



DETERMINAÇÃO DA IC₅₀ DO HERBICIDA GLIFOSATO SOBRE A ENZIMA ACETILCOLINESTERASE DE *EISENIA FOETIDA*

¹ Clarissa de Lima Barcelos; ¹ Lucas Maciel Corrêa; ² Sandro Moreira Tuerlinckx.

O glifosato [*N*- (fosfonometil) glicina] é uma molécula do grupo químico glicina substituída, com ação herbicida e foi considerado pouco tóxico para seres humanos e outros mamíferos, principalmente devido ao seu mecanismo ser direcionado para interferir na via do shiquimato, mediante a inibição competitiva da enzima 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), a qual ocorre apenas em plantas e microorganismos. Embora este agroquímico não seja considerado um agente anticolinesterásico, alguns estudos têm indicado que o glifosato e suas formulações afetam a atividade da enzima acetilcolinesterase em diferentes espécies de seres vivos. Neste trabalho, o objetivo foi investigar a concentração inibitória média (IC₅₀) do herbicida glifosato sobre a enzima acetilcolinesterase de *Eisenia foetida* por intermédio de ensaios *in vitro*. Para determinar a IC₅₀ do agroquímico sobre a enzima acetilcolinesterase de *Eisenia foetida*, soluções de glifosato 96% de pureza (sigma) foram dissolvidas em água deionizada e preparadas imediatamente antes do uso. Então, alíquotas de 50 µL foram adicionadas ao meio de pré-incubação obtendo-se concentrações finais de 0 até 2.5 mmol L⁻¹ de glifosato. Todos os tubos foram incubados a 25 °C por 30 minutos antes da adição do substrato enzimático. Ao meio de reação foi adicionado 0.5 mmol L⁻¹ DTNB (50 µL), 0.5 Mol L⁻¹ tampão fosfato (KH₂PO₄/K₂HPO₄; pH 7.5; 950 µL) e o sobrenadante (S1) de minhoca (50 µL), então a reação foi iniciada pela adição de 10 mmol L⁻¹ de iodeto de acetilcolina (50 µL). A temperatura do ensaio foi mantida constantemente a 25^o C em cubeta termostatizada e efetuou-se a leitura do aumento da absorbância em λ 412 nm durante 120 segundos em analisador bioquímico semi-automatizado *TP Analyzer*. Para determinar a concentração de glifosato necessária para inibir 50% da atividade *in vitro* da enzima acetilcolinesterase (IC₅₀) de minhocas *Eisenia foetida*, foi utilizada uma transformação da equação de Hill através do emprego de modelos de regressão não-linear com a equação sigmoideal logística de quatro parâmetros. Para um ajuste de 4 parâmetros, o controle positivo A (∞) foi fixo e IC₅₀, β, A (0) foram aplicados de forma independente e simultaneamente. A concentração de glifosato de grau técnico (96% pureza; Sigma-Aldrich) que ocasionou 50% de inibição da enzima (IC₅₀) foi de 241 µmol L⁻¹ (F = 217,1; p < 0,0001, r² = 0,95). Embora o herbicida glifosato, neste estudo, tenha demonstrado um efeito inibitório sobre a AChE de *Eisenia foetida*, essa inibição não é tão

¹Discente do curso de Medicina Veterinária – URCAMP

² Prof. Dr. do curso Medicina Veterinária - URCAMP

acentuada como acontece com a exposição aos inibidores clássicos da enzima, como os pesticidas das classes dos organofosforados e carbamatos.

Palavras-chave: agroquímico; enzimologia; equação sigmoidal.