

# Desenvolvimento de um biossensor enzimático para salicilato sobre eletrodos descartáveis de ouro

Daiana Suelen Machado (IC), Rafaela F. Carvalho (PG), Lauro T. Kubota (PQ)\*

1. Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas / UNICAMP, Caixa postal 6154, CEP 13083-970, Campinas SP, Brasil; \*kubota@iqm.unicamp.br

## Introdução

### Biossensor:

Método analítico seguro, confiável e rápido;  
Acopla: elemento de reconhecimento biológico (enzimas, anticorpos, proteínas, ácidos nucleicos ou microrganismos) + transdutores (eletroquímicos, ópticos, térmicos, etc)

Sistema Biológico → Sinal Físico-Químico → Sinal mensurável pelo transdutor

Deteção e quantificação de salicilato em amostras de interesse clínico;

Prevenção de intoxicação em pacientes que fazem uso de medicamentos contendo salicilato;

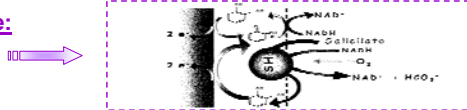
### Screen Printed:

#### Alternativa bastante atrativa

- ✓ Microdispositivos
- ✓ Portátil
- ✓ Simples
- ✓ Econômico
- ✓ Produção em larga escala
- ✓ Análise remota

### Mecanismo de resposta da Enzima

#### Salicilato Hidroxilase:

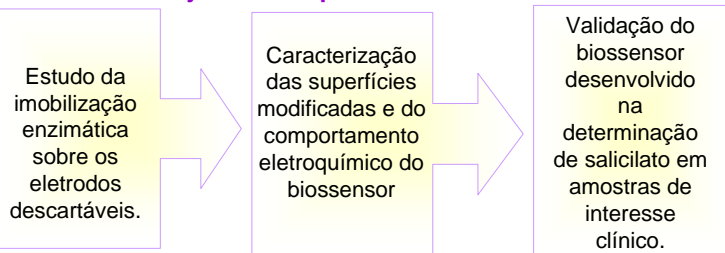


### Objetivos:

- ✓ Desenvolvimento e caracterização de um biossensor amperométrico descartável para análise quantitativa de salicilato em amostras de interesse clínico, a base de eletrodos impressos em ouro e implantação comercial dos mesmos.

## Experimental:

### Planejamento Experimental:



### Condições Experimentais:

- Foram utilizados:
- ✓ Eletrodos impressos em ouro ( $A = 0,015 \text{ cm}^2$ ) desenvolvidos em conjunto com o Laboratório Nacional de Luz Sincrotron (Campinas);
  - ✓ Potenciostato digital (Autolab, PGSTAT10);

### Imobilização Enzimática na superfície eletrodica:

- 1mg da enzima (salicilato hidroxilase);
- 1mg de BSA (albumina bovina);
- 100µL de tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ), pH=7,6 contendo 0.5% de glutaraldeído;

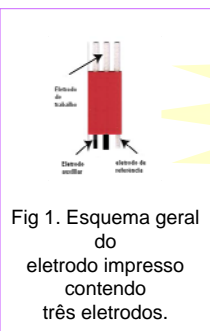


Fig 1. Esquema geral do eletrodo impresso contendo três eletrodos.

## Resultados Parciais

### Estudo do Tampão a ser utilizado:

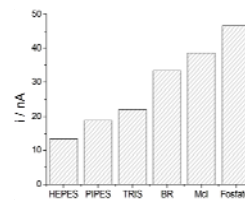


Fig2. Efeito da Solução tampão na resposta amperométrica do biossensor em estudo. Condições experimentais: Adsorção de enzima salicilato hidroxilase (5mg/mL) em solução contendo salicilato de sódio ( $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ) e NADH ( $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) em diferentes tampões:  $\text{Na}_4\text{HPO}_4$ , Pipes, Tris, Hapes, Mc Ilvaine (Mc I), Britton Robinson.

### Estudo do PH:

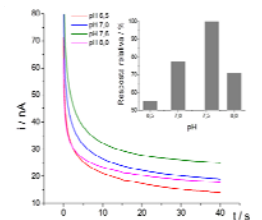


Fig3: Resposta amperométrica do eletrodo impresso de ouro com adsorção de enzima salicilato hidroxilase (5mg/mL) em solução contendo salicilato de sódio ( $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ) e NADH ( $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) em diferentes valores de pH: 6,5, 7,0, 7,6 e 8,0. Potencial aplicado 300 mV.

### Estudo da concentração de NADH PH:

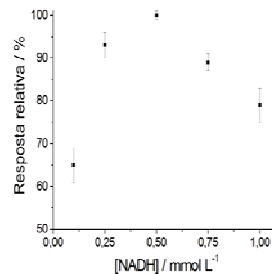
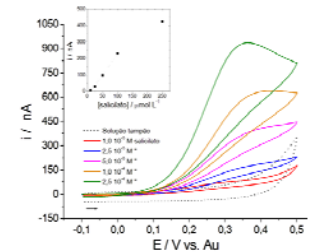


Fig4. Resposta amperométrica do eletrodo impresso de ouro com adsorção de enzima salicilato hidroxilase (5mg/mL) em solução contendo salicilato de sódio ( $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ) e NADH em diferentes concentrações:  $1,0 \times 10^{-4}$ ,  $2,5 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-4}$ ,  $7,5 \times 10^{-4}$  e  $10 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  em tampão fosfato ( $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ , pH=7,6). Condições experimentais: 300 mV.

### Curva analítica:



$$Y(A) = -25,60 (\pm 6,90) 10^{-9} + 25,00 (\pm 1,21) 10^{-4} [\text{salicilato de sódio} (\text{mol L}^{-1})]$$

Fig5. Curva analítica para salicilato de sódio obtida por voltametria cíclica com o biossensor desenvolvido. Tampão fosfato, pH=7,6 a 50 mVs<sup>-1</sup>, 50 mV s<sup>-1</sup>.

## Conclusões Parciais

- As condições operacionais do biossensor foram otimizadas e o mesmo apresentou características analíticas promissoras para sua aplicação em amostras de interesse clínico;
- Estão sendo realizados estudos para verificar a aplicabilidade do biossensor em amostras de interesse clínico;

## Referências Bibliográficas

Rover Junior, A.; Oliveira Neto, G.; Fernandes, J. R.; Kubota, L. T. *Talanta*, **2000**, 547-557.

## Agradecimentos

Cnpq/PBIC