

Extração de Acetilcolinesterase do cérebro do peixe *Colossoma macropomum* e sua aplicação no desenvolvimento de biossensores.

Anna C. L. Candido*¹ (IC), Marílya P. G. da Silva¹ (IC), Jaqueline M. da Silva² (PQ), Sonia S. Machado² (PQ), Fabiane C. de Abreu²(PQ)

*caroll.candidol@hotmail.com

Escola de Enfermagem e Farmácia¹ e do Instituto de Química e Biotecnologia², Universidade Federal de Alagoas, Campus A. C. Simões – Av. Lourival Melo Mota, s/n, Cidade Universitária - Maceió, Brasil.

Palavras Chave: Biossensor, Acetilcolinesterase, *Colossoma macropomum*.

Introdução

O presente trabalho estuda o grau de inibição da Tiocolina à enzima Acetilcolinesterase (AChE) obtida do cérebro do peixe da espécie ***Colossoma macropomum***, conhecido como Tambaqui. A extração da enzima é uma alternativa de obtenção da mesma já que a enzima comercial é cara, além dos problemas de estabilidade. Os biossensores são sensores modificados com material biológico intimamente ligado à superfície de um transdutor. Dentre os vários tipos, vem se destacando aqueles baseados no princípio da inibição enzimática, com detecção eletroquímica. Esse sistema é bastante vantajoso, pois garante: boa sensibilidade, respostas rápidas e baixo custo, alta especificidade, detecção de baixas concentrações do analito. Os biossensores baseados nos mecanismos de inibição de enzimas colinesterases estão entre os biossensores de inibição mais empregados¹.

Resultados e Discussão

A enzima AChE, foi extraída do Tambaqui. Após retirada do cérebro, estes foram pesados em béquer e adicionado uma solução de NaCl a 0,9% na proporção de 80 mg de cérebro / 1 mL. Macerou-se e transferiu-se o macerado para um homogeneizador de vidro; Após a homogeneização, esse material passou pelo disruptor de células em 5 ciclos de 15 segundos cada. Após esse tempo, temos um homogenato de células. O sobrenadante foi obtido por centrifugação.

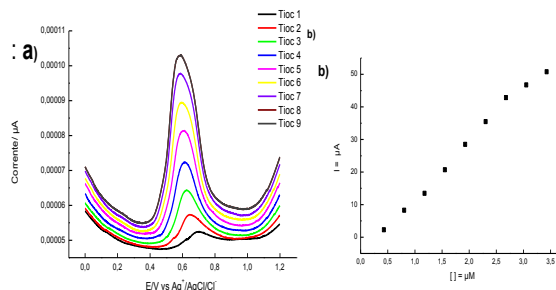


Figura 1: Extração e homogenato de células do cérebro de peixe

Para testar a aplicabilidade da enzima, preparou-se um biossensor mediante imobilização do sobrenadante, na superfície de nanotubos de carbono. Utilizando a técnica de Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) foi possível detectar a Tiocolina em um sistema de oxirredução na

presença de um mediador eletroquímico o ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB). A análise dos resultados demonstrou uma relação linear entre a corrente de pico e concentração da tiocolina. O potencial do pico foi em torno de 700mV (Fig. 2a).

Figura 2: a) VPD do Biossensor AChE em presença de várias concentrações de Tiocolina. b) Gráfico concentração x corrente



Apesar de o potencial obtido ter sido maior que os da literatura (450 a 350 mV)¹, nosso sistema demonstrou boa reprodutibilidade. Esse comportamento eletroquímico ocorre porque a enzima ao reduzir o DTNB, forma um produto de redução do grupo nitro, que se oxida na superfície do eletrodo, mantendo atividade da enzima e a boa reprodutibilidade do biossensor. Os resultados obtidos mostraram fácil detecção da tiocolina pelo processo de inibição enzimática da AChE, sem que haja, a princípio, uma saturação do sistema, o que torna viável o início do estudo pra desenvolvimento de um biossensor através do princípio da inibição enzimática competitiva. Este biossensor obteve boa resposta na análise de carbamato em amostra real.

Conclusões

A AChE pode ser facilmente extraída de cérebro do peixe Tambaqui e quando associada a nanotubos de carbonos pode ser utilizada na análise de carbamato mediante um biossensor abrindo uma gama enorme de perspectivas de análise.

Agradecimentos

À CAPES, UFAL e CNPq órgãos financiadores desta pesquisa.

¹Marques, P. R. B. de O. e Yamanaka, H. *Quím. Nova* . 2008, 31, 1791.