



Classificador de Cisteína e NAC utilizando sensor colorimétrico com nanopartículas de Vanádio aplicando técnica de PCA

Cystein and NAC classifier using a colorimetric sensor with Vanadium nanoparticles applying PCA technique

Marcos Vinicius Mazepa Fridriscvski¹, Rafael Eleodoro de Góes²

RESUMO

Este trabalho tem como finalidade apresentar um modelo de classificação entre Cisteína e N-acetilcisteína (NAC) a partir de dados retirados de um sensor colorimétrico desenvolvido com nanopartículas de óxido de vanádio sintetizadas em laboratório por meio de técnica de Ablação a Laser. Esta técnica utiliza um Laser com alta energia de pulso para irradiar sobre um material e desprender estruturas nanométricas de tal. As nanopartículas (NPs) apresentam propriedades físicas, químicas e biológicas únicas e distintas em comparação com suas contrapartes em escala macroscópica. Neste trabalho ainda é apresentada uma aplicação dessas estruturas utilizando-a para o desenvolvimento de um sensor colorimétrico responsável por identificar Cisteína e NAC. Estes compostos apresentam grande importância para a saúde celular e a compreensão desses compostos pode abrir caminho para novas abordagens terapêuticas e para a promoção de uma saúde celular mais eficaz. Por fim para a correta classificação destes compostos foi desenvolvido um modelo de classificação utilizando Python e a biblioteca do Scikitlearn aplicando uma técnica de Redução de dimensionalidade PCA, conseguindo extrair informações valiosas do sensor colorimétrico e conseguindo uma alta acurácia na classificação.

PALAVRAS-CHAVE: Cisteína; Classificador; Laser; NAC; Nanopartículas; PCA; Vanádio.

ABSTRACT

This work aims to present a classification model for Cysteine and N-acetylcysteine (NAC) using data obtained from a colorimetric sensor developed in laboratory, developed with synthesized Vanadium oxide nanoparticles through Laser Ablation technique. This technique employs a high-energy pulse laser to irradiate a material and detach nanoscale structures from it. These nanoparticles (NPs) exhibit unique and distinct physical, chemical, and biological properties compared to their macroscopic counterparts. This work also demonstrates an application of these structures by using them to develop a colorimetric sensor capable of identifying Cysteine and NAC. These compounds hold significant importance for cellular health, and understanding them can pave the way for new therapeutic approaches and the promotion of more effective cellular health. Finally, for the accurate classification of these compounds, a classification model was developed using Python and the Scikit-learn library, applying a Principal Component Analysis (PCA) a dimensionality reduction technique. As result we found success extracting valuable information from the colorimetric sensor and achieving high classification accuracy.

KEYWORDS: Cystein; Classifier; Laser; NAC; Nanoparticles; Principal Componet Analysis; Vanadium

INTRODUÇÃO

O principal assunto de estudo deste trabalho é a síntese de nanopartículas (NPs) de óxido de vanádio para a construção de um sensor colorimétrico para detecção de cisteína e N-acetilcisteína (NAC).

A Cisteína é um aminoácido não essencial e desempenha um papel importante na formação de proteínas e enzimas, bem como na regulação do metabolismo celular.

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: fridriscvski@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 352969398866190

² DAELN/PPGFA. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: rgoes@utfpr.edu.br. ID Lattes: 7738279782371416



Por outro lado, a N-acetilcisteína (NAC) é um derivado da cisteína amplamente utilizada na medicina como um mucolítico, o que significa que ela ajuda a reduzir a viscosidade do muco nas vias respiratórias[1].

As NPs são partículas sólidas que possuem dimensões extremamente reduzidas, situando-se em escalas nanométricas. Esta dimensionalidade reduzida confere às nanopartículas propriedades físicas, químicas e biológicas únicas e distintas em comparação com suas contrapartes em escala macroscópica.

As nanopartículas podem ser sintetizadas em laboratório através de inúmeros métodos, como ablação a laser, síntese química e deposição física de vapor. Tais processos permitem controlar o tamanho, forma e composição das nanopartículas produzidas, o que é crucial para ajustar suas propriedades e adequá-las a aplicações específicas. Essas NPs podem ser feitas de diversos materiais, como ouro, prata ou algum óxido de metal.

A interação entre as nanopartículas e uma substância-alvo causa uma mudança nas propriedades ópticas das nanopartículas, especificamente na cor que eles emitem ou refletem. Isso ocorre devido ao fenômeno conhecido como efeito plasmônico de superfície, onde as NPs têm ressonâncias óticas que são sensíveis a sua forma, tamanho e ambiente.

Uma técnica utilizada para estudar a interação da luz com a matéria é a espectroscopia. Ela fornece informações valiosas sobre as propriedades eletrônicas, vibracionais, estrutura molecular e transições eletrônicas que ocorrem durante a absorção e emissão de luz por estruturas químicas. Essa técnica é baseada na absorção e espalhamento dos fótons na interação com os átomos ou moléculas do material, desta maneira podemos calcular a ressonância plasmônica resultante das NPs[2].

Por fim para auxiliar na correta classificação das substâncias-alvo foi desenvolvido um modelo de classificação, utilizando os dados extraídos do experimento de espectroscopia.

METODOLOGIA

Para a detecção das substâncias alvo foi escolhido desenvolver o sensor colorimétrico utilizando o material de Óxido de Vanádio (V_2O_5), tal é um composto químico que consiste em vanádio no estado de oxidação. Para a síntese das nanopartículas de vanádio foi utilizada a técnica de ablação a laser. Este é um método amplamente estudado, discutido e utilizado para produzir colóides de NPs. Tal processo envolve a utilização de um laser de alta energia para irradiar um material alvo em um meio aquoso.

Durante a irradiação no processo de ablação, o laser é ajustado para fornecer pulsos de alta energia com parâmetros controlados, como largura de pulso, taxa de repetição e intensidade. A energia do pulso é então, direcionada para a superfície do material alvo, causando um impacto intenso. Este impacto resulta em uma transferência de energia para o material, nesse ambiente altamente energético, ocorrem processos de condensação e nucleação, levando à formação de nanopartícula[3].

Para a síntese das nanopartículas de óxido de vanádio, foi utilizado o laser do laboratório modelo Brilliant B operando com comprimento de onda de 1064 nm com uma taxa de repetição de 10 Hz e Energia de Pulso de 30 mJ.

Para a caracterização da reação entre as NPs e as substâncias-alvo foi utilizado o instrumento de espectroscopia UV-VIS da Ocean Optics USB 2000+. Esse equipamento

consegue trazer informações da ressonância plasmônica da amostra em faixas do espectro do visível até o ultravioleta próximo.

A faixa espectral medida resulta em intensidades para mais de 1800 comprimentos de ondas distintos, desta forma para conseguir extrair as informações para classificação das substâncias será utilizado a linguagem de programação em Python e da biblioteca Scikit-learn para a construção de um algoritmo de análise de componente principal (PCA).

A Análise de Componentes Principais é uma técnica estatística utilizada para reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados multivariados, preservando ao máximo a variação presente nos dados originais. Ela permite identificar as principais tendências ou padrões nos dados, resumindo-os em um conjunto menor de variáveis chamadas componentes principais[4].

RESULTADOS E DISCUSSÕES

De início foi feita a síntese das NPs tendo a interação entre o laser e o óxido de vanádio submerso em água gerando o resultado apresentado na figura 1.

Figura 1 – Síntese de nanopartículas de Óxido de Vanádio submersa em água



Fonte: Autoria Própria

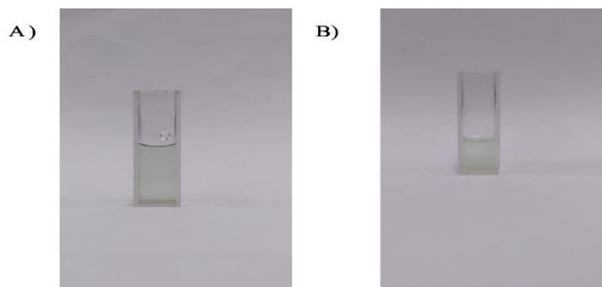
Em seguida, foi necessário preparar as amostras das substâncias-alvo. Para garantir a preparação correta dos analitos, utilizamos uma balança de precisão da empresa Marte modelo AY220 com resolução de 0,01 g, disponível no laboratório da universidade. Após as medições, as amostras foram diluídas em 50 ml de água e devidamente classificadas, as informações estão representadas no quadro 1.

Quadro 1 – Informações substâncias-alvo

Substâncias	Massa (g)	Massa Molar (g/Mol)	Concentração (g/ml)	Concentração (Mol/ml)
Cisteína	0,054	121,16	0,00108	0,0081
NAC	0,049	163,19	0,00098	0,06

Dando continuidade ao desenvolvimento do sensor colorimétrico, foi acrescentado as substâncias-alvo na amostra de NPs. É esperado uma troca na cor da reação quando as nanopartículas interagem com o alvo. Desta maneira foi acrescentado primeiro 50 μ L de cada substância alvo em amostras separadas.

Figura 2 – Amostras de NPs diluídas com substância-alvo (A) Cisteína / B) NAC)



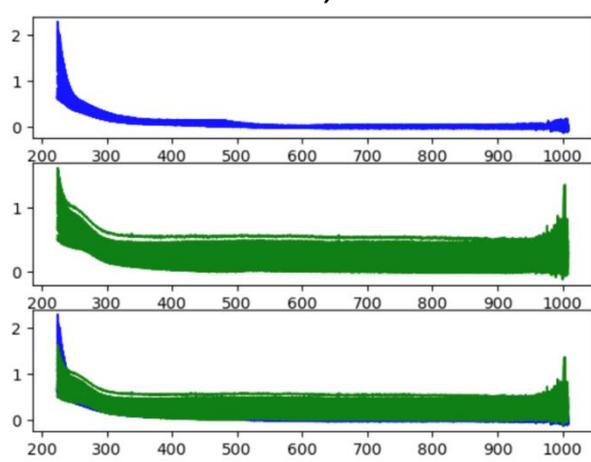
Fonte: Autoria Própria

Como esperado o sensor colorimétrico teve êxito no seu funcionamento, conseguindo demonstrar a presença das substâncias-alvo. Porém como observável não é possível fazer uma distinção clara entre a presença de Cisteína e da NAC.

Para isso foi levado as amostras para o equipamento de espectroscopia UV-VIS, fazendo várias titulações acrescentando de forma contínua as substâncias-alvo para a construção de um dataset robusto.

Após a formatação e limpeza do dataset conseguimos plotar a curva de ressonância plasmônica das amostras. A curva em Azul representa a amostra contendo NAC e a curva em verde a amostra com Cisteína.

Figura 3 – Ressonância Plasmônica das Amostras de NPs com Substâncias Alvo (Azul: NAC / Verde: Cisteína)



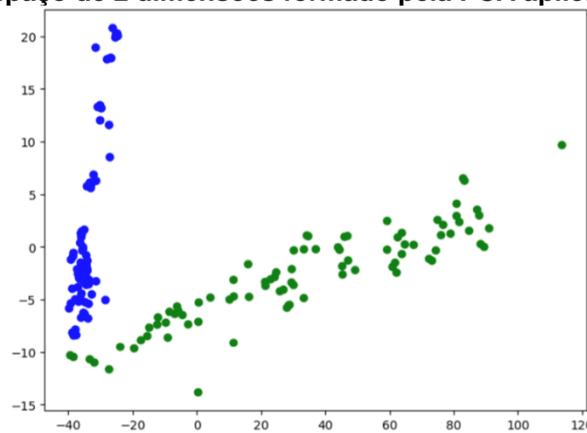
Fonte: Autoria Própria

Ao implementar o algoritmo de Análise de Componentes Principais (PCA), conseguimos reduzir o tamanho das características do conjunto de dados. Após realizar um teste de relevância dos dados, constatamos que a primeira componente principal contribui em 96% para a separação dos dados. E a segunda componente principal contribui



com pouco mais de 1%. Com base nisso, podemos representar os dados em um novo hiperespaço com apenas 2 dimensões já que as outras n componentes não representam grande importância para a classificação das amostras, reduzindo a dimensionalidade das amostras conseguimos fazer uma análise vai assertiva.

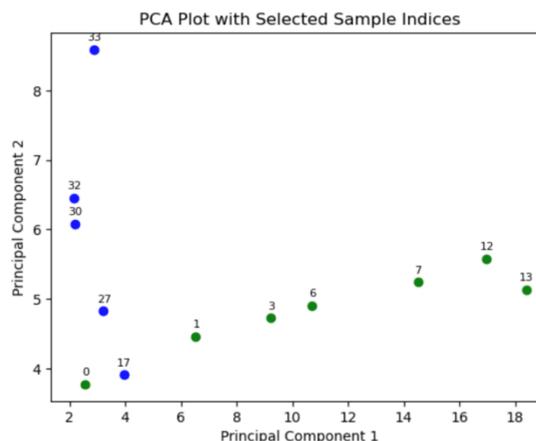
Figura 4 – Hiperespaço de 2 dimensões formado pela PCA aplicado ao Dataset



Fonte: Autoria Própria

Com esse resultado já é possível visualizar uma distinção das classes no gráfico. Por fim para conseguir validar o algoritmo foi separado algumas titulações do mesmo experimento. Assim foi criado um novo dataset de amostras. Assim esse novo conjunto de dados é aplicado a PCA previamente treinada.

Figura 5 – Dados de Validação aplicados a PCA previamente treinada



Fonte: Autoria Própria

CONCLUSÃO



Como observável na figura 5, o dataset de validação se comportou de maneira esperada conseguindo apresentar uma separação entre as classes distintas, é observável que quanto maior o índice maior a concentração das substâncias-alvo e mais fácil sua distinção entre Cisteína e NAC.

Desta maneira mesmo com a dificuldade em conseguir fazer a classificação a olho nu, o algoritmo de redução de dimensionalidade consegue trazer informações valiosas e uma correta classificação entre as classes.

Agradecimentos

Quero deixar meus agradecimentos a todos do Laboratório FOTONANOBIÓ, pela troca de experiências e uma possibilidade de trabalhar em um local com tecnologia de ponta. E um agradecimento especial para a Biotecnal, empresa parceira do laboratório que contribuiu com os equipamentos necessários para concluir este projeto.

Disponibilidade de código

<https://colab.research.google.com/drive/1rqAvo13BaSzVsfW2WVUYoNyUq9Onty4E?usp=sharing>

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

- [1] ABU EID, M. Spectrophotometric determination of cysteine and *N*-acetylcysteine in pharmaceutical preparations. *Mikrochim Acta* **129**, 91–95 (1998).
- [2] DE GOES, Rafael E. **Detecção de glifosato em água por reconhecimento de padrões em espectroscopia assistida por nanopartículas de prata fabricadas por ablação a laser**. 2018. 174p. Tese (Doutorado em Fotônica em Engenharia) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 20
- [3] Barcikowski, Stephan & Amendola, Vincenzo & Marzun, Galina & Rehbock, Christoph & Reichenberger, Sven & Zhang, Dongshi & Gökce, Bilal. (2016). Handbook of Laser Synthesis of Colloids.10.17185/dupublico/41087.
- [4] Scikit-learn: Machine Learning in Python, Pedregosa *et al.*, JMLR 12, pp. 2825-2830, 2011.