

Metodologia para determinação fluorimétrica de aminoácidos em microalgas usando cromatografia por injeção seqüencial

Marilda Rigobello-Masini* (PQ), Jorge Cesar Masini (PQ). rmmarilda@gmail.com

Instituto de Química, Universidade de São Paulo, C.P. 26077, 05513-970, São Paulo, SP, Brasil

Palavras Chave: *Tetraselmis gracilis*, colunas monolíticas, análise em fluxo, derivatização pré-coluna.

Introdução

A Cromatografia por Injeção Seqüencial (SIC - do termo em Inglês Sequential Injection Analysis) foi proposta por Satinsky et al¹, permitindo a realização de separações simples, aumentando a possibilidade de análise de vários componentes em uma única injeção de amostra. Para isso, explora a utilização de fases estacionárias monolíticas, as quais apresentam estrutura bimodal de macro e mesoporos, que permitem o fluxo de fase móvel com sistemas de propulsão simples, como as bombas de pistão. Será descrito um método de derivatização pré-coluna de aminoácidos com o reagente *o*-ftaldialdeído (OPA) na presença de mercaptoetanol (ME), seguida de separação em coluna monolítica de fase reversa (C₁₈) e detecção fluorimétrica.²

Resultados e Discussão

Um sistema utilizado é mostrado na Figura 1.

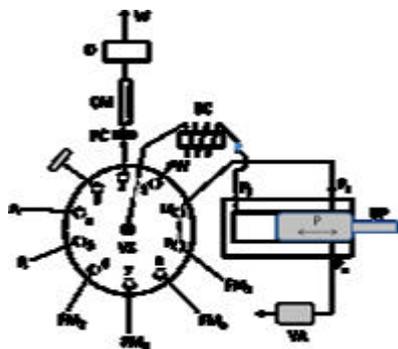


Figura 1. Esquema do sistema SIC. BP = Bomba de Pistão; P = Pistão de Cerâmica; VA = Válvula de Alívio para pressões > 500 psi; P_a = Porta de Alívio; P_t = Porta traseira; P_f = Porta frontal; FM₁, FM₂, FM₃ e FM₄ = Fases móveis; VS = Válvula Seletora, BC = Bobina Coletora (3 m de tubo de Teflon com 0,8 mm de diâmetro interno), A = Amostra; R = Reagente; W = Descarte; PC = Pré-Coluna; CM = Coluna Monolítica; D = Detector

A reação de derivatização foi feita em BC, injetando-se seqüencialmente 4 frações de 5 µL de amostra intercaladas por frações de 20 µL de reagente OPA-ME. A Fase móvel (FM₁) foi composta por metanol:tampão PO₄³⁻ 0,10 mol L⁻¹ na proporção 20:80 (v/v). A Figura 2 mostra cromatogramas usados para construir uma curva

analítica. As faixas lineares variaram de 1 a 40 µmol L⁻¹ para ácido glutâmico, de 10 a 80 µmol L⁻¹ para serina e de 5 a 80 µmol L⁻¹ para glutamina e glicina.

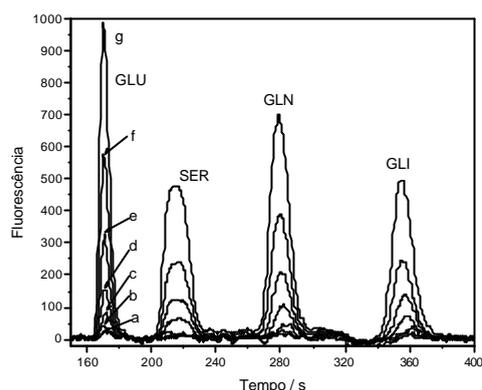


Figura 2. Cromatogramas de uma mistura de ácido glutâmico, serina, glutamina e glicina nas concentrações (a) 1,0, (b) 2,5, (c) 5,0, (d) 10, (e) 20, (f) 40 e (g) 80 µmol L⁻¹. Vazão = 30 µL s⁻¹. ? excitação. = 340 nm; ? emissão = 450 nm.

A aplicação do método permitiu a determinação de alguns aminoácidos utilizados como parâmetros de avaliação do caminho fotorrespiratório em estudos sobre assimilação de carbono pela microalga *Tetraselmis gracilis*. Além dos quatro aminoácidos estudados, foi detectada a presença do ácido aspártico nos extratos da microalga. Foram encontradas concentrações expressivas de glutamina, da ordem de 35 a 50 µmol L⁻¹.

Conclusões

O sistema SIC com eluição isocrática separou 4 aminoácidos após derivatização pré-coluna. Outros aminoácidos com maiores tempos de retenção (lisina) podem ser eluídos com fases móveis (FM₂ a FM₄) contendo maior porcentagem de metanol, armazenados seqüencialmente na bobina coletora.

Agradecimentos

CNPq, FAPESP

¹ Satinsky, D.; Solich, P.; Chocholus, P.; Karlicek, R. *Anal. Chim. Acta* **2003**, *499*, 205.

² Lindroth, P.; Mopper, K.; *Anal. Chem.* **1979**, *51*, 1667.