

Sensor Bioluminescente para Naftaleno no Ar – Ensaios com Sistema de Atmosfera Padrão

Erika Valdman (PQ); Ivano Gebhardt Rolf Gutz* (PQ)

Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes 748, 05508-000 São Paulo, SP, Brazil

Palavras Chave: biossensor, bioluminescência, naftaleno, geração de atmosfera padrão

Introdução

Biossensores baseados em células vivas, como os microbianos, podem ser mais lentos e menos duráveis, precisos ou seletivos que técnicas analíticas instrumentais, mas tem a vantagem de proporcionar informação sobre biodisponibilidade ou biotoxicidade da matriz. A bactéria *Pseudomonas fluorescens* HK44 desenvolve bioluminescência quando exposta a naftaleno em meio aquoso, com potencialidade para sensoriamento¹. O naftaleno é, por si só, um analito importante, além de poder ser considerado sistema-modelo ao visar-se o biossensoriamento de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) emitidos em processos de combustão, particularmente relevantes em regiões com densa frota veicular. Na pesquisa em curso buscaram-se meios de imobilização da bactéria que preservem/favoreçam a transdução de sinal para detecção/determinação de naftaleno em fase gasosa. Para realizar séries de ensaios em condições comparáveis, um requisito é dispor de fluxo gasoso com concentração conhecida e reprodutível do analito. Um sistema simples de geração de atmosfera padrão de naftaleno, desenvolvido para tanto, é descrito a seguir, acompanhado dos resultados de emissão de luz obtidos por imobilização de cultura da bactéria em gel de agar.

Resultados e Discussão

O sistema dinâmico de geração de atmosfera gasosa de naftaleno consiste de uma bomba de ar (do tipo usado para aquários), com filtro e válvula de ajuste de vazão, ligada a um frasco provido de entrada e saída de gás, com a fonte emissora de naftaleno em seu interior e um banho mantido a 27°C (termostato de aquário) em seu exterior. A fonte consiste de frasco (vial) contendo naftaleno sólido, em presença do vapor resultante da sublimação; a emissão é controlada por difusão através de membrana que substitui a tampa. Entre os polímeros avaliados, de diferentes materiais, espessuras e permeabilidades, selecionou-se a membrana de filtro Millipore de PTFE com poros de 0,45 µm. Pesagens da fonte a cada dois dias e, posteriormente, semanais, por 2 meses, comprovaram emissão estável da ordem de 0,94 µg/min. A concentração de analito pode ser variada ajustando a vazão ou efetuando diluição do efluente com um fluxo de gás auxiliar. Um divisor de fluxos (4 tubos capila-

res de igual comprimento) na saída viabiliza a exposição simultânea de até 4 sensores. A Figura 2 ilustra a média dos resultados para uma dada condição investigada, a saber: bactérias cultivadas segundo procedimento estabelecido¹, imobilizadas num filme de gel de agar com 10⁷ células/mL, expostas por 20 min a fluxo gasoso contendo 1,0 µmol/L (0,125 mg/L) de naftaleno, sob vazão de 7,4 mL/min; medição da emissão de luz em luminômetro (com fotomultiplicadora, sem filtro) durante 90 min adicionais. O máximo de bioluminescência (55.000 RLU/s) foi atingido após ~80 min em relação ao início da exposição ao naftaleno, o que pode demorar frente a sensores/detetores convencionais, mas é normal para bioindicadores.

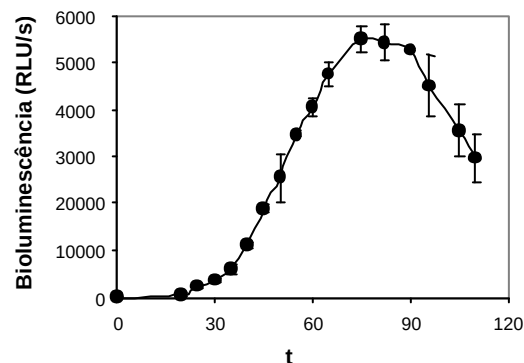


Figura 2. Resposta bioluminescente da bactéria HK44 imobilizada em agar (10⁷ células/mL) após exposição, por 20 min, a fluxo de ar a 27°C contendo 0,125 mg/L de naftaleno.

Conclusões

Comprovou-se a resposta bioluminescente da bactéria *Pseudomonas fluorescens* HK44 em gel de agar a naftaleno no ar. O gerador simples de atmosfera controlada de naftaleno se mostrou estável e adequado ao propósito de estudar o sensor, sob diversas condições experimentais e para diferentes formas de imobilização das bactérias. O uso de agar é simples, a sensibilidade obtida é alta, mas a resposta é dependente do tempo transcorrido após o preparo do filme. Os resultados iniciais indicam que sensores bioluminescentes são promissores para medição de naftaleno e, potencialmente, poderiam abrir alternativa também para avaliação da presença de HPAs em atmosferas urbanas.

Agradecimentos

¹ Valdman, E.; Battaglini, F.; Leite, S.G.F.; Valdman, B. *Sens. Actu-
at. B* 2004, 103:7-12