

Imobilização de Enzimas para uso como Biossensores de Poluentes

Maurilio Geraldete Pereira, Manildo Marcião de Oliveira

O Brasil está entre os países que mais utilizam pesticidas em lavouras, superando em sete vezes a média mundial de 0,5 kg/hab (FAO, 2013). Aproximadamente 600 ingredientes ativos são registrados e utilizados na agricultura, como organofosforados, carbamatos, organoclorados, piretróides, derivados de uréia, bupiridílio e nitrocompostos. Dentre estes, destacam-se pelo alto grau de toxicidade os organofosforados e carbamatos, que tem impacto direto sobre a saúde e o meio ambiente. Para detecção destes pesticidas, biossensores com acetilcolinesterase (AChE) purificada estão sendo construídos e vem ganhando destaque no monitoramento ambiental, porém uma das etapas mais críticas nesse processo de construção relaciona-se a imobilização enzimática, processo esse, que vem sendo empregado baseados nas ligações físicas e químicas entre a biomolécula e o suporte (dentre outros sílica mesoporosa e quitosana). Os objetivos deste estudo são: realizar testes de imobilização enzimática da enzima AChE em dois suportes, sílica mesoporosa e quitosana reticulada com glutaraldeído. E avaliar o tempo de reutilização da enzima baseado na atividade enzimática pós-imobilização nos dois suportes citados anteriormente. Imobilização das enzimas em sílica e quitosana (com glutaraldeído). As enzimas foram obtidas de cérebros de camundongos suíços, processados com tampão fosfato pH 7,5 0,1 mol/L com 0,1% de Triton X-100. O sobrenadante obtido de centrifugação (20000.g/120 min/4°C) é utilizado na imobilização em 20 mg de Sílica e 20 mg de quitosana reticulada agitada levemente em tampão fosfato pH 7,5 por 24 horas em temperatura ambiente. Alíquotas do sobrenadante do meio de imobilização são recolhidas para dosagem de proteínas no decorrer do experimento (de 1 em 1 hora, durante as 4 primeiras horas). A sílica mesoporosa foi mais eficiente na imobilização da AChE nos parâmetros comparados (atividade enzimática e dosagem de proteínas) com a quitosana reticulada. Em relação ao tempo de armazenamento para reutilização da enzima, observou-se que a AChE imobilizada com sílica mesoporosa pode ser armazenada por pelo menos 300 dias, mantendo ainda enzima ativa, enquanto a quitosana reticulada (com glutaraldeído) garantiu a enzima ativa por 112 dias. Os experimentos realizados com os dois suportes (sílica e quitosana) na imobilização da enzima AChE extraídas de cérebro de camundongo, mostraram que a sílica mesoporosa é o suporte mais eficaz e com potencial para a construção de biossensores.

Palavras-chave: Suporte, Sílica Mesoporosa, Acetilcolinesterase.

Instituição de fomento: CNPq