

Microanálise de tecidos biológicos visando à determinação de Fe por espectrometria de absorção atômica

¹Maciel Santos Luz* (PG), ²Leonardo dos Santos (PQ), ²Gustavo José Justo da Silva (PQ), ¹Alexandre Luiz de Souza (PG), ¹Pedro V. Oliveira (PQ)

¹Instituto de Química, Universidade de São Paulo, CP 26077, 05508-000 São Paulo-SP *maciel@iq.usp.br

²Instituto do Coração, Universidade de São Paulo, 05403-900 São Paulo-SP

Palavras chave: Microanálise, Absorção atômica, Ferro, Tecido biológico

Introdução

O ferro é um componente essencial da hemoglobina, mioglobina e diversas enzimas necessárias a função normal das células, servindo também como um catalisador biológico para reações de redução-oxidação na produção de energia pelas células¹. A hemocromatose hereditária (HFE) é uma desordem do metabolismo do ferro caracterizada por absorção excessiva desse íon pelo intestino, e sobrecarga férrica nas células do parênquima de órgãos vitais como o coração e fígado². As repercussões cardiovasculares estruturais e funcionais de sobrecarga de ferro em camundongos que superexpressam HFE é uma pesquisa em desenvolvimento no Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular do Instituto do Coração. O estudo está sendo executado em camundongos e uma grande quantidade de amostras, contendo massas diminutas de fígado, aorta e ventrículo esquerdo do coração desses animais necessitam ser analisadas para determinar o Fe total, constituindo-se assim um problema analítico que requer um método rápido e com boa sensibilidade. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi o desenvolvimento de um método simples e rápido para a determinação de Fe em tecidos biológicos por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (F AAS) ou forno de grafite (GF AAS).

Resultados e Discussão

O procedimento de preparo de amostras é o ponto de destaque do trabalho, uma vez que permite digerir simultaneamente grande número de amostras, evitando diluições excessivas e, conseqüentemente, perda de detectabilidade. Massas diminutas de fígado (31-144 mg), ventrículo esquerdo (4-28,8 mg) e aorta (0,8-4,9 mg) de 59 camundongos foram analisadas pelo método proposto. As amostras foram pesadas em frascos de polipropileno do tipo Falcon[®] (15 mL), com adição de 300 µL de HNO₃ + 100 µL de H₂O₂. Os frascos (n=60) contendo as amostras e mistura oxidante foram fechados, fixados em grade de aço inoxidável e colocados, simultaneamente, em banho-maria a 90°C, durante 60 min. O banho-maria

utilizado foi modelo Q226M1 Dubnoff (Quimis, São Paulo, SP). Em apenas três horas (3 ciclos de abertura) foi possível digerir 177 amostras, incluindo 3 brancos. Para otimização do método foram realizadas digestões (m ~ 50 mg) de materiais de referência certificados de fígado (NIST 1577b) e músculo (NIST 8414) bovino com posterior determinação de Fe por F AAS ou GF AAS. Os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Avaliação da exatidão do método proposto.

Amostra	Encontrado (µg/g)	Certificado (µg/g)	Rec. (%)
Fígado*	183±4	184±15	99
Músculo*	62,4±14	71,2±9,2	88
Músculo**	69,8±6,3	71,2±9,2	98

*F AAS, **GF AAS

Conclusões

O frasco fechado evitou a evaporação de espécies oxidantes resultantes da decomposição térmica do HNO₃ e H₂O₂, favorecendo a digestão das amostras. Adicionalmente, como se trata de uma digestão em sistema fechado, perdas do analito por evaporação e contaminação foram evitadas. No caso das determinações por F AAS, a análise empregou o princípio do frasco único, ou seja, a digestão, diluição e análise partiram do mesmo recipiente. A pequena massa de amostra e o volume total dos reagentes (400 µL) para um grande volume do frasco de reação (15 mL) não gerou pressão suficiente para provocar ruptura nos frascos. O método proposto é simples, rápido e apresentou boa precisão e exatidão, podendo ser empregado em diversos estudos envolvendo microanálise de materiais biológico.

Agradecimentos

CAPES – CNPQ – FAPESP – IQ USP

¹Edison et al. Iron homeostasis: new players, newer insights. *European Journal of Haematology*, **2008**, 81, 411.

²Brandhagen et al. Recognition and management of hereditary hemochromatosis. *Am Fam Physician*, **2002**, 65, 853.