

DESENVOLVIMENTO DE UM BIOSENSOR A BASE NANOTUBOS DE CARBONO PARA A DETERMINAÇÃO DE POLUENTE ORGÂNICO EM ÁGUAS DE ÁREAS URBANAS

Química Ambiental

Thainá Godoy Beatto¹
Jocimara Camargo da Silva²
Elaine Yoshiko Matsubara³
Jose Mauricio Rosolen⁴
Renata Kelly Mendes⁵

Resumo

O despejo inadequado de efluentes industriais em águas naturais de grandes centros urbanos pode gerar graves problemas ambientais e à saúde humana, principalmente se constatada a presença de compostos fenólicos originários de setores alimentícios, de indústrias químicas, de petróleo e outros. Muitos compostos fenólicos são de difícil degradação, sendo resistentes aos métodos convencionais de tratamento, de elevada toxicidade e com possibilidade de bioacumulação, mesmo em baixas concentrações. Por isso, o monitoramento qualidade da água que será consumida é essencial para a sociedade. O uso de dispositivos como os biossensores eletroquímicos no monitoramento de fenóis é uma alternativa viável, devido a sua simplicidade, seletividade, alta sensibilidade e baixo custo. Além disso, materiais micro/nanoestruturados de carbono produzidos a partir de nanotubos de carbono (NTC) e eletrodos nonwovens, como os feltros de carbono/CNT, se mostram interessantes no desenvolvimento dos biossensores, devido à alta área superficial, aumento da taxa de transferência de elétrons e reprodutibilidade. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo a construção de um biossensor descartável, baseado na enzima tirosinase, imobilizada sobre feltros de carbono/CNT, para a determinação de composto fenólico em águas de áreas urbanas.

Palavras-chave: Biossensor; Nanotubos de carbono; Compostos fenólicos; Águas Urbanas; Tirosinase.

¹Thainá Godoy Beatto, Graduação em Química, CEATEC, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, thainabea@live.com.

²Jocimara Camargo de Silva, Mestrado em Sistemas de Infraestrutura Urbana, CEATEC, Pontifícia Universidade Católica de Campinas jocimaramcamargo@gmail.com.

³Dra Elaine Yoshiko Matsubara, Universidade de São Paulo-FFCLRP-Dep. de Química, elainematsubara@yahoo.com.

⁴ Prof. J. M. Rosolen, Universidade de São Paulo-FFCLRP-Dep. de Química, rosolen@ffclpr.usp.br.

⁵Prof. Dra. Renata Kelly Mende., Docente no Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Infraestrutura Urbana, CEATEC, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, renatavalente@puc-campinas.edu.br.

INTRODUÇÃO

Em grandes centros urbanos, as indústrias são as principais responsáveis por gerar resíduos contendo alto teor de contaminantes orgânicos, cujo descarte inadequado em recursos hídricos causa sérios danos à saúde dos consumidores (OLIVEIRA et al., 2015). Dentre esses poluentes, destacam-se os compostos fenólicos, que possuem a característica de resistência à degradação natural e, durante a etapa de cloração da água na estação de tratamento, podem produzir compostos de ainda maior toxicidade (MACHADO et al., 2015). Dessa maneira, é essencial o desenvolvimento de metodologias para sua determinação que sejam extremamente sensíveis e seletivas, de forma que outros compostos orgânicos presentes nas águas não interfiram no sinal. Atualmente, a busca por técnicas alternativas às clássicas, que sejam mais rápidas, simples e que minimizem a geração de resíduos são preferidas devido a preocupação com a Química Analítica Verde (GALUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013). Neste contexto destaca-se o uso dos biossensores que são extremamente seletivos, possuem alta sensibilidade e precisão, possibilidade de monitoramento em tempo real, versatilidade com relação ao formato e tamanho, permitindo facilmente a aquisição de dados por meio de dispositivos miniaturizados (DEKUS, 2017; BISWAS et al., 2017). O atual avanço tecnológico tem permitido a obtenção de nanobiossensores pelo uso de nanomaterial em sua construção, que fornecem benefícios importantes como alta área superficial, aumento na taxa de transferência de elétrons e facilidade de funcionalização (LAN et al., 2017). Nos últimos anos, vários estudos têm demonstrado o potencial de nanotubos de carbono (CNTs) no desenvolvimento de sensores. Sua morfologia tubular e propriedades eletrônicas são úteis para o processo de imobilização da biomolécula. Atualmente, os feltros de carbono, construídos por nanotubos de carbono, de escala micrométrica, são ainda mais interessantes, pois podem ser usados diretamente na construção do dispositivo, desde que um fio de platina seja usado como contato elétrico (GONÇALES et al., 2011). Além disso, possuem alta área superficial, que permite maior densidade de corrente e quantidade de biomolécula imobilizada, possui baixo custo e de simplicidade de utilização (WANG, HASEBE, 2012). Não há na literatura muitos trabalhos envolvendo a utilização dos feltros

de carbono neste tipo de aplicação, o que aumenta a importância do dispositivo proposto.

Os biossensores utilizam como elemento de reconhecimento uma biomolécula. Em se tratando da detecção de compostos fenólicos, o uso da enzima tirosinase como reconhecedor é atraente, devido a possibilidade do uso de extratos vegetais, tais como o do inhame, como fonte enzimática, diminuindo os custos na construção do sensor.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi a construção de um biossensor descartável, baseado na enzima tirosinase imobilizada sobre feltros de carbono, para a determinação de compostos fenólicos em águas de áreas urbanas.

METODOLOGIA

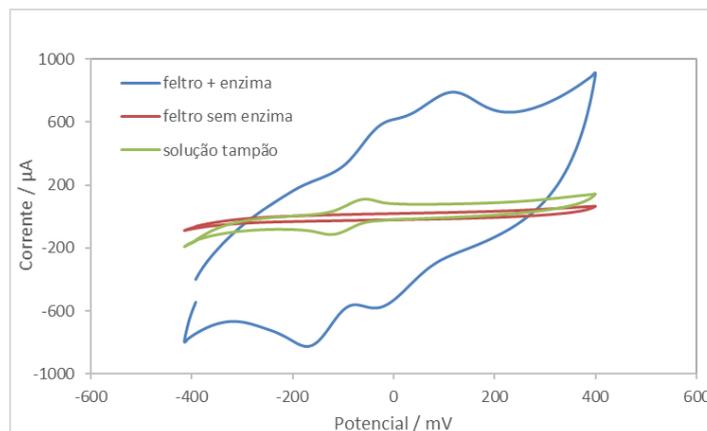
Construção do biossensor

O inhame foi utilizado para extração da enzima tirosinase. Após lavagem e secagem, 25 g do vegetal descascados foram picados e homogeneizados em um liquidificador com 100 mL de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0). Em seguida, o extrato foi filtrado em quatro camadas de tecido (gaze) e centrifugado a $25000 \times g$ (18000 rpm) durante 20 min. A solução sobrenadante foi dividida em diversas alíquotas e armazenadas em refrigerador a 4°C . Para a construção do biossensor, o feltro de carbono, formado por fibras de poliácridonitrila carbonizada recobertas com nanotubos de carbono, foi imerso em $200 \mu\text{L}$ da solução do extrato enzimático por 30 min. Então, o feltro foi lavado três vezes com solução tampão para retirar as biomoléculas fracamente ligadas. Para contato elétrico, foi utilizado um fio de platina e o sistema foi imerso, juntamente com um contra eletrodo de platina e eletrodo de referência de Ag/AgCl em uma célula eletroquímica. Para realização das leituras foi utilizado um medidor de corrente (micropotenciostato) PGSTAT 101. Para a aplicação do biossensor em águas naturais, coletou-se a amostra em uma Lagoa na cidade de Campinas intencionalmente contaminada com hidroquinona (composto fenólico estudado).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente, para verificar se a enzima permanecia na superfície do feltro efetivamente imobilizada, foi feito um teste com o feltro sem e após a imobilização da enzima. A Figura 1 apresenta os resultados obtidos.

Figura 1 – Voltamogramas cíclicos para a avaliação da imobilização da enzima em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $270 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de hidroquinona. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} .



A partir da Figura 1, é possível verificar que em solução tampão não há picos de oxidação ou redução devido a ausência de composto eletroativo. Após a adição de hidroquinona ao sistema, verifica-se que ocorre o aparecimento dos picos redox. No entanto, após a imobilização da enzima sobre o feltro, houve um aumento significativo na intensidade da corrente elétrica, indicando que a enzima é essencial na construção do biossensor e o método usado para sua imobilização se mostrou eficiente. A enzima catalisa a reação de oxidação do composto fenólico, o que incrementa o sinal eletroquímico.

As condições experimentais foram otimizadas, a fim de selecionar aquelas em que o biossensor apresentasse melhor resposta. Avaliou-se diferentes tempos de interação entre a enzima e o feltro (5, 15, 30 e 60 min) e o pH (6,5 a 8,0). Foi verificado que aumentando-se o tempo de interação há um incremento no valor de corrente, indicando que maior quantidade de enzima é imobilizada sobre a superfície do feltro. No entanto, como entre os tempos de 30 e 60 min houve um aumento pouco significativo no valor da corrente, optou-se por utilizar o tempo de 30 min na imobilização na enzima nos experimentos subsequentes. Com relação ao pH, foi possível verificar que há um máximo de valor de corrente elétrica em pH igual a 7,0. Isso porque é um pH neutro e, portanto, mais adequado para a enzima tirosinase.

Para que o biossensor possa ser usado como método para quantificação do contaminante fenólico, é necessário se obter uma curva de calibração. Para isso, construiu-

se o dispositivo, aplicando-se as condições otimizadas, anteriormente selecionadas para a análise. Foram obtidas as correntes elétricas em diferentes concentrações de hidroquinona. A faixa linear de trabalho com o biossensor, após correção com o branco, é de 9 a 540 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do composto fenólico, com um R^2 de 0,9988 ($n=15$). A equação da reta obtida foi y (μA) = $1,9403 \times (\mu\text{mol L}^{-1}) - 7,1659$ e foi usada na determinação deste composto fenólico em amostras reais.

Para a leitura em água de uma lagoa, a amostra foi propositalmente contaminada com 110 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de hidroquinona. Após análise com o biossensor, identificou-se uma concentração de 111 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um erro relativo de 0,91%. Dessa forma, é possível verificar que as outras espécies presentes na água não interferiram no sinal, mostrando que o biossensor apresenta exatidão e seletividade nas medidas.

CONCLUSÕES OU CONSIDERAÇÕES FINAIS

O biossensor proposto apresentou boa precisão nas medidas, além de ser de baixo custo, uma vez que utiliza como elemento de reconhecimento a enzima tirosinase obtida de extratos vegetais. Quando aplicado em água de lagoa fortificada, foi possível determinar a concentração do composto fenólico com exatidão (erro relativo de 0,91%) com seletividade, uma vez que os outros compostos presentes na amostra não interferiram no sinal.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ pela bolsa de IC concedida.

REFERÊNCIAS

- BISWAS, P. et al. **Biosens. Bioelectron.** v. 94, p. 589–604, 2017.
- DERKUS, B. **Biosens. Bioelectron.** v. 79, p. 901–913, 2016.
- GALUSZKA, A. et al. **Trends Anal. Chem.**, vol. 50, p. 78-84, 2013.
- OLIVEIRA, D. P. C. et al **Quim. Nova** v. 38, p. 924-931, 2015.
- ROSATTO, S.S. et al **Quím. Nova**, v. 24, p.77-86, 2001.