

Biossensor enzimático a base de acetilcolinesterase sobre nanotubos de carbono/CoTSPc para detecção de pesticidas organofosforados

Neuma das M. Pereira¹(PG)*, Ananda Xavier Oliveira¹(PG), Nara Rúbia Pereira²(IC), Flávio Santos Damos¹(PQ), Rita de Cássia S. Luz¹ (PQ). *neumadtna@hotmail.com*

¹Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM, Departamento de Química, MG, Brasil.

²Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP, Departamento de Química, MG, Brasil

Palavras Chave: acetilcolinesterase, nanotubos de carbono, pesticidas organofosforados

Introdução

Os pesticidas organofosforados apresentam-se na constituição de uma importante classe de pesticidas usados na prevenção e controles de pragas na agricultura, mas o seu uso vem sendo contestado pelo fato de sua composição ser altamente persistente no meio ambiente. Sua alta toxicidade pode vir ocasionar sérios problemas de saúde, como convulsões e paradas respiratórias, os quais são decorrentes da inibição da enzima acetilcolinesterase (ACh). Neste sentido, a proposta deste trabalho foi desenvolver e avaliar um biossensor eletroquímico, utilizando como técnica a imobilização dessa enzima em um eletrodo à base nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTC) modificados com ftalocianina tetrassulfonada de cobalto (CoTSPc) e Líquido Iônico (LI).

Resultados e Discussão

O biossensor enzimático NTC/CoTSPc/ACh foi preparado através da mistura de NTC modificados com CoTsPc, 10 µL da enzima AChE, 5 µL quitosana e 5 µL glutaraldeído, obtendo-se assim uma pasta homogênea, sendo esta misturada com LI, o qual foi utilizado como aglutinante. A quitosana foi adicionada para manter a atividade biológica de biomoléculas imobilizadas¹. Após o preparo da pasta, a mesma foi inserida num Eletrodo de Pasta de Carbono de 1 mm de diâmetro e 2 mm de profundidade. Outros eletrodos foram preparados nas mesmas condições para fins de comparação. Inicialmente foi verificado o comportamento apenas do eletrodo de pasta de NTC contendo a enzima ACh e foi observado que o mesmo não apresenta nenhum processo faradaico quando colocado na presença da acetilticolina (Fig. 1A, a). Já o eletrodo de pasta de nanotubos de carbono modificado com a CoTSPc apresenta um processo redox em aproximadamente 0 e -0,25 V vs Ag/AgCl, referente ao processo redox da ftalocianina de cobalto (Fig. 1A, b). Quando este eletrodo foi colocado na presença da enzima ACh, observou-se um aumento significativo da corrente anódica indicando que a presença da enzima ACh sobre os nanotubos de carbono modificados com a CoTSPc provoca um aumento na corrente de oxidação da tiocolina, produto gerado pela reação da enzima com o substrato, ou seja, a enzima acetilcolinesterase catalisa a hidrólise da acetilticolina produzindo a tiocolina. Todas as análises foram realizadas na presença de 0,01 mol L⁻¹ de cloreto de acetilticolina

(ATCI) em solução tampão fosfato (STF) 0,1 mol L⁻¹ (pH 8), num intervalo de potencial entre -1,0 e 1,0 V e velocidade de varredura (*v*) de 50 mV s⁻¹. O líquido iônico foi empregado com sucesso quando comparado com o nujol, pois proporcionou uma maior corrente e menor potencial de oxidação para a tiocolina (dado não mostrado). Em seguida, realizou-se estudos amperométricos a fim de se verificar as melhores condições para a oxidação da tiocolina, fixando-se o potencial aplicado em 0,0 V vs Ag/AgCl, potencial este observado para a oxidação da tiocolina com o biossensor. A melhor concentração de ATCI obtida foi de 0,05 mol L⁻¹, concentrações superiores a esta não favorecem mais a transferência eletrônica entre o biossensor e o substrato. Otimizou-se então os parâmetros experimentais, tais como solução tampão e pH, afim de se obter uma melhor resposta para o biossensor, a qual foi obtida em solução tampão fosfato pH 8,0.

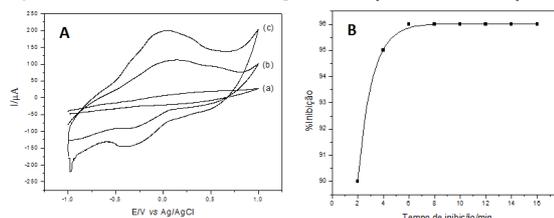


Figura 1: (A). Voltamogramas cíclicos de NTC/ACh em ATCI (curva a), NTC/CoTSPc em ATCI (curva b) e NTC/CoTSPc/AChE em ATCI (curva c). [ATCI]=0,01 mol L⁻¹ [STF]=0,1 mol L⁻¹, pH 8,0, *v*= 0,05 V/s vs Ag/AgCl. **(B)** Percentagem de inibição vs tempo de incubação.

Após tais estudos, realizou-se o estudo do tempo de incubação do pesticida Fenitrothion (Fig. 1B), obtendo-se 96% de inibição em um tempo de 10 minutos, mostrando que a enzima teve uma redução significativa de sua atividade, e que tempos superiores não apresentaram porcentagem de inibição superior. Estudos posteriores serão realizados para se obter as melhores condições para o biossensor.

Conclusões

Os resultados apresentados mostram que o biossensor NTC/CoTSPc/ACh proposto apresenta-se como uma excelente alternativa para a detecção de pesticida organofosforados.

Agradecimentos

À FAPEMIG, CNPQ e CAPES.

¹Sun, X., Wang, X., *Biosensors and Bioelectronics*, 25 (2010) 2611–2614