

BIOSSENSOR ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE

SPECTROPHOTOMETRIC BIOSENSOR FOR GLUCOSE DETERMINATION

FLAVIO MARQUES LOPES

Endereço atual / Current address: Laboratório de Química de Proteínas, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil, CEP 74001-970; e-mail: flaviomarques@institutosigma.com.br

Dissertação de Mestrado / Master Dissertation: Programa de Pós-Graduação em Biologia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil, CEP 74001-970/Posgraduate Program in Biology, Federal University of Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil, 74001-970.

Defendida/Defended: 11.VI.2003

Orientadora / Supervisor: Profa. Dra. Kátia Flávia Fernandes, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil, CEP 74001-970/ Department of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil, 74001-970.

RESUMO: Este trabalho descreve a construção de um biossensor espectrofotométrico para determinação de glicose. Na composição do sensor, as enzimas glicose (GOD) e peroxidase (HRP) foram imobilizadas separadamente em polianilina ativada com glutaraldeído (PANIG). Esse material foi unido em uma câmara de reação na qual o analito sofreu a reação enzimática e o produto formado foi conduzido até o espectrofotômetro. Foram otimizados os parâmetros de imobilização para a GOD, obtendo-se rendimento máximo de imobilização de 16% quando foram utilizados 5,0 mg de PANIG e 8,91 UE preparadas em tampão fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹, pH 7,0, deixando a mistura em agitação branda por 60 min a 4°C. Após definição do modelo de leito fluidizado como o ideal para a montagem do biossensor, foram definidos os parâmetros de operação para determinação de glicose, ficando o tempo de reação fixo em 10 min e a faixa linear de trabalho entre 0,5 e 6,0 mg mL⁻¹. Nessas condições, o biossensor apresentou alta reprodutibilidade de resposta, com desvio-padrão relativo de 0,03. O biossensor foi utilizado para a determinação da glicose em amostras reais, tais como soro humano, produtos alimentares (suco de laranja, mel, bebidas energéticas, isotônicas) e produtos farmacêuticos (xaropes, soro glicosado e ampolas de glicose). Comparando-se os resultados obtidos no biossensor com aqueles obtidos com as enzimas livres na forma de kits enzimáticos comerciais, verificou-se que foram bastante próximos. A aplicação do teste t pareado validou as respostas do biossensor em intervalo de confiança de 95%.

PALAVRAS-CHAVE: Biossensor espectrofotométrico, glicose, glicose oxidase, polianilina, peroxidase.

ABSTRACT: This paper describes the development of a spectrophotometric biosensor for glucose determination. The sensor was composed by glucose oxidase (GOD) and peroxidase (HRP) immobilized onto polyaniline treated with glutaraldehyde (PANIG). The immobilized enzymes were assembled into a reaction camera and the product, formed during the enzymatic reaction, was conducted to the detection system constituted by a spectrophotometer and a register. The parameters for GOD immobilization were optimized. The maximum immobilization yield of 16% was obtained when 5.0mg of PANIG and 8.91 UE of GOD prepared in 0.1 mol L⁻¹ phosphate buffer, pH 7.0 were left to react for 60 min at 4°C under gently stirring. The operational parameters for glucose determination were defined and the best performance was observed with 10 min of reaction at pH 7.0, with homogenization of the mixture PANIG-GOD and PANIG-HRP by air

bubbling. Under these conditions, the biosensor showed a linear range of work between 0.5 and 6.0 mg mL⁻¹ and very high response reproducibility, with maximum relative standard deviation of 0.03. The biosensor was used for glucose determination in real samples, such as human blood serum, alimentary products (orange juice, honey, energetic drinks, isotonic beverages), and pharmaceutical products (syrups, glucose serum and glucose blisters). Comparing the results obtained in the biosensor to those obtained with the free enzymes as enzymatic commercial kits, it was observed that they were very close. The results were validated by statistical test (paired t-test) in a 95% confidence interval.

KEY-WORDS: Spectrophotometric biosensor, glucose, glucose oxidase, polyaniline, peroxidase.