

Estudo eletroquímico de um biossensor enzimático empregando NTCPM funcionalizados para detecção de pesticidas organofosforados

Saimon M. Silva¹(PG)*, Fernando M. de Oliveira¹(IC), Grasyelle M. M. Ferreira¹(IC), Jussara V. Silva¹(PG), Natália G. Santos¹(IC), Renata M. de Oliveira¹(IC), Flávio S. Damos¹(PQ), Rita de C. S. Luz¹(PQ). saimonmoraes@bol.com.br

Departamento de Química, UFVJM, Rodovia MGT 367, Km 583, nº 5000, Alto do Jacuba, 391000-000, Diamantina, MG, Brasil.

Palavras Chave: Acetilcolinesterase, biossensor, Nanotubos de carbono, pesticidas.

Introdução

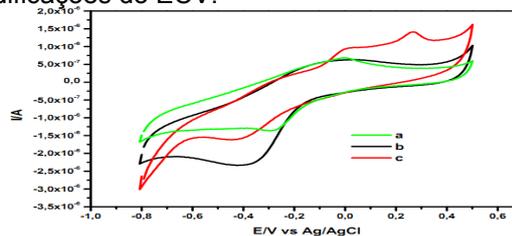
Os pesticidas organofosforados (PO) são inibidores da enzima Acetilcolinesterase (AChE) a qual possui a função de regular a quantidade do neurotransmissor Acetilcolina (ACh) no cérebro. Níveis insuficientes desta enzima levam a um acúmulo de neurotransmissor, causando convulsões, falha respiratória e eventual morte. Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivo promover a inibição da AChE após o estudo do comportamento eletroquímico de um biossensor enzimático (AChE) sobre nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM) modificados com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ em solução de acetilcolina (ATCh) para posterior determinação dos PO.

Resultados e Discussão

Com a finalidade de funcionalizar os NTCPM pesou-se 50 mg deste composto o qual permaneceu durante 72 horas em 5 mL de uma solução de DMSO contendo 3 mg de $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$. Em seguida a solução foi filtrada à vácuo e lavada para remover todo o complexo não adsorvido sobre os NTCPM, o qual foi denominado (NTCPM_f). Após seco, pesou-se 3 mg do material funcionalizado para adicioná-lo em 1 mL de água deionizada, a qual foi sonicada por 10 minutos para dispersar os nanotubos. Após esta etapa adicionou-se 10 μL desta dispersão na superfície do eletrodo de carbono vítreo (ECV), o qual foi seco em estufa. Em seguida, preparou-se uma solução de AChE em quitosana e glutaraldeído para garantir a fixação da enzima sobre a superfície do eletrodo modificado. Após o esfriamento do eletrodo, adicionou-se 5 μL da solução contendo a enzima AChE sobre o ECV/NTCPM_f. O eletrodo foi seco a uma temperatura de 4° C por 24 horas. Após seco, o mesmo estava pronto para ser utilizado. A Fig. 1 mostra, para fins de comparação, o comportamento do ECV modificado. No voltamograma **a** da Fig. 1 observa-se o comportamento do ECV/NTCPM_f na ausência da acetilcolina (ATC - substrato). Observa-se um par redox em aproximadamente 0 e -300 mV referente a oxidação e posterior redução do complexo $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ cujas moléculas se encontram imobilizadas na estrutura dos NTCPM. O voltamograma **b** da Fig. 1 refere-se ao ECV/NTCPM_f

modificado com a enzima AChE também na ausência do substrato e observa-se apenas um aumento na corrente de redução do ECV/NTCPM_f, após se adicionar a enzima. Este aumento pode ser justificado pela entrada ou saída de íons dentro do filme o que pode ter provocado uma mudança estrutural do mesmo uma vez que é sabido que a enzima não é eletroativa. Já o voltamograma **c** refere-se ao ECV/NTCPM_f/AChE na presença de 0,05 mol L⁻¹ de ACTh. Quando essa solução é adicionada ocorre o aparecimento de dois picos em aproximadamente 0 e 270 mV vs Ag/AgCl. O pico em zero está relacionado com a oxidação da acetilcolina sobre o ECV/NTCPM_f, enquanto que o segundo pico é consequência da oxidação da tiocolina, produto da hidrólise da ATCh catalisada pela AChE a qual está imobilizada sobre o ECV/NTCPM_f, portanto o ECV/NTCPM_f é capaz de electrocatalizar tanto a oxidação da ATCh quanto a oxidação da tiocolina. Sendo assim, após verificar que a enzima reage com o substrato foi possível realizar a inibição da enzima frente 10 nmol L⁻¹ do pesticida fenitroton. Estudos posteriores mostraram que após um tempo de 10 minutos ocorreu uma inibição na atividade da enzima em aproximadamente 33%. Outros estudos serão realizados para se verificar a melhor resposta do biossensor frente aos PO.

Figura 1. Estudos voltamétricos para diferentes modificações do ECV.



Conclusões

A modificação proposta para o ECV mostra-se como uma potencial alternativa para a determinação de PO a partir do processo de inibição enzimática.

Agradecimentos

CNPQ, FAPEMIG, GEIDS.