

# Estudo da Transferência Eletrônica da Enzima Glicose Oxidase em Filmes Nanocristalinos de TiO<sub>2</sub>

Camila P. Sousa<sup>1\*</sup> (IC), André S. Polo<sup>1</sup> (PQ), Roberto M. Torres<sup>2</sup> (PQ), Susana I. Córdoba de Torres<sup>2</sup> (PQ), Wendel A. Alves<sup>1</sup> (PQ).

[camila.sousa@ufabc.edu.br](mailto:camila.sousa@ufabc.edu.br); [wendel.alves@ufabc.edu.br](mailto:wendel.alves@ufabc.edu.br)

<sup>1</sup> Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André, SP.

<sup>2</sup> Instituto de Química, Universidade de São Paulo, C.P. 26077, 05513-970 São Paulo, SP.

Palavras Chave: Glicose oxidase (GOx), dióxido de titânio, eletrodos nanoestruturados, viológeno, biossensor.

## Introdução

Na construção de sensores amperométricos a escolha do substrato e principalmente do mediador a ser utilizado são processos chave para o desenvolvimento de um sistema com maior durabilidade e sensibilidade. Neste trabalho, foi utilizado como mediador o sal de dibrometo de 1,1'-bis(4-carboxibenzil)-4,4'-bipiridina (H<sub>2</sub>BpybcBr<sub>2</sub>), devido a sua estrutura que possibilita uma delocalização eletrônica favorecendo a integração da enzima na superfície do eletrodo. Quanto ao substrato, foi escolhido um filme nanocristalino de dióxido de titânio, devido à biocompatibilidade e a possibilidade de coordenação com a os grupos amina e carboxílico da enzima mantendo a bioatividade<sup>1</sup>.

## Resultados e Discussão

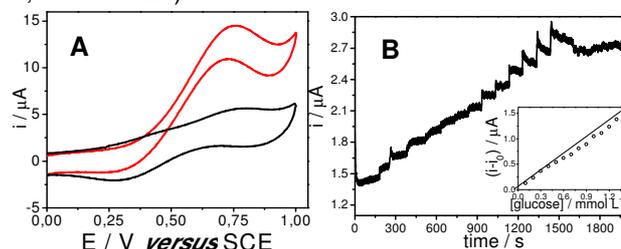
Os filmes nanocristalinos de TiO<sub>2</sub> foram preparados pelo método sol gel e o composto mediador H<sub>2</sub>BpybcBr<sub>2</sub> foi preparado seguindo procedimento descrito na literatura.<sup>1</sup> Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em tampão fosfato pH 7 (0,1 mol L<sup>-1</sup>) em atmosfera de N<sub>2</sub>, utilizando calomelano como eletrodo de referência. As análises por microscopia eletrônica de varredura mostraram uma homogeneidade no tamanho e na distribuição dos poros. Em seguida, realizou-se a modificação da superfície deste filme com o composto H<sub>2</sub>BpybcBr<sub>2</sub>, que foi monitorada pelas técnicas de microanálise de fluorescência de raios-X, FTIR, voltametria cíclica (VC) e espectroeletróquímica. Medidas de VC realizada com velocidade de varredura de 50 mVs<sup>-1</sup>, mostraram dois picos de redução -0,34V e -0,62V relacionados ao composto H<sub>2</sub>BpybcBr<sub>2</sub> adsorvido na superfície do eletrodo. Através da integração do pico de redução foi possível estimar a área de recobrimento que foi calculada em 8,29 nmol cm<sup>-2</sup>.

Posteriormente, realizou-se a condensação da enzima GOx sobre a superfície do eletrodo FTO/TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>BpybcBr<sub>2</sub>. Medidas de potencial de circuito aberto evidenciam a injeção de elétrons da enzima na BC do semi-condutor, indicando a atuação do viológeno como fio molecular.

A atividade biocatalítica do eletrodo foi investigada por meio de VC realizadas tanto no eletrodo de FTO/TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>BpybcBr<sub>2</sub>/GOx como no eletrodo FTO/TiO<sub>2</sub>/GOx na presença de 20 mmol L<sup>-1</sup> de glicose (Figura 1A). Para o eletrodo de FTO/TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>BpybcBr<sub>2</sub>/GOx a oxidação da glicose é favorecida,

podendo ser comprovado pelo aumento significativo da corrente e deslocamento de potencial de oxidação da glicose, em comparação ao eletrodo sem H<sub>2</sub>BpybcBr<sub>2</sub>. O que indica que o viológeno está facilitando a transferência eletrônica da enzima na superfície do eletrodo.

A sensibilidade do eletrodo foi verificada através de medidas amperométricas frente à adição de glicose. O potencial aplicado foi o de +0,55 V, potencial ótimo do eletrodo. Com adição de glicose houve um aumento linear da corrente de oxidação anódica (Figura 1B). A resposta foi linear no intervalo de concentração de 153 μmol L<sup>-1</sup> a 1,30 mmol L<sup>-1</sup> e o limite de detecção foi de 51 μmol L<sup>-1</sup>. Pelo gráfico de Lineweaver-Burk foi calculado o i<sub>max</sub>, K<sub>m</sub> e a sensibilidade máxima do sistema (i<sub>max</sub>/K<sub>m</sub>) sendo os valores obtidos: 4,7 μA, 3,76mmol L<sup>-1</sup> e 1,25 μA mmol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Valores esses, são melhores do que os descritos na literatura para a enzima GOx depositada diretamente sobre a superfície de um filme nanocristalino de TiO<sub>2</sub> (K<sub>m</sub> = 6,08 mmol L<sup>-1</sup>).<sup>1</sup>



**Figura 1:** **A** VC do eletrodo FTO/TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>BpybcBr<sub>2</sub>/GOx e FTO/TiO<sub>2</sub>/GOx ( $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ) **B** Resposta amperométrica do eletrodo FTO/TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>BpybcBr<sub>2</sub>/GOx com adições de 0,1 mol L<sup>-1</sup> de glicose.

## Conclusões

Com auxílio do composto H<sub>2</sub>BpybcBr<sub>2</sub> a GOx foi eficientemente imobilizada no eletrodo de TiO<sub>2</sub> sem perder suas propriedades catalíticas. O mediador está atuando como fio molecular, dessa forma acelerando a transferência eletrônica direta e conseqüentemente a oxidação da glicose.

## Agradecimentos

UFABC, FAPESP, CNPq, INCT de Bioanalítica, LME-LNLS.

<sup>1</sup>Q. Li, G. Luo, J. Feng, Q. Zhou, L. Zhang, Y. Zhu, *Electroanalysis*, **2001**, *13*, 413.