

Determinação de grupos NH_2 em nanopartícula com conversão ascendente aminofuncionalizada.

*Karla Cristina Lombardi Alvino¹ (IC), João Paulo Gelamos¹ (IC), Osvaldo Antonio Serra² (PQ), Ana Maria Pires (PQ)¹. karlalombardi@gmail.com

¹Depto. Fís., Quím., e Biol., FCT-UNESP, R. Roberto Simonsen, 305 – CEP 19060-900-Presidente Prudente-SP.

²Lab. de Terras Raras –Depto. Química FFCLRP-USP, Av.Bandeirantes,3900 –CEP 14040-90–Ribeirão Preto–SP.

Palavras Chave: luminóforo, terras raras, imunoenensaio, sílica amino-funcionalizada..

Introdução

Nanopartículas luminescentes com conversão ascendente convertem radiação IV em visível e vem sendo aplicadas em imunoenaios na detecção e quantificação de antígenos ou anticorpos¹. Avidina-biotina é o sistema de auto-reconhecimento mais empregado, o marcador é conjugado com a proteína (avidina) e o antígeno ou anticorpo é biotinilado. No entanto, para o sucesso do sistema as partículas devem estar funcionalizadas, ou seja, o nano marcador deve possuir um grupo funcional capaz de se ligar à avidina para que esta se ligue ao analito de interesse biotinilado.² Desta forma, o objetivo deste trabalho é a adequação do método da ninidrina na determinação de grupos NH_2 em nanopartículas de $\text{Y}_2\text{O}_2\text{S:Er,Yb}$ obtidas pelo método Pechini e recobertas com sílica aminofuncionalizada.

Resultados e Discussão

Partículas (10-20 nm) de $\text{Y}_2\text{O}_2\text{S:Er}^{3+}$, Yb^{3+} (2%, 1%), preparado previamente pela sulfurização de resina precursora obtida pelo método Pechini¹ foram recobertas com sílica a partir de tetraetilortossilicato (TEOS) e 3-aminopropil-trietoxissilano (APTS) em meio etanólico^{2,3}. Para determinação do número de amins primárias presentes nas partículas foi adaptado o método da ninidrina^{4,6} e a glicina foi o material de referência para obtenção da curva padrão. Solução de ninidrina em etanol foi reagida com alíquotas de solução aquosa de glicina sob aquecimento e pH controlado. Após resfriamento das misturas reacionais, estas foram transferidas para balões volumétricos, completando-se o volume, e obteve-se espectros de absorção na região do UV-vis. O máximo da banda de absorção observada em todos os casos foi de 567 nm, característica do produto da reação entre ninidrina e grupos NH_2 , ou seja, dicetohidrindilideno-dicetohidrindamina, conhecido como Roxo de Ruhemann. No caso das nanopartículas aminofuncionalizadas, reagiu-se 4,60 mg com ninidrina e a medida do espectro de absorção no UV-vis foi feita observando-se também a banda característica com máximo em 567 nm. A partir do máximo de absorção em cada caso obteve-se a curva padrão de concentração de glicina (Fig. 1)

e pôde-se determinar o valor da concentração de grupos NH_2 encontrados para a amostra, i.e., $7,20 \times 10^{-4}$ mol de NH_2 por grama de nanopartícula funcionalizada.

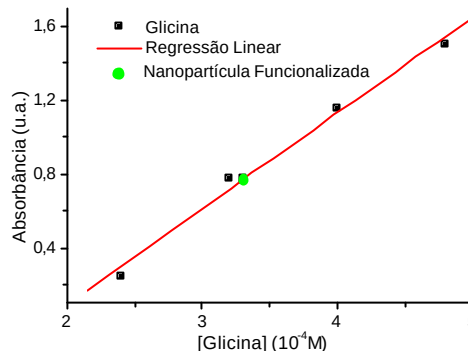


Figura 1. Curva padrão de glicina a partir da reação com ninidrina e medida do espectro de absorção e avaliação do máximo da banda em 567 nm.

Conclusões

O método da ninidrina, apesar de requerer uma série de cuidados, é eficiente para estimativa e comprovação da presença de grupos NH_2 em nanopartículas funcionalizadas. Devido à alta absorção observada, em futuras determinações verifica-se que é possível diminuir a quantidade de amostra a ser analisada, fazendo-se então o ajuste da curva para concentrações menores. Assim uma quantidade maior de marcador estará disponível para testes de conjugação com a proteína avidina.

Agradecimentos

FAPESP, RENAMI pelo apoio financeiro, Laboratório de Bioquímica - Química de Carboidratos da FCT-UNESP pela viabilização das medidas UV-vis e Profa. Dra. Maria Cláudia F. C. Felinto do IPEN-USP pela indicação do método.

¹ Pires, A. M.; Serra, O. A.; Davolos, M. R. J. *Alloys Compd.* **2004**, 374, 181.

² Ashtari, P.; He, X.; Wang, K.; Gong, Talanta **2005**, 67, 548.

³ Liu, S.; Zhang, Z.; Han, M.; Anal. Chem. **2005**, 77, 2595.

⁴ Shapilov, O. D.; Kayumov, V. G.; Krashenyuk, A. I.; J. Anal. Chem. USSR **1983**, 38, 436.

⁵ Feng, J.; Shan, G.; Marqueira, A.; Koivunen, M.E.; Gui, B.; Hammoch, B. D.; Kennedy, I. M.. Anal. Chem. **2003**, 75, 5282.

⁶ Taylor, I.; Howard, A. G. Anal. Chim. Acta, **1993**, 271, 77.