

QUANTIFICAÇÃO DE L-DOPAMINA EM BIOSSENSOR DE LACASE IMOBILIZADA EM CARBONO VÍTREO

Ana Carolina Silva Barbeta¹, Andreia de Araújo Morandim-Giannetti²
^{1,2}Departamento de Engenharia Química, Centro Universitário FEI
 acsbarbeta@hotmail.com; preamorandim@fei.edu.br

Resumo: Neste trabalho foi produzido um biossensor enzimático contendo lacase immobilizada em eletrodo de carbono vítreo para quantificação de L-dopamina. Para isso, inicialmente foi realizado o processo de imobilização da lacase no eletrodo de carbono vítreo e, na sequência, o recobrimento com solução de quitosana 2%. Testes potenciométricos foram realizados e mostraram a eficácia do mesmo na quantificação de soluções desconhecidas de L-dopamina, o que comprova a eficiência da metodologia aplicada.

1. Introdução

A aplicação de enzimas em diversos processos industriais tem crescido significativamente, bem como a utilização e desenvolvimento de sistemas eletroquímico e, especificamente, de biossensores (dispositivo capaz de converter reações químicas em um sinal mensurável para quantificação) visando a aplicação em quantificações químicas nos mais diversos setores. Neste contexto, pesquisas têm sido realizadas para o desenvolvimento de biossensores enzimáticos para aplicação em diversos processos como, por exemplo, na quantificação de fenólicos como a L-dopamina em fluidos corporais.

Dessa forma, justifica-se o desenvolvimento do presente trabalho, que teve como objetivo a utilização da enzima lacase proveniente do fungo *Trametes versicolor* na produção de biossensores para a identificação e quantificação de L-dopamina em um meio sintético preparado em laboratório visando a utilização futura em quantificações de L-dopamina em fluidos corporais para acompanhamento de diversos problemas de saúde, como o desenvolvimento da doença de Parkinson, da demência, da esquizofrenia, da depressão, do Alzheimer entre outras, devido a modificações em sua concentração no organismo humano [1,2].

Para isso, são realizados ensaios por voltametria cíclica com o auxílio de um Potenciostato/Galvanostato do tipo AUTOLAB PGSTAT12 (Figura 1).



Figura 1 – Exemplicação do sistema utilizado para a realização dos testes potenciométricos

2. Metodologia

Inicialmente foi realizada a imobilização por adsorção da enzima lacase (Figura 2), com atividade enzimática de 41 U/mL, (solução 2,5 mg/mL de tampão acetato com pH 4,6) no eletrodo de carbono vítreo de acordo com o método Drop Casting e, na sequência, o recobrimento com solução de quitosana 2% utilizando o mesmo método. Após essa etapa, testes potenciométricos por voltametria cíclica foram realizados para avaliação da eficiência do biossensor produzido.

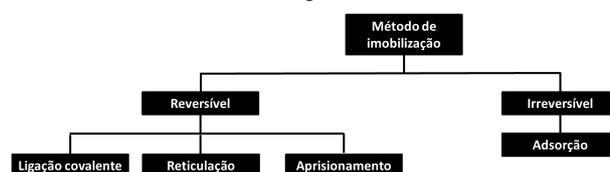


Figura 2 – Comparação da reversibilidade de métodos de imobilização

Para isso, foram feitas diversas soluções com concentrações diferentes de L-dopamina, em meio de tampão PBS, para assim obter uma curva de calibração pela quantificação de soluções de L-dopamina com diferentes concentrações. Posteriormente foi realizada a quantificação de uma solução com concentração desconhecida de L-dopamina, com o intuito de verificar a eficiência do biossensor produzido na quantificação desse composto (Figura 3).

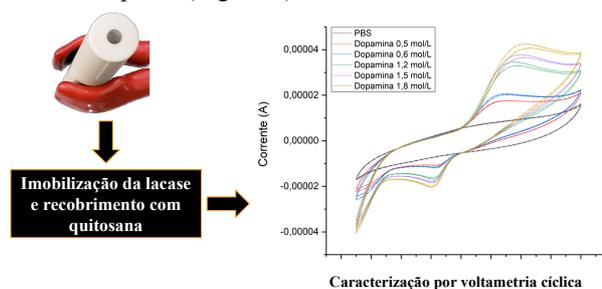


Figura 3 – Esquema da metodologia empregada no trabalho para produção e aplicação do biossensor

Ensaio por voltametria cíclica foram realizados seguindo a metodologia modificada de ZHANG [3].

3. Resultados e Discussões

Para a obtenção da curva de calibração que será utilizada para futura comparação das quantificações realizadas pelo método potenciométrico com o método cromatográfico, ainda a ser realizado, soluções de L-dopamina com diferentes concentrações foram analisadas. Posteriormente, foram feitas análises via HPLC de soluções com diferentes concentrações da solução de L-dopamina com o intuito de adquirir uma

curva de calibração (Figura 4). Após essa etapa, foi possível a construção do gráfico referente a curva de calibração da *L*-dopamina via ensaios cromatográficos para concentrações de 0,5 mol/L a 2,0 mol/L (Figura 5).

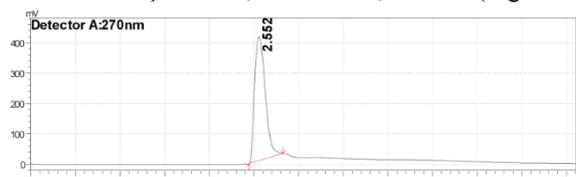


Figura 4 – Cromatograma ilustrativo obtido para uma solução de *L*-dopamina

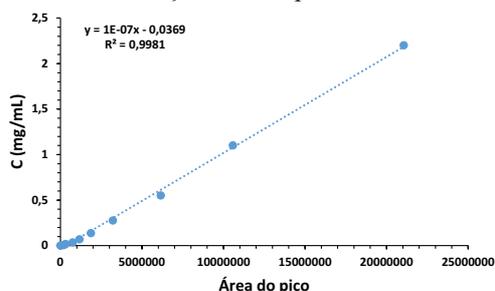


Figura 5 – Curva de calibração obtida via HPLC

Em seguida obteve-se uma curva de calibração através da realização de ensaios por voltametria cíclica de *L*-dopamina, por meio da área do pico, utilizando diferentes concentrações da substância em estudo (Figura 6), verificando-se um bom ajuste da curva de calibração ($R^2 = 0,99567$).

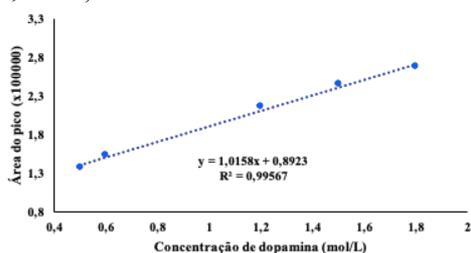


Figura 6 – Curva de calibração obtida via ensaios por voltametria cíclica

Após a construção da curva, necessária para a realização da comparação dos métodos e confirmação da efetividade do processo adotado, foi realizada a determinação da concentração de uma solução desconhecida de *L*-dopamina (Figura 7), sendo determinada a mesma, com o auxílio da curva de calibração obtida via ensaios por voltametria cíclica, como 0,77 mol/L.

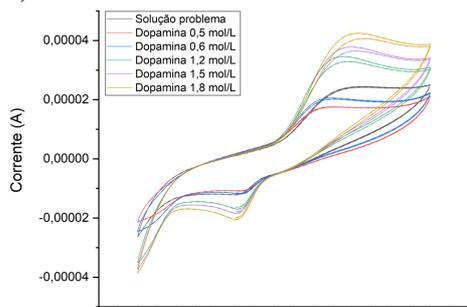


Figura 7 – Ensaios por voltametria cíclica para quantificação da solução problema de *L*-dopamina

Durante o processo, a enzima lacase catalisa reações de transferência de elétrons promovendo a oxidação da *L*-dopamina (Figura 8), sendo esse processo identificado através da representação na figura 8.

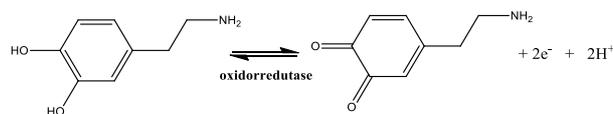


Figura 8 – Representação da oxidação da *L*-dopamina por oxidoreductase

Os resultados iniciais obtidos mostram que a metodologia aplicada para a produção do biossensor se mostrou eficiente sendo possível a obtenção de um bom ajuste da curva e, também, possibilitou a quantificação de uma solução desconhecida. Testes com a siringaldazina mostraram a eficiência da imobilização da lacase no eletrodo de carbono vítreo. Vale ressaltar que a concentração normal de *L*-dopamina no sangue varia em torno de 0,01 $\mu\text{mol/L}$ a 1 $\mu\text{mol/L}$, porém como o equipamento utilizado não possui essa precisão, os ensaios foram realizados na faixa de 0,5 mol/L a 2,0 mol/L, para que fosse possível a identificação do funcionamento do biossensor [4]. Posteriormente, na etapa final do presente trabalho, os dados obtidos serão comparados com os dados de quantificação via HPLC para confirmação da eficiência da metodologia aplicada. Trabalhos futuros serão realizados visando o ajuste da metodologia buscando a redução da concentração mínima determinada via voltametria.

4. Conclusões

Durante o desenvolvimento do presente trabalho foi possível realizar a quantificação de uma solução com concentração desconhecida de *L*-dopamina via voltametria cíclica. Ensaios futuros serão realizados para validação dos resultados através da comparação dos resultados via ensaios posteriores em HPLC bem como a produção de um fluido corporal sintético para avaliação da aplicação do biossensor na área médica.

5. Referências

- [1] RUBIO-GOVEA, R. et al. *Microchemical Journal*, **155** (2020) 104792.
- [2] DECARLI, N.O. et al. Repositório Institucional da UFSC, 2015.
- [3] ZHANG, Zhen et al. *Analytica chimica acta*. **1009** (2018) 65-72.
- [4] DA SILVA, Robson P. et al. *Analytica chimica acta*, **612** (2008) 89-98.

Agradecimentos

Ao Centro Universitário FEI pelo incentivo ao desenvolvimento do trabalho e suporte necessário.

¹ Aluno de IC do Centro Universitário FEI. Projeto com vigência de 08/21 a 07/22.