

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS
CURSO DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

HELOISE OLIVEIRA REIS

**DETECÇÃO DE TAURINA POR ELETROFORESE CAPILAR:
OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO**

CAMPINAS/SP
2021

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS
CURSO DE TECNOLOGIA PROCESSOS QUÍMICOS

HELOISE OLIVEIRA REIS

**DETECÇÃO DE TAURINA POR ELETROFORESE CAPILAR:
OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO**

Trabalho de Graduação apresentado como pré-requisito para a conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, da Faculdade de Tecnologia de Campinas, elaborado sob a orientação da Profa. Dra. Fabiana Cristina Andrade Corbi e coorientação da Profa. Dra. Ana Valéria Colnaghi Simionato Cantú.

CAMPINAS/SP
2021

FICHA CATALOGRÁFICA
CEETEPS- FATEC Campinas - Biblioteca

R375d

REIS, Heloise Oliveira.

Detecção de taurina por eletroforese capilar: detecção de método.
Heloise Oliveira Reis. Campinas, 2021.
42 p.; 30 cm.

Trabalho de Graduação do Curso de Processos Químicos – Faculdade
de Tecnologia de Campinas.

Orientador: Profa. Dra. Fabiana Cristina Andrade Corbi.

1. Eletroforese capilar. 2. Otimização. 3. Taurina. 4. Obesidade. I. Autor.
II. Faculdade de Tecnologia de Campinas. III. Título.

CDD 616.3

Catálogo-na-fonte: Bibliotecária: Aparecida Stradiotto Mendes – CRB8/6553

TG PQ 21.2

HELOISE OLIVEIRA REIS

Detecção de taurina por eletroforese capilar: otimização de método

Trabalho de Graduação apresentado como exigência parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos pelo CEETEPS/Faculdade de Tecnologia – Fatec Campinas.

Campinas, 04/12/2021.

BANCA EXAMINADORA

Fabiana Cristina Andrade Corbi
Fatec Campinas

Rosani Gardin
Fatec Campinas

Nelson Maniasso
Fatec Campinas

Eu não sou boa com palavras... Mas, mãe, pai, se isso aqui é importante devo incluir vocês aqui também.

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos vão àqueles que tornaram esse projeto possível: às professoras Fabiana e Ana Valéria, às colegas Bruna e Fabiana, à Fatec Campinas, ao Instituto de Química da Unicamp, LABi Tiselius, INCTBio e CNPq.

Saliento meus sinceros agradecimentos a todas as instituições de ensino/pesquisa/fomento. Sua existência agora é resistência, clamo pelo dia em que será puramente revolução!

Meu plano era agradecer só aos que contribuíram diretamente com esse projeto, mas vou estragar tudo: meu coração está mandando incluir aqui meus pais, minhas amigas e meus cachorros. Obrigada.

RESUMO

É fato que doenças trazem uma queda na qualidade de vida das pessoas e podem tornar-se um problema de saúde pública. Nesse contexto, a obesidade vem se fazendo cada vez mais presente no mundo, sendo que os indivíduos acometidos estão suscetíveis ao desenvolvimento de outras complicações. Em busca de alternativas para o tratamento da obesidade, há diversos estudos que demonstram a taurina (Tau) ser de grande potencial para esse fim. Dessa forma, esse projeto tenta demonstrar bibliograficamente os possíveis efeitos deste aminoácido sob o distúrbio da obesidade, além de trazer a otimização de um método para sua detecção por Eletroforese Capilar (EC). A separação entre a taurina e o padrão interno (cafeína) foi feita em um sistema de EC utilizando a técnica de eletrocromatografia capilar micelar (MECK) com detecção DAD indireta. As análises ocorreram sob 25 kV a temperatura de 25 °C em um capilar de sílica fundida de 50 µm de diâmetro interno e comprimento efetivo de 41,5 cm. Após a otimização, conclui-se que o melhor eletrólito é o de pH 11.9, SDS a 50 mmol/L e DNB a 8 mmol/L. Tau e cafeína foram injetadas a 50 mbar por 3 segundos a 5 mmol/L e 10 mmol/L respectivamente, sendo o comprimento de onda de 230 nm monitorado para a detecção da Tau e 274 nm para cafeína. O trabalho foi desenvolvido no laboratório LABi Tiselius (Instituto de Química – Unicamp) que é coordenado pela Profa. Dra. Ana Valéria Colnaghi Simionato Cantú.

Palavras-chave: eletroforese capilar, otimização, taurina, obesidade

ABSTRACT

It is well known that diseases affect people's life quality and can become a public health problem. In this context, obesity is becoming increasingly present in the world, and affected individuals are susceptible to the development of other diseases. In search of alternatives for the treatment of obesity, there are several studies that demonstrate taurine (Tau) has a great potential for this purpose. Therefore, this project tries to demonstrate bibliographically the possible effects of this amino acid on the obesity disorder, and to optimize a method for its detection by Capillary Electrophoresis (CE). The separation between taurine and the internal standard (caffeine) was performed in a CE system using the micellar capillary electrochromatography (MECK) technique with indirect DAD detection. For all the analysis was employed a voltage of 25 kV and a temperature of 25 °C in a 50 µm internal diameter fused silica capillary with effective length of 41.5 cm. After optimization, it is concluded that the best electrolyte has a pH value of 11.9, SDS at 50 mmol/L and DNB at 8 mmol/L. Tau and caffeine were injected at 50 mbar for 3 seconds at 5 mmol/L and 10 mmol/L respectively, with a wavelength of 230 nm monitored for detection of Tau and 274 nm for caffeine. This Project was developed at the LABi Tiselius laboratory (Institute of Chemistry – Unicamp) which is coordinated by Profa. Dra. Ana Valéria Colnaghi Simionato Cantú.

Palavras-chave: capillary electrophoresis, optimization, taurine, obesity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 — Estrutura geral dos aminoácidos	11
Figura 2 — Fórmula estrutural da taurina	13
Figura 3 — Síntese da taurina	14
Figura 4 — Formação do TUDCA	15
Figura 5 — Mecanismos que relacionam a taurina ao combate a obesidade	17
Figura 6 — Instrumentação do CE	21
Figura 7 — Fluxo eletrosmótico	22
Figura 8 — (A) perfil do FEO e pico sem alargamento e (B) fluxo pressurizado e um conseqüente pico acometido por alargamento.	23
Figura 9 — Velocidade das espécies	23
Figura 10 — Gráficos da otimização do pH; (A) mobilidade efetiva; (B) largura da base; (C) número de partos teóricos; (D) resolução entre taurina e cafeína e (E) largura da base do pico da taurina	30
Figura 11 — Gráficos da otimização da concentração do SDS; (A) mobilidade efetiva; (B) largura da base; (C) número de partos teóricos; (D) resolução entre taurina e cafeína e (E) largura da base do pico da taurina	32
Figura 12 — Gráficos da otimização da concentração do DNB; (A) mobilidade efetiva; (B) largura da base; (C) número de partos teóricos; (D) resolução entre taurina e cafeína e (E) largura da base do pico da taurina	34
Figura 13 – Eletroferogramas da separação entre taurina e cafeína em (I) 274 nm e (II) 230 nm	35

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação dos aminoácidos em essenciais e não essenciais.	12
Quadro 2 – Estudos que abordaram a separação de taurina por eletroforese capilar.....	19
Quadro 3 – Modalidades da eletroforese capilar	24

LISTA DE SÍMBOLOS

PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Tau	Taurina
CE/EC	Eletroforese Capilar
CDO	Cisteína Dioxigenase
CSAD	Cisteína Sulfinato Descarboxilase
BAs	Ácidos Biliares
Gly	Glicina
TUDCA	Ácido Tauroursodeoxicólico
UDCA	Ácido Ursodeoxicólico
TAG	Triacilglicerol
Tau-Cl	Taurina-Cloramina
SNC	Sistema Nervoso Central
FEO	Fluxo Eletrosmótico
CZE	Capillary Zone Electrophoresis
μ_e	Mobilidade eletroforética
w	Largura da base do pico
t	Tempo de migração
N	Número de pratos teóricos
μ_a	Mobilidade aparente
ECG	Eletroforese Capilar em Gel
ECCM /MECK	Eletrocromatografia Capilar Micelar
ECFI	Eletroforese Capilar com Focalização Isoelétrica
IC	Isotacoforese Capilar
SDS	Dodecil sulfato de sódio
DNB	3,5 – ácido nitrobenzóico
DAD	Diode Array Detector
CMC	Concentração Micelar Crítica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1	AMINOÁCIDOS	11
2.2	TAURINA	12
2.2.1	Aspectos gerais	12
2.2.2	Ácidos biliares	14
2.2.3	Obesidade	15
2.2.4	Sistema nervoso central	17
2.3	ELETROFORESE CAPILAR	18
2.3.1	Aspectos gerais	18
2.3.2	Instrumentação	21
2.3.3	Fluxo Eletroosmótico	21
2.3.4	Técnicas e mecanismos	23
3	MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1	MATERIAIS	26
3.1.1	Descrição dos materiais	26
3.1.2	Métodos	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1	ASPECTOS GERAIS	27
4.2	OTIMIZAÇÃO DO pH	29
4.3	OTIMIZAÇÃO DO SURFACTANTE (SDS)	31
4.4	OTIMIZAÇÃO DO CROMÓFORO (DNB)	33
4.5	INTERPRETAÇÃO DO ELETROFEROGRAMA	34
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
5.1	TRABALHOS FUTUROS	36
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1 INTRODUÇÃO

É fato que o sedentarismo e a dieta rica em gordura e açúcares fazem parte do cotidiano de muitas pessoas, o que as deixam expostas ao risco de serem acometidas por variadas doenças, como a obesidade. Contudo, é importante ter em mente que as causas da obesidade nem sempre são isoladamente os fatores externos: existe também a predisposição genética. (KLEINENDORST *et al.*, 2018), (FRANCISQUETI; NASCIMENTO; CORRÊA, 2015).

Segundo estudo da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) em parceria com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), ao longo de 17 anos (2002/2003 – 2019) a porcentagem de brasileiros adultos obesos cresceu de 12,2% para 26,8%. Neste mesmo período, observa-se que a proporção de adultos acima do peso passou de 43,3% para 61,7%.

Essa complexa doença caracteriza-se sobretudo por ser um estado inflamatório crônico em decorrência de uma dieta hipercalórica. Os mecanismos envolvidos no seu desenvolvimento não são exatamente conhecidos, tampouco sabe-se a real dimensão do impacto antagônico que a taurina (Tau) pode exercer sobre a obesidade, porém há diversas pesquisas com resultados promissores que exploraram seus efeitos antiobesidade.

Por possibilitar análises rápidas e ser um bom método para a separação simultânea entre diferentes espécies químicas, foi utilizado na separação entre a taurina e o padrão interno, cafeína, um sistema de eletroforese capilar (CE) que apresenta vantagens como curto tempo de análises, consumo de menor volume de amostra e alta eficiência. Basicamente, ela baseia-se na migração de espécies em um eletrólito sob a aplicação de um campo elétrico. (QUEIROZ; JARDIM, 2001), (VOETEN *et al.*, 2018).

Em função do exposto, este projeto tem como objetivos: otimizar um método para a detecção de taurina por eletroforese capilar e elucidar os mecanismos desta técnica. Uma perspectiva futura para este projeto é a possibilidade de o método ser utilizado em outras pesquisas que visam estudar a taurina, especialmente levando em consideração seu contexto terapêutico.

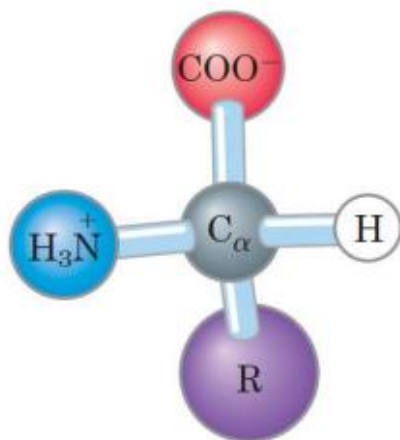
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 AMINOÁCIDOS

A principal função dos aminoácidos é compor as proteínas, macromoléculas essenciais para o surgimento e manutenção da vida. Cada proteína é uma cadeia polimérica de aminoácidos que nesse caso são os monômeros. Existem pouco mais de 200 aminoácidos, porém apenas 20 mais comumente formam as proteínas animais, e por isso acabam sendo considerados os principais. (NELSON; COX, 2014).

Essas moléculas orgânicas têm em comum sua estrutura (Figura 1) formada pela ligação de um átomo de hidrogênio (H), um grupo amino (NH_2), um grupo carboxila (COOH) e um grupo R ligados a um mesmo átomo de carbono, o carbono α . As funções biológicas das proteínas são determinadas em função do grupo R, o qual difere-se quimicamente para cada aminoácido. (NELSON; COX, 2014).

Figura 1 — Estrutura geral dos aminoácidos



Fonte: NELSON; COX — Princípios de Bioquímica de Lehninger

Os aminoácidos podem ser separados em dois grupos: essenciais e não essenciais (Quadro 1). Os aminoácidos essenciais não são sintetizados pelo corpo humano, portanto são obtidos através de sua ingestão. Já os não essenciais são sintetizados pelo organismo. (PALÁCIOS, 2017).

Quadro 1 — Classificação dos aminoácidos em essenciais e não essenciais.

Não essenciais	Essenciais
Ácido Aspártico (Asp)	Fenilalanina (Phe)
Ácido Glutâmico (Glu)	Isoleucina (Ile)
Alanina (Ala)	Leucina (Leu)
Arginina (Arg)	Lisina (Lys)
Asparagina (Asn)	Metionina (Met)
Cisteína (Cys)	Treonina (Thr)
Glicina (Gly)	Triptofano (Trp)
Glutamina (Gln)	Valina (Val)
Histidina (His)	
Prolina (Pro)	
Serina (Ser)	
Tirosina (Tyr)	

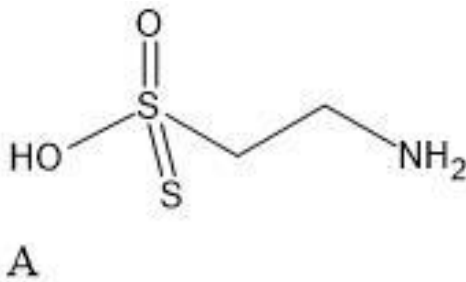
Fonte: Adaptado de PALÁCIOS — Estudo do aminoácido Glicina em função do pH por espectroscopia Raman.

2.2 TAURINA

2.2.1 Aspectos gerais

A taurina (ácido 2-aminoetanosulfônico; Tau) é um aminoácido distinto dos demais por conta da função sulfônica (-SO₃) substituindo a função carboxílica (COOH) em sua estrutura (Figura 2).

Figura 2 — Fórmula estrutural da taurina

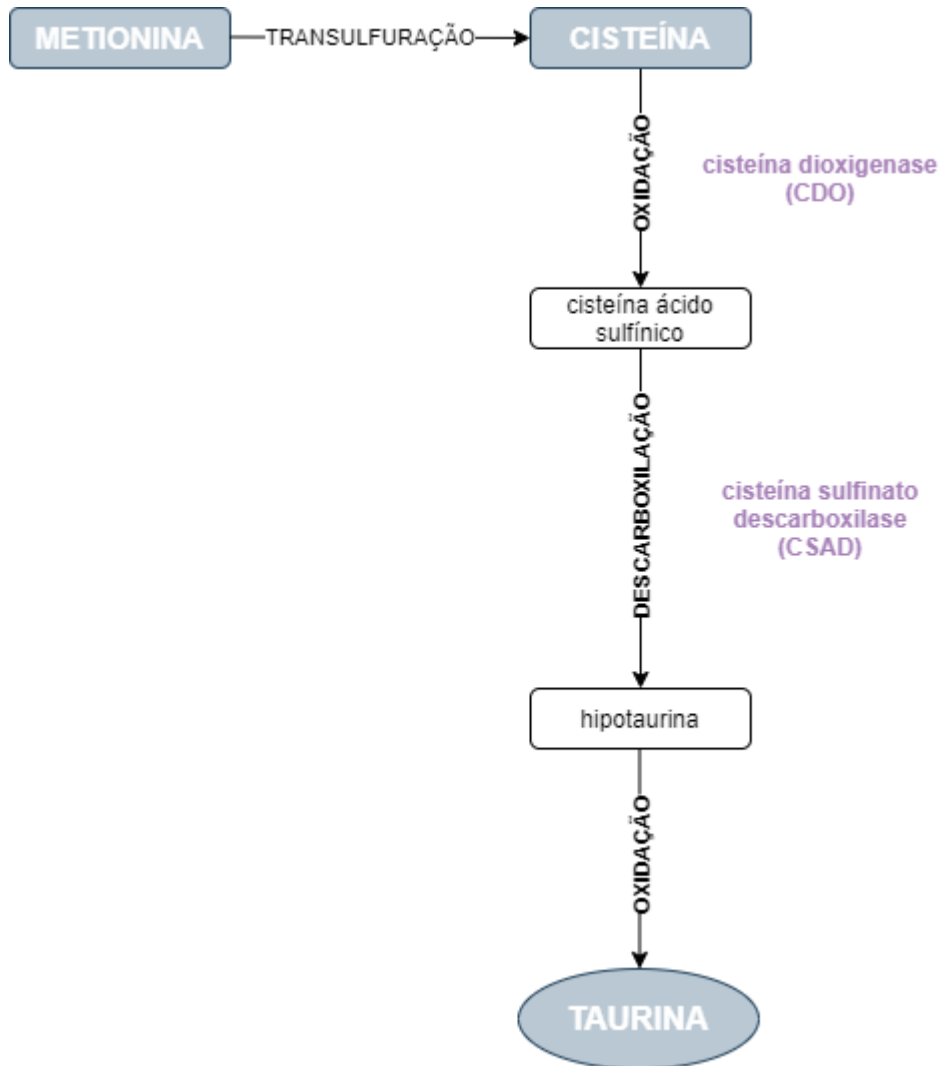


Fonte: Próprio autor

Comumente é classificada como um aminoácido não essencial, pois o organismo humano é capaz de sintetizá-la, porém ainda é preciso suprir sua necessidade através da alimentação, sendo os alimentos de origem animal e marinha a maior fonte de obtenção exógena. (SCHULLER-LEVIS; PARK, 2003).

Os aminoácidos cisteína e metionina são os responsáveis pela produção endógena da taurina: além de ser obtida através da dieta, a cisteína pode ser produzida pela metionina através de uma reação de transulfuração, então, a cisteína sofre oxidação formando a cisteína ácido sulfínico que é descarboxilada formando a hipotaurina que por sua vez é oxidada gerando a taurina, sendo todo o processo promovido por enzimas (Figura 3). Ela pode ser encontrada em altas concentrações no fígado (principal órgão de sua biossíntese juntamente ao tecido adiposo branco), cérebro, retina e músculos cardíacos e esqueléticos. (SCHAFFER et. al, 2010), (LEE, et. al 2004), (CARVALHO, 2015), (RAMOS, 2017), (BOUCKNOOGHE; REMACLE; REUSENS, 2006).

Figura 3 — Síntese da taurina.



Fonte: Adaptado de RAMOS — Efeitos da administração da taurina no desequilíbrio redox e na inflamação induzida pela exposição à fumaça de cigarro e FRANCISCO, Tratamento crônico com taurina e alanina e desenvolvimento cerebral em ratos: efeitos sobre a depressão alastrante cortical

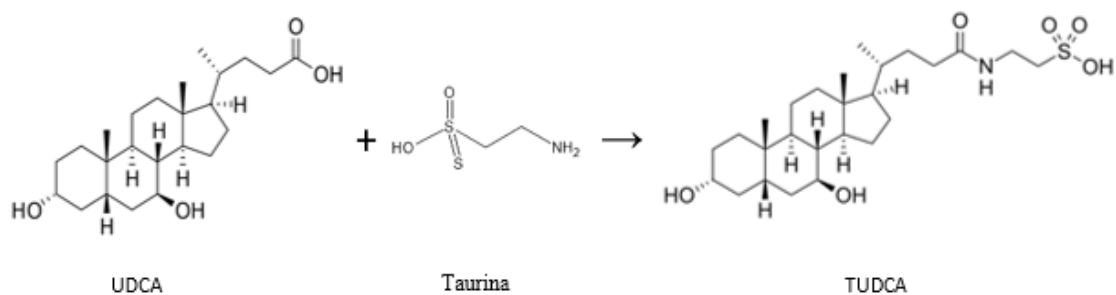
2.2.2 Ácidos biliares

A taurina relaciona-se com os ácidos biliares (BAs), compostos lipofílicos produzidos no fígado – vale ressaltar que ao estimular a produção de ácidos biliares, a Tau acaba reduzindo os níveis de colesterol no organismo. Ainda no fígado ocorre a conjugação de BAs primários à glicina (Gly) e/ou Tau. Em função do caráter hidrofílico da estrutura dos aminoácidos, essa conjugação diminui a toxicidade dos BAs, pois uma vez tornando-se ácido conjugado terão

menor capacidade de atravessar a membrana plasmática que tem estruturas de caráter lipofílico. (THOMAS *et al.*, 2008) (CHIANG, 2009), (WIN *et al.*, 2021), (MURAMAKI, 2015).

O ácido tauroursodeoxicólico (TUDCA) é um BA encontrado em grade concentração em ursos, camundongos e ratos. É formado quando o ácido biliar ursodeoxicólico (UDCA) conjuga-se com Tau (Figura 4). (WIN *et al.*, 2021), (WANG; CAREY, 2014). O estudo de Kars (2010), mostra que o tecido muscular e fígado de pacientes obesos tratados com TUDCA recuperaram a sensibilidade à insulina em 30%. Além disso, Vettorazzi *et al* (2017), demonstrou que camundongos acometidos por obesidade induzida tratados com TUDCA também melhoraram sua sensibilidade à insulina.

Figura 4 — Formação do TUDCA



Fonte: Adaptado de WIN — Pharmacological and Metabolic Significance of Bile Acids in Retinal Diseases.

Estes ácidos são imprescindíveis para o controle do metabolismo e balanço energético. Eles estimulam o gasto energético, aumentam o controle glicêmico e apresentam ação anti-inflamatória. (HYLEMON *et al.*, 2009), (SHARMA; LONG; GILMER, 2011), (POLLS *et al.*, 2010).

2.2.3 Obesidade

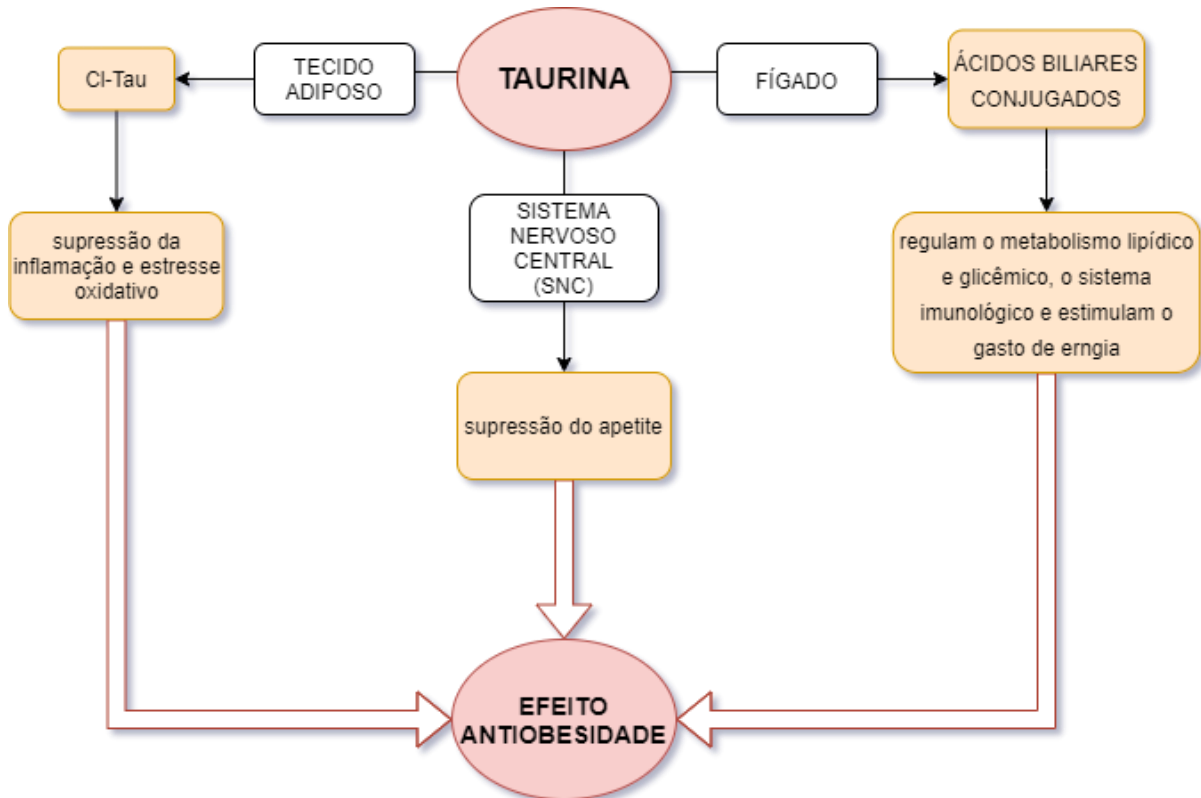
O desenvolvimento da obesidade pode ocorrer em função tanto do estilo de vida quanto da susceptibilidade genética do indivíduo, bem como a associação entre ambos os fatores. (KISHORE *et al.*, 2018). É considerado um distúrbio inflamatório crônico onde adipócitos secretam altas concentrações de adipocinas inflamatórias – que atraem macrófagos - em função do desequilíbrio energético. Todo o processo ocorre no tecido adiposo onde o resultado desse balanço energético é armazenado: o excesso de energia é recolhido como triacilglicerol (TAG). (OUCHI *et al.*, 2011), (NELSON; COX, 2014), (FRANCISQUETI; NASCIMENTO; CORRÊA, 2015).

Já são conhecidas as funções farmacológicas e fisiológicas da taurina (HUXTABLE, 1992), e diversos estudos investigaram os efeitos de sua administração terapêutica sobre a obesidade. Dentre eles, Zhang M. *et al.* (2004) demonstrou que depois de sete semanas de ingestão de 3g por dia de Tau, os níveis de TAG e o peso corporal do grupo de indivíduos com sobrepeso diminuíram. Em contrapartida, no grupo tratado com placebo não se surtiu o mesmo resultado.

Além disso, a atividade anti-inflamatória de Tau é bem explorada no quadro de obesidade. Lin *et al.* (2013) estudou sua relação com os macrófagos: chegou-se à conclusão de que a infiltração de macrófagos no tecido adiposo de camundongos obesos diminuiu após estes serem tratados pela ingestão oral de Tau. Também em 2013, o estudo de Rosa *et al.* reforçou esta propriedade ao demonstrar a redução dos níveis dos marcadores TBARS (marcador de estresse oxidativo) e hs-CRP (marcador de inflamação) em mulheres obesas após a suplementação de 3g por dia de Tau e acompanhamento nutricional. Nesse contexto, um mecanismo conhecido em processos inflamatórios é a formação de taurina-cloramina (Tau-Cl) na presença desse aminoácido, sendo a Tau-Cl um ótimo regulador do sistema imunológico. (SCHULLER-LEVIS; PARK, 2003).

Apesar de sua síntese ocorrer também no tecido adiposo, já foi exposto que a concentração sanguínea de Tau em indivíduos obesos é menor se comparados a indivíduos não acometidos pelo distúrbio (ROSA, *et al.*, 2013), (LEE *et al.*, 2003). Tsuboyama-Kasaoka *et al.* (2006) explorou este fato ao avaliar o decréscimo da enzima CDO no tecido adiposo de camundongos obesos. A Figura 5 ilustra os mecanismos relacionados a Tau que resultam em sua possível propriedade antiobesidade.

Figura 5 — Mecanismos que relacionam a taurina ao combate a obesidade



Fonte: Adaptado de MURAMAKI — Role of taurine in the pathogenesis of obesity

2.2.4 Sistema nervoso central

Aminoácidos também são neuro ativos e desempenham funções no sistema nervoso central (SNC). No SNC humano, a taurina apresenta maior concentração no cérebro quando este ainda está em desenvolvimento, além disso, o leite materno é rico em Tau. Logo, julga-se que o aminoácido é muito importante nesta etapa, sendo que na vida adulta seus níveis diminuem – mesmo assim, é o segundo aminoácido mais presente no SNC, atrás apenas do glutamato. (HUXTABLE, 1992), (AGOSTINI *et al.* 2000), (PANULA-LEHTO; MAKINEN; AHTEE, 1992).

A taurina pode ser considerada tanto um neuromodulador quanto um neurotransmissor, apresentando nesse caso, ação inibitória (ZHAO *et al.*, 2020), (PERRY; LI; KENNEDY, 2009). Muitos estudos mostram que a taurina participa ativamente em processos neurais inibitórios e

excitatórios, Oja e Saransaari (2013) concluíram que a excitabilidade neuronal pode reduzir diante da presença do aminoácido, o que inviabiliza por exemplo, episódios epilépticos.

Os níveis neurais podem aumentar com seu suplemento como foi demonstrado por Panula-Lehto; Makinen e Ahtee (1992): ao injetar-se 36 μmol de taurina no cérebro de camundongos, observou-se o aumento de dopamina no hipotálamo em 36%. Dessa forma, o estudo reforça a sugestão de que o aminoácido é estimulante quanto a síntese desse hormônio.

Outro efeito observado no SNC causado pela taurina é o anorexígeno – caracterizado pela supressão do apetite e estímulo de gasto energético. Além disso, sabe-se que a insulina tem propriedades anorexígenas e que há muitos receptores de insulina no SNC, sendo que a taurina aumenta a sensibilidade desse hormônio no hipotálamo, potencializando assim, seus efeitos. (PLIQUETT *et al.*, 2006), (SOLON *et al.*, 2011), (ABIZAIID; HORVATH, 2008). Complementando a propriedade citada, também é de conhecimento que a concentração de Tau no plasma sanguíneo de pacientes com anorexia nervosa é maior do que em pessoas não acometidas pela condição (MOYANO *et al.*, 1998).

2.3 ELETROFORESE CAPILAR

2.3.1 Aspectos gerais

Inserida a partir de 1981, a EC é aceita como um importante método analítico, sendo uma técnica muito utilizada por diversos laboratórios de análises, principalmente de biomoléculas e biofármacos. Isso se dá em função do fato de que essa técnica de separação, heterogênea quanto à capacidade de determinar amostras, não exige destas um grande volume e traz com eficiência resultados precisos em pouco tempo. (QUEIROZ; JARDIM, 2001), (VOETEN *et al.*, 2018), (HANRAHAN; GOMEZ, 2010). O Quadro 2 reúne alguns estudos que visaram estudar a taurina e suas aplicações.

Quadro 2 – Estudos que abordaram a separação de taurina por eletroforese capilar

Descrição	Técnica	Autoria
Determinação de taurina em plasma	CE-DAD	(KELLY; FABRE; PARRETT, 2000)
Este estudo apresenta métodos de separação da taurina por diversas técnicas além da eletroforese capilar	CE-LIF/CE-LIF-CCDD	(MOU; DING; LIU, 2002)
Identificação e quantificação de aminoácidos nos macrófagos peritoneais de camundongos	CE-ED	(WENG; JIN, 2001)
O estudo demonstrou ser possível monitorar simultaneamente moléculas neuroquímicas	CE-LIF	(BOWSER; KENNEDY, 2001)
Monitoramento de neurotransmissores na retina	CE-LIF	(O'BRIEN <i>et al.</i> , 2004)
Foi avaliado o potencial fluorogênico do 4-Fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole para a análise de aminoácidos neurotransmissores	CE-LIF	(KLINKER; BOWSER, 2007)
Monitoramento in vivo de aminoácidos biomarcadores no tecido adiposo	CE-LIF	(WEISENBERGER; BOWSER, 2016)

Determinação de taurina em alimentos	CE-ED	(CAO <i>et al.</i> 2002)
--------------------------------------	-------	--------------------------

Este estudo apresenta diversos métodos de determinação quantitativa da taurina em meios biológicos	CE-UV/CE-ED/CE-FD	(SILVA <i>et al.</i> 2006)
--	-------------------	----------------------------

Para um estudo de transtorno bipolar, foi otimizado e validado um método para a determinação de aminoácidos no plasma	CE-LIF	(LORENZO <i>et al.</i> , 2013)
---	--------	--------------------------------

Foi investigada a atividade metabólica focada em aminoácidos em embriões humanos	CE-LEDIF	(CELÁ <i>et al.</i> , 2018)
--	----------	-----------------------------

Determinação de taurina em fluido lacrimal humano	CE-ED	(DU <i>et al.</i> , 2015)
---	-------	---------------------------

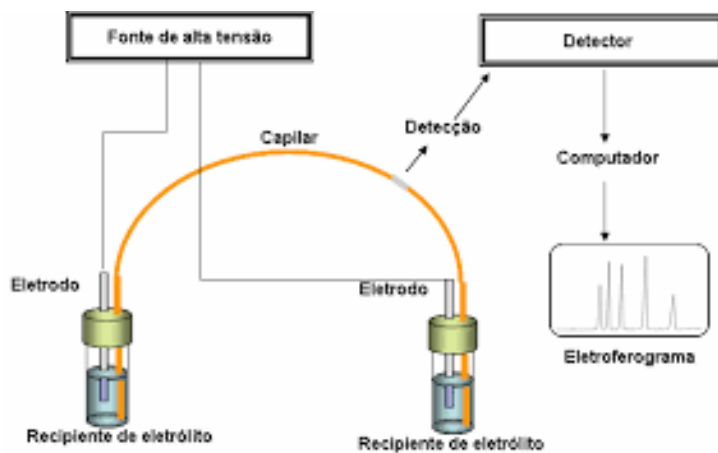
Desenvolvimento de método para a análise simultânea de taurina e cafeína em bebidas energéticas	CE-DAD	(ALVES <i>et al.</i> , 2019)
---	--------	------------------------------

O estudo explora as aplicações clínicas e alimentícias de taurina e sua determinação por eletroforese capilar	CE-LIF	(ZINELLU <i>et al.</i> , 2008)
---	--------	--------------------------------

2.3.2 Instrumentação

O equipamento é composto por um capilar de diâmetro interno muito pequeno (15 a 100 μm) com seu comprimento variando entre 50 e 100 cm. O uso do capilar contorna o efeito joule (calor gerado pela passagem de corrente elétrica) em razão de sua alta resistência elétrica e geometria que dissipam com eficácia o calor. Assim, é possível aplicar-se uma alta voltagem (geralmente entre 5 e 30 kV) e gerar um elevado campo elétrico, fatores responsáveis pelos bons resultados em tempo reduzido. O capilar pode ser feito de vidro, teflon ou sílica fundida, que pode ser revestida com poliamida para conferir maior resistência. Ele é preenchido por um tampão e os analitos introduzidos (a vácuo, variação de pressão, sifonamento ou injeção eletrocinética) pelo lado oposto ao detector, para onde eles migrarão quando expostos ao campo elétrico (migração eletroforética). (QUEIROZ; JARDIM, 2001), (SILVA; CARRILHO; TAVARES, 2007).

Figura 6 — Instrumentação do CE

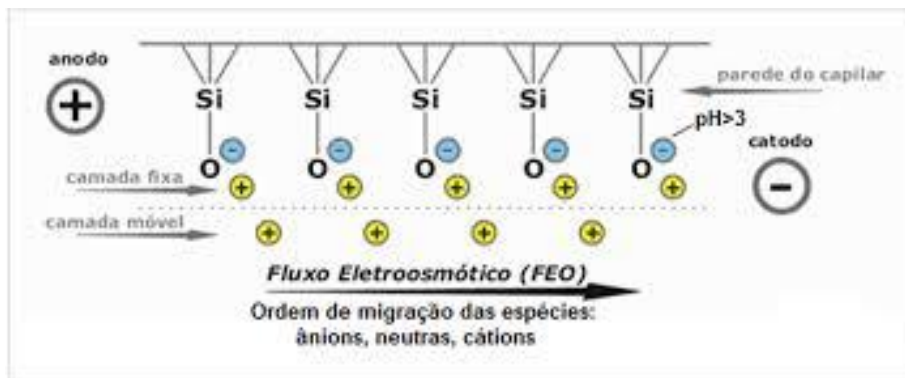


Fonte: CAON - Estudo de Interação da Série Homóloga dos Hidroxibenzoatos de Alquila Com Micela Aniônica Utilizando Eletroforese Capilar

2.3.3 Fluxo Electrosmótico

Observa-se a ocorrência do fenômeno da eletroosmose, nesse caso, chamado de Fluxo Eletrosmótico (FEO). Os capilares de sílica fundida possuem grupos silanóis (SiOH) que sofrem ionização quando em contato com solução tampão de pH elevado, o que influencia diretamente no tempo de migração. Com isso, dissociam-se fazendo com que a parede interna do capilar passe a dispor de carga negativa e atraia os íons positivamente carregados (contra-cátions) provenientes do tampão. Origina-se uma dupla camada de cátions, uma fixa e uma móvel (Figura 7). (QUEIROZ; JARDIM, 2001), (SPUDEIT; DOLZAN; MICKE, 2012).

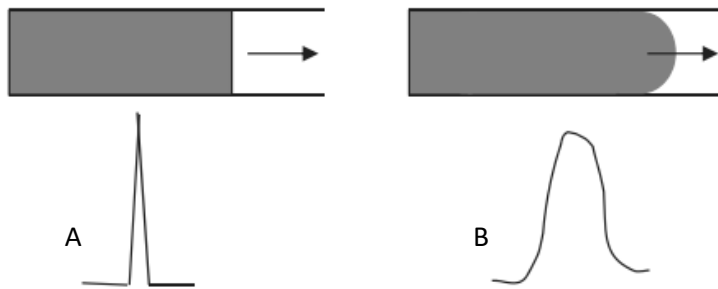
Figura 7 — Fluxo eletrosmótico



Fonte: QUEIROZ; JARDIM — Eletroforese Capilar.

Consequentemente, é criada uma diferença de potencial denominado Potencial Zeta. Quando aplicado um campo elétrico, os cátions da camada móvel vão em direção ao cátodo levando consigo a solução e os analitos, sendo a velocidade do fluxo uniforme sem gerar pressão (Figura 8). (QUEIROZ; JARDIM, 2001), (HANRAHAN; GOMEZ, 2010).

Figura 8 — (A) perfil do FEO e pico sem alargamento e (B) fluxo pressurizado e um consequente pico acometido por alargamento.

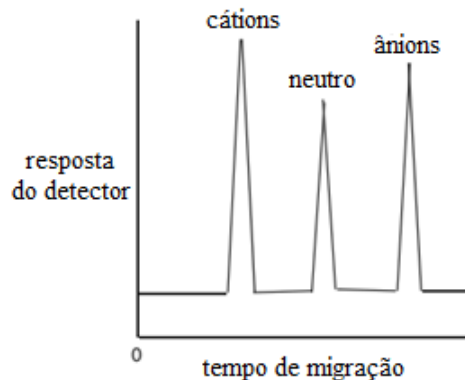


Fonte: Adaptado de HANRAHAN; GOMEZ – Chemometric methods in capillary electrophoresis.

2.3.4 Técnicas e mecanismos

A eletroforese capilar de zona (CZE do inglês Capillary Zone Electrophoresis) é uma das variantes mais utilizadas. Nela, a amostra é introduzida no capilar preenchido com um eletrólito e a separação ocorre devido as respectivas mobilidades efetivas dos íons - as espécies aniônicas e catiônicas terão diferentes mobilidades ao longo do capilar (Figura 9) - expostos a alta voltagem, a qual aumenta a resolução e diminui o tempo de análise. Dessa forma, os analitos ionizados irão sob influência do campo elétrico, migrar ao polo oposto. (QUEIROZ; JARDIM, 2001), (HANRAHAN; GOMEZ, 2010).

Figura 9 — Velocidade das espécies



Fonte: Adaptado de HANRAHAN; GOMEZ — Chemometric methods in capillary electrophoresis

Para possibilitar uma rápida detecção de espécies neutras, recorre-se à eletrocromatografia capilar micelar (MECK). Ao eletrólito é adicionado um surfactante que criará um ambiente micelar, sendo as micelas consideradas uma fase pseudo-estacionária. É possível simultaneamente separar essas espécies neutras de espécies iônicas, para estas a ordem de migração dependerá da natureza do surfactante – se é catiônico ou aniônico. (QUEIROZ; JARDIM, 2001).

Um método comum de detecção na CE é o UV-Vis ou Diode Array Detector (DAD) – capaz de monitorar ao mesmo tempo diversos comprimentos de onda - onde espera-se que os analitos absorvam radiação em algum ponto entre o trecho de luz visível e ultravioleta do espectro eletromagnético. Quando os analitos apresentam baixa ou nenhuma absorbância nessa faixa, eles não são detectados e conseqüentemente não são identificados no eletroferograma. A detecção é então chamada indireta: é necessário adicionar ao eletrólito um cromóforo que absorva a radiação e observá-lo durante a análise. Então, quando os analitos que não absorvem energia passam pelo detector, há um aumento da passagem de radiação, ou seja, queda de absorbância. O resultado no eletroferograma serão picos negativos. (VAZ; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2015), (SPUDEIT; DOLZAN; MICKE, 2012).

O Quadro 3 mostra resumidamente estas e outras técnicas envolvendo eletroforese:

Quadro 3 – Modalidades da eletroforese capilar

Técnica	Mecanismo de separação
Eletroforese Capilar em Gel (ECG)	A separação baseia-se na diferença de tamanho dos solutos. Íons menores migram mais rapidamente enquanto solutos maiores ficam mais tempo retidos.
Eletrocromatografia Capilar Micelar (ECCM)	O eletrólito tem um alto nível de surfactante para que sejam formadas micelas. A separação baseia-se na partição das

moléculas entre a fase micelar (pseudo-fase estacionária) e o tampão aquoso.

Eletroforese Capilar com Focalização Isoelétrica (ECFI)

É necessária formação de um gradiente de pH, obtido pelo uso de substâncias conhecidas. Dessa forma, substâncias anfóteras são separadas com base em seus pontos isoelétricos.

Isotacoforese Capilar (IC)

É realizada em um sistema de tampão descontínuo. Quando um campo elétrico é aplicado, os componentes da amostra começam a se separar em zonas de acordo com suas mobilidades

Fonte: QUEIROZ — eletroforese capilar

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

3.1.1 Descrição dos materiais

Diante da necessidade de quantificar o aminoácido Taurina, a técnica de eletroforese capilar é recomendada para a sua separação. A técnica utilizada baseia-se na separação das espécies devida as suas respectivas mobilidades efetivas, onde migram de um polo ao outro sob uma voltagem aplicada em um capilar preenchido por um eletrólito. O sistema de eletroforese capilar utilizado é acoplado ao DAD, entretanto, a Taurina não absorve energia na faixa Uv-Vis, o que leva a escolha do método de detecção indireta, necessitando de um agente cromóforo. Sendo o padrão interno a cafeína – uma molécula neutra – é necessário adicionar ao eletrólito um surfactante, um composto que formará micelas, o que resulta sobretudo em um menor tempo de análise.

No eletrólito incluiu-se como cromóforo o DNB (ácido 3,5-nitrobenzóico), e o SDS (dodecil sulfato de sódio) como surfactante aniônico. Trabalhou-se com o equipamento Agilent 7100 CE System e um capilar de sílica fundida com diâmetro de 50 μm .

Ressalta-se que os experimentos foram realizados no LABi Tiselius, laboratório coordenado pela Profa. Dra. Ana Valéria Colnaghi Simionato Cantú, e localizado no Instituto de Química da Unicamp.

3.1.2 Métodos

Depois de diversos testes, chegou-se as melhores concentrações de 5 mmol/L e 10 mmol/L para Tau e cafeína respectivamente. As espécies foram injetadas a 50 mbar por 3 s e a voltagem aplicada nas análises foi de 25 kV sob a temperatura de 25 °C, sendo o comprimento efetivo do capilar 41,5 cm e total 50 cm e seu diâmetro 50 µm. A detecção dos analitos foi feita em 230 nm e 274 nm para a taurina e cafeína respectivamente.

Entre as análises, foi necessário aplicar um condicionamento de 5 minutos de NaOH 0,1 mol/L, 5 minutos de água ultrapura e 10 minutos de eletrólito a 25 °C. É imprescindível que antes de executadas as análises, seja feito um condicionamento inicial, nesse caso, condicionou-se o capilar por 15 minutos com NaOH 0,1 mol/L, seguidos por 15 minutos de água ultrapura e 30 minutos de eletrólito a 30°C. Após uso diário do capilar foi feita sua limpeza injetando 10 minutos de água ultrapura e 5 minutos de ar a 38°C.

As soluções padrão permaneceram refrigeradas, sendo necessário para sua utilização colocá-las em ultrassom por 15 minutos e após isso filtrá-las na ordem de 0,22 µm. A filtração vale também para a água ultrapura e o NaOH 0,1 mol/L uma vez a cada dia de análise. Para regular o pH do eletrólito, foram utilizados NaOH 1 mol/L, NaOH 0,1 mol/L e HCl 0,1 mol/L.

A otimização do método foi do tipo univariada, onde se estuda um parâmetro por vez, sendo que cada variação dentro de cada parâmetro foi feita em triplicata, totalizando 54 análises.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ASPECTOS GERAIS

- a) A otimização realizada foi do tipo univariada, onde se estudou os aspectos do eletrólito diante da variação de um parâmetro e decidiu-se o melhor ponto deste parâmetro para dessa forma avaliar o seguinte. A ordem seguida foi: pH, SDS e DNB.

- b) A taurina como todo aminoácido tem caráter anfótero, se comportando como base ou ácido dependendo do pH em que está exposta. Seu Pk_2 é de 8,6 e as análises foram realizadas em valores de pH acima de 11,9. Então, salienta-se que neste sistema, o analito em questão está na forma aniônica;
- c) O SDS é um surfactante aniônico com concentração micelar crítica (CMC) de 8,1 mmol/L, ou seja, esta é a concentração mínima para a formação de micelas. É fundamental que no presente contexto o surfactante seja aniônico para que a taurina seja repelida.
- d) Para a decisão da melhor composição para o eletrólito, foi necessário avaliar a mobilidade efetiva da taurina (Equação 1) a partir de sua mobilidade aparente (Equação 2), a largura da base de seu pico, o número de pratos teóricos (Equação 3), altura do pico e sua resolução entre a cafeína (Equação 4). (QUEIROZ, 2001).

$$\mu_e = \mu_a - \mu_{FEO} \quad (1)$$

μ_e = mobilidade efetiva;

μ_a = mobilidade aparente;

μ_{FEO} = mobilidade do fluxo eletrosmótico.

Nesse experimento, o marcador do fluxo eletrosmótico foi o próprio pico gerado pelo sistema, o qual é bem definido e detectável em todas as análises.

É necessária a mobilidade aparente do íon de interesse para realizar-se o cálculo anterior:

$$\mu_a = \frac{l}{tV} \quad (2)$$

l = comprimento efetivo;

L = comprimento total;

$t =$ tempo de migração;

$V =$ voltagem aplicada.

A eficiência da separação entre as espécies é dada pelo número de pratos teóricos (N):

$$N = 16 \left(\frac{t}{w} \right)^2 \quad (3)$$

w = largura da base do pico

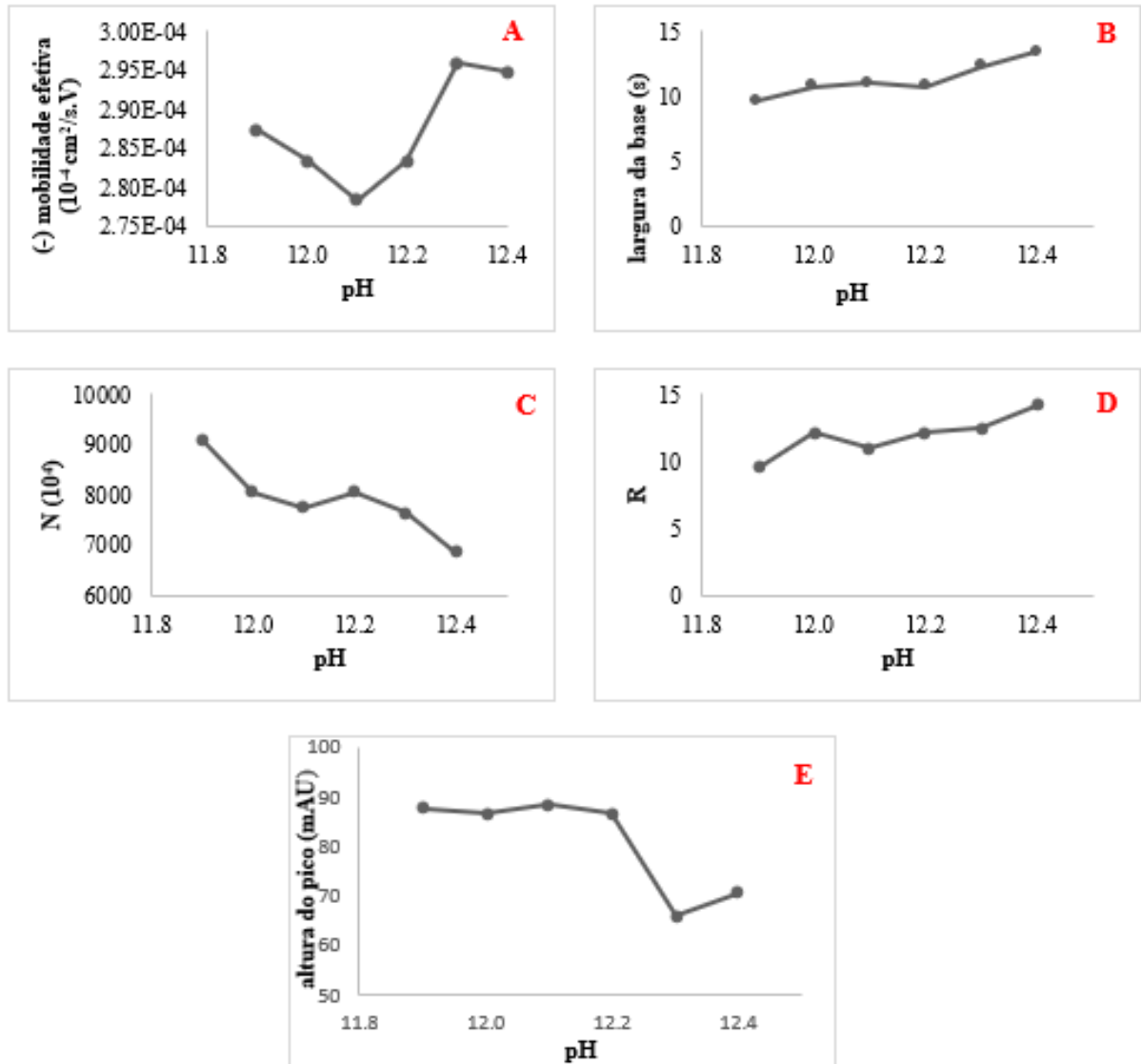
Por fim, a resolução entre picos é dada pela seguinte equação:

$$R = \frac{(t_1 - t_2)^2}{(w_1 + w_2)} \quad (4)$$

4.2 OTIMIZAÇÃO DO pH

Como dito anteriormente, o fluxo eletrosmótico é altamente dependente do pH, uma vez que este é responsável pela ionização da parede interna do capilar, além disso, a taurina também se encontra totalmente ionizada. A Figura 10 mostra cada variável estudada com seus valores em função do pH nos valores: 11,9; 12,0; 12,1; 12,2; 12,3 e 12,4

Figura 10 — Gráficos da otimização do pH; (A) mobilidade efetiva; (B) largura da base; (C) número de partos teóricos; (D) resolução entre taurina e cafeína e (E) largura da base do pico da taurina

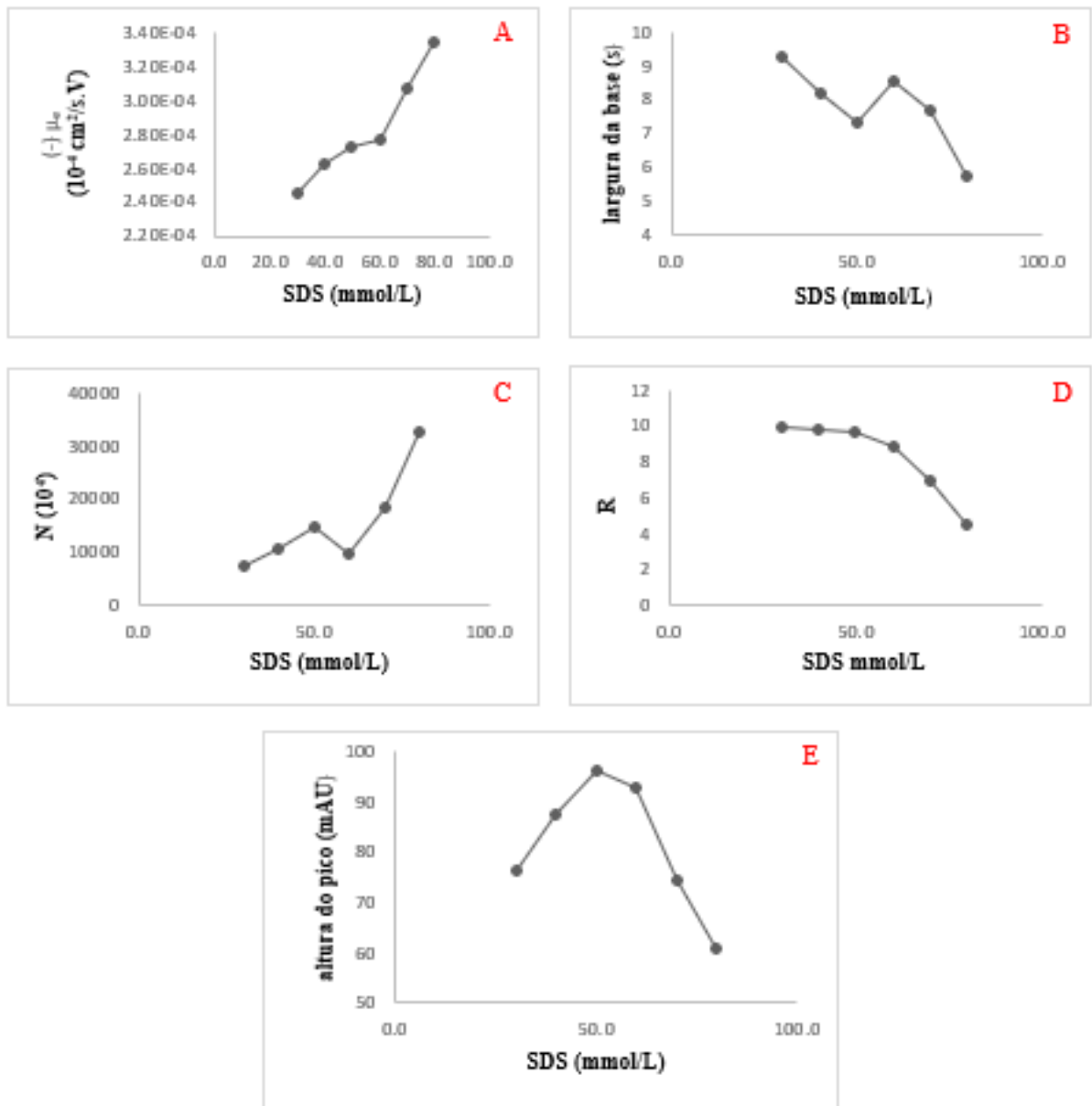


Trabalhou-se com altos valores de pH, onde em todos estes os grupos silanóis do capilar estão completamente ionizados, o que ocorre em sistemas com pH acima de 9. (QUEIROZ, 2001).

4.3 OTIMIZAÇÃO DO SURFACTANTE (SDS)

O surfactante é necessário para criar um ambiente micelar que possibilita a separação da cafeína que é um composto neutro. Inicialmente, trabalhou-se com concentrações de 10 mmol/L até 60 mmol/L, porém não é recomendável a elaboração do eletrólito com concentrações de SDS abaixo de cerca de 25 mmol/L: foi observado que abaixo desse valor o pico da cafeína não se separa do pico do sistema, o que torna a análise extremamente inviável. Dessa forma, os seguintes gráficos (Figura 11) compreendem as concentrações de 30 mmol/L; 40 mmol/L; 50 mmol/L; 60 mmol/L; 70 mmol/L e 80 mmol/L.

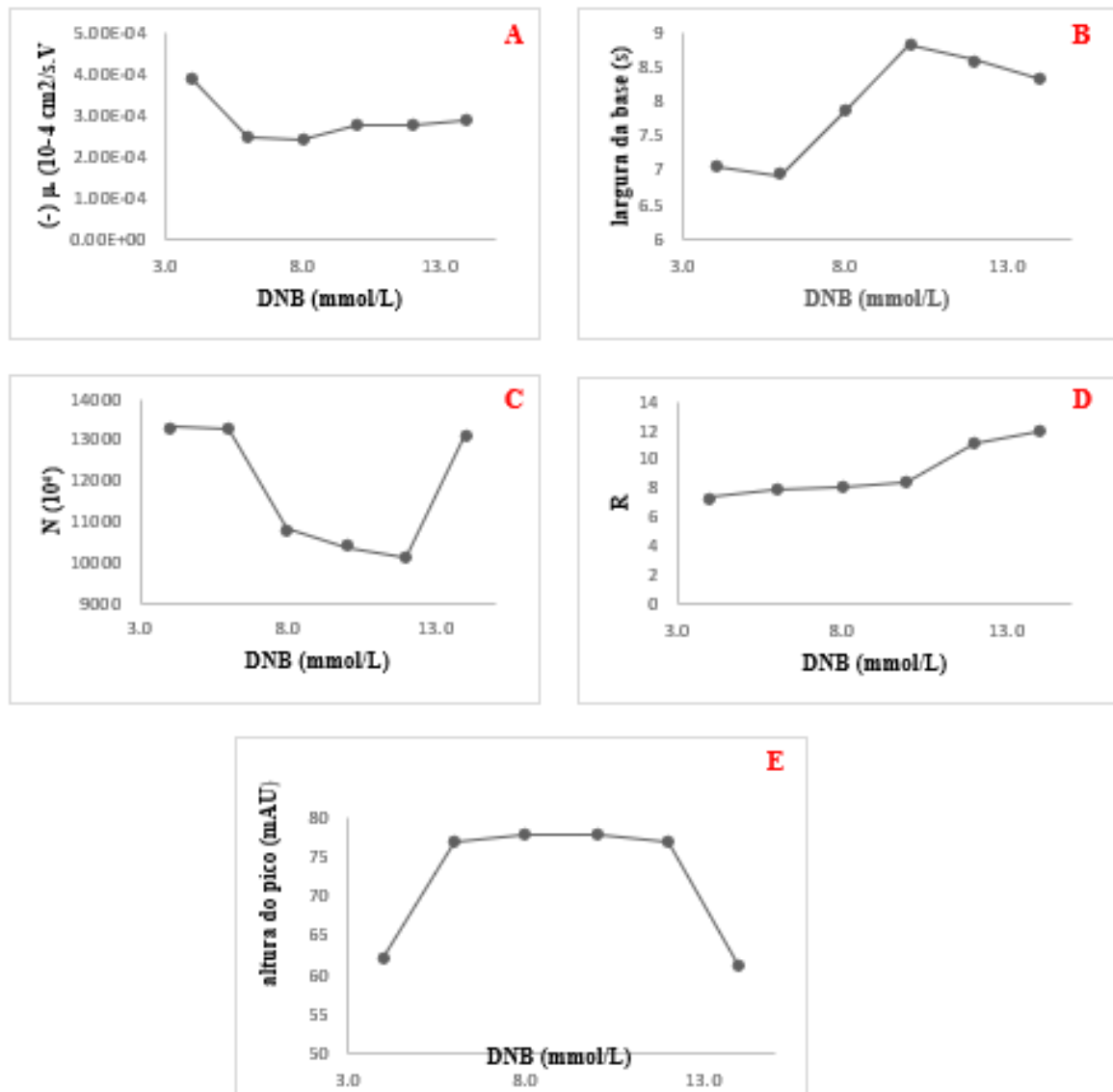
Figura 11 — Gráficos da otimização da concentração do SDS; (A) mobilidade efetiva; (B) largura da base; (C) número de partos teóricos; (D) resolução entre taurina e cafeína e (E) largura da base do pico da taurina



4.4 OTIMIZAÇÃO DO CROMÓFORO (DNB)

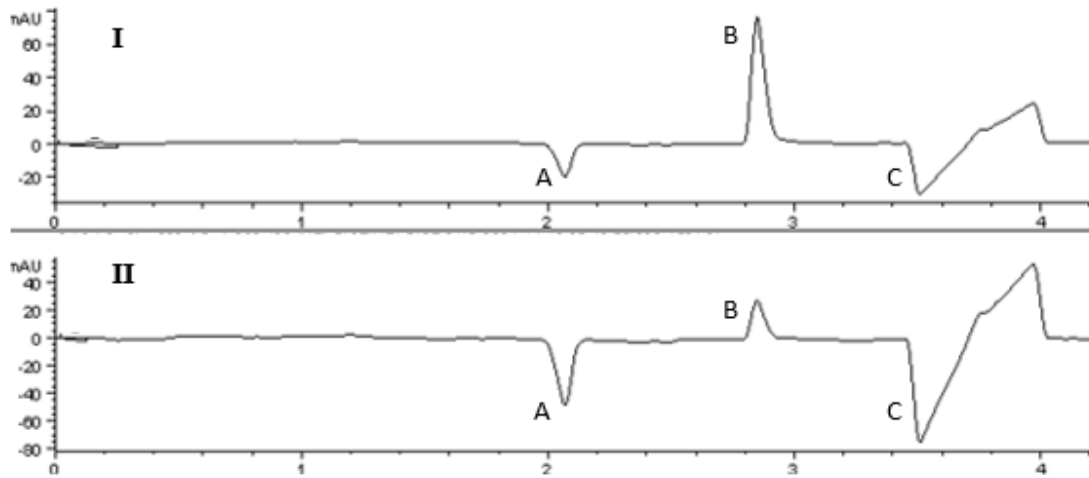
Os cromóforos são espécies que absorvem energia UV-Vis, e neste sistema é necessária sua adição para a detecção da taurina que não absorve energia nessa faixa. O DNB foi monitorado em 230 nm e as concentrações estudadas foram: 4 mmol/L; 6 mmol/L; 8 mmol/L; 10 mmol/L; 12 mmol/L e 14 mmol/L (Figura 12).

Figura 12 — Gráficos da otimização da concentração do DNB; (A) mobilidade efetiva; (B) largura da base; (C) número de partos teóricos; (D) resolução entre taurina e cafeína e (E) largura da base do pico da taurina



4.5 INTERPRETAÇÃO DO ELETROFEROGRAMA

Figura 13 – Eletroferogramas da separação entre taurina e cafeína em (I) 274 nm e (II) 230 nm.



A Figura 10 mostra os eletroferogramas da separação simultânea entre taurina (C) e cafeína (B) em seus respectivos comprimentos de onda para detecção. Observa-se o pico negativo causado pela passagem da taurina que tem migração mais lenta do que a cafeína. Como vastamente citado na literatura, espécies neutras têm velocidade intermediária, enquanto espécies aniônicas acabam migrando por último. (HANRAHAN; GOMEZ, 2010). O primeiro pico (A) é o gerado pelo sistema como relatou-se anteriormente.

Os eletroferogramas em questão são o resultado da análise feita utilizando-se o eletrólito que forneceu as melhores condições: pH 11,9, 50 mmol/L de SDS e 8 mmol/L de DNB. Vale ressaltar que mesmo outros pontos aparentando serem tão adequados quanto os escolhidos, eles podem não ser muito estáveis, necessitando da repetição da análise para que só assim esta seja viável.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A fim de chegar-se a melhor condição possível de um método de separação, é necessário otimizar esse método e extrair os dados resultantes das análises para estes serem avaliados.

Dessa forma, observando-se cada variável estudada para cada componente do eletrólito, chega-se a conclusão de que sua mais adequada composição deve ser a de pH 11,9, 50 mmol/L de SDS e 8 mmol/L de DNB.

É evidente que a taurina é afetada por alargamento de pico, o que pode ser resolvido, ou ao menos melhorado ao adicionar-se um modificador orgânico como metanol ou acetonitrila.

5.1 TRABALHOS FUTUROS

Após validado, este método pode ser utilizado em qualquer estudo onde o objetivo seja avaliar a taurina por eletroforese capilar em sistema micelar e detecção indireta. Inegavelmente a taurina é um aminoácido muito promissor em relação ao tratamento de doenças, em especial a obesidade, porém ainda é preciso que sejam realizados muitos estudos para entender seus mecanismos contra a doença, estudos estes que necessitam de uma grande amostragem de pacientes que sejam acompanhados por muito tempo, o que carece na literatura.

Além disso, o método pode ser aplicado também em projetos a fim determinar simultaneamente a taurina e a cafeína em determinados alimentos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIZAID, A.; HORVATH, T. L. Brain circuits regulating energy homeostasis. **Regulatory Peptides**, [S.L.], v. 149, n. 1-3, p. 3-10, ago. 2008.

AGOSTONI, C.; CARRATÙ, B.; BONIGLIA, C.; RIVA, E.; SANZINI, E. Free Amino Acid Content in Standard Infant Formulas: comparison with human milk. **Journal Of The American College Of Nutrition**, [S.L.], v. 19, n. 4, p. 434-438, ago. 2000.

ALVES, Alane Cangani *et al.* Development of a method for simultaneous analysis of caffeine and taurine in energy drinks by micellar electrokinetic chromatography with diode-array detector. **Food Science And Technology**, [S.L.], v. 39, n. 2, p. 673-682, dez. 2019.

BOUCKNOOGHE T.; REMACLE C.; REUSENS B. Is taurine a functional nutrient? **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v.9, n.6, p.728-33, 2006.

BOWSER, Michael T.; KENNEDY, Robert T. In vivo monitoring of amine neurotransmitters using microdialysis with on-line capillary electrophoresis. **Electrophoresis**, [s. l], v. 22, p. 3668-3676, jan. 2001.

CAO, Yuhua; ZHANG, Xin; CHU, Qingcui; FANG, Yuzhi; YE, Jiannong. Determination of Taurine in Lycium Barbarum L. and Other Foods by Capillary Electrophoresis with Electrochemical Detection. **Electroanalysis**, [s. l], v. 15, n. 10, p. 898-902, jul. 2002.

CAON, K. **Estudo de Interação da Série Homóloga dos Hidroxibenzoatos de Alquila Com Micela Aniônica Utilizando Eletroforese Capilar**. 2008. 35 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2012.

CARVALHO, Flávia Giolo de. **efeitos da suplementação de taurina ou flavonóides de cacau associado à achocolatado sobre a composição corporal, metabolismo de carboidratos e proteínas, desempenho fisico, dano muscular e estresse oxidativo em atletas**. 2015. 101 f. Tese (Doutorado) - Curso de Alimentos e Nutrição, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2015.

CELÁ, Andrea *et al.* Study of metabolic activity of human embryos focused on amino acids by capillary electrophoresis with light-emitting diode-induced fluorescence detection. **Electrophoresis**, [S.L.], v. 39, n. 23, p. 3040-3048, 7 set. 2018.

CHIANG, J.Y. L. Bile acids: regulation of synthesis. **Journal Of Lipid Research**, Ohio, v. 50, p. 1955-1966, abr. 2009.

DU, Fuying *et al.* Determination of taurine in human tear fluid by capillary electrophoresis with indirect amperometric detection based on electrogenerated bromine. **Journal Of Separation Science**, [S.L.], v. 38, n. 18, p. 3271-3278, 27 ago. 2015.

FRANCISCO, Elian da Silva. **tratamento crônico com taurina e alanina e desenvolvimento cerebral em ratos: efeitos sobre a depressão alastrante cortical**. 2015. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

FRANCISQUETI, F. V.; NASCIMENTO, A. N.; CORRÊA, C. R. Obesidade, inflamação e complicações metabólicas. **Nutrire**, Brasil, v. 40, n. 1, p. 81-89, abr. 2015.

HANRAHAN, G.; GOMEZ, F. A. Introduction. In: HANRAHAN, G.; GOMEZ, F. A. **Chemometric methods in capillary electrophoresis**. Nova Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2010. Cap. 1. p. 3-9.

HUXTABLE, R. J. Physiological actions of taurine. **Physiological Reviews**, [S.L.], v. 72, n. 1, p. 101-163, 1 jan. 1992. American Physiological Society.

HYLEMON, P. B. *et al.* Bile acids as regulatory molecules. **Journal Of Lipid Research**, [S.L.], v. 50, n. 8, p. 1509-1520, ago. 2009.

KELLY, Mary T.; FABRE, Huguetta; PARRETT, David. Determination of taurine in plasma by capillary zone electrophoresis following derivatisation with fluorescamine. **Electrophoresis**, [s. l], v. 21, p. 699-705, jan. 2000.

KLEINENDORST, L. *et al.* Genetic obesity: next-generation sequencing results of 1230 patients with obesity. **J Med Genet**, [S.I.], v. 55, p. 578-586, 2018.

KLINKER, Chanda Ciriacks; BOWSER, Michael T. 4-Fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole as a Fluorogenic Labeling Reagent for the in Vivo Analysis of Amino Acid Neurotransmitters Using Online Microdialysis-Capillary Electrophoresis. **Analytical Chemistry**, [s. l], v. 79, n. 22, p. 8747-8754, nov. 2007.

LEE, Ja Yong *et al.* Effect of Taurine on Biliary Excretion and Metabolism of Acetaminophen in Male Hamsters. **Biological And Pharmaceutical Bulletin**, [S.L.], v. 27, n. 11, p. 1792-1796, 2004.

LEE, M. Y. *et al.* Effect of the obesity index on plasma taurine levels in Ko-rean female adolescents. **Adv. Exp. Med. Biol.** 2003, 526,285–290

LIN, S. *et al.* Taurine improves obesity-induced inflammatory responses and modulates the unbalanced phenotype of adipose tissue macrophages. **Molecular Nutrition & Food Research**, [S.L.], v. 57, n. 12, p. 2155-2165, 12 ago. 2013.

LORENZO, Ma Paz *et al.* Optimization and validation of a capillary electrophoresis laser-induced fluorescence method for amino acids determination in human plasma: application to bipolar disorder study. **Electrophoresis**, [S.L.], v. 34, n. 11, p. 1701-1709, 8 maio 2013.

MOU, Shifen; DING, Xiaojing; LIU, Yongjian. Separation methods for taurine analysis in biological samples. **Journal Of Chromatography B**, [s. l], v. 781, p. 251-267, jan. 2002.

MOYANO, D *et al.* Plasma amino acids in anorexia nervosa. **European Journal Of Clinical Nutrition**, [s. l], v. 52, p. 684-689, maio 1998.

MURAKAMI, S. Role of taurine in the pathogenesis of obesity. **Molecular Nutrition & Food Research**, [S.L.], v. 59, n. 7, p. 1353-1363, 28 abr. 2015.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2014.

O'BRIEN, Kylie B. *et al.* Monitoring Neurotransmitter Release from Isolated Retinas Using Online Microdialysis-Capillary Electrophoresis. **Analytical Chemistry**, [s. l], v. 76, n. 17, p. 5969-5074, set. 2004.

OUCHI, N. *et al.* Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nat Rev Immunol**, Boston, v. 11, n. 2, p. 85-97, fev. 2011.

PALÁCIOS, Raquel da Silva. **Estudo do aminoácido Glicina em função do pH por espectroscopia Raman**. 2017. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Física, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2017.

PANULA-LEHTO, E.; MAIKINEN, M.; AHTEE, L. Effects of taurine, homotaurine and GABA on hypothalamic and striatal dopamine metabolism. **Naunyn-Schmiedeberg'S Arch Pharmacol**, [s. l], v. 62, p. 346-357, mar. 1992.

PLIQUETT, R. U. *et al.* The Effects of Insulin on the Central Nervous System – Focus on Appetite Regulation. **Hormone And Metabolic Research**, Nova Iorque, v. 38, p. 442-446, mar. 2006.

POLS, T. W.H.; NORIEGA, L. G.; NOMURA, M.; AUWERX, J.; SCHOONJANS, K. The bile acid membrane receptor TGR5 as an emerging target in metabolism and inflammation. **Journal Of Hepatology**, [s. l], v. 54, n. 1, p. 1263-1272, dez. 2010.

QUEIROZ, S. C. N.; JARDIM, I. C. S. F. Eletroforese Capilar. **Chemkeys**, Campinas, v. 0, n. 8, p. 1-9, set. 2001.

ROSA, F. T. *et al.* Oxidative stress and inflammation in obesity after taurine supplementation: a double-blind, placebo-controlled study. **European Journal Of Nutrition**, [S.L.], v. 53, n. 3, p. 823-830, 25 set. 2013.

SCHAFFER, Stephen W *et al.* Physiological roles of taurine in heart and muscle. **Journal Of Biomedical Science**, [s. l], v. 17, p. 1-8, jan. 2010.

SCHULLER-LEVIS, G. B.; PARK, E. Taurine and Its Chloramine: Modulators of Immunity. **Neurochemical Research**, [s. l], v. 9, n. 1, p. 117-126, jan. 2004.

SCHULLER-LEVIS, Georgia B; PARK, Eunkyue. Taurine: new implications for an old amino acid. **Fems Microbiology Letters**, [S.L.], v. 226, n. 2, p. 195-202, set. 2003.

SHARMA, R.; LONG, A.; GILMER, J.F.. Advances in Bile Acid Medicinal Chemistry. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l], v. 8, n. 26, p. 4029-4052, jan. 2011.

SILVA, Dayse. L. P. da; RÜTTINGER, Hans H.; MRESTANI, Yahia; BAUM, Walter F.; NEUBERT, Reinhard H. H.. Development of capillary electrophoresis methods for quantitative determination of taurine in vehicle system and biological media. **Electrophoresis**, [S.L.], v. 27, n. 12, p. 2330-2337, jun. 2006.

SILVA, J. A. F.; CARRILHO, W. K. T. C. E.; TAVARES, M. F. M.. Terminologia para as técnicas analíticas de eletromigração em capilares. **Química Nova**, [S.I.], v. 30, n. 3, p. 740-744, jan. 2007

SOLON, Carina S. *et al.* Taurine enhances the anorexigenic effects of insulin in the hypothalamus of rats. **Amino Acids**, [S.L.], v. 42, n. 6, p. 2403-2410, 5 ago. 2011.

SPUDEIT, D. A.; DOLZAN, M. D.; MICKE, G. A. Conceitos básicos em Eletroforese Capilar: uma breve introdução. **Scientia Chromatographica**, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 287-297, 2012.

TSUBOYAMA-KASAOKA, N. *et al.* Taurine (2-Aminoethanesulfonic Acid) Deficiency Creates a Vicious Circle Promoting Obesity. **Endocrinology**, [S.L.], v. 147, n. 7, p. 3276-3284, 1 jul. 2006.

VAZ, F. A. S.; OLIVEIRA, C. L. M.; OLIVEIRA, M. A. L. Fundamentals Of Capillary Electrophoresis: an animation approach. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 732-737, jun. 2015.

VETTORAZZI, J. F. *et al.* Bile acid TUDCA improves insulin clearance by increasing the expression of insulin-degrading enzyme in the liver of obese mice. **Nature**, Campinas, nov. 2017.

VOETEN, R. L. C. *et al.* Capillary Electrophoresis: Trends and Recent Advances. **Analytical Chemistry**, Amsterdã, v. 90, p. 1464-1481, jan. 2018.

WANG, David Q-H; CAREY, Martin C. Therapeutic uses of animal biles in traditional Chinese medicine: An ethnopharmacological, biophysical chemical and medicinal review. **World J Gastroenterol**, [S.I.], v. 29, n. 20, p. 9952-9975, set. 2014.

WEISENBERGER, Megan M.; BOWSER, Michael T.. In Vivo Monitoring of Amino Acid Biomarkers from Inguinal Adipose Tissue Using Online Microdialysis-Capillary Electrophoresis. **Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 89, n. 1, p. 1009-1014, 15 dez. 2016.

WENG, Qianfeng; JIN, Wenrui. Determination of free intracellular amino acids in single mouse peritoneal macrophages after naphthalene-2,3-dicarboxaldehyde derivatization by capillary zone electrophoresis with electrochemical detection. **Electrophoresis**, [s. l], v. 22, p. 2797-2803, jan. 2001.

WIN, A. *et al.* Pharmacological and Metabolic Significance of Bile Acids in Retinal Diseases. **Biomolecules**, Basel, v. 292, n. 11, p. 1-17, jan. 2021.

ZHAO, Xue-Jiao; WANG, Na; ZHANG, Ming-Jun; LIU, Sha-Sha; YU, Hui; TANG, Mo-Huan; LIU, Zhao-Ying. Simultaneous determination of five amino acid neurotransmitters in rat and porcine blood and brain by two-dimensional liquid chromatography. **Journal Of Chromatography B**, [S.L.], v. 1163, p. 122507, jan. 2021.

ZINELLU, Angelo *et al.* Taurine determination by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection: from clinical field to quality food applications. **Amino Acids**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 35-41, 10 jan. 2008.