Determinação espectrofotométrica de proteínas em plasma de sangue bovino empregando multicomutação em fluxo.

Jeová Correia Miranda^{1*} (IC), Felisberto G. Santos Júnior¹ (IC), Elizabeth Nunes Fernandes^{1,2} (PQ). *jeovacmq@yahoo.com.br*

Palavras Chave: Proteínas, método do biureto, plasma bovino, multicomutação em fluxo.

Introdução

O estado nutricional dos animais tem forte influência na produtividade e pode ser avaliado a partir de alguns constituintes bioquímicos do sangue animal. A FAO (Food and Agriculture Organization) recomenda que a determinação de proteínas totais em plasma de sangue bovino seja utilizada como um parâmetro no controle da saúde e nutrição animal. Os valores de referência em soro sangüíneo de bovinos situam-se entre 400 a 700 mg em 100 cm³ [1]. Os métodos mais utilizados para determinação de proteínas são espectrofotométricos na região do UV/Vis. mas não existe uma metodologia considerada de uso universal para todos os meios [2]. O método empregado dói o do biureto que é constituído de uma mistura de cobre e hidróxido de sódio com um complexante que estabiliza o cobre em solução, o tartarato de sódio.O cobre, em meio alcalino, reage com proteínas formando um complexo quadrado planar com a ligação peptídica. O método biureto tem sido também, utilizado em análise por injeção em fluxo. O procedimento de coleta e preparo da amostra utilizado foi empregado por Luca&Reis [3].

Resultados e Discussão

Para a determinação de proteínas empregando-se multicomutação em fluxo, utilizou-se o diagrama de fluxo apresentado na Figura 1. A amostra foi inserida em um fluido transportador contínuo, através do acionamento da válvula V₁. Em seguida, a válvula V₂ foi acionada, permitindo a inserção do reagente, seguindo por uma bobina de reação, onde ocorre a dispersão da zona da amostra para posterior detecção, em 546 nm. Assim, sistema proporcionou uma estimativa de coeficiente de variação de 1,78%; limite de detecção de 3,94x10⁻¹ gL⁻¹ de proteína e limite de quantificação de 1,31gL⁻¹ de proteína. Apresentando uma freqüência analítica de 38 determinações por hora. Os resultados obtidos pelo o emprego do sistema proposto foram comparados com o método do biureto manual para determinação de proteína em plasma. Aos resultados aplicaram-se o teste t com múltiplas amostras, cujo resultado (n = 4; t-exp. 2,132; t-calc. 0,412), não apresentou diferença significativa em nível de 90% de confiança.

31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

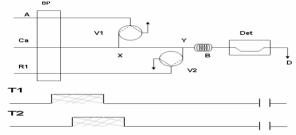


Figura 1. Diagrama de fluxos do módulo de análise para determinação de proteínas. BP – bomba peristáltica; V1 – válvula solenóide de três vias; V2 – válvula solenóide de três vias; Ca – solução transportadora H₂O (4,0 mL min⁻¹); A – amostra (2,0 mL min⁻¹); R1 – reagente Biureto (4,0 mL min⁻¹); Det – espectrofotômetro (?= 546 nm); X e Y – pontos de confluência; D – descarte.

Tabela 1 - Comparação dos resultados valor de proteína em plasma de sangue bovino

Amostras	MP ¹ . Proteína , g L ⁻¹	MR ¹ . Proteína, g L ⁻¹
1	96,72± 4,5	86,19± 1,67
2	106,23± 6,81	$86,45\pm0,80$
3	75,60± 1,95	85,22± 7,33
4	66,79± 1,49	75,93± 2,89
5	79,42± 3,02	78,03± ,15

MP e MR – método proposto e de referência, respectivamente, os resultados são médias de três consecutivas determinações ± desvio padrão.

Conclusões

O sistema demonstrou capacidade e robustez na determinação do analito. A utilização da multicomutação proporcionou rapidez e exatidão na inserção dos volumes de amostras e reagentes, proporcionando um menor consumo de amostra e reagente, reduzindo a geração de resíduos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão das bolsas de IC.

¹ Centro de Estudos Superiores de Imperatriz – CESI/UEMA, Rua Godofredo Viana, s/n, Imperatriz-MA;

² Universidade Federal do Maranhão, Campus II, Imperatriz-MA.

¹Food and agriculture organization. Animal production and health: nutritional metabolite kit protocols. Seibersdorf: FAO/IAEA, 1993.

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

²Zaia, D. A. M.; Zaia, C. T. B. V.; Lichtig, J. Quím. Nova, 1998, 21: 787. ³Luca, G.C.; Reis, B.F. *Scientia Agrícola*, **2001**, *59*, 251.