

# PRODUÇÃO DE BIOSSENSOR ENZIMÁTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE DOPAMINA

Mariana Pontes Vieira<sup>1</sup>, Andreia de Araújo Morandim Giannetti<sup>2</sup>  
<sup>1,2</sup> Departamento de Engenharia Química, Centro Universitário FEI  
 marianapontesvieira@hotmail.com e preamorandim@fei.edu.br

**Resumo:** Neste trabalho, primeiramente, otimizou-se a condição de fermentação do fungo *Xylaria* sp. para a produção de lacase (pH = 6,67, tempo = 10 dias e T = 29°C). Após essa etapa, o extrato enriquecido em lacase obtido foi empregado na produção de um biossensor enzimático para a quantificação de dopamina via voltametria cíclica, sendo que a melhor condição de análise também foi determinada (pH = 7,3, T = 44,3°C). Essa condição possibilitou a quantificação de dopamina em uma concentração de 0,42 mmol/L com precisão.

## 1. Introdução

Os estudos relacionados à produção e aplicação de biossensores na área médica têm crescido significativamente, especialmente aqueles voltados para a quantificação de compostos como epinefrina, dopamina, vitamina B6, entre outros, que estão associados a diversos problemas de saúde. Portanto, o desenvolvimento de dispositivos capazes de medir esses compostos em fluidos corporais poderá viabilizar o monitoramento de disfunções em sistemas como o adrenal, renal, cardiovascular e nervoso central [1,2].

Considerando a relevância dos biossensores, especialmente os enzimáticos, o objetivo deste projeto foi a produção de um biossensor enzimático utilizando a enzima lacase, obtida a partir do fungo *Xylaria* sp. Além disso, buscou-se otimizar as condições de operação e análise para a quantificação da dopamina, um neurotransmissor crucial no sistema nervoso central e presente em diversas condições patológicas.

## 2. Metodologia

Inicialmente, foram otimizadas as condições de crescimento do fungo *Xylaria* sp., variando-se a temperatura, pH e tempo de crescimento por meio de um planejamento estatístico, a fim de determinar a condição que resultou na maior atividade específica. Posteriormente, para a produção do biossensor, foi utilizado um extrato enzimático enriquecido em uma matriz imobilizadora de quitosana modificada. Essa matriz foi preparada com 0,5 g de quitosana dissolvida em 2,5 ml de ácido acético e 47,5 ml de água, juntamente com uma solução de 0,2 g de trimetafosfato de trissódio (SMTP) em 10 ml de água, resultando em um filme transparente.

A matriz obtida (0,05 g) foi misturada com 0,375 g de grafite, 200 µL da solução enzimática enriquecida em lacase (atividade enzimática = 0,45 U/mg.min) e 0,075 g de óleo mineral. Utilizando essa matriz, o biossensor foi construído. Em seguida, foi realizada uma avaliação da influência do pH e da temperatura na quantificação de dopamina, visando identificar a condição que permitisse a quantificação de baixas concentrações dessa substância

por meio de voltametria cíclica. Para esse propósito, um planejamento CCRD foi empregado. A concentração da solução de dopamina utilizada durante o estudo foi de 3,3 mmol/L, e para ajustar o pH, um tampão fosfato 0,1 mol/L foi utilizado (conforme Figura 1).

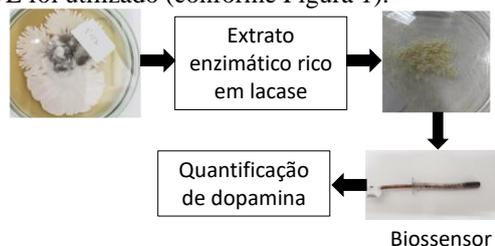


Figura 1 – Fluxograma do trabalho

## 3. Resultados e Discussões

Por meio da análise dos dados obtidos da atividade enzimática (Tabela 1), utilizando o software Statistica, foi possível avaliar o comportamento de cada variável de entrada no aumento da atividade enzimática. Isso pode ser observado através das superfícies de contorno (Figura 2), nas quais se constata a maior produção de lacase em valores de pH próximos a 6, tempos de cerca de 10 dias e temperaturas em torno de 30°C. Também foi possível determinar a condição ideal para o crescimento do fungo e aumento da produção de lacase por meio da função de desejabilidade (pH = 6,67, tempo = 10 dias e T = 29°C), conforme ilustrado na figura 3. Com base nessa otimização, foi conduzido um novo ciclo de crescimento nas condições determinadas, e o extrato enzimático enriquecido em lacase proveniente desse processo foi utilizado para a próxima etapa de elaboração dos biossensores.

Tabela 1 – Dados de atividade enzimática obtidos em função da condição de fermentação

pH	Tempo (dia)	Temperatura (°C)	Atividade específica (U/mg.min)
8	5	35	0.000
6	15.7	29	0.019
4	5	35	0.000
6	9	39.1	0.000
6	9	18.9	0.002
8	13	35	0.000
4	13	35	0.000
6	9	29	0.044
6	9	29	0.041
8	13	23	0.034
4	5	23	0.000
4	13	23	0.017
9.36	9	29	0.030
8	5	23	0.000
6	2.3	29	0.000
2.64	9	29	0.000

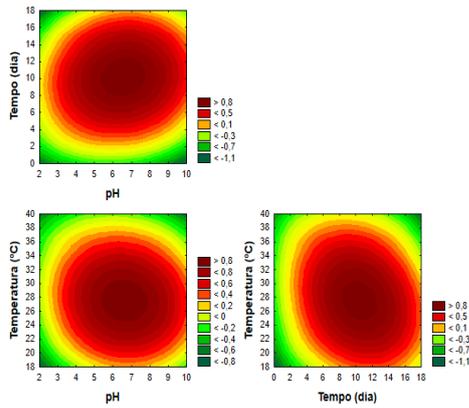


Figura 2 – Superfícies de contorno obtidas

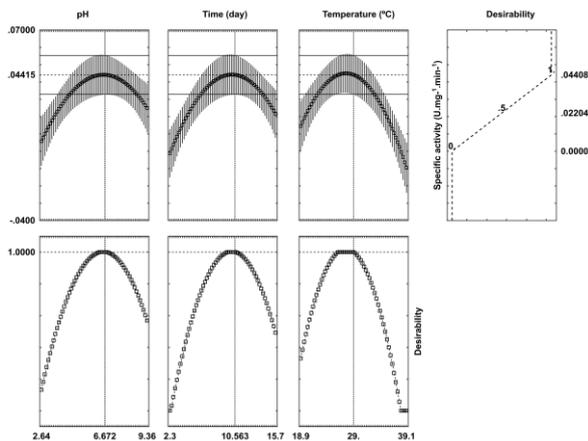


Figura 3 - Determinação da condição ideal de crescimento

Após a otimização da produção de lacase, durante a etapa de elaboração do biossensor, realizaram-se modificações na temperatura e no pH da análise por meio de voltametria cíclica (Figura 4). Foi realizada a análise da corrente anódica com o objetivo de determinar a condição que possibilitasse a quantificação da dopamina em concentrações baixas, permitindo assim otimizar as condições de análise.

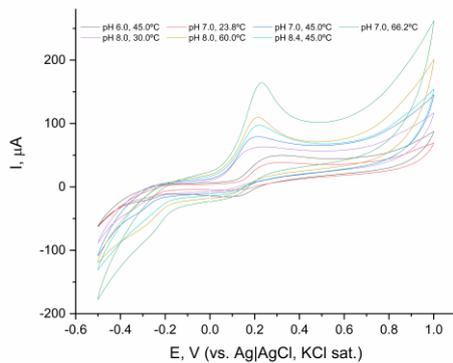


Figura 4 – Voltamogramas obtidos durante a otimização da análise de dopamina.

Através da análise dos dados utilizando o software Statistica, foi possível avaliar como cada uma das variáveis (temperatura e pH) influencia no aumento da corrente anódica, como evidenciado na Figura 5. Além

disso, foram determinadas as condições ideais de operação do biossensor, garantindo sua máxima eficácia a um pH de 7,3 e temperatura de 44,3°C, conforme apresentado na Figura 6. Essa condição possibilitou a quantificação de dopamina em uma concentração de 0,42 mmol/L com precisão, o que possibilitará o desenvolvimento de um dispositivo futuro para a quantificação de dopamina em fluidos corporais.

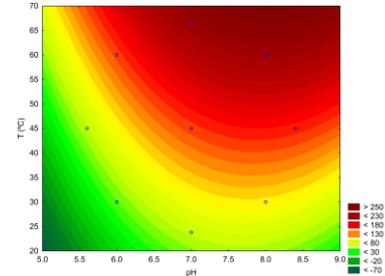


Figura 5 – Superfície de contorno obtida durante a análise da atuação do biossensor.

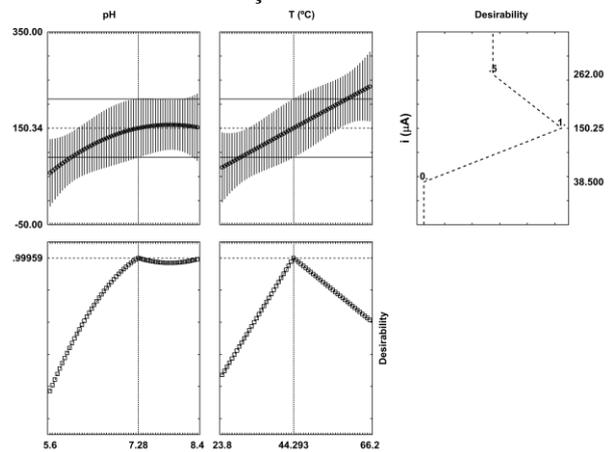


Figura 6 - Determinação da condição ideal de operação do biossensor.

#### 4. Conclusões

Durante o desenvolvimento deste trabalho foi possível produzir um biossensor enzimático, com lacase pré-purificada, diminuindo os custos de produção, que seja capaz de quantificar a presença de dopamina em baixas concentrações, contribuindo para a melhoria dos diagnósticos de doenças. O planejamento permitiu avaliar as condições de crescimento e também estudar o comportamento da reação enzimática de oxidação da dopamina levando em consideração as mudanças de pH e temperatura.

#### 5. Referências

- [1] N. A. Daronch et al. *Chemical Engineering Journal*, **397** (2020) 125506.
- [2] M. Zhang et al. *Talanta*, **224** (2021) 121840.

#### Agradecimentos

Ao Centro Universitário FEI pelo suporte para a realização do projeto e à FAPESP pela bolsa concedida.

<sup>1</sup> Aluno de IC do Centro Universitário FEI (FAPESP). Projeto 022/09183-0 com vigência de 09/2022 a 08/2023.