

Desenvolvimento de um biossensor baseado na enzima tirosinase para determinação do hormônio Dietilestilbestrol.

Janmille S. Aragão^{1*} (PG), DeJane P. C. de Oliveira¹ (PG), Francisco W. P. Ribeiro¹ (PG), Adriana N. Correia¹ (PQ), Pedro de Lima-Neto¹ (PQ).

¹GELCORR, DQAFQ-UFC, Fortaleza-CE. *janmillearagao@gmail.com

Palavras Chave: Dietilestilbestrol, tirosinase, VOQ, biossensor.

Introdução

Embora o hormônio Dietilestilbestrol (DES), 4,4'-(3E)-hex-3-eno-3,4-diildifenol, seja utilizado no tratamento da síndrome da menopausa, para evitar aborto espontâneo e como anabolizante na pecuária para aumentar a produção de carne¹. A estrutura química dos DES pode ser vista da Figura 1.

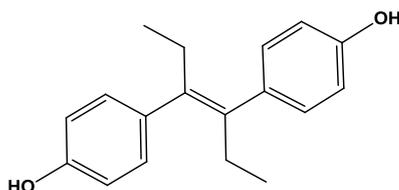


Figura 1. Estrutura química do DES.

A exposição ao DES causa graves consequências à saúde humana, tais como: câncer, infertilidade, deformações uterinas, dentre outros problemas que na sua maioria são descobertos apenas na idade adulta.² Portanto, o desenvolvimento de sensores para DES são de grande importância. Assim, o objetivo desse trabalho foi desenvolver o biossensor baseado na enzima tirosinase (TIR) aliado à voltametria de onda quadrada (VOQ) para a determinação desse hormônio.

Resultados e Discussão

Inicialmente, sobre o eletrodo de carbono vítreo (CV), foram eletrodepositadas nanopartículas de ouro (NpAu) seguindo o procedimento descrito por Park *et al.*³ Em seguida, CV/NpAu foi modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado e ftalocianina de cobalto (CV/NpAu/NTCPM-FtCo). Após esta etapa, 30 unidades da enzima tirosinase (TIR) foram imobilizadas sobre a superfície do eletrodo empregando o método das ligações cruzadas com glutaraldeído 2 %. O estudo eletroquímico do DES foi realizado em meio de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 empregando, inicialmente, a técnica de voltametria cíclica na faixa de 0,4 a -0,1 V e velocidade de varredura 0,01V s⁻¹. Os resultados mostraram a presença de um par redox, quinona (Q) ⇌ hidroquinona (QH), relacionado ao produto da oxidação enzimática causada pela TIR formando Q. No entanto, na mesma velocidade e faixa de potencial não foi observado nenhum processo de transferência de carga sobre o CV, como pode ser visto na Figura 2. Assim, os resultados indicaram que o biossensor desenvolvido pode ser aplicado para análise do DES.

Os parâmetros otimizados da VOQ para determinação de DES e utilizados para a construção

das curvas analíticas foram: $f = 70 \text{ s}^{-1}$, $a = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. As figuras de mérito obtidas para o DES, tais como: região de linearidade (RL), intercepto (a), coeficiente angular (b), coeficiente de correlação (r), o desvio padrão da regressão linear ($S_{y/x}$), limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) estão apresentados na Tabela 1

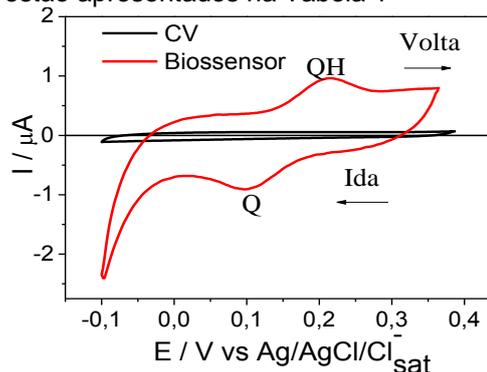


Figura 2. Voltamogramas cíclicos para DES sobre CV e o biossensor baseado na enzima tirosinase em tampão fosfato pH 7,0.

Tabela 1: Parâmetros obtidos das curvas analíticas.

Parâmetro	Valor
RL	$9,90 \times 10^{-7}$ a $4,76 \times 10^{-6}$
a (A)	$-8,35 \times 10^{-7}$
b (A mol ⁻¹ L)	1,21
r	0,9989
($S_{y/x}$)	$7,55 \times 10^{-8}$
LD (mol L ⁻¹)	$1,86 \times 10^{-7}$
LQ (mol L ⁻¹)	$6,22 \times 10^{-7}$

Conclusão

Os resultados mostraram que a enzima TIR catalisou a oxidação do DES. A utilização da VOQ proporcionou a obtenção de boa sensibilidade, caracterizadas pelos valores obtidos de LD e LQ evidenciando que o biossensor desenvolvido pode ser empregado para a determinação do hormônio Dietilestilbestrol.

Agradecimentos

UFC, CNPq, CAPES, FINEP, FUNCAP

¹ Fei, J., Wen, X., Yi, L., Ge, F., Zhang, Y., Huang, M., Chen, X., Journal of Applied Electrochemistry, v. 38, p. 1527–1533, 2008.

² Marchi, M. R. R., De Souza, J. B. G., De Moura, J. A., Revista Brasileira de Recursos Hídricos, v. 13, p. 16–23, 2008.

³ Park, B.-W.; Yoon, D.-Y.; Kim, D.-S., Journal of Electroanalytical Chemistry, v.661.n.2: p. 329-335. 2011.