

Desenvolvimento de Biossensores Baseados na Emissão do Európio III em Tetraciclina: Colesterol

Pedro Henrique dos Santos Peixoto¹, Lilia Coronato Courrol
Faculdade de Tecnologia de São Paulo – FATEC-SP
e-mail: pedrohspeixoto@gmail.com, lcourrol@gmail.com

1. Objetivo

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um biossensor baseado no aumento da banda de emissão do Európio III, para determinação do teor de colesterol em solução.

2. Considerações Teóricas

O peróxido de hidrogênio é um dos subprodutos da quebra de algumas moléculas em reações enzimáticas, o qual provoca excitação no complexo EuTc (europio-tetraciclina) [1]. Para a obtenção do peróxido de hidrogênio foi proposta a utilização da enzima colesterol oxidase, a qual oxida o colesterol formando proporcionalmente H_2O_2 como subproduto. Com o decorrer dos estudos de emissão verificou-se que o colesterol puro é um agente excitador da sonda EuTc. Assim não é necessária a utilização da enzima colesterol oxidase para a formação de peróxido de hidrogênio, fato que tornaria o método mais barato e direto. Pela primeira vez foi publicada a atividade do colesterol para a sonda europio-tetraciclina em solução. A variação da intensidade luminosa do complexo é determinada por espectroscopia óptica a qual permite leituras em tempo real da ordem de $\mu\text{mol/L}$. Sendo este o ponto de partida para a determinação de colesterol total em soro ou plasma humano com a precisão que o método oferece.

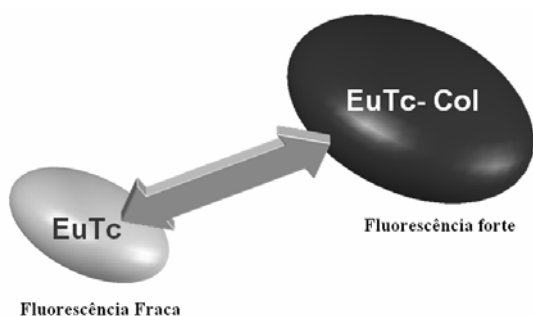


Figura 1. A sonda EuTc passa a ter uma fluorescência forte na presença de colesterol.

3. Materiais e Métodos

A sonda EuTc foi preparada com uma proporção de 3,15 mmol de $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 2,1 mmol de tetraciclina (sigma) em 10 ml de MOPS (10mmol) com pH 6,9. Foram adicionadas amostras de 100 μl com diferentes concentrações de colesterol (150, 170, 190 mg/dl) Para isto foi utilizado o colesterol padrão (200mg/dl) de um kit de determinação pelo método enzimático

(Laborlab). Foi utilizado um fluorímetro Cary Eclipse com acessórios Varian para a realização dos espectros de emissão.

4. Resultados

Notou-se um aumento praticamente linear da emissão com diferentes concentrações de colesterol.

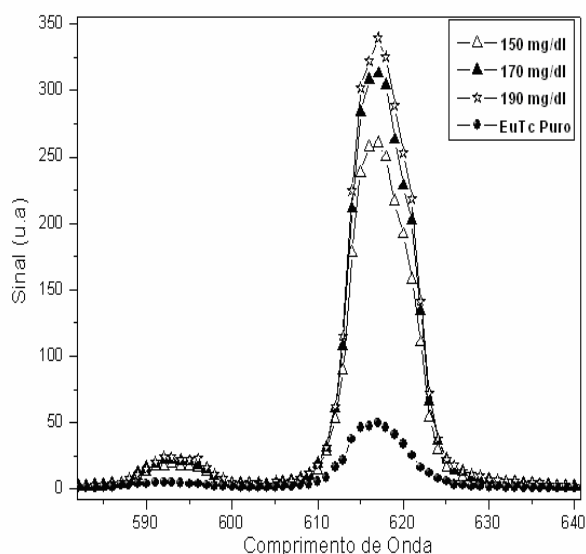


Figura 2. Espectro de emissão da sonda EuTc na presença de colesterol.

5. Conclusão

Notou-se um aumento da banda de emissão da sonda utilizada na presença de diferentes concentrações de colesterol. Algo que não é descrito na literatura. Este seria o ponto de partida para a determinação do colesterol sanguíneo em tempo real e com um método de baixo custo. O custo ficaria ainda mais reduzido, já que o método não necessitaria da enzima COx para a formação de H_2O_2 como agente excitador. Outro fator que favorece essa determinação é o pH de trabalho da sonda EuTc ser por volta de 7, ou seja, próximo do pH sanguíneo.

Referências

[1] M. Wu, z. Lin, A. Durkop, Otto S. Wolfbeis, Time-resolved enzymatic determination of glucose using a fluorescent europium probe for hydrogen peroxide, *Anal. Bioanal. Chem.* 380 (2004) 619-626

¹ Aluno de Mecânica de Precisão da FATEC-SP e Bolsista de IC – CNPq-PIBIC.