

Determinação de L-glutathiona (GSH) em extratos de levedura com sensor amperométrico a base de 4-nitroftalonitrila.

Phabyanno R. Lima¹ (PG), Wilney de J R. Santos¹ (PG), Adriano B. Oliveira² (PG), Marília O. F. Goulart³ (PQ), Lauro T. Kubota¹ (PQ)*

¹Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, Campinas-SP, ²Institut für Anorganische Chemie der Universität Bonn, Bonn – Alemanha, ³Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Instituto de Química e Biotecnologia, Maceió-AL. *kubota@iqm.com.br

Palavras Chave: Glutathiona, Extratos de Levedura, 4nitroftalonitrila, Ssensor amperométrico.

Introdução

A glutathiona (GSH) é um tripeptídeo e está entre as moléculas antioxidantes mais solúveis e abundantes no cérebro [1], bem como o principal tiol encontrado em extratos de levedura [2]. Assim, estudos com ênfase na oxidação eletrocatalítica de GSH têm recebido atenção considerável nos últimos anos. Entretanto, um dos maiores problemas relacionados à detecção eletroquímica de tióis a partir de eletrodos convencionais é a baixa seletividade. Por outro lado, o emprego de EQMs tem sido proposto e frequentemente usados em métodos analíticos, com alta sensibilidade e seletividade para a determinação de tióis em baixos sobrepotenciais. Neste sentido, o presente trabalho descreve de forma inovadora o desenvolvimento de um sensor amperométrico, baseado em um simples e eficiente eletrodo de pasta de carbono modificado (EPCM) com 4-nitroftalonitrila (4-NPN), para determinação de glutathiona em extratos de levedura.

Resultados e Discussão

O EPCM foi preparado a partir de 70 mg de pó de grafite com 10 mg de 4-NPN e 40 µL de óleo mineral para obter uma melhor consistência. Esta pasta foi colocada em uma cavidade na extremidade de um tubo de teflon contendo uma superfície de grafite, com ($A = 0,2 \text{ cm}^2$), para o contato elétrico com a pasta. Os estudos foram conduzidos numa célula eletroquímica, utilizando-se como eletrodo de referência um Ag/AgCl e auxiliar um fio de platina. As amostras de levedura foram preparadas de acordo com o procedimento descrito na literatura [3]. Inicialmente, a espécie eletroativa (4-hidroxi-1-naftalonitrila - 4NHOHPN) foi eletrogerada *in situ* a partir do 4-NPN na faixa de potencial entre -0,5 e 1,0 V em PBS ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 7,0) com $v=0,02 \text{ Vs}^{-1}$. Sendo observado um par redox NO/NHOH em 0,1V o qual mostrou atividade eletrocatalítica frente a GSH. Após otimização das condições operacionais (PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0, $E_{\text{aplicado}}=0,4 \text{ V}$ e tempo de resposta de 0,1s), o sensor apresentou uma faixa linear de resposta entre $8-83 \text{ µmol L}^{-1}$, que

pode ser expressa por $DI/\mu\text{A} = 0,21 (\pm 0,04) + 0,054 (\pm 0,01) [\text{GSH}] / \mu\text{mol L}^{-1}$ com um

coeficiente de correlação de 0,999 (para $n=10$). A sensibilidade, LD e LQ obtidas foram de $54 \text{ µA L µmol}^{-1}$, $2,7 \text{ µmol L}^{-1}$ and $8,0 \text{ µmol L}^{-1}$, respectivamente. Assim, o sensor foi aplicado para a determinação de GSH em três amostras de levedura. As concentrações de GSH foram determinadas usando o método de adição de padrão e os resultados foram estatisticamente os mesmos com aqueles obtidos pelo método comparativo (espectrofotométrico) descrito na literatura em um nível de confiança de 95% (Tab.1). O valor médio dos testes de recuperação de GSH nestas amostras foi de 104 %. A repetibilidade das medidas com o mesmo sensor e diferentes sensores, avaliados em termos do RSD, foram 4,1 e 5,0%, respectivamente, para $n=10$.

Tab. 1. Determinação de GSH em amostras de levedura ($n=3$).

Amostras	Método proposto(m/mg)	Método comparativo(m/mg)
	)	
A	1,87 ($\pm 0,03$)	1,86 ($\pm 0,01$)
B	1,81 ($\pm 0,01$)	1,80 ($\pm 0,08$)
C	1,83 ($\pm 0,03$)	1,82 ($\pm 0,05$)

Conclusões

Estes estudos demonstram de forma simples e inovadora o uso de uma polinitrila, 4-NPN, incorporado ao eletrodo de pasta de carbono como uma visível alternativa para determinação eletrocatalítica de GSH em amostras de levedura. Além disso, o sensor apresentou melhor sensibilidade quando comparado a outros sensores reportados na literatura e abre caminho para aplicações importantes, por exemplo, em estudos de tióis em fluidos biológicos.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq e CAPES.

¹Mytilineous, C., Kramer, B.C., Yabut, J.A., *Parkinsonism Relat Disord* **2002**, 8, 385.

²Penninckx, M., *Enzyme Microb. Technol.* **2000**, 26, 737.

³Anderson, M., *Meth. Enzymol.* **1985**, 13, 548.