

Desenvolvimento de um biossensor eletroquímico do tipo *wearable* para monitoramento não invasivo de estrogênio

Palavras-Chave: Biossensores eletroquímicos, hormônios, imunossensor.

Autores(as):

Ana Beatriz Januário Bitencourt, IQ – UNICAMP

Prof^(a). Dr^(a). William Reis de Araujo (orientador), IQ - UNICAMP

1. INTRODUÇÃO

Os hormônios são substâncias produzidas pelo nosso organismo ou de forma sintética capazes de desempenhar funções que auxiliam no funcionamento e na manutenção do metabolismo. Em especial, têm-se o estrogênio, uma classe de hormônios que engloba outros três hormônios endógenos estruturalmente semelhantes, sendo eles: estrona (E1), 17β -estradiol (E2) e estriol (E3), sendo o E2 o de maior predominância no organismo^{2,3}. O estrogênio ainda auxilia no ciclo menstrual, no período fértil, no funcionamento do coração e na manutenção de diversas outras funções, relacionados a regulação da taxa metabólica basal. O estradiol, por sua vez, é secretado no período pré-menopausa pelos ovários, auxiliando nos ciclos menstruais e fertilidade feminina⁵.

Cabe ainda salientar que em concentrações não adequadas o estrogênio pode acarretar problemas para o organismo. Em altas concentrações o risco do desenvolvimento de nódulos é aumentado, bem como o risco de câncer de mama, enquanto sua deficiência acarreta ciclos menstruais irregulares e a síndrome do ovário policístico, síndrome que se relaciona ao surgimento demasiado de cistos nos ovários, podendo acarretar infertilidade, crescimento anormal de pelos, risco aumentado de diabetes, dentre outros sintomas⁶.

O presente trabalho tem como objetivo desenvolver um biossensor capaz de determinar o estradiol, hormônio que apresenta maior predominância dentre a classe de hormônios estrogênio e por sua relevância em aspectos reprodutivos e demais vertentes, como ciclo menstrual, e aspectos físicos que podem causar incomodo ao sexo feminino, como crescimento anormal de pelos, maior tendência a desenvolver obesidade e diabetes, uma vez que tal hormônio se relaciona ao metabolismo da insulina, podendo acarretar em maior resistência à insulina o que aumenta a propensão ao diabetes⁶.

2. Objetivos

Fabricação de um biossensor eletroquímico utilizando a carbonização superficial induzida por laser de UV sobre substrato polimérico e acoplá-lo a um protetor bucal para análise dos níveis de estrogênio salivar de forma *wearable*.

3. MATERIAS E MÉTODOS

3.1. Fabricação dos eletrodos

Os eletrodos foram fabricados com um sistema de 3 eletrodos utilizando a carbonização superficial induzida por laser de CO₂ e UV em substratos de papel cromatográfico Whatman, solução de 0,1 molL⁻¹ de tetraborato de sódio e cera. Ensaios de otimização dos parâmetros (potência do laser e velocidade de gravação) foram realizados e a condição que apresentou menor resistência elétrica e melhor reprodutibilidade foi em porcentagem: 40% de potência e 50% de velocidade.

3.2. Estudos eletroquímicos

Foram realizados estudos voltamétricos utilizando a técnica de voltametria cíclica com a sonda redox ferri/ferrocianeto de potássio 5,0 mM em KCl 0,1 M na faixa de potencial de 0 a 0,8 V em diferentes velocidades de varredura (5 a 150 mV/s). Avaliou-se dois tipos de tratamentos eletroquímicos, um anódico por meio da aplicação de potencial de 2,0 V por 120 s em meio de NaOH 0,1 M e outro catódico, por meio da aplicação de potencial de -2,0 V por 120 s em meio de H₂SO₄ 0,1 M. Realizou-se estudo de impedância eletroquímica utilizando a faixa de frequência de 10⁵ a 0,1 Hz e amplitude de 10 mV com a mesma solução redox dos estudos voltamétricos.

Na sequência, realizou-se o estudo com o estradiol 1,0 mM em meio de tampão fosfato 0,1 M pH 7,0 utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial. Avaliou-se o efeito do pH na resposta do estradiol utilizando a mesma técnica na faixa de pH 5,0 a 8,0, que corresponde ao intervalo mais comum da saliva humana.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As condições para a construção do sensor foram otimizadas, dentre elas, destaca-se: o material para a construção do eletrodo, a solução retardante de chama, o produto hifrofobizador (verniz, cera e PBAT) e suas condições para melhor reprodutibilidade na fabricação do sensor. Avaliou-se ainda a velocidade e potência da laser, para otimizar as condições de manufatura.

Para se analisar o melhor material para a construção do sensor, foram testados: celulose bacteriana, papel cromatográfico Whatman, papel algodão e cera. Já para as soluções antichama foram testadas: diferentes soluções salinas 0,1 mol/L de hidróxido de magnésio, sulfato de amônio monobásico, fosfato de amônio e tetraborato de sódio, onde a de tetraborato de sódio apresentou resultados mais satisfatórios. Para cada material foram testadas cada uma das soluções em um espaço de observação na laser de UV que variava em parâmetros de velocidade (mm/s) e potência (%). As melhores condições foram 40% de potência e 50 mm/s em papel cromatográfico Whatman tratado com solução de tetraborato de sódio e impresso com cera amarela.

Em seguida, com o sensor já otimizado, os eletrodos produzidos foram avaliados voltametricamente utilizando uma solução de ferri/ferrocianeto 5mM, Figura 1.

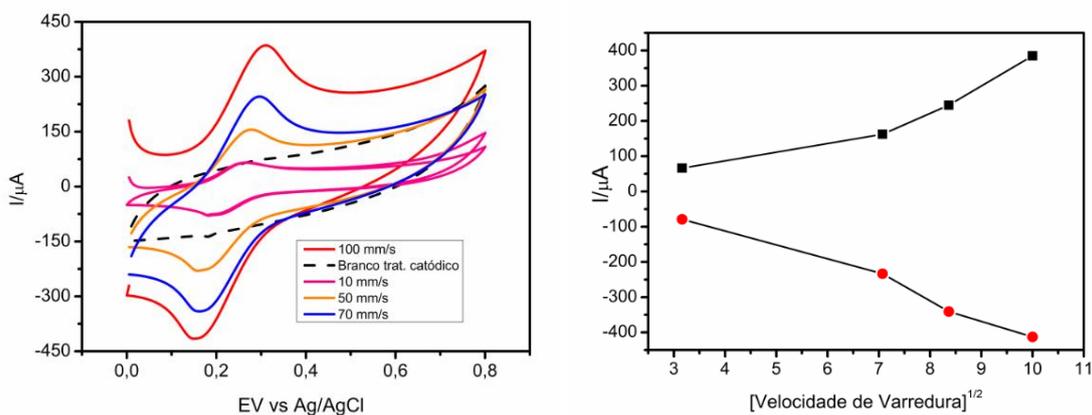


Figura 1: Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de ferri/ferrocianeto de potássio 5mM em KCl 0,1 M para diferentes velocidades de varredura (5 a 150 mV/s). Gráfico de corrente de pico em função da velocidade de varredura.

Observa-se um perfil quase-reversível e controlado por difusão, uma vez que apresentou boa linearidade da corrente pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura. Na sequência, avaliou-se o efeito dos tratamentos eletroquímicos na resposta voltamétrica e por meio da técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica, Figura 2.

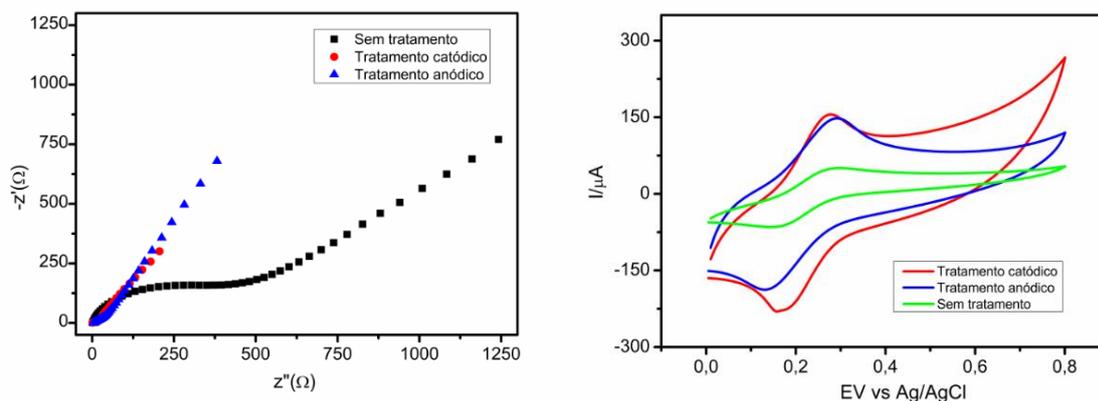


Figura 2: Espectros de impedância eletroquímica (Nyquist) comparando os eletrodos sem tratamento e com tratamento catódico e anódico. Voltamogramas cíclicos obtidos para as 3 condições de eletrodos. Parâmetros: faixa de frequência de 105 a 0,1 Hz, amplitude de 10 mV. Solução de ferri/ferrocianeto 5mM em KCl 0,1 M.

Nota-se uma melhor transferência eletrônica para os eletrodos tratados, uma vez que possibilitou uma menor resistência à transferência de carga nos gráficos de Nyquist e maiores valores de corrente e definição de picos, principalmente para o eletrodo tratado catodicamente. Assim, esta condição foi escolhida para os demais estudos. Comparou-se a performance dos eletrodos para a detecção do estradiol, Figura 3. Nota-se que o tratamento catódico foi o que proporcionou o maior pico e com melhor resolução. Assim, nesta condição, estudou-se o efeito do pH na resposta voltamétrica do hormônio. Observa-se uma facilitação do processo redox com o aumento da alcalinidade, uma vez que os potenciais de pico foram se deslocando para valores menos positivos, confirmando a próton-dependência na transferência eletrônica. A melhor condição analítica foi $\text{pH}=8,0$ e assim, esta condição será escolhida para a construção das curvas de calibrações e obtenção dos parâmetros analíticos.

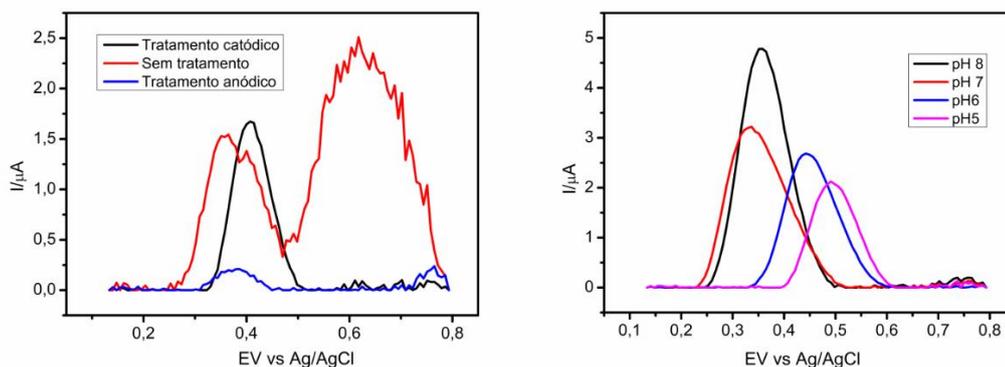


Figura 3: Voltamogramas de pulso diferencial para a oxidação do estradiol no eletrodo sem tratamento e com tratamentos eletroquímicos. Estudo de pH na faixa de 5,0 a 8,0 utilizando a técnica de DPV para solução de 1,0 mM de estradiol.

Entretanto, o presente projeto encontrou algumas adversidades que atrasaram seu desenvolvimento, como o atraso no recebimento do anticorpo necessário para a etapa de modificação do sensor e assim torná-lo um biossensor. Mediante tal adversidade, o trabalho seguirá como um sensor de estradiol e estudo de seus possíveis interferentes, e assim, com a chegada do anticorpo os objetivos iniciais do projeto retornarão e o biossensor será fabricado.

5. CONCLUSÃO

O sensor descartável e de baixo custo desenvolvido apresenta bom desempenho eletroquímico. Averiguou-se que o tratamento catódico do eletrodo é mais adequado por apresentar maior detectabilidade e melhor cinética de transferência eletrônica. O estudo do pH para o estradiol revelou que o pH 8 apresenta maior detectabilidade e baixo valor de potencial para sua detecção. Assim, esta condição será utilizada nas próximas etapas do projeto.

As perspectivas do presente trabalho estão relacionadas a construção do sensor de estradiol e posterior modificação do sensor para que o mesmo seja capaz de determinar estradiol e auxiliar em diagnósticos para a manutenção da saúde feminina.

Apesar do atraso no desenvolvimento da pesquisa, sua perspectiva no futuro é positiva e com grandes chances de apresentar resultados satisfatórios, tanto relacionados aos avanços clínicos quanto aos próprios avanços e conhecimentos adquiridos pela aluna. Já o biossensor por sua vez, apresenta vantagens relacionadas aos materiais de baixo custo, fácil manuseio e menor impacto ambiental.

REFERÊNCIAS

1. B. Zhu, L. Yu, S. Beikzadeh, S. Zhang, P. Zhang, L. Wang and J. Travas-Sejdic, *Electrochim. Acta*, DOI:10.1016/j.electacta.2021.138132.
2. D. L. Ignacio, T. G. P. Frankenfeld, R. S. Fortunato, M. Vaisman, J. P. S. Werneck-de-Castro and D. P. Carvalho, *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*, 2009, **53**, 310–317.
3. X. Lu, J. Sun and X. Sun, *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2020, **127**, 115882.
4. W. R. de Araujo, C. M. R. Frasson, W. A. Ameku, J. R. Silva, L. Angnes and T. R. L. C. Paixão,

- Angew. Chemie*, 2017, **129**, 15309–15313.
5. S. Patel, A. Homaei, A. B. Raju and B. R. Meher, *Biomed. Pharmacother.*, 2018, **102**, 403–411.
 6. X.-L. Xu, S.-L. Deng, Z.-X. Lian and K. Yu, *Cells*, 2021, **10**, 459.