

Na mesma hora

Cientistas identificam em tempo real substâncias existentes em alimentos e materiais diversos

O paciente dá entrada no pronto-socorro. Os médicos suspeitam de intoxicação por salicilato, produto da hidrólise do ácido acetilsalicílico, a aspirina. A dose terapêutica e a dose tóxica do salicilato são muito próximas. Em níveis altos, o salicilato causa lesões no estômago, diminuição da capacidade auditiva, vertigens e zumbidos. Em doses ainda mais altas, pode ser fatal pela depressão respiratória. Rapidamente, os médicos tiram uma amostra do sangue do paciente e fazem um teste rápido e econômico, usando um biossensor. Logo, o diagnóstico é confirmado ou desmentido.

“A detecção de substâncias em tempo real é a tendência da química analítica para o futuro”, diz o professor Lauro Tatsuo Kubota, do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). “É cada vez maior a preocupação dos químicos de determinar em tempo real, e preservando ao máximo as condições existentes na natureza, os compostos ou substâncias presentes em alimentos e materiais de interesse clínico, biológico ou ambiental.”

O professor Lauro tem bases para opinar. Ele é coordenador do projeto temático *Estudo e Desenvolvimento de Novos Sistemas de Detecção para Aplicações Analíticas*, um dos mais completos trabalhos já feitos no Brasil sobre o assunto, que está sendo realizado em Campinas com o apoio da FAPESP. O projeto, iniciado em 1995, já alcançou todos os objetivos fixados no início. Mas os pesquisadores pediram a prorrogação do prazo de conclusão para abril do próximo ano. Nesse período pretendem aperfeiçoar, justamente, a sensibilidade dos biossensores que detectam a presença de salicilato no sangue, urina, cosméticos e em medicamentos.

Pronto atendimento

Um primeiro biossensor para salicilato desenvolvido pelo projeto já foi testado e comparado com a metodologia aplicada hoje no Hospital das Clínicas da Unicamp. Empaquetado quanto à precisão dos resultados, ganhou

em simplicidade e em economia. Além disso, como faz a análise em tempo real, permite que o paciente seja rapidamente atendido em casos de intoxicação. O biossensor também foi usado na análise de medicamentos, para determinar a proporção do ácido acetilsalicílico que já foi hidrolisado para a forma

tado a partir de 1995, com recursos da FAPESP, destinados ao projeto temático e a outros projetos em curso na instituição.

Conceito pioneiro

O primeiro coordenador do projeto foi o professor Graciliano de Oliveira Neto, na época chefe do Departamento de Química Analítica do Instituto de Química da Unicamp. Ele é considerado o introdutor do conceito de biossensores no Brasil. Quando Oliveira Neto se aposentou na Unicamp, em 1998, para tornar-se coordenador-geral dos cursos de pós-graduação da Universidade São Francisco, em Bragança Paulista, passou a coordenação ao professor Lauro.

Além dos dois, participam do trabalho os professores Mathieu Tubino, subcoordenador; Wallace Oliveira, que se aposentou durante o projeto e foi substituído por Ivo Raimundo; Célio Pasquini; Néelson Duran; e Hideko Yamanaka. Com exceção da professora Hideko, que trabalha no Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista (Unesp) em Araraquara, todos pertencem ao Instituto de Química da Unicamp.

O projeto também envolve estudantes de diversos níveis. Ele já rendeu um pós-doutorado, já encerrado; quatro doutorados encerrados e dois em andamento; quatro mestrados encerrados e um em andamento; e três iniciações científicas, encerradas. Foram publicados 18 artigos gerados pelo projeto em publicações científicas; outros foram aceitos pelos editores e aguardam publicação e há mais alguns em fase de conclusão. Além disso,

contribuiu para vários artigos publicados pelos pesquisadores sobre trabalhos desenvolvidos fora do projeto temático.

Agulhas no capim

Além do uso em laboratório, os sistemas desenvolvidos têm várias aplicações práticas. O biossensor para oxalato, por exemplo, pode ser usado em exames de urina, nas análises clínicas, em alimentos e mesmo na pecuária. Algumas vezes, o capim do qual o gado se



Lauro Kubota: biossensor de fibra de carbono com enzima imobilizada e estável, menor do que uma esterográfica

de salicilato. Isso é importante, pois o remédio tem ação mais eficaz antes que o ácido seja hidrolisado.

Além do biossensor para salicilato, foram desenvolvidos, como parte do projeto, biossensores para compostos fenólicos, oxalato e ácido isocitríco. A partir deles, foram desenvolvidos outros biossensores, já em uso corrente no Laboratório de Eletroquímica e Eletroanalítica de Desenvolvimento de Sensores da Unicamp. Esse laboratório foi mon-

FOTO EDUARDO CÉSAR

alimenta com quantidades muito altas de oxalato e os cristais desenvolvidos formam verdadeiras agulhas, que podem até mesmo espetar a garganta e matar o animal por asfixia. Uma análise rápida e simples evitaria esse problema, levando ao isolamento dos pastos onde se apresenta o problema. Para identificar o oxalato, os pesquisadores desenvolveram um sistema que usa a enzima oxalato oxidase, encontrada em boas quantidades nos grãos de sorgo e de cevada.

O sistema que reconhece e quantifica o ácido isocitríco, que funciona a partir da enzima isocitrato desidrogenase, mostra claramente se um suco de laranja foi ou não adulterado. Existe uma proporção correta entre o ácido isocitríco e os outros ácidos existentes no suco de laranja. Determinando-se a quantidade de ácido isocitríco pode-se identificar a adulteração do suco. O suco destinado à exportação precisa ter uma certa proporção de ácido isocitríco e já houve casos em que vendedores adulteraram o suco para obter esse padrão. A aplicação do teste, assim, pode servir de garantia da qualidade do produto, importante para o Brasil por ser o maior exportador de suco de laranja do mundo.

Os biossensores que distinguem os diferentes compostos fenólicos têm muito potencial de aplicação nas indústrias. Todos os efluentes industriais têm diversos compostos fenólicos, mas nem todos são poluentes tóxicos. A correta identificação dos compostos pode, assim, simplificar e tornar menos caros os processos de controle da poluição. Isso é feito a partir de peroxidases, substâncias encontradas em vegetais como o nabo e o abacaxi. Cada peroxidase reage preferencialmente com um determinado composto fenólico. Há mais. Os biossensores desenvolvidos pela equipe da Unicamp multiplicaram por cerca de 100 a sensibilidade da análise em termos quantitativos.

Duas partes

O biossensor é formado de duas partes, o composto biológico e o transdutor. O composto biológico faz o reconhecimento de ions ou moléculas das substâncias procuradas por meio de uma reação química. O composto pode ser uma enzima, um antígeno, um anticorpo, uma seqüência de bases de DNA, uma célula ou um grupo de células reunidos num tecido. A natureza do composto é determinada, basicamente, pelo que vai ser procurado na amostra.

O transdutor é um objeto em forma de bastão. Pode ter diversos tamanhos, de uma caneta esferográfica ao de uma fração de milímetro, quando tem-se um ultramicrotransdutor. Ele converte a energia gerada pela reação de reconhecimento da substância numa forma que pode ser medida. Essa forma pode ser um impulso, potencial ou corrente elétrica; uma mudança de cor, quando é chamada de transdução óptica; ou mesmo uma mudança de massa, que conduz, por exemplo, a uma mudança na freqüência da vibração de um cristal piez elétrico, entre outras.

Quando ocorre a transdução, o processo está pronto. “Sei se a substância procurada existe na amostra e, em caso positivo, a quantidade na qual está presente”, diz o professor Lauro. Normalmente, o transdutor é acoplado a um instrumento de medição. Esse instrumento recebe o sinal do transdutor e o traduz em quantidades e proporções.

Amplificação elegante

Para aperfeiçoar os biossensores que identificam o salicilato, os pesquisadores agora pretendem amplificar o sinal recebido pelo sistema usando os próprios compostos envolvidos na reação. Os pesquisadores chamam esse proces-

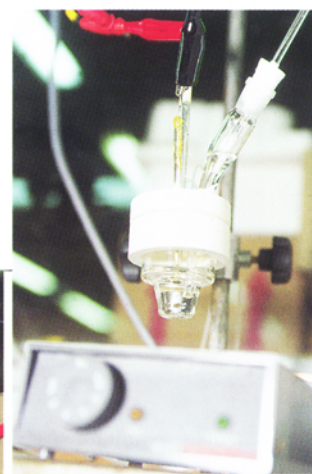
so de amplificação elegante. O trabalho começa quando o biossensor entra em contato com a solução que serve de amostra. Se houver salicilato na solução, a enzima salicilato hidroxilase reage com ele e produz catecol, que é oxidado na superfície do biossensor e perde dois elétrons, gerando uma corrente elétrica.

Ao perder os dois elétrons, o catecol se transforma em ortoquinona. A ortoquinona reage com a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) presente na solução e regenera o catecol, que volta a perder dois elétrons e gera nova corrente elétrica. Essa corrente, então, amplifica o sinal. Se a seqüência for bem calibrada, sabe-se logo a quantidade de salicilato que participou da reação. “A amplificação elegante aumenta em cerca de 1.000 vezes a sensibilidade do biossensor”, diz o professor Lauro.

Os testes, por enquanto, limitam-se ao ambiente da Universidade. Sua entrada no mercado normal depende de aspectos burocráticos ligados às patentes. “Do ponto de vista científico, está tudo pronto”, afirma o professor Lauro. Para o futuro, há um vasto campo à espera dos pesquisadores. “Já existe uma boa perspectiva de fazer reconhecimento de DNA por meio de biossensores”, diz o professor. Ainda mais porque, como parte do projeto, os pesquisadores também estão trabalhando para miniaturizar os biossensores.

No exterior, pesquisadores já conseguiram introduzir eletrodos nos tecidos cerebrais de animais de laboratório, para estudar o mecanismo do funcionamento dos neurotrans-

missores em pesquisas sobre doenças como a depressão, a esclerose e o mal de Parkinson. Infelizmente, porém, não conseguiram ainda uma boa seletividade. Nesse campo, a equipe da Unicamp tem muito para dar. Os neurotransmissores são basicamente compostos fenólicos e uma das áreas nas quais os biossensores desenvolvidos pela equipe se mostraram mais eficientes é, justamente, a da detecção dos compostos fenólicos.



FOTOS EDUARDO CESAR



Em teste: os aparelhos registram os dados dos biossensores, formados por um eletrodo e um composto biológico, que encosta nos líquidos (no destaque)

Perfil:

O professor Lauro Tatsuo Kubota tem 35 anos e formou-se em Química pela Universidade Estadual de Londrina em 1985. Fez o mestrado na Unesp, o doutorado na Unicamp e o pós-doutorado na Universidade de Lund, na Suécia. É especialista em biossensores desde 1993 e professor do Instituto de Química da Unicamp desde 1994.

Pesquisa: Estudo e Desenvolvimento de Novos Sistemas de Detecção para Aplicações Analíticas

Investimento: R\$ 236,8 mil