravermelho, que também foram utilizadas para análise da estrutura química dos mesmos. Os filmes foram caracterizados morfologicamente por microscopias de força atômica (AFM) e eletrônica de varredura (MEV). A energia de superfície e caracterizações eletroquímicas dos filmes foram obtidas por medidas de ângulo de contato e voltametria cíclica, respectivamente. O crescimento dos filmes mostrou-se linear e homogêneo e os espectros de infravermelho confirmaram a presença de ambos os materiais nas arquiteturas Qui/Pedot:PSS e Qui/Ft. Os valores de rugosidade dos filmes formados por Qui/Ft foram maiores do que os formados por Qui/Pedot:PSS, sugerindo que a arquitetura é morfologicamente mais favorável na imobilização de biomoléculas. Os resultados de voltametria cíclica mostram que filmes com 3 e 5 bicamadas formam eletrodos mais estáveis do que os de 7 bicamadas.

Palavras-chave: filmes nanoestruturados, quitosana, Pedot:PSS, ftalocianina de Cu II tetrasulfonada, biossensor.

NANOSTRUCTURED FILMS CONTAINING CHITOSAN FOR APPLICATION IN ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR PLATFORM

Abstract: Nanostructured films containing chitosan have shown good performance as sensing platform, mainly due to the facility to form self-assembled films and the affinity with biomolecules, allowing immobilization. In this context, this work aims at fabricating nanostructured films through the layer-by-layer technique (LbL) formed by cationic polyelectrolyte chitosan (Chi) and the anionic poly(3,4-ethylenedioxythiophene):poly (estirenosulfonate) (PEDOT:PSS) and tetrasulfonated Cu II phthalocyanine (Ft), for subsequent use as an electrochemical biosensor platform. The formation of the films was monitored by UV-visible and infrared spectroscopy, which were also used to analysis of the film chemical structures. The films were characterized morphologically by atomic force microscopy (AFM) and scanning electron (SEM). The surface energy and electrochemical characterizations of the films were obtained by contact angle and cyclic voltammetry measurements, respectively. The growth of the films was shown to be linear and homogeneous and the infrared spectra confirmed the presence of both materials in the Chi/ Pedot:PSS and Chi/Ft architectures. The values of films roughness of Chi/Ft were larger than Chi/Pedot:PSS, suggesting that the architecture is morphologically more favorable to biomolecules immobilization. The results of cyclic voltammetry shown that films with 3 and 5 bilayers yield more stable electrodes than those formed with 7 bilayers.

Keywords: nanostructured films, chitosan, Pedot:PSS, tetrasulfonated Cu II phthalocyanine, biosensor.

1. Introdução

A técnica de automontagem (LbL, do inglês Layer-by-Layer) é uma técnica de formação de filmes nanométricos, baseada na interação entre os materiais utilizados. As interações podem ser ligações covalentes, adsorção química, forças de Van de Waals ou, mais recentemente proposta por Decher e seus colaboradores, interações eletrostáticas (DECHER, Gerard et al., 1992). A formação de filmes LbL, tendo como força motriz interações eletrostáticas, baseia-se na interação física de materiais de carga elétrica oposta. Os filmes são formados através da reorganização espontânea dos componentes em substrato sólido, levando à formação das multicamadas nanométricas. As camadas se formam pela imersão sucessiva do substrato em soluções de materiais de cargas opostas, sendo os polieletrólitos catiônicos e aniônicos materiais frequentemente utilizados. O fato da quitosana ser um polieletrólito linear com alta densidade de carga positiva e com capacidade de formar filmes com facilidade, a

torna um material apropriado para confecção de filmes automontados (KIM, Se-Kwon, et al., 2005). A formação de filmes ultrafinos auto organizados é essencial para o desenvolvimento da plataforma sensorial, sendo assim, o objetivo desse trabalho foi desenvolver arquiteturas adequadas para imobilização do sítio sensorial enzimático.

2. Materiais e Métodos

Os filmes nanoestruturados foram formados pela técnica de automontagem (LbL) em substratos de quartzo, silício, vidro e vidro recoberto com óxido de estanho dopado com flúor (FTO). As arquiteturas utilizadas foram Qui/Pedot:PSS e Qui/Ft sendo os filmes formados por 0 a 7 bicamadas dos materiais. Foram utilizadas soluções de Qui, Pedot:PSS e Ft na concentração de 0,5 mg/mL e o tempo imersão do substrato nas soluções foi de 10 minutos para soluções de Qui e 3 minutos para soluções de Pedot:PSS e Ft. Os filmes foram caracterizados por espectroscopia na região do UV-Vis e infravermelho, microscopias de força atômica (AFM), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e medidas de ângulo de contato. Além da caracterização estrutural, medidas de voltametria cíclica foram realizadas com intuito de caracterizar e estudar as propriedades eletroquímicas dos filmes. Para este fim, foi utilizado um potenciostato comercial Autolab modelo PGSTAT 30 acoplado a um microcomputador, utilizando célula eletroquímica com eletrodo de Ag/AgCl como referência e eletrodo de Platina (Pt) como contra eletrodo.

3. Resultados e Discussão

O crescimento dos filmes foi acompanhado por espectroscopia na região do UV-Vis, através de medidas do aumento da absorvância em função do número de bicamadas depositadas. A Figura 1(A) mostra os espectros obtidos para os filmes automontados formados por 0 a 7 bicamadas de Qui/Ft. Através do monitoramento das bandas em 226 nm - atribuída a absorção do átomo de cobre - e em 332 nm, 620 nm e 697 nm - atribuídas a transições eletrônicas $\pi-\pi^*$ de elétrons do interior e exterior do anel - foi possível verificar uma dependência linear da absorção com o número de bicamadas depositadas (Fig 1B), indicando um crescimento uniforme dos filmes poliméricos sobre o substrato. O mesmo comportamento linear de crescimento foi observado para os filmes Qui/Pedot:PSS.

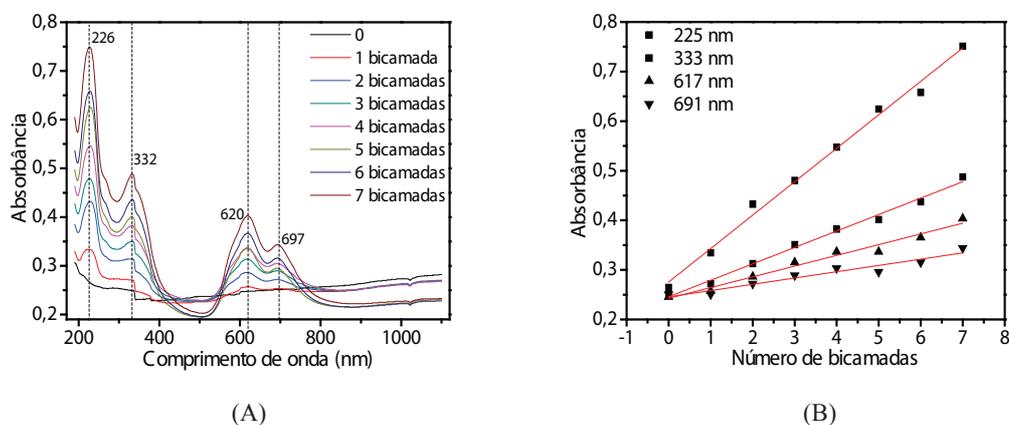


Figura 1. Espectro de absorção na região do UV-Vis para diferentes números de bicamadas dos filmes de Qui/Ft (A) e variação da absorção em função do número de bicamadas, mostrando o comportamento linear ($R^2 = 0,99$) (B).

O espectro de infravermelho para o filme Qui/PEDOT:PSS é mostrado na Figura 2, apresentando as bandas de transmissão características do PEDOT:PSS: em 1515 cm^{-1} (C=C), 1300 cm^{-1} (C-C), 975 cm^{-1} (S-O), e 688 cm^{-1} (C-S) referentes as ligações do anel tiofênico, enquanto que a bandas em 1184 cm^{-1} e 1083 cm^{-1} são referentes ao estiramento da ligação C-O-C no grupo dioxietileno. O espectro também apresenta uma intensa banda em 1585 cm^{-1} referente à deformação angular N-H de amida II da quitosana, comprovando a presença de ambos os materiais no filme. O espectro na região do infravermelho para o filme de Qui/Ft também apresentou as bandas de transmissão característica dos materiais formadores do filme.

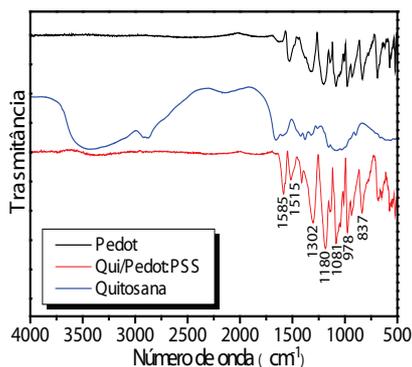


Figura 2. Espectro no infravermelho para o filme de quitosana, Pedot e Qui/Pedot:PSS com 7 bicamadas.

As imagens de AFM dos filmes com 7 bicamadas são mostradas na Figura 3. O valor da rugosidade (Rms) dos filmes cresce conforme o número de bicamadas, sendo que, para as micrografias mostradas os valores são 18,4 nm e 36,1 nm para Qui/Pedot:PSS e Qui/Ft, respectivamente. Um maior valor de rugosidade implica em um aumento na área superficial, facilitando a ancoragem de biomoléculas e aumentando a interação da superfície com a analito, assim, os resultados sugerem que os filmes formados por Qui/Ft são mais favoráveis à imobilização de biomoléculas na formação de biossensor. Por outro lado, cálculos de energia de superfície mostram que as estruturas Qui/Pedot:PSS e Qui/Ft tem energia superficial semelhante, sugerindo ser igualmente favoráveis a adsorção de biomoléculas. As imagens de microscopia eletrônica de varredura desses filmes mostraram a formação de filmes homogêneos (resultados não mostrados).



Figura 3. Micrografias de força atômica para os filmes de Qui/Pedot:PSS (A) e Qui/Ft (B) com 7 bicamadas.

A Figura 4 mostra voltamogramas cíclicos feitos no eletrodo formado pela arquitetura Qui/Ft com 5 e 7 bicamadas. O decaimento da corrente em função do número de ciclos indica instabilidade dos filmes automontados, evidenciando que os componentes não estão fortemente imobilizados na superfície do eletrodo. O filme formado por 5 bicamadas apresenta pequeno decaimento na corrente em função dos ciclos (Fig 4A), principalmente se comparado ao filmes formado por 7 bicamadas (Fig 4B). Assim, os voltamogramas indicam maior estabilidade dos filmes com 5 bicamadas, que se mostram mais fortemente aderidos ao eletrodo e, portanto, mais estáveis. Comportamento semelhante foi observado com os filmes formados por 3 bicamadas.

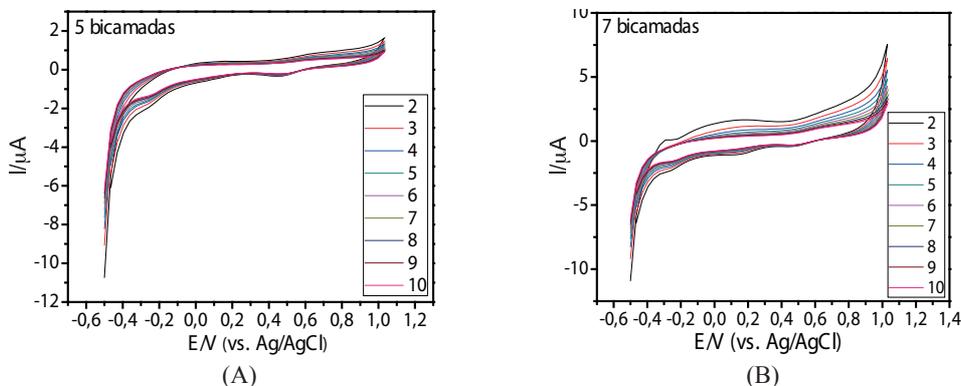


Figura 4. Estabilidade dos eletrodos Qui/Ft com 5 (A) e 7 (B) bicamadas, voltamogramas com 10 ciclos (o primeiro ciclo foi descartado), velocidade de varredura 100 mV/s, eletrólito tampão fosfato pH = 7,0.

4. Conclusões

Neste trabalho foi utilizada a técnica de LbL para crescimento de filmes nanoestruturados contendo quitosana, para posterior uso como plataforma de biossensor eletroquímico. O crescimento dos filmes, monitorado através do aumento na absorbância pelo número de bicamadas, apresentou comportamento linear. O espectro na região do infravermelho confirmou, através das bandas de transmissão características, a presença dos materiais componentes nos filmes. A microscopia de força atômica mostrou que a rugosidade do filme formado por Qui/Ft é maior do que a do filme Qui/Pedot:PSS, sugerindo-se mais favorável na adsorção de biomoléculas. A estabilidade dos filmes no eletrodo foi testada através de voltametria cíclica sendo que filmes formados com 3 e 5 bicamadas se mostraram mais estáveis.

Agradecimentos

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

Referências

- DECHER, G.; HONG J. D.; SCHMITT, J. Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces, *Thin Solid Films*, v. 210, n.1, p. 831-835, 1992.
- KIM, S. K.; RAJAPAKSE, N. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review, *Carbohydrate Polymers*, v. 62, p. 357-368, 2005.