

Biossensor amperométrico obtido pela imobilização da PPO em eletrodo de Au modificado com SAM para detecção de fenóis

Rodrigo L. Pagliai* (PG), Elaine Kikuti (PQ), Débora Gonçalves (PQ)

e-mail: pagliai@ursa.ifsc.usp.br

Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo.

Palavras Chave: biossensor, SAM, PPO, catecol.

Introdução

O desenvolvimento de biossensores enzimáticos depende, em especial, do método de imobilização da enzima. Um procedimento bastante utilizado de imobilização de enzimas sobre eletrodos sólidos é o uso de monocamadas auto-organizadas (SAMs) constituídas de compostos bifuncionais¹. A modificação dos eletrodos com SAMs e a posterior imobilização de enzimas permite com que sejam obtidos biossensores com características de interesse pela diminuição da corrente de carga da dupla camada elétrica e o subsequente aumento da sensibilidade devido a uma menor corrente de fundo, o que conferem reprodutibilidade e durabilidade ao biossensor¹. Eletrodos de Au podem se recobertos com SAMs contendo enxofre, tais como alcanotóis, por adsorção espontânea sobre sua superfície¹. Os biossensores enzimáticos apresentam a vantagem de serem muito seletivos, porém, quando são utilizadas enzimas purificadas, eles passam a ter um relativamente alto custo. Com o intuito de produzir biossensores com preços mais acessíveis e fácil fabricação, obteve-se biossensores pelo uso da polifenol oxidase (PPO) purificada e com a PPO obtida a partir do extrato bruto do abacate². A imobilização foi realizada via ligação covalente do ácido 3-mecaptopropiônico (MPA) adsorvido sobre eletrodos de Au.

Resultados e Discussão

A Fig. 1 mostra as respostas amperométricas dos biossensores, onde se observa que os valores de pH ótimo para o biossensor com PPO de extrato bruto e purificado são 7,2 e 6,8, respectivamente. O valor do pH ótimo do biossensor com PPO do extrato bruto é um pouco maior do que o valor de pH ótimo da PPO livre (~6,5)³. Assim, o biossensor fabricado com extrato bruto da enzima permite uma maior estabilização de pH ao redor da enzima tornando-o menor do que no seio da solução e possibilitando se obter um valor maior de pH de estabilidade da enzima. Na Fig. 2 são mostradas as respostas cronoamperométricas dos biossensores, onde se nota que ambos os biossensores estudados apresentaram uma resposta para a detecção de catecol. Entretanto, a densidade de corrente obtida

para o biossensor com PPO purificada é o dobro da obtida para o biossensor com PPO do extrato bruto. Esta diferença pode estar relacionada à quantidade de enzima ativa imobilizada no biossensor, já que as soluções utilizadas para a imobilização tinham concentrações diferentes de enzima ativa.

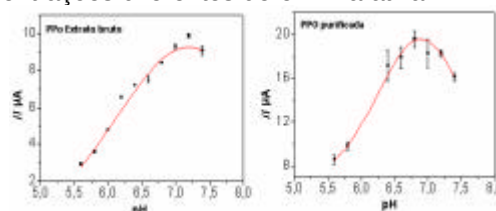


Figura 1. Respostas amperométricas dos biossensores em função do pH em uma solução 0,05 mol L⁻¹ de solução tampão fosfato a pH 6,6 com catecol 1,0 mmol L⁻¹.

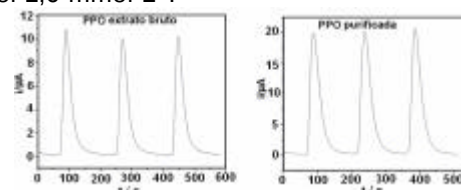


Figura 2. Respostas cronoamperométricas típicas dos biossensores aplicando-se os potenciais de 415 mV e 287 mV após a adição de alíquotas de 400 µL de catecol 1,0 mmol L⁻¹ em solução 0,05 mol L⁻¹ de solução tampão fosfato em seus respectivos valores de pH ótimos.

Conclusões

Os biossensores obtidos com PPO a partir do extrato bruto têm se mostrado, até o momento, uma opção interessante pelas suas respostas em meio de compostos fenólicos, tal como o catecol. O uso do MPA facilitou a preparação dos eletrodos e melhorou as suas respostas se comparadas a outros biossensores com PPO imobilizadas em outras matrizes.

Agradecimentos

CNPq, Fapesp.

¹ Campuzano, S.; Gálvez, R.; Pedrero M.; Villena, F.J.M.; e Pingarrón, J.M. *J. Electroanal. Chem.* **2002**, 526, 92.

² Lupetti, K.O.; Ramos, L.A. e Fatibello-Filho, O. *Quim. Nova.* **2003**, 26, 197.

