

Imobilização da enzima peroxidase sobre eletrodo de grafite utilizando sol-gel de titânia.

Paulo Roberto Ussoni Tomaz* (IC), Carolina Venturini Uliana (PG), Hideko Yamanaka (PQ)
*paulo_araraquara@yahoo.com.br

Departamento de Química Analítica, Instituto de Química – Unesp – Araraquara, SP.

Palavras Chave: Peroxidase, sol-gel, eletrodo de grafite.

Introdução

O processo de sol-gel tem atraído interesse de pesquisadores para a imobilização de biomoléculas devido a vários fatores como a facilidade de fabricação e flexibilidade no projeto de síntese¹.

A enzima peroxidase ("horseradish root", HRP) é freqüentemente usada em química analítica por manter uma resposta estável, por longos períodos de tempo a temperatura ambiente e em um amplo intervalo de pH, além do baixo custo financeiro e ser disponível, comercialmente, em diversos graus de pureza.

O presente trabalho apresenta a imobilização da HRP sobre eletrodo de grafite modificado com o sol-gel tetraisopropóxido de titânio (titânia).

Resultados e Discussão

Os experimentos foram realizados em uma célula eletroquímica de 5,0 mL empregando-se Ag/AgCl, fio de platina e grafite (modificado ou não) como eletrodos de referência, auxiliar e trabalho, respectivamente, utilizando um potenciostato/galvanostato EG&G mod.263. O sol-gel foi obtido conforme descrito na literatura².

Inicialmente, os eletrodos foram submetidos a 1, 2 ou 3 depósitos do filme de sol-gel por meio do processo de dip-coating, com um tempo de secagem de 24 horas entre os depósitos. Após a modificação os eletrodos foram lavados por imersão em solução tampão fosfato pH 7,0.

Em seguida, os eletrodos foram incubados em uma solução contendo HRP 0,6 U mL⁻¹ por um tempo de 3 horas. As medidas eletroanalíticas foram feitas por amperometria com um potencial fixo de -0,08V, utilizando-se peróxido de hidrogênio 3,5 x 10⁻³ mol L⁻¹ como substrato enzimático e ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) 5,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ como mediador de elétrons.

A Figura 1 apresenta os valores de intensidade de corrente obtidos na ausência/presença da HRP imobilizada. Observa-se que, nos experimentos conduzidos na presença da HRP e do sistema 5 ASA/H₂O₂, há um significativo aumento da intensidade de corrente, quando comparados aos experimentos realizados na ausência de qualquer um dos reagentes. Nota-se, também, que a resposta enzimática foi máxima quando o eletrodo

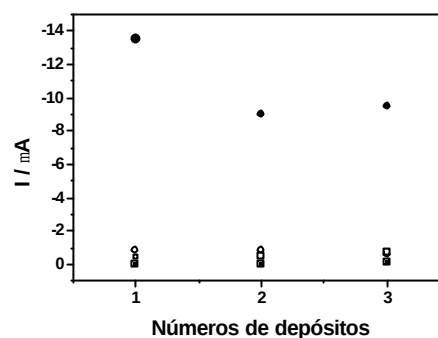


Figura 1: Efeito do número de depósitos de filme de sol-gel sobre eletrodo de grafite nas condições: { } 5-ASA/H₂O₂; (?) H₂O₂/HRP; (?) 5-ASA/HRP; (?) 5-ASA/H₂O₂/HRP. E_{aplic} = -0,08V vs. Ag/AgCl.

continha 1 depósito do filme de sol-gel, sendo, portanto, definido apenas 1 depósito para experimentos subsequentes.

Efetua-se um planejamento fatorial 2² para otimização da concentração da HRP a ser imobilizada e do tempo de incubação dos eletrodos na solução da enzima. A Tabela 1 apresenta os níveis alto e baixo aplicados para tais variáveis.

Tabela1: Níveis alto e baixo para planejamento fatorial 2²

Variável	Nível alto	Nível baixo
C _{HRP} (U mL ⁻¹)	0,6	0,2
t _{incubação} (hora)	3	1

Os estudos quimiométricos indicaram que a concentração da HRP em 0,6 U mL⁻¹ com um tempo de incubação de 1 hora foram as melhores condições para imobilização da enzima.

Conclusões

O filme de sol-gel de titânia mostrou-se eficiente para imobilização da enzima HRP.

Agradecimentos

CNPq

¹ Wang, J. *Anal. Chim. Acta.* **1999**, 1399, 1-2, 21-27.

² Osugi, M.E.; Umbuzeiro, G.A.; Castro, F.J.V.; Zanoni, M.V.B. *J. Hazard. Mater.* **2006**, 137, 871-877