

Sensores Eletroquímicos a Base de LIG Modificado para Detecção de Epinefrina e Norepinefrina

BÁRBARA C. B. SAMPAIO¹; LUCAS M. GONÇALVES²; BRUNO V. LOPES³;
GUILHERME K. MARON⁴; IAN R. PORTO⁵; NEFTALÍ L. V. CARRENO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – carolbilhalva0022@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas– lucasmingon@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas– lopesbruno13@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas– g_maron@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas– ianrporto@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – neftali@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A epinefrina e a norepinefrina são hormônios neurotransmissores no sistema nervoso central e periférico, responsáveis pela reação do corpo humano (STANDAERT, 2008). Essa reação prepara o corpo para reagir de forma rápida a situações de perigo ou estresse físico e mental, ajustando várias funções corporais como frequência cardíaca, pressão arterial e fluxo sanguíneo (HOLMES, 2020). Ambas as substâncias são catecolaminas, derivadas do aminoácido tirosina, e são produzidas principalmente nas glândulas adrenais, responsáveis por serem hormônios reguladores de humor, de respostas ao estresse e de motivação (GOLDSTEIN, 1972).

A epinefrina (EP), produzida pelo corpo através das glândulas suprarrenais, desempenha um papel regulador do rendimento físico e mental, resultando em características como elevação da frequência cardíaca, reordenação do fluxo sanguíneo, dilatação das vias aéreas e estímulos para a liberação de glicose no sangue para a produção de energia (RIZZA, 1980). Provocando uma ocorrência imediata do corpo e a habilidade de reagir rapidamente a ações de alerta, força e agilidade (LIN, 2024).

A norepinefrina (NE) é o hormônio responsável pelo controle do estado de alerta mental e regulação do cardiovascular. Suas funções principais incluem vasoconstrição, elevado da frequência cardíaca, modulação da atenção, concentração e preparação para o estresse, com foco especial no controle da pressão arterial (FROESE, 2020). Utilizado extensivamente em tratamentos de pacientes com doenças neurológicas críticas para controle da pressão e circulação sanguínea cerebral (STEINER, 2002).

Em geral, a concentração normal de epinefrina no plasma sanguíneo oscila entre 8 e 32 ng/L (0,1746 nmol/L), enquanto a de norepinefrina oscila entre 29 e 185 ng/L (1,093 nmol/L) (YUI, 1980). As avaliações tradicionais para a determinação desses hormônios são específicas ao organismo humano, apresentam um alto custo financeiro e apresentam resultados que exigem um longo período de espera (MANAVALAN, 2019). Dentre as técnicas mais comuns, destacam-se a cirurgia para implantar eletrodos no cérebro, análises em plasma sanguíneo e a cromatografia líquida do plasma sanguíneo (LI, 2022).

Uma alternativa viável para o monitoramento de EP e NE seria a aplicação de chips sensores eletroquímicos de baixo custo e capazes de realizarem análises rápidas. No entanto, a concentração de hormônios varia em cada fluido humano (DONG, 2020), por isso foi proposta a análise em diversos fluidos sintéticos, como lágrimas, suor, saliva e urina, por serem coletas menos invasivas.

Diante disso, foi desenvolvido um chip sensor eletroquímico não-enzimático de baixo custo, capaz de realizar análises rápidas para detecção dos analitos EP e NE em ambiente controlado, e futuramente em fluidos sintéticos. Produzido com grafeno por indução a Laser de CO₂, e utilizando técnicas de voltametria cíclica para obtenção de resposta do sensor.

2. METODOLOGIA

No processo de obtenção dos sensores foram desenvolvidos chips com 3 eletrodos, sendo eles, eletrodo de referência, eletrodo de trabalho e contra-eletrodo. O formato dos eletrodos foi definido utilizando o software Inkscape para trabalhar com imagens vetoriais. Para a obtenção dos eletrodos do chip foi utilizado uma dupla camada de filme polimérico de poliimida (comercialmente fita Kapton®), colada em uma placa de polietileno (PE), que é submetida a gravação direta a laser (GDL) (LIN, 2014) de uma máquina de gravação a laser de CO₂ da marca Visutec cujo, modelo é o Router VS3020P, a máquina queima a fita com elevadas temperaturas (>2500 °C.) a velocidade de 100 mm·s⁻¹ e potência de 9% da capacidade da laser de 40 W (utilizado 3,6 W). A fita é queimada, dando forma a todo sensor.

Como tinta estabilizante para o eletrodo auxiliar, foi utilizada uma tinta de prata/cloreto de prata. Para garantir boa interação elétrica entre os eletrodos e o potenciostato, foi aplicada uma tinta de prata supercondutora nos três eletrodos. Em seguida, foi utilizada cola-quente para criar uma circunferência onde seriam depositados os eletrólitos para análise dos sensores eletroquímicos.

Para solução branco das amostras dos sensores foi utilizado 500 mL de solução tampão fosfato (PBS) 0,1 M, utilizando Fosfato de Sódio MonoB. P.A. – ACS (NaH₂PO₄·H₂O) 0,1 M, Fosfato de Sódio BIB. Anidro (Na₂HPO₄) 0,1 M, os reagentes foram unidos e diluídos em água, posteriormente deixados em ultrassom por 10 minutos. Para a preparação das soluções dos analitos foram produzidas soluções de 10 mL de epinefrina e norepinefrina com concentração de 1 mM, os reagentes foram diluídos em PBS 0,1 M, posteriormente deixados em ultrassom por 5 minutos.

Para as análises e testes nos sensores desenvolvidos para detecção de EP e NE, foram realizadas voltametrias cíclicas onde foi possível determinar a faixa de trabalho dos sensores eletroquímicos, observar a faixa de detecção da EP e NE e as correntes geradas por essa detecção.

Nas análises de VC da epinefrina e norepinefrina foram utilizados os seguintes parâmetros: potencial de início em 0 V, faixa de potencial aplicado entre -0,6 V e 1 V com potencial final em 0 V, taxa de Varredura 0,05 V/s, passo potencial de -0,005 V após a aplicação da solução foram aguardados 200 segundos para inicialização da análise.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com todas as análises em diversos sensores fabricados foi possível observar o desempenho de cada sensor nos respectivos picos oxidativos da epinefrina (-0,2 V, 0,2 V) e da norepinefrina (-0,4 V, 0,0 V, 0,6 V) e determinar qual possui o melhor rendimento para a detecção de epinefrina e norepinefrina.

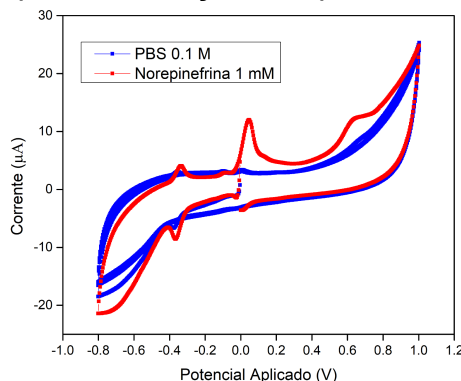


Figura 1. Voltametria Cíclica de sensor de LIG para detecção de 1 mM de norepinefrina.

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram estudados sensores eletroquímicos para detecção de epinefrina e norepinefrina pela técnica de grafeno induzido por laser, que se destacam em relação às técnicas de detecção comerciais e convencionais, pois sua preparação é rápida, fácil e com reduzido custo de obtenção, permitindo a fabricação em larga escala. Foi concluído a partir deste trabalho que o LIG é um bom sensor para detecção de epinefrina e norepinefrina em sensores eletroquímicos não enzimáticos, apresentando um excelente desempenho de detecção de EP e NE.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

STANDAERT, David G.; GALANTER, Joshua M. **Farmacologia da Neurotransmissão Dopaminérgica**. 4^a edição. Ano 2008. Cap.12. Pg 166 a 185.

HOLMES, A, **Damage control: carotid body activation and remodelling inresponse to aseptic tissue injury**, Experimental Physiology, n.105, p.1429-1672.

GOLDSTEIN, M., **Enzymes Involved in the Catalysis of Catecholamine Biosynthesis**, Research Methods in Neurochemistry, pg. 317-340, 1972.

RIZZA, R., et al., **Adrenergic Mechanisms for the Effects of Epinephrine on Glucose Production and Clearance in Man**, The Journal of clinical Investigation, n. 65, pg. 682-689, 1980.

LIN, T., et al., **Effects of resistance exercises on inhibitory control and plasma epinephrine levels: A registered report of a cross over randomized controlled trial**, Psychophysiology, pg. 1-24, 2024.

FROESE, L., et al., **The cerebrovascular response to norepinephrine: A scoping systematic review of the animal and human literature**, British Pharmacological Society, pg. 1-49, 2020.

STEINER, L., et al., **Continuous monitoring of cerebrovascular pressure reactivity allows determination of optimal cerebral perfusion pressure in patients with traumatic brain injury**, Critical Care Medicine, n. 30, pg. 733-738, 2002.

YUI, Y., et al., **Liquid-Chromatographic Determination of Norepinephrine and Epinephrine in Human Plasma**, Clinical Chemistry, n. 26, pg. 194, 1980.

MANAVALAN, S., et al., **Sonochemical synthesis of bismuth (III) oxide decorated reduced graphene oxide nanocomposite for detection of hormone (epinephrine) in human and rat serum**, Ultrasonics – Sonochemistry, n.51, pg. 103-110, 2019.

LI, Z. Kannan, K., **Determination of 19 Steroid Hormones in Human Serum and Urine Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry**, Toxics, n. 10, pg. 1-15, 2022.

DONG, Y., et al., **3D hierarchical hollow microrod via in-situ growth 2D SnS nanoplates on MOF derived Co, N co-doped carbon rod for electrochemical sensing**, Sensors and Actuators B: Chemical, n. 303, pg. 1-10, 2020.

LIN, J. et al. **Laser-induced porous graphene films from commercial polymers**, Nature Communications, [S.I.], v. 5, p. 1-8, 2014.