

# Biosensor de ácido úrico para determinação em fluxo contínuo

Dutra, R.A.F.; Morais, M.M.C.; Da Silva, V.L.; Lima Filho, J.L.

Setor de Biotecnologia, LIKA/UFPE

Av. Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, 50670-901, Recife - PE

E-mail : rafid@npd.ufpe.br

**Resumo** - O objetivo deste trabalho foi desenvolver um biosensor para dosagens de ácido úrico no soro humano. A uricase foi imobilizada em pasta de grafite modificada usando TCNQ como mediador e então, pressionada sobre um eletrodo de ouro. A corrente elétrica produzida pela reação enzimática foi diretamente proporcional à concentração de ácido úrico presente na amostra. Este sistema demonstrou uma sensibilidade linear entre 12.5  $\mu$ M a 250  $\mu$ M de solução de ácido úrico. O sistema foi testado usando medições em fluxo contínuo (FIA).

**Abstract** - The aim of this work was to develop a biosensor to determine uric acid concentration in human serum. Uricase was immobilized in modified graphite paste using TCNQ as a mediator and then packed onto a gold electrode. The current produced by the enzyme reaction was proportional to the uric acid concentration in the sample. The response of this system showed a linear sensitivity between concentrations of 12.5  $\mu$ M and 250  $\mu$ M uric acid solutions. The system was tested using flow injection analysis (FIA).

## Introdução

A importância da dosagem de ácido úrico na clínica é bem conhecida. Diversas doenças estão associadas com a alteração na concentração de urato no plasma. Entre as mais comuns etiologias de hiperuricemia estão gota, insuficiência renal, cetoacidoses e excesso de lactato.

A concentração de ácido úrico é normalmente determinada por métodos químicos e enzimáticos<sup>1</sup>. No caso do método enzimático a quantidade de ácido é determinada pelo consumo de oxigênio na reação, entretanto, este sistema é limitado pela saturação de oxigênio<sup>2</sup>.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um biosensor de baixo custo para determinação de ácido úrico usando uricase em pasta de grafite modificada por TCNQ (tetracianoquinodimethane), um sal condutor orgânico. Este sal atua como um mediador, facilitando a condução de elétrons para o eletrodo a partir da

superfície do mesmo. Esta abordagem eletroquímica não necessita de oxigênio, tem alta linearidade, alta estabilidade e oferece respostas rápidas<sup>3</sup>.

## Metodologia

### Materiais

Uricase (U7128) com atividade de 15-30 U/mg da Sigma, 7,7,8,8-Tetracianoquinodimethane : TCNQ (T1636) da Sigma, Pó de Grafite e Óleo Mineral da Schering-Plough e outros reagentes de grau analítico.

### Sensor

O eletrodo enzimático com 2mm de diâmetro foi coberto com uma pasta de carbono obtida como segue : pó de grafite (31.34%), óleo mineral (31.34%), TCNQ (26.56%) e uricase (10.76%). Como referência foi usado um eletrodo de Ag/AgCl.

## Experimento e medidas

Concentrações de ácido úrico foram medidas através do fluxo de elétrons produzido pela reação enzimática do eletrodo, submetido à uma tensão diferencial de 180mV em relação ao eletrodo de referência. Amostras de ácido úrico de 300uL foram injetadas no sistema de fluxo contínuo carregado por 100 mM de tampão fosfato pH 8.0, numa taxa de fluxo de 3.2 ml/min, a temperatura ambiente.

## Resultados e conclusões

Amostras de ácido úrico em diferentes concentrações molares preparadas em tampão fosfato pH 8.0 foram testadas. O sistema apresentou uma resposta linear na faixa de 25uM a 250uM. Estes resultados indicam uma possível utilização para dosagem de ácido úrico em sangue.

## Referências

<sup>1</sup> Woo, J. and Cannon, D.C. In: *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, Ed.. Henry, W.B. Saunders, N.Y., 140-143, 1991.

<sup>2</sup> Enfors S.O.; Molin G. *The influence of temperature on the growth inhibitory effect of carbon dioxide on Pseudomonas fragi and Bacillus cereus*. Can J Microbiol, 27: 1, 1981.

<sup>3</sup> Pandey, P.C.; Katastha, A.M.; Pandey, V. *Amperometric Enzyme Sensor for Glucose Based on Graphite Paste-Modified Electrodes*. Applied Bioch. and Biotec., Vol 33, 139-143, 1992.