

Imobilização enzimática em superfície funcionalizada de PMMA em microrreator acoplado a FIA para o monitoramento de glicose.

Luís M. C. Ferreira (PG)*, Lúcio Angnes (PQ).

cerdeira@iq.usp.br

Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo – SP

Palavras Chave: Microrreator enzimático, PMMA, glicose.

Introdução

O uso de polímeros sintéticos como substratos para a produção de mini e microcanais em dispositivos analíticos tem ganhado um apreciável interesse devido às suas características estruturais que definem propriedades físicas e químicas interessantes, permitindo a modificação da superfície do canal para a incorporação de biomoléculas que podem auxiliar em etapas analíticas. Nesse trabalho preliminar propõe-se a modificação da superfície de um microrreator de poli(metilmetracrilato) (PMMA) fabricado por ablação a laser¹ de CO₂. A funcionalização do canal foi feita com um filme de poli(etilenoimina) (PEI) ativado com glutaraldeído² para imobilização da enzima glicose oxidase (GOx) a fim de promover o monitoramento de glicose a partir do peróxido de hidrogênio gerado no reator acoplado em linha única a um sistema FIA-Amperometria.

Resultados e Discussão

As dimensões do reator (50 mm x 800µm x 400µm) foram planejadas em software CorelDraw 12 e confeccionado utilizando equipamento comercial de ablação a laser de CO₂ Gravograph I. I. modelo L-Solution 100. O dispositivo foi selado em prensa térmica HT3020 a 105 °C durante 30 min.

O canal foi modificado em fluxo recirculado a vazão de 0.3 mL min⁻¹ para cada reagente: solução de PEI 10% (m/v) em tampão borato (pH condicional 11,5) seguindo de solução aquosa de glutaraldeído 1% (m/v) por 30 min e GOx 300 U mL⁻¹ por 1 h em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0)

O sistema FIA empregado, representado na Figura 1, é constituído de bomba peristáltica com vazão nominal ajustada para 1,0 mL min⁻¹, válvula injetora com volume de amostragem de 50 µL e eletrólito carreador tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0).

Como sistema de detecção foi utilizado uma célula em fluxo de camada delgada com eletrodo de carbono vítreo polarizado em 1,0 V, eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) e como eletrodo auxiliar, uma agulha de aço inoxidável. As medidas foram registradas com auxílio de um potenciostato/galvanostato µ-Autolab type III. A

Figura 2 representa a curva analítica obtida para glicose. O sistema proposto apresentou frequência de amostragem superior a 65 amostras por hora.

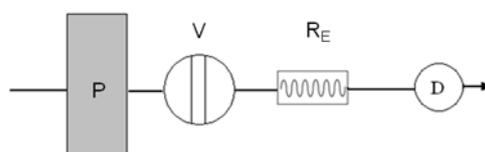


Figura 1. Diagrama representativo do sistema em fluxo empregado P: bomba peristáltica; V: válvula injetora; R_E: reator enzimático; D: célula de detecção.

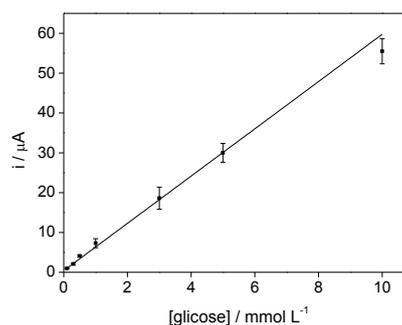


Figura 2. Curva analítica obtida no intervalo de concentração de 0.1-10 mmol L⁻¹ com equação $(i/\mu\text{A}) = (5,9 \pm 0,2) ([\text{glicose}]/\text{mmol L}^{-1}) + (0,42 \pm 0,07)$ $r = 0,9928$

Conclusões

A modificação da superfície de PMMA com PEI e glutaraldeído mostrou-se eficiente para o ancoramento da enzima de glicose oxidase e para aplicação em sistema em fluxo para determinação de glicose. Esta metodologia de funcionalização de superfície também pode ser aplicada para outros tipos de enzimas.

Agradecimentos

CNPq e FAPESP

¹Cheng, J. Y.; Wei, C. W.; Hsu, K. H.; Young, T. H. *Sensors and Actuators B* **2004**, 99, 186.

²Bay, Y.; Coh C. G.; Boreman, M.; Juang, Y. J.; Tang, I. C.; Lee, J.; Yang, S. T. *Langmuir* **2006**, 22, 9458.